

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского»
Министерства здравоохранения России

На правах рукописи

Оганнисян Арпине Сиракановна

**ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА
В КАЧЕСТВЕ ДЕПО ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
В ОРТОПЕДИИ И ТРАВМАТОЛОГИИ**

1.5.6. – Биотехнология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
д.т.н. Легонькова Ольга Александровна

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Современные тенденции в артропластике крупных суставов.....	15
1.2 Патогенез перипротезной инфекции.....	18
1.3 Лекарственные средства, эффективные в отношении возбудителей перипротезной инфекции.....	23
1.4 Современные медицинские изделия и полимерные материалы для профилактики и лечения перипротезной инфекции.....	27
1.5 Роль поливинилпирролидона (ПВП) в создании медицинских изделий и лекарственных средств.....	35
1.6 Выводы по литературному обзору.....	51
ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	53
2.1 Объекты исследования.....	53
2.2 Методы исследования.....	56
2.2.1 Воздействие ионизирующего излучения посредством γ -излучения и потока ускоренных электронов (УЭ).....	56
2.2.2 Разработка режимов термической обработки.....	56
2.2.3 Исследование реологических характеристик гидрогелей.....	56
2.2.4 Исследование сорбционных свойств гидрогелей.....	57
2.2.5 Оценка плотности сшивания ПВП методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).....	58

2.2.6	Исследование межмолекулярных взаимодействий в гидрогелях методом ИК-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).....	59
2.2.7	Исследование адгезионных свойств гидрогелей.....	61
2.2.8	Исследование топографии места расположения гидрогеля.....	62
2.2.9	Исследование антимикробной активности гидрогелей.....	62
2.2.10	Исследование токсичности и адгезионных свойств ПВП – гидрогелей в культуре клеток.....	64
2.2.11	Исследование биобезопасности местного применения ПВП – гидрогелей <i>in vivo</i>	66
2.2.12	Гистологические исследования.....	68
2.2.13	Статистическая обработка результатов.....	68
ГЛАВА 3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	69
3.1	Определение оптимальной концентрации лекарственных средств в составе полимерных композиций.....	69
3.2	Реологические свойства гидрогелей поливинилпирролидона при различных способах обработки.....	74
3.3	Исследования межмолекулярных взаимодействий гидрогелей методом НПВО.....	86
3.4	Свойства гибридных гидрогелей.....	100
3.4.1	Оценка плотности сшивания ПВП методом ДСК.....	100
3.4.2	Сорбционные свойства гидрогелей ПВП.....	103
3.4.3	Вязкоупругие свойства гидрогелей ПВП после экспозиции <i>in vivo</i>	106

3.4.4	Антимикробная активность гидрогелей ПВП	
	<i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	108
3.5	Оценка токсичности и адгезионных свойств ПВП –	
	гидрогелей в культуре клеток	110
3.6	Исследование биобезопасности местного применения	
	ПВП – гидрогелей <i>in vivo</i>: гистологическая	
	оценка.....	115
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	125
	ВЫВОДЫ	129
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	131
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	169

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CAS	Chemical Abstracts Service
DAC	Defensiv Antibacterial Coating
E. coli	Escherichia coli
FDA	U.S. Food and Drug Administration
MRSA	Methicillin-resistant Staphylococcus aureus
MSSA	Meticillin-Sensitive Staphylococcus aureus
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
S. aureus	Staphylococcus aureus
АБ	Антибиотик
ВАК	Высшая аттестационная комиссия
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ДСК	Дифференциальная сканирующая калориметрия
ИК-спектроскопия	Инфракрасная спектроскопия
ЛД ₅₀	Полулетальная доза - доза вызывающая 50% летального исходу у испытуемого поголовья
ММ	Молекулярная масса
ММСК	Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки
МПК	Минимальная подавляющая концентрация
НИР	Научно-исследовательская работа
НПВО	Нарушенное полное внутреннее отражение
ПВП	Поливинилпирролидон
ПЖТ	Подкожно-жировая ткань
ПММА	Полиметилметакрилат
ППИ	Перипротезная инфекция
УЭ	Ускоренные электроны

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

На современном этапе развития клинической практики проблема борьбы с перипротезной инфекцией (ППИ) остается, поскольку:

- ежегодно в мире проводится более 1 миллиона артропластик тазобедренного сустава и их количество постоянно растет [242];

- риск развития инфекции оперированного сустава у пациентов сохраняется пожизненно, представляя собой одно из сложных осложнений эндопротезирования. При этом ППИ является одной из наиболее успешных и экономически эффективных операций, улучшающих качество жизни пациентов [38];

- инфицирование и нагноение послеоперационной раны у пациентов с эндопротезом крупного сустава в подавляющем большинстве случаев приводит к необходимости удаления его компонентов, а у 25-30 % пациентов инфекционный процесс даже после saniрующих операций приобретает рецидивирующее течение и может приводить к последствиям, вынуждающим удаление протеза, к развитию хронического постимплантационного остеомиелита и стойкой утрате трудоспособности [317];

- стоимость лечения перипротезной инфекции в 5-7 раз превосходит стоимость самой первичной операции, при этом значительно снижается качество жизни пациентов [90; 239; 293].

Таким образом, перипротезная инфекция является серьезной проблемой, и остро стоит задача профилактики и лечения инфекции области хирургического вмешательства при реконструктивных ортопедических операциях, включая эндопротезирование суставов, а также в разработке средств и способов, повышающих эффективность лечения данного осложнения [6].

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что, несмотря на современные профилактические и санитарно-гигиенические меры, инфекция,

вызванная способностью микробных возбудителей перипротезной инфекции, в частности представителей рода *Staphylococcus*, формировать на имплантатах биопленки, остается одной из ведущих причин неудач в ортопедии и травматологии [17; 95; 110] .

В последние десятилетия удалось в значительной мере выяснить причины столь высокой неэффективности антимикробной терапии инфекционных осложнений, во многом связанные с тем, что при системном введении препаратов существует дефицит концентраций антибиотиков в очаге воспаления. В настоящее время ведутся работы по импрегнированию костного цемента и коллагеновых губок антибиотиками, активной обработке поверхности имплантата фармакологически активными агентами. Однако все методы имеют целый ряд общеизвестных на сегодняшний день недостатков, в частности, короткое антимикробное действие, не обеспечивающее эффективный результат [47; 258].

Для решения проблемы целесообразно разработать и использовать локальные средства в форме гелей, обладающие пролонгированным действием, позволяющие покрыть поверхность имплантата любой формы и заполнить возникающие полости во время операции, что предотвратит возможность образования биопленки, при этом не «вытекать» и не приводить к болезненным ощущениям, легко поддаваться эвакуации после экспозиции [12; 115]. Наибольшую перспективу представляют гидрогели, в частности, на основе поливинилпирролидона (ПВП), полимера, разрешенного к применению в медицине и фармацевтической промышленности [138; 181].

Целью диссертационного исследования явилось теоретическое и экспериментальное обоснование состава и технологии получения биобезопасного гидрогеля для ортопедии и травматологии с оптимальными эксплуатационными характеристиками и пролонгированным антимикробным действием в отношении ведущих возбудителей перипротезной инфекции.

Задачи исследования

1. Разработать технологию получения биобезопасного гидрогеля на основе ПВП и фармацевтических субстанций фосфомицина и гентамицина без применения инициаторов химического сшивания.
2. Изучить реологические свойства гидрогелей ПВП при разных способах их получения и составах;
3. Определить физико-химические свойства (сорбционные, адгезионные, теплофизические) гидрогелей ПВП;
4. Изучить механизм сшивания ПВП под воздействием γ -излучения и температуры в отсутствие и присутствии фармацевтических субстанций фосфомицина и гентамицина;
5. Исследовать антибактериальные свойства гидрогелей ПВП *in vitro* и *in vivo* по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* MSSA, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*;
6. Оценить биобезопасность применения гидрогелей ПВП в условиях *in vitro* в культуре мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), выделенных из подкожного жира человека и *in vivo* на лабораторных животных (белых крысах линии *Wistar*).

Научная новизна работы

Впервые:

1. Разработан способ получения гидрогелей на основе ПВП по комбинированной технологии, сочетающей термическую обработку и γ – облучение ПВП. Приоритет и новизна исследований подтверждены Патентом РФ на изобретение № 2746709 от 19.04.2021г. «Способ получения антимикробного геля».
2. Изучены и предложены механизмы структурирования ПВП – гидрогелей под воздействием температуры и ионизирующего излучения без применения

инициаторов химического сшивания, соединений, не разрешенных в медицинской практике.

3. Выявлен синергетический антибактериальный эффект при комбинации фармацевтической субстанции фосфомицина с гентамицином.

4. Доказана биобезопасность ПВП – гидрогелей в эксперименте в условиях *in vitro* - в культуре мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), выделенных из подкожного жира человека и в условиях *in vivo* – на лабораторных животных (белых крысах линии *Wistar*).

Теоретическая и практическая значимость

Разработан метод получения гидрогелевого материала на основе ПВП, характеризующегося пролонгированным действием антибиотиков.

Отработан методологический подход по изучению межмолекулярных взаимодействий ПВП методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Установлены особенности механизма получения ПВП-гидрогеля с оптимальными эксплуатационными характеристиками в отсутствие химических катализаторов, не разрешенных для применения в медицине.

Разработан препарат в форме нерассасывающегося гибридного гидрогеля, проявляющего пролонгированный антимикробный эффект вплоть до 4-х месяцев экспозиции, который будет зарегистрирован как медицинское изделие.

Анализ отечественного рынка медицинских изделий показал, что в настоящее время на рынке Российской Федерации отсутствует эквивалентный аналог разработанного антимикробного гидрогеля.

Показана эффективность и безопасность использования гибридных ПВП-гидрогелей в качестве депо лекарственных средств.

Результаты, представленные в работе, используются в учебном процессе МГТУ им. Н.Э. Баумана при проведении лекционных и практических занятий со студентами по направлению подготовки

"Биотехнические системы и технологии", по профилям: "Биомедицинские технические системы", "Медико-технические информационные технологии", "Биофотоника и тканевая инженерия", "Мягкая материя и физика флюидов" факультета "Биомедицинская техника", а также в Отделе перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России представляются студентам РТУ МИРЭА по специальности «Биотехнология», «Технология и переработка полимеров и композитов», «Промышленная фармация и технология получения лекарств», проходящие учебную практикуи выполняющие выпускную квалификационную работу на базе Отдела (Приложение № 1).

В ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России разработан и утвержден лабораторный регламент на производство медицинского изделия ЛР 32.50.50-001-01897239-2023 от 15.02.2023 г. (Приложение № 2).

Основные положения, выносимые на защиту

Технологические решения получения гибридного гидрогеля, как депо лекарственных средств фосфомицина и гентамицина для ортопедии и травматологии.

Особенности механизма взаимодействия макромолекул ПВП под действием высокоэнергетического излучения, термической обработки и в условиях комбинированного способа получения гидрогелей в отсутствие катализаторов химического сшивания.

Синергетический антибактериальный эффект при комбинации фармацевтической субстанции фосфомицина с гентамицином.

Биобезопасность и эффективность гибридного геля.

Апробация результатов

Материалы и основные положения работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях – III Международном форуме «Ключевые тренды в композитах: наука и технологии», г. Москва, 20 ноября 2020 г.; *12th International Conference on «Biomaterials and Nanobiomaterials: Recent advances Safety – Toxicology and Ecology Issues»*, Греция, 27 сентября – 4 октября, 2021; Международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития», г. Москва, 26-29 октября 2021 г.; *14th International Conference on «Biomaterials and Nanobiomaterials: Recent advances Safety – Toxicology and Ecology Issues»*, Греция, 11 мая 2023.

Методы исследования и технические средства решения задач

В диссертационной работе использовали физико-химические, гистологические, цитологические, микробиологические методы исследования.

С целью определения физико-химических свойств исследуемых полимерных композиций применяли методы ИК-спектроскопии (ИК-Фурье спектрометр «*IR Spirit, Shimadzu*»), дифференциальной сканирующей калориметрии (калориметр теплового потока «*DSC 204F1 Phoenix, NETZSCH*»), вискозиметрии (ротационные вискозиметры «*Brookfield CAP 2000 +*» с системой «конус-плита» и «*Brookfield DV2T RV*» с рабочим узлом в виде коаксиальных цилиндров), анализа свободной энергии поверхности (прибор для измерения краевого угла смачивания *KRUSS*), растровой электронной микроскопии (*QUANTA 650 FEG (FEI)*), методы исследования сорбционных характеристик (весы электронные аналитические *SARTORIUS R 200D, Sartorius Göttingen Gmbh*).

Эффективность применения полимерных композиций с содержанием антибиотиков оценивали микробиологическими методами исследования

(бокс абактериальной воздушной среды БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2, микробиологический инкубатор на 37 °С *Heratherm IGS 60, Thermo Scientific*, стерилизатор паровой HVA-110 «*Hirayama*») с определением антибиотикочувствительности микроорганизмов - возбудителей хирургических инфекций, на примере *Staphylococcus aureus MSSA ATCC 25923*, *Staphylococcus aureus MRSA ATCC 43300*, *Escherichia coli ATCC 35218*, *Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27853* и госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus MSSA*, *Staphylococcus aureus MRSA*, к использованному в работе комплексу антибиотиков на разные сроки экспозиции гидрогеля в *in vivo*.

Исследования проводились на оборудовании ФГБУ "НМИЦ хирургии им. А.В.Вишневого" Минздрава России.

Оценка безопасности применения разработанных композиций была проведена *in vitro* в культуре ММСК, выделенных из подкожного жира человека и взятых из криобанка лаборатории стволовых клеток ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, посредством визуального анализа морфологии клеток в присутствии полимерных композиций (инвертированный фазово-контрастный микроскоп *Axio Observer D.1, Carl Zeiss*) и *in vivo* с участием лабораторных животных, выращенных в виварии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» с применением гистологических методов исследования (установка карусельного типа «*Thermo Scientific STP120*»; микротом «*Thermo Scientific Microm HM 450*»; световой микроскоп *Axio A1.0, Carl Zeiss*). Использовалось оборудование ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Достоверность научных положений и выводов

Данные получены посредством современных методов физико-химического и биологического анализа. Достоверность научных положений

и выводов основывается на многократной повторности экспериментов физических, физико-механических и медико-биологических, их воспроизводимости, а также на статической обработке полученных результатов.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль на всех этапах диссертационного исследования: от проведения анализа литературных данных по теме диссертационной работы, разработки дизайна исследования, постановки задач и их реализации до анализа и интерпретации полученных результатов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.6. – «Биотехнология». Результаты выполненного исследования соответствуют специальности по п. 8 (в части: разработка научно-методических основ для применения и оценки безопасности использования медицинских биопрепаратов).

Публикации по теме диссертации

По материалам проведенного исследования опубликовано 6 печатных работ в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 2 из них в журналах, индексируемых в международной базе данных *Scopus*, 1 патент на изобретение, 4 тезисы доклада в сборнике трудов научной конференции.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста, иллюстрирована 68 рисунками и 34 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы из 317 наименований, включающего 66 отечественных и 252 зарубежных источников, приложения.

Настоящая работа выполнена в рамках НИР по государственному заданию «Разработка функциональных субстанций при эндопротезировании крупных суставов и ревизионных вмешательствах» в ФГБУ "НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского" Минздрава России (руководитель д.т.н. Легонькова О.А., номер государственного учета НИОКТР ААА-А18-118021390050-8).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные тенденции в артропластике крупных суставов

Эндопротезирование при разных патологиях крупных суставов является одной из самых востребованных в мире операций, улучшающих качество жизни пациентов [1; 128; 175; 270].

Эндопротезирование сустава – реконструктивное хирургическое вмешательство, заключающееся в замещении патологически измененных сочленяющихся суставных поверхностей костей на искусственные для купирования болевого синдрома и восстановления подвижности и функций конечности. Такая операция обеспечивает быстрый лечебный эффект, полноту восстановления функций, что приводит к возвращению трудоспособности, бытовой и социальной независимости пациента [38].

Опыт эндопротезирования, приобретенный за многие десятилетия, постоянно анализируется, а технологии - совершенствуются. При изготовлении эндопротезов используются все более совершенные материалы, что, в конечном итоге, приводит к улучшению результатов таких операций [59; 87; 200; 219; 250].

Широкое применение в качестве компонентов ортопедических имплантатов нашли металлические материалы. Наиболее распространенными металлами, используемыми для изготовления эндопротезов тазобедренного сустава являются нержавеющая сталь, кобальт-хром-молибденовые и титановые сплавы. Кобальт-хром-молибденовые сплавы имеют низкую химическую инертность, но высокую износостойкость, а сплавы нержавеющей стали имеют низкую прочность и пластичность. Применение титановых сплавов, в частности, никелида титана особо перспективно в ортопедии, благодаря сочетанию таких свойств, как высокая твердость, пластичность, немагнитность, коррозионная и эрозионная стойкость, биохимическая и биомеханическая совместимость с организмом пациента [112; 134; 282]. В России исследование их свойств были начаты еще в 90-е годы прошлого века [3;14;15], когда, наряду с перечисленными выше

свойствами, была выявлена еще такая важная характеристика как пористость, способствующая быстрой самофиксации имплантата в тканях и определяющая перспективность их использования в ортопедии и травматологии [44]. Имплантаты с пористой структурой на основе никелида титана обладают схожим с костной тканью удельным весом и адгезивностью, благодаря которым обеспечивается стабильная фиксация имплантата к тканям. В настоящее время никелид титана считается самым распространенным металлом, используемым для изготовления ортопедических эндопротезов и конструкций, дающих 92 – 98 % положительных результатов, которые примерно в 2 раза уменьшают сроки временной нетрудоспособности [44].

Тотальное эндопротезирование суставов, таких как тазобедренный сустав, на сегодняшний день является одной из самых успешных хирургических процедур в ортопедической травматологии, давно и основательно вошедшее в практику ортопедической хирургии как метод лечения посттравматических, воспалительных и дегенеративных повреждений суставов [20]. По сведениям различных публикаций и мировых регистров число таких операций в мире постоянно растет. По данным статистики в 1980 году в мире выполнялось около 300000 операций по тотальному эндопротезированию тазобедренного сустава в год [216], к 1988 году число операций приблизилось к 400000 [185], а в 1991-1992 гг. выполняли уже около 500000 операций [23]. К 2012 году цифра ежегодно выполняемых операций эндопротезирования тазобедренного сустава в мире достигла 1 миллиона [242]. В ноябре 2021 г. американская академия хирургов-ортопедов (*American Academy of Orthopaedic Surgeons*) опубликовала годовой отчет Американского реестра по эндопротезированию (*The American Joint Replacement Registry*), согласно которому количество выполненных операций по эндопротезированию тазобедренного и коленного суставов в период с 2012 по 2020 год только в США составляет 2 244587, при этом в 2020 г. зарегистрирован рост количества операций по сравнению с

предыдущим годом на 18,3%. На сегодняшний день, ввиду отсутствия единого регистра по эндопротезированию, количество ежегодно выполняемых операций в России невозможно определить. Однако, можно утверждать, что в последние десятилетие, в связи с внедрением новых, сложных и уникальных технологий эндопротезирования, количество выполняемых операций растет [25]. Такая динамика обусловлена, в том числе, и с внедрением в отечественную медицину механизма высокотехнологичной медицинской помощи с соответствующим субсидированием таких операций [34; 48]. По данным разных источников в России за 2018 г. выполнено 72 270 эндопротезирований тазобедренного сустава [60]. Только в Новосибирском НИИТО им. Я.Л. Цивьяна за последние 5 лет выполнено 11015 эндопротезирований тазобедренного сустава [66].

К сожалению, со значительным увеличением количества операций по эндопротезированию, возросло и число неудовлетворительных исходов хирургической операции, которые связаны с развитием инфекционного процесса в области оперативного вмешательства [5; 22; 38; 58; 59; 234; 236].

Локальные послеоперационные инфекционные осложнения после артропластики бывают поверхностные и глубокие. К поверхностным осложнениям относятся подкожные нагноения, инфицированные гематомы, некроз раны и др., схема лечения которых считается достаточно отработанной [13; 30; 91; 146]. Лечение глубоких инфекционных осложнений до сих пор является объектом обсуждений специалистов из разных областей науки, занимающимся вопросами хирургии [37; 177; 178]. Именно перипротезная инфекция (ППИ) может привести к развитию хронического остеомиелита, а в случае генерализации инфекции - к синдрому системной воспалительной реакции и сепсису, что приведет не только к инвалидизации больного, но и к летальному исходу [4; 5; 94; 227; 304; 317].

Среди всех осложнений инфекционные занимают первое место по тяжести, сложности в лечении и угрозе для здоровья пациента. Лечение

перипротезной инфекции представляет собой большую проблему и не всегда дает удовлетворительные результаты. Анализ зарубежных публикаций по проблеме лечения ППИ показал, что ее частота после первичного эндопротезирования составляет около 0,3–2,22% и 2,6–5,9% после ревизионного вмешательства [182;194], в случае выполнения которого по поводу ППИ, риск рецидива достигает 30% [195]. В большинстве случаев осложнение возникает в первые два года после операции [160]. Высокая потребность в эффективных средствах для профилактики и лечения ППИ в ортопедии и травматологии обусловлена тем, что, несмотря на широкое применение современных методов профилактики и асептической хирургической техники, частота ППИ после оперативного вмешательства не снижается ниже [191; 202].

Лечение перипротезной инфекции ложится серьезным экономическим бременем на здравоохранение [239]. Стоимость терапевтического лечения одного больного с таким диагнозом намного выше, чем выполнение первичного эндопротезирования [6; 90; 183; 204; 270; 293].

1.2 Патогенез перипротезной инфекции

ППИ специфично для эндопротезирования вне зависимости от путей проникновения возбудителя, которые могут быть разными: непосредственное прямое проникновение возбудителя во время хирургического вмешательства; контаминации раны в раннем послеоперационном периоде; гематогенное попадание возбудителя из отдаленных очагов хронической инфекции в организме, реактивации скрытой инфекции в суставе и т.д. [2; 52].

Специалисты предполагают, что в большинстве случаев (примерно 80%) инфекционные осложнения возникают в результате образования биопленок. Считается, что главными особенностями ППИ являются наличие абиогенного компонента, способного адсорбировать на своей поверхности бактерии, развитие необычной формы бактериальной колонизации,

заканчивающееся формированием биопленки. И в современной медицинской практике образование микробных биопленок на поверхности различных медицинских устройств, в частности, на медицинских имплантатах создает серьезные проблемы [17;95; 110].

В принципе, бактериальные биопленки имеют важное значение для человеческого организма. Биопленки нормальной микробиоты человека на поверхности различных органов и тканей защищают организм от вторжения и развития сторонней и патогенной микрофлоры. Однако при ослаблении иммунной системы, например, в ходе осуществления медицинского вмешательства в организм человека, может произойти возникновение вторичных инфекций (сопутствующих инфекций), вызванных бактериями из окружающей среды или нормальной микрофлоры человека [264].

Биопленка представляет собой колонию микроорганизмов, имеющую пространственную и метаболическую структуру и образуется из отдельных планктонных клеток микроорганизмов, погруженных в самостоятельно продуцируемую матрицу внеклеточных полимерных веществ, состоящую из полисахаридов и белков [135]. Биопленка прикрепляется на различных поверхностях (субстратах): абиотических и биотических. Процесс ее формирования и развития начинается с адгезии микроорганизмов из окружающей среды к поверхности субстрата. Далее происходит фиксация микробных клеток, выделяющих экстраклеточные вещества. Внеклеточный матрикс защищает биопленку от внешних воздействий. Существование микроорганизмов в форме биопленок обозначается как sessильная форма, которая является эффективной защитной стратегией микроорганизмов. Таким образом, биопленка является формой существования микроорганизмов, живущая на различных поверхностях и проявляющая новые свойства в отличие от микроорганизмов, существующих в планктонной форме. В глубоких слоях биофильма создается благоприятная среда для развития анаэробной микрофлоры. Далее при ее увеличении или под влиянием внешних воздействий ее части отрываются от поверхности

имплантата, происходит диссеминация процесса, приводя к хронизации инфекционного процесса [95; 110; 135].

Адгезия бактерий к поверхности происходит следующим образом:

– физико-химическое взаимодействие непосредственно между поверхностью эндопротеза и бактериями за счет сил поверхностного натяжения, водородных связей, электростатического поля, сил Ван-дер-Ваальса и т.д.;

– взаимодействие бактерий с белками организма хозяина (коллаген, фибриноген), располагающимися на поверхности эндопротеза сразу после их имплантации [214].

Возникновение инфекционных осложнений в ортопедической имплантологии во многом связывают со способностью микроорганизмов, в частности представителей рода *Staphylococcus* (включая метициллин-чувствительные (*MSSA*) и метициллин-резистентные (*MRSA*) штаммы), образовывать на поверхности эндопротезов биопленки [214].

Существует определенная связь между типом возбудителя и видом протеза, обусловленная склонностью микробов к адгезии к тем или иным инородным материалам, находящимся в организме пациента. Так, в области металлических частей имплантата инфекция чаще вызывается золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), в зоне полимерных – эпидермальным стафилококком (*Staphylococcus epidermidis*). На микробную адгезию влияют характеристики поверхности, такие, как шероховатость, пористость, гидрофильность и др.[103].

Сессильной форме микроорганизмов свойственна устойчивость к воздействию иммунной системы и антибиотикорезистентность. Механизмы устойчивости сессильных форм до сих пор не до конца исследованы. В настоящее время имеются многочисленные работы, посвященные изучению разных механизмов устойчивости: сниженной проницаемости биопленок; структуре полимерного матрикса, связывающего антибиотики; анаэробным условиям, ограничивающим пролиферацию бактерий в составе биопленки и

т.д. Результаты всех исследований приводят к тому, что консервативная тактика антибиотикотерапии при ППИ бесперспективна. Концентрация антибиотиков, которая достигается с помощью системного введения, может обеспечить эрадикацию бактерий только в планктонной форме. Когда уже имеются адгезированные формы бактерий, требуются высокие концентрации антибиотиков, превышающие минимальную ингибирующую концентрацию в 10^3 раз [266]. Такие концентрации антибиотиков невозможно обеспечить их системным введением без токсических эффектов на организм [47].

В работе Романо и др. [258] авторы исследования считают, что современные методы профилактики инфекций, связанных с имплантатом, должны быть направлены на ингибирование бактериальной адгезии, и, следовательно, образование биопленки. Доступные в настоящее время профилактические меры, хотя и частично эффективны в борьбе с ППИ, но не учитывают патогенез инфекции, связанной с образованием биопленки [92; 228; 313]. Важно отметить, что любая антибактериальная и антибиопленочная защита должна быть «запущена в действие» именно во время оперативного вмешательства, либо, по крайней мере, в течение нескольких часов после нее, поскольку бактериальная колонизация, от микробной адгезии до сформировавшегося зрелого слоя биопленки, занимает всего несколько часов [137; 154; 280; 188].

Местная антибактериальная защита имплантата может быть достигнута различными способами. В своей работе Романо и соавторы [258] классифицировали методы получения антибактериальных защитных покрытий эндопротезов на три основные группы согласно их механизму действия:

- пассивная обработка/модификация поверхности, включающая в себя возможные химические и/или физические изменения поверхности эндопротеза, приводящие к существенному изменению его восприимчивости к бактериальной колонизации (направленные на предотвращение или

уменьшение бактериальной адгезии), без высвобождения бактерицидных агентов в окружающие ткани;

- активная обработка/модификация поверхности. Имеются в виду покрытия, содержащие антибиотики, антисептики, ионы металлов или другие органические и неорганические соединения, действие которых обусловлено высвобождением антибактериальных средств в окружающие ткани;

- препараты, наносимые во время операции на имплантат или вокруг него (зарубежом известен препарат *DAC[®]* (*Novagenit Srl, Mezzolombardo, Italy*), отсутствующий в РФ) [115: 24 1].

Возможным альтернативным решением рассматривается применение биосовместимых гидрогелей в качестве периоперационных антибактериальных носителей, демонстрирующих способность доставлять фармакологические субстанции и соответствующие желаемой схеме элюирования [232].

Относительно недавно на европейском рынке было представлено быстро рассасывающееся гидрогелевое покрытие, в которое интраоперационно могут быть добавлены различные антибактериальные препараты [241]. Гель - «*Defensiv Antibacterial Coating*», *DAC[®]* (*Novagenit Srl, Mezzolombardo, Italy*) состоит из ковалентно связанных гиалуроновой и полимолочной кислот и *in vivo* разлагается в течение 48-72 ч, полностью высвобождая добавленные антибактериальные препараты, такие как ванкомицин и гентамицин в концентрациях от 2% до 10 % [115]. *DAC[®]* позиционируют как временный барьер, подавляющий начальные стадии бактериальной колонизации, которые затем приводят к образованию биопленки. Применение такого покрытия описывают как краткосрочную местную защиту имплантата, имея в виду, что бактериальная колонизация происходит в течение самых первых часов после имплантации, для предотвращения ППИ краткосрочная профилактика может быть настолько же эффективной, как и долгосрочная [152]. Однако, на российском рынке

препарат не зарегистрирован, а сами полимерные составляющие медицинского изделия не производятся вовсе.

Таким образом, особенностью патогенеза ППИ, имеющей серьезное влияние на эффективность лечения воспалительного процесса, является факт адгезии микроорганизмов на поверхности эндопротеза с формированием биопленки. Доступные в настоящее время профилактические меры, хотя и частично эффективные в снижении риска развития ППИ, не учитывают патогенез инфекции, направлены на эрадикацию планктонных форм бактерий, и, показатели инфекционных осложнений по-прежнему остаются высокими, особенно у пациентов в группе риска.

Для профилактики и лечения имплантат-ассоциированных инфекций необходимо обеспечивать не только антимикробную терапию, но и защитить эндопротез от колонизации бактериями, то есть одновременно создать пролонгированную антимикробную и антибиопленочную защиту. Изменения в тактике лечения ППИ должны быть направлены на предотвращение образования sessильной формы существования бактерий путем создания физико-химического барьера между поверхностью протеза и возбудителями инфекции [12].

1.3 Лекарственные средства, эффективные в отношении возбудителей ППИ

Рациональное применение антибактериальных препаратов при лечении ППИ до настоящего времени остается нерешенной задачей для специалистов в области травматологии и ортопедии. Недостаточная эффективность системной антибиотикотерапии, в большинстве случаев, связана с низкой проницаемостью фармацевтических субстанций в костную ткань, устойчивостью возбудителей имплантат-ассоциированных инфекций, как в планктонной, так и в sessильной форме, к применяемым препаратам [6].

На сегодняшний день стандартным лечением ППИ считается двухэтапное хирургическое лечение, при котором после удаления инфицированного эндопротеза и санации очага воспаления устанавливается спейсер, импрегнированный антибиотиком [38].

В современной научной литературе многие авторы поддерживают применение гентамицина для профилактики и лечения послеоперационной раневой инфекции [108;109;114;123;126;149;158; 174; 179;199; 243; 245; 249].

Помимо гентамицина (или тобрамицина) в настоящее время для локальной антимикробной терапии ППИ применяется широкий ряд антибактериальных препаратов: ванкомицин, цефазолин, цефуроксим, цефтазидим, цефотаксим, цефтаролин, ципрофлоксацин, клиндамицин, эритромицин, колистин, пиперациллин/тазобактам, азтреонам, тазобактам, линезолид, меропенем, даптомицин, амфотерицин и вориконазол [7].

При профилактике и лечении ППИ серьезную угрозу представляет появление возбудителей-микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью к широкому спектру антибиотиков. Поэтому важно найти новые способы применения уже известных антибиотиков, например, применить препараты в комбинации, что также даст возможность «перекрыть» широкий спектр возможных возбудителей. В последнее время в клинической практике особое внимание уделяется фосфомицину, как средству борьбы с ППИ в комбинации с другими антимикробными препаратами [211].

Недавние исследования в условиях *in vitro* показали хорошую активность фосфомицина в отношении 120 клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью [76, 89].

Фосфомицин оказывает сильное и быстро наступающее бактерицидное действие. Механизм его действия основан на ингибировании начальных этапов синтеза клеточной стенки как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [211].

Фосфомицин хорошо распределяется в тканях, достигая клинически значимых концентраций в сыворотке крови, почках, стенке мочевого пузыря, простате, легких, воспаленных тканях, костях, спинномозговой жидкости, жидкости абсцесса и сердечных клапанах [139; 163; 189; 205; 269]. Является высоко активным в отношении стафилококков, в том числе и метициллинорезистентных и может использоваться в комбинации с другими классами антибиотиков для лечения инфекций кожи, мягких тканей, костей и суставов [75; 81; 83; 203; 253].

Основные работы по исследованию свойств фосфомицина были проведены в конце 1990-х и в начале 2000-х годов, с выявлением уникального механизма его действия, обеспечивающий синергетический эффект с другими антибиотиками, включая бета-лактамы, аминогликозиды и фторхинолоны [148; 229; 230]. По имеющимся данным, фосфомицин может разрушать биопленки, повышая проницаемость других антибиотиков [96; 184; 212; 215; 257]. Эффективность комбинации фосфомицина со вторым антибиотиком против *Staphylococcus aureus* была оценена *in vitro* и *in vivo* [133; 176; 210; 255; 267; 307]. В этих исследованиях была продемонстрирована синергетическая бактерицидная активность фосфомицина при комбинировании с разными антибиотиками, такими как даптомицин, оксацилин, спарфлоксацин, доксициклин, левофлоксацин, рифампицин и ванкомицин, в отношении метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* [133; 176; 210; 255; 267; 307].

Фосфомицин, как двухосновная фосфоновая кислота, рис. 1.1, может взаимодействовать с металлической поверхностью эндопротеза, которая в основном представляет собой сплав на основе титана. Взаимодействие между ними приведет к образованию стабильных фосфонатных связей, рис. 1.2 [271].

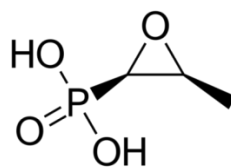


Рисунок 1.1. – Структурная формула фосфомицина

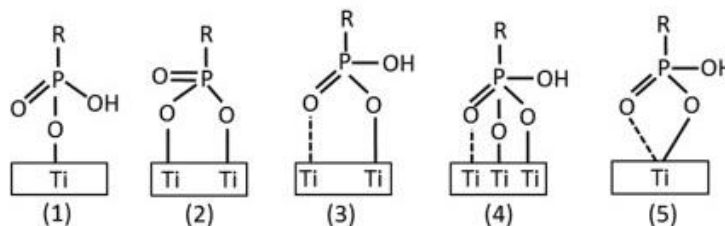


Рисунок 1.2. – Вероятные способы связывания титана с фосфоновой кислотой: (1) монодентатный, (2) и (3) мостиковый бидентатный, (4) мостиковый тридентатный и (5) хелатный бидентатный.

В ряде исследований показано, что благодаря такому взаимодействию можно получить биологически функционализированную титановую поверхность [237; 246; 271].

В работе Божковой С.А. и соавторов проведен мониторинг ведущих возбудителей ППИ и их чувствительности к антибиотикам ванкомицин, фосфомицин и гентамицин: «Согласно результатам проведенного мониторинга в РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2013–2014 гг. основными патогенами были представители семейств *Staphylococcaceae* (57,6%) и *Enterobacteriaceae* (10,1%). Среди *Staphylococcaceae* 59,3% штаммов составили *Staphylococcus aureus*, из которых 21,8% были MRSA.

Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* значимую роль играли *Klebsiella pneumoniae* (36,1%) и *Escherichia coli* (12,1%). Анализ чувствительности штаммов *Staphylococcus aureus* к антибиотикам показал, что все, включенные в исследование изоляты *Staphylococcus aureus*, были чувствительны к ванкомицину (МПК ≤ 2 мг/л). К фосфомицину были чувствительны 100% штаммов MSSA и 88,5% штаммов MRSA, к

гентамицину — 96,8% штаммов MSSA и 21,9% MRSA. В ходе работы была проанализирована чувствительность 19 штаммов *Escherichia Coli* к гентамицину и фосфомицину. Согласно полученным данным, гентамицин был активен в отношении 63,2%, а фосфомицин — в отношении 100% изолятов *Escherichia Coli* (МПК \leq 32 мг/л). Полученные данные по чувствительности фосфомицину штаммов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, свидетельствуют о высокой активности данного препарата в отношении широкого спектра возбудителей, что позволяет сделать предварительный вывод о возможности дальнейшего исследования фосфомицина как альтернативы ванкомицину для дополнительной импрегнации гентамицинодержащего костного цемента на основе полиметилметакрилата (ПММА)» [7].

Таким образом, анализ научной литературы приводит к тому, что комбинация двух антибиотиков широкого спектра действия – гентамицина, как хорошо зарекомендованного себя в клинической практике, и фосфомицина может быть перспективной для профилактики и лечения ППИ, так как их сочетание может «перекрыть» довольно широкий спектр возможных возбудителей ППИ. Исследования в этом направлении ранее не проводились [230; 245].

1.4 Современные медицинские изделия и полимерные материалы для профилактики и лечения ППИ

Лечение ППИ после эндопротезирования тазобедренного сустава остается одной из самых актуальных и спорных тем, и до сих пор не существует единого стандартного подхода к ее лечению [34; 106; 164]. На современном этапе оптимальным методом лечения имплантат-ассоциированной инфекции считается комбинация медикаментозной терапии, радикального хирургического лечения (удаление всех компонентов импланта) и установки цементного спейсера с антибиотиками [36; 40].

Спейсеры на основе ПММА с антибиотиками используются с целью достижения удовлетворительных результатов и устанавливаются в период между saniрующей операцией с удалением компонентов эндопротеза и повторной его установкой. Эффективность локального использования антибиотиков в составе костного цемента при лечении ППИ, считается общепризнанной [18; 27; 173]. В данном случае спейсер должен выполнять одновременно две функции: с одной стороны, как временный эндопротез, позволяет сохранить опороспособность и подвижность конечности, а с другой стороны, элюирует антибиотики, выполняя роль носителя лекарственных препаратов. Также костный цемент с антибиотиком применяется для профилактики и лечения послеоперационных инфекционных осложнений опорно-двигательной системы. В данном случае костный цемент применяется для изготовления активного антибактериального покрытия интрамедуллярных штифтов [19; 247]. Это первый пример антибактериального «покрытия», которое уже много лет используется в ортопедии и травматологии. Клинические исследования показали, что костный цемент с добавлением антибиотиков в сочетании с системным введением антибиотиков [127], может снизить частоту глубокой инфекции при цементированных тотальных эндопротезах тазобедренного сустава. Такое решение считается эффективным и экономически обоснованным, особенно у пациентов с высоким риском развития инфекции [121; 145]. Однако изначально применение ПММА в качестве костного цемента не предусматривало добавление в него антибиотиков и может иметь некоторые ограничения, в частности, ПММА может не предупредить образование биопленки и может стать причиной развития устойчивости бактерий к антибиотикам. Также со временем этот вариант становится возможным только для ограниченного числа пациентов, так как во всем мире все больше и больше используются бесцементные имплантаты, особенно в области тазобедренного сустава [222; 290].

Доступные на фармацевтическом рынке РФ спейсеры бывают преформированные и динамические. Преформированные имплантаты производятся в заводских условиях. Такие спейсеры отличаются высокой однородностью базового материала и равномерным распределением антибиотика по всему его объему. В них соблюдается точная пропорция компонентов. К недостаткам преформированных имплантатов относится их высокая стоимость и невозможность индивидуального подбора антибиотиков (или их комбинаций). Динамические спейсеры изготавливаются из костного цемента непосредственно во время операции. В настоящее время выпускаются промышленные наборы для их изготовления, состоящие из специальной формы, дозы костного цемента и растворителя. Применение динамических эндопротезов позволяет добавлять в цементную смесь нужное количество антибиотика, который соответствует характеру и чувствительности возбудителя. Антибиотики предварительно смешиваются производителем или добавляются хирургом в операционной. Наиболее распространенным материалом для костного цемента, используемым сегодня в ортопедической хирургии, является ПММА. Затвердевание цементной смеси на основе ПММА происходит в течение нескольких минут, и, добавленное лекарство остается в плотной стекловидной массе. Включение антибиотиков в системы такого типа ограничивается их способностью противостоять теплу, выделяемому при смешивании компонентов цементной смеси, которое может достигать до 82 – 86 °С [169]. Эта температура может влиять не только на физико-химические свойства, биологическую активность фармацевтических субстанций, но и значительно превышать критический уровень для денатурации белка в организме и может вызывать повреждение окружающих костных клеток, а также тканей [122]. Сегодня в РФ зарегистрированы и используются костные цементы разных производителей из разных стран, в том числе и содержащие антибиотики, в частности, гентамицин (в количестве 1,2 масс. %) и ванкомицин. Некоторые из них приведены в табл.1.1.

Таблица 1.1 – Зарегистрированные в РФ торговые марки костного цемента с антибиотиком

Наименование	Номер РУ на МИ	Производитель	Антибиотик в составе
Synicem	ФСЗ 2012/11776 от 25 июля 2018	SYNIMED, Франция	Гентамицин
Palacos	ФСЗ 2009/05566 от 06.10.2014	HeraeusMedicalGmbH , ФРГ	Гентамицин
DePuyCMW G	ФСЗ 2008/02531от 30.04.2019	"ДеПью Айрленд Анлимитед Компани", Ирландия	Гентамицин
VANCOGENX	ФСЗ 2017/5696 от 26.04.2017	TECRES, Италия	Гентамицин, Ванкомицин
SPACER-G			Гентамицин
CemexGenta			Гентамицин
CERAFIXGENTA	ФСЗ 2009/03982 от 07.04.2009	CERAVER, Франция	Гентамицин

Широкое применение гентамицина и ванкомицина в спейсерах обусловлено термостойкостью (плавление гентамицина происходит в температурном диапазоне 102-108 °С, плавление ванкомицина –185-188 °С) и хорошей проникающей способностью в костную ткань [316]. Активное высвобождение антибиотика происходит на начальном этапе после имплантации спейсеров в течение первых суток. Дальше наблюдается медленное неэффективное «неполное» высвобождение. Ряд исследований показал, что из цементного спейсера в конечном итоге высвобождается менее 10 % добавленного лекарственного средства [316]. Применение этих

«низкодозированных» костных цементов ограничивается случаями ревизии сустава после устранения активной инфекции. Они больше подходят в качестве профилактической меры, чем для лечения инфекции, которое потребует ручного смешивания более высоких доз различных антибиотиков с цементом, чтобы местно достичь высоких доз антибиотиков, которые не возможно обеспечить их системным введением. Непосредственное введение антибиотиков в рану также неэффективно ввиду их быстрого рассасывания в окружающие имплантаты ткани и высоких скоростей метаболизма. Высвобождение антибиотиков из спейсера происходит методом диффузии через поры цемента, поэтому на процесс элюации влияют механические характеристики цемента, такие как пористость, вязкость [238]. Ручное смешивание дополнительных антибиотиков в костный цемент с низкой дозой антибиотика до значений примерно 20% значительно улучшает исход антибактериальной терапии, однако введение дополнительного препарата может привести к нежелательному «ослаблению» костного цемента вследствие увеличения пористости [118]. Считается, что биологическая жидкость в процессе «вымывания» антибиотика из спейсера в нем может создавать пустоты – «каналы элюирования», которые, с одной стороны, будут обеспечивать более эффективное высвобождение антибиотика из глубоких слоев спейсера, а, с другой стороны, повлияют на необходимую механическую прочность цемента. Добавление антибиотиков в цемент вручную, изменяет гарантированные производителем характеристики материала, и результат может быть непредсказуем [6].

Несмотря на то, что костные цементы на основе ПММА не лишены недостатков, их применение в ортопедии и травматологии в качестве матрицы для доставки антибактериальных препаратов в очаг воспалительного процесса пока является решением для лечения и профилактики ППИ, поскольку они являются единственным вариантом, зарегистрированным в РФ и одобренным FDA [162; 221].

Среди имеющихся недостатков можно также подчеркнуть небиodeградируемость материала, что делает неизбежной вторую операцию по удалению установленного спейсера. Кроме того, со временем на поверхности спейсера не исключено образование биопленки, что приведет к неизбежному преждевременному удалению спейсера с повреждением костной ткани [117].

В настоящее время внимание уделяют также развитию биodeградируемых материалов. Среди таких средств для местной антибактериальной терапии внимание привлекают гемостатические коллагеновые губки с антибиотиком, в частности с гентамицином. Гентамицин-содержащая коллагеновая губка на фармацевтическом рынке известна под торговыми названиями *Collatamp[®] EG (Innocoll GmbH, Germany)*, *Syntacoll (AG, Switzerland)*, *Sulmycin[®]-Implant (Schering-Plough, USA)*, *Septocoll[®] (Biomet Merck, Germany)*, *GENTA-COLL resorb[®] (RESORBA Medical GmbH, Germany)*, из которых в РФ зарегистрированы только *Collatamp[®] EG* и *GENTA-COLL resorb[®]* [62].

Несмотря на то, что основная функция гентамицин-содержащих коллагеновых имплантатов заключается в аппликации на область паренхиматозного/капиллярного кровотечения, локализованного в участках с высоким риском проникновения инфекции для обеспечения местного гемостаза и уменьшения риска развития локальной инфекции, ряд исследований показали потенциальную эффективность и безопасность профилактического использования гентамицин-содержащего коллагена для снижения послеоперационных инфекционных осложнений [126; 179; 249; 108; 109; 114; 158; 174; 199]. Имплантаты были введены перед ушиванием раны для создания высоких локальных концентраций гентамицина в послеоперационной ране без воздействия на весь организм [9; 199].

Благодаря тому, что в своем составе коллагеновые имплантаты содержат гентамицин – антибиотик широкого спектра действия, они нашли успешное применение почти во всех областях хирургии [108; 109; 114;

123;126; 158; 174; 179; 199; 243; 249]. Применение гентамицин-содержащих коллагеновых имплантатов оправдало себя в гнойной хирургии для лечения инфекционной язвы диабетической стопы [126], в кардиохирургии, сосудистой, коло-ректальной и желудочно-кишечной хирургии и для снижения риска развития раневой инфекции после операций [114; 179; 249], а также в ортопедии и травматологии [9; 99; 174; 197;292], где первые экспериментально-клинические исследования коллагеновой губки на примере *Collatamp EG* были проведены вначале 1990-х годов при лечении острого и хронического остеомиелита, имплантируя ее в полость, образовавшаяся после удаления инфицированной костной ткани [77;78; 88; 131; 159; 186; 190; 299]. По мнению исследователей, использование гентамицин-содержащей коллагеновой губки в ряде ортопедических хирургических вмешательств с целью профилактики послеоперационных осложнений и при лечении остеомиелита положительно влияло на процесс заживления ран и значительно улучшало клиническую картину [9; 99; 197; 292].

В другом исследовании гентамицин-содержащая коллагеновая губка была применена при выполнении тотального эндопротезирования у больных с высоким риском развития перипротезной инфекции в качестве дополнительного средства локальной антибиотикопрофилактики [9]. В работе А. Б. Бут-Гусаима и соавторов на клиническом примере представлены особенности применения и эффективность препарата *Collatamp® EG* для профилактики развития перипротезной инфекции: «В ходе операции губка *Collatamp® EG* размером 10×10 см была продольно разделена на 2 части, после этого из одной половины сформированы более мелкие кусочки, половина которых после разработки сферическими фрезами помещена на дно вертлужной впадины. Далее установлен вертлужный компонент эндопротеза. Оставшейся половиной губки произведено обертывание бедренного компонента эндопротеза в области дистальной (полированной) части. После установки эндопротеза оставшиеся мелкие кусочки губки равномерно

размещены в мягких тканях. Результат через 1 год был признан отличным, признаки развития ППИ не были выявлены» [9].

По мнению многих авторов, материалы на основе коллагена в качестве носителя антибиотиков при лечении остеомиелита могут быть более эффективны, чем ПММА [88, 209]. Тем не менее, в настоящее время коллаген в виде губки обычно применяется в лечении ран и раневых инфекций мягких тканей, хотя в эксплуатационной документации *Collatamp*[®] *EG* и *GENTA-COLL resorb*[®] указано их предназначение для применения в ортопедии для лечения острых и хронических инфекций костной ткани. Однако их использование для рутинной профилактики инфекционных осложнений, таких как ППИ, ограничено целым рядом недостатков: недостаточной эффективностью *in vitro*, *in vivo*, невозможностью наносить их в качестве покрытия на все поверхности имплантатов, и возможным влиянием на первичную фиксацию имплантата [6].

Поскольку коллаген имеет животное происхождение (в основном материал получают из кожи или сухожилий животных), главным его недостатком считается высокая иммуногенность [124], которая может стать причиной развития выраженного локального воспаления, препятствующим заживлению послеоперационной раны [288]. Также, следует отметить, что биодegradация коллагена происходит неравномерно, что является причиной неконтролируемой элюации антибиотика. Исследование кинетики высвобождения гентамицина из коллагена показало, что 95% гентамицина элюируется из коллагена за первые 1,5 часа, приводя к высоким локальным концентрациям до 3800 мг/мл, которые через 24 ч резко снижаются до 6,9 мг/мл [206; 276; 292]. Во избежание перечисленных недостатков для локальной антибиотикотерапии в ортопедии и травматологии не рекомендуется использование коллагена в чистом виде. На его основе создаются композитные материалы, в которых удается достичь замедленного высвобождения антимикробных препаратов и снизить иммуногенность [273; 281; 288].

1.5 Роль ПВП в создании медицинских изделий и лекарственных средств

В борьбе с воспалительным процессом в области хирургического вмешательства важны не только выбор антибиотиков, но и форма их доставки. Как уже упоминалось выше, в настоящее время основными материалами, используемыми с целью профилактики и лечения ППИ в ортопедии и травматологии являются ПММА и коллаген, эффективность которых ввиду наличия существенных недостатков вызывает сомнения среди врачей-ортопедов [88; 288].

Разработка оптимальной системы доставки местной формы препарата является серьезной задачей для специалистов. Проблема заключается еще и в том, что такая форма не должна отторгаться иммунной системой пациента [147]. Биосовместимость — способность материалов выполнять свои функции не вызывая существенных негативных реакций в организме является общим требованием для всех материалов, в том числе и полимерных, применяемых в медицине. Они не должны вызывать местной воспалительной реакции; не должны оказывать токсического и аллергического действия на организм; не должны провоцировать развитие инфекции; при этом должны сохранять функциональные свойства в течение предусмотренного срока эксплуатации [64].

На сегодняшний день в клинической практике большим успехом пользуются полимерные гидрогели. Их уникальные физико-механические свойства и структура позволяют загружать в матрицу геля лекарственные препараты, последующее высвобождение которых зависит от окружающих условий, структуры и химического строения, как полимерной матрицы, так и лекарственных средств [102; 161].

Уже более пятидесяти лет гидрогели используются в области биомедицины [102; 113; 161; 220]. В 1955 году чешские ученые Лим и Вихтерле синтезировали первый гидрогель для биомедицинского применения. Это был синтетический поли-2-гидроксиэтил метакрилат,

использовавшийся вскоре после его открытия в производстве контактных линз [153; 226; 303]. Основным преимуществом этого «революционного» биоматериала была его стабильность при изменении pH, температуры и других внешних воздействий. Позднее, в 1980-х были получены новые модификации, набухающая гидратированная структура которых имитировала внеклеточный матрикс естественных живых тканей, обеспечивая благоприятную микросреду для клеток и биоактивных молекул [97; 141; 277]. Благодаря этому, с появлением и развитием тканевой и регенеративной инженерии, гидрогели заняли лидирующее место в исследованиях по восстановлению и регенерации различных тканей и органов, где они применяются неинвазивным способом [104; 141; 277; 286; 291].

Со временем область применения гидрогелей существенно расширилась вследствие раскрытия «новых» свойств, среди которых следует выделить то, что они легко принимают необходимую форму, предпочтительную для большинства имплантируемых материалов и устройств, реагируют на внешние воздействия. Это значит, что они могут подвергаться структурным, физическим, химическим или механическим изменениям в ответ на внешние воздействия, такие как температура, pH, ионная сила, свет, магнитные, электрические или механические сигналы, т.е. находятся в динамическом взаимодействии с окружающей средой и реагируют на них «умным» и контролируемым образом [208]. Кроме того, мягкая пористая микроархитектура гидрогелей способствует безопасной инкапсуляции и плавному переносу биологически активных веществ внутри геля, что делает их идеальными и незаменимыми средствами для создания систем доставки терапевтических средств при контролируемом высвобождении [69; 192].

В последние годы, с пересечением и слиянием биомедицины и материаловедения, появилось множество гидрогелевых систем [68], которые используются для доставки лекарств [98; 107, 192] и генов [306], в качестве биосенсоров [120, 168], а также для биовизуализации [193] при проведении

точной диагностики лечения различных заболеваний, таких как рак [132;156], инфекции [196], диабет [140] и ревматоидный артрит [171]. Немаловажно и их широкое применение в качестве мукоадгезивов и биоадгезивов [240] и при заживлении ран [231]. Следует также отметить, что мягкая текстура гидрогелей уменьшает воспалительные реакции окружающих тканей, что улучшает их биосовместимость [309].

Таким образом, со временем, гидрогели превратились из традиционных материалов в «умные», а в области биомедицины продолжают оставаться на пике интереса ученых, разрабатывающих медицинские изделия нового поколения [309; 311].

Гидрогель представляет собой трехмерную (3D) сеть гидрофильных полимеров, способных набухать в воде и удерживать большое количество воды или аналогичной биологической жидкости (в тысячи раз больше сухого веса полимера), сохраняя при этом структуру за счет химического или физического сшивания отдельных полимерных цепей, что придает им характеристики, близкие к свойствам мягких тканей человеческого организма [311].

Несмотря на то, что содержание воды в гидрогелях может составлять от нескольких процентов до 90 % и более, гидрогели сохраняют свойства твердых тел [157; 187; 223]. Такая структура характеризуется присутствием поперечных связей между полимерными цепями, предотвращающими их растворение. Образование «сеточной» структуры можно подтвердить с помощью реологических методов исследования, так как растворы гидрофильных полимеров в низких или средних концентрациях, в которых не происходит значительное «запутывание» цепей, обычно проявляют «ньютоновское» поведение, тогда как по мере образования поперечных связей между полимерными цепями, полученные сетки проявляют вязкоупругое поведение. Более того, чем больше поперечных связей, тем выше эластичность и вязкоупругость гидрогелевого полимера [85; 125; 151].

По типу сшивания гидрогели могут быть химически сшитыми («термонеобратимыми») или физически сшитыми («термообратимыми») [42; 57; 63]. Гидрогели первого типа могут быть получены в результате набухания предварительно сшитого полимера, в процессе трехмерной полимеризации или сшиванием олигомеров по концевым реакционноспособным группам в среде растворителя. По последним двум способам реакции химического сшивания протекают с помощью «сшивающих» агентов с образованием ковалентных связей (узлов) между полимерными цепями сшивающими агентами под влиянием внешних воздействий [312], таких как высокая температура, высокоэнергетическое излучение и т.д. [70; 272]. Реакции физического сшивания осуществляются как правило в растворах полимеров дифильного строения, макромолекулы которых содержат группы двух типов – сильно взаимодействующие с растворителем и взаимодействующие в большей степени друг с другом. Последние и образуют узлы сетки на молекулярном уровне [49; 57] за счет физических взаимодействий, таких как зацепление между макромолекулами, образование водородных связей между боковыми группами макромолекул, сил Ван-дер-Ваальса, образование ионных и ионо-координационных связей [70; 74; 100; 272].

Каждый метод получения гидрогелей имеет свои преимущества и недостатки. Основным недостатком физически сшитых гидрогелей является их низкая стабильность в физиологических условиях. Поэтому химическое сшивание является в ряде случаев альтернативным решением [274]. В отличие от физически сшитых, гидрогели, полученные химическим сшиванием, в физиологических условиях демонстрируют более высокую стабильность с хорошими механическими характеристиками благодаря наличию ковалентных связей между полимерными цепями. Однако, возникают много опасений по поводу биосовместимости из-за необходимости в использовании органических катализаторов и растворителей при химическом сшивании для инициирования процесса [157].

Очень часто трудно собрать все характеристики в одном биоматериале, чтобы выполнить основные требования для желаемого клинического применения. Одним из популярных полимеров, используемом в качестве основы гидрогелей, является поливинилпирролидон (ПВП), представляющий собой синтетический полимер, который при действии различных внешних воздействий подвергается сшиванию с образованием гидрогелей [86].

Гидрогели на основе сшитого ПВП в основном синтезируются с использованием γ -облучения [71;80;86;119;136;143;166;167;201;217;224;233;259;298;310], воздействия электронных пучков [73; 207], УФ-фотосшивания [82; 84; 101; 111; 116; 129; 130; 198; 254; 295; 314], замораживания-оттаивания [224; 308], метода влажно-термической обработки и др. [260 – 263].

Имеется ряд работ, посвященных к изучению возможности получения композитного материала на основе ПВП термической обработкой его раствора в этаноле, где показано, что при нагревании в температурном диапазоне 150 – 250 °C на час происходит сшивание. Чем выше температура, тем выше степень сшивки полимера [305;315].

Шейрс и соавторы, изучив механизм сшивания ПВП под воздействием температуры, обнаружили, что радикальная реакция, образующая связи между цепями макромолекул, происходит при 120 °C в течение 24 часов. Радикальная реакция инициируется остаточной перекисью водорода, используемой при производстве ПВП [268].

Метод термического сшивания ПВП часто применяется при получении репеллентных покрытий для изделий биомедицинского назначения. Так, Тэлфорд с коллегами [284] приготовили противоположающиеся покрытия из сшитого ПВП путем центрифугирования спиртового раствора ПВП на подложках из кремниевых пластин и последующего термического отжига пленок без использования сшивающих агентов. Ниже температуры термического разложения ПВП (250°C) скорость сшивания с повышением температуры увеличивалась. ПВП полностью сшивался при термической

обработке в течение 1 часа при 200°C. Позднее ученые из Китая Тани др. доказали возможность проведения сшивки ПВП методом термической обработки в водном растворе в аналогичных условиях [283].

Многими авторами предложены гидрогели ПВП с биомедицинским назначением, полученные радиационным методом, считающимся простым, эффективным, чистым и экологически безопасным процессом. Применение радиации при формировании гидрогелей для биомедицинских целей дает уникальную возможность совместить формирование и стерилизацию продукта на одном технологическом этапе. Обычно при применении радиационного метода гели получают из раствора полимера, так как получение из сухого полимера имеет ряд недостатков. Это может потребовать специальной подготовки образцов (например, прессования или плавления), могут возникнуть трудности при получении однородных макроскопических гелей, потребуется гораздо более высокие дозы облучения по сравнению с облучением в растворе, и, кроме того, удаление из полимера кислорода, способствующего нежелательным побочным реакциям, будет трудно. Одной из причин высоких доз гелеобразования в сухом состоянии является то, что в водном растворе возможность образования радикалов обычно выше, чем в сухом полимере. Также в сухом полимере движение макромолекул, несущих радикалы, ограничено, что снижает эффективность сшивания [259].

В работе Бенамер и соавторов гидрогели были получены из водных растворов ПВП концентрацией 3 – 15 % при облучении источником ^{60}Co дозой 3 – 30 кГр. По мнению авторов в отсутствие кислорода в растворе процесс сшивания протекает более эффективно, чем в его присутствии. Кислород способствует разложению полимера под влиянием облучения. Но если облучение выполняется в плотно закрытых емкостях, то после начального периода, когда преобладает деградация полимера, кислород расходуется, после чего преобладает гелеобразование [86].

В ряде исследований Каплан и соавторов также гидрогели получили из водного раствора ПВП (содержание ПВП 6%) с применением γ -облучения (доза облучения 24 – 124 кГр). Авторы установили, что с увеличением дозы облучения и концентрации ПВП содержание гель-фракции и плотность сшивки увеличиваются. При этом степень набухания максимальна при малых дозах облучения, когда в полимерной сети присутствует относительно небольшое число межмолекулярных связей, и уменьшается с увеличением дозы [166].

Мута и соавторы получили гидрогель ПВП из 12% раствора ПВП при облучении дозой 150 кГр [217].

Благодаря совместимости с тканями и тканеподобной консистенции гидрогели ПВП перспективны, но из-за относительно низкой механической прочности использование «чистых» ПВП гидрогелей ограничено [262; 296]. Опубликованы результаты многочисленных работ, когда ПВП смешивали с природными полимерами – агаром, целлюлозой и его производными, полиэтиленгликолем, для улучшения механических свойства [72; 86; 262; 296].

Для выполнения целей данной работы такая характеристика как относительно низкая механическая прочность ПВП гидрогелей наоборот – превращается из недостатка в преимущества, так как для антимикробного и антибиопленочного барьера, суть которого заключается в нанесении на поверхность имплантата тонкого слоя гидрогеля, нежелательно иметь высокую механическую прочность.

На фармацевтическом рынке по всему миру доступно множество коммерческих гидрогелей (содержащих ПВП) под разными торговыми названиями, например польская компания *Kikgel* поставляет гидрогелевую повязку *Neoheal*. Этот перевязочный материал является новым, нетрадиционным средством, облегчающим лечение и ускоряющим заживление различных видов ран, особенно: ожоговых ран, пролежней, всех видов повреждений кожи, при которых благоприятна влажная среда.

Гидрогелевые повязки *Neoheal* представляют собой водную композицию природных и синтетических полимеров, таких как: поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль и агар, сшитых воздействием электронных пучков [170].

В РФ с 2008 г. зарегистрировано медицинское изделие под названием «Средства перевязочные гидрогелевые стерильные «ЭКСАЛЕТ» для лечения ран и обработки кожи по ТУ 9393-001-79330255-2007» (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02479), являющееся антимикробным ранозаживляющим стерильным гидрогелем, эффективность которого базируется на синергетике 3-х водорастворимых полимеров: полигуанидин гидрохлорида (антисептик); ПВП (комплексообразующий) и гидроксиэтилцеллюлозы (загуститель). В этой системе ПВП в сочетании с соединением полигуанидина образует комплексы, обладающие пониженной токсичностью, выступая в качестве комплексообразующей матрицы, плавно отдающей антисептик и удерживающей воду. В отличие от низкомолекулярных соединений, антимикробное действие которых сохраняется всего несколько минут или часов, полимерная композиция «Эксалет» создает на поверхности пластифицированное биоцидное газопроницаемое покрытие, которое обеспечивает длительную (до 2-х суток) защиту обработанной поверхности от появления на ней микроорганизмов, при этом легко смывается водой [62].

В РФ разработано серебросодержащий бактерицидный препарат нового поколения – Повиаргол, представляющий собой металл–полимерную композицию, содержащую высокодисперсное металлическое серебро и полимерный стабилизатор ПВП. Клиническое изучение и применение Повиаргола проводились в ведущих медицинских учреждениях РФ, в том числе и научно-исследовательских институтах по травматологии и ортопедии. Его использовали для лечения гнойно-воспалительных осложнений. Согласно результатам установлено, что растворы повиаргола различной концентрации (0,1 – 5,0 %) обладают широким спектром антимикробного действия в отношении грамположительных и

грамотрицательных бактерий и весьма перспективно применяются для лечения гнойных ран [61].

Также под торговым названием «Повиаргол гель 1%» существует ветеринарный препарат, который применяют коровам и козам внутривенно для лечения клинических маститов, вызванных микроорганизмами, чувствительными к препаратам серебра.

В 2007 г. государственную регистрацию получили медицинские изделия, содержащие ПВП – полотно и повязки атравматичные антимикробные сорбционные «Биолен» по ТУ 9393-008-17777359-2007 в следующих исполнениях: "Биолен-П" на основе антимикробного льняного волокна с повиарголом; "Биолен-БП" на основе антимикробного льняного волокна с биопагом и повиарголом, предназначенные для оказания первой медицинской помощи при травматических повреждениях и лечении инфицированных ран (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01210) [62].

ПВП также используется в производстве таких медицинских изделий, как коронарные стенты с лекарственным покрытием. В 2020г. в Российской Федерации было получено разрешение на применение ультратонкого стента, элюирующего сиролimus *Supraflex Cruz*, с биоразлагаемым полимерным покрытием, в котором содержится ПВП (производства *Sahajan and Medical Technologies Pvt.Ltd.*, Индия, регистрационное удостоверение № РЗН 2016/4514)[62].

Таким образом, гидрогели на основе ПВП благодаря их простому формированию и меньшим затратам на производство, мягкости и эластичности являются оптимальными кандидатами для полимерных основ при изготовлении медицинских изделий [181].

В 1940-х годах первоначально ПВП использовали в качестве расширителя объема плазмы [93]. Позднее ПВП нашел свое применение в фармацевтике и биомедицине [180; 285].

На основе ПВП были разработаны низкомолекулярные, среднемолекулярные и высокомолекулярные препараты. Низкомолекулярные препараты ПВП могут содержать фракции с ММ до 45000 Да, среднемолекулярные – до 100000 Да и высокомолекулярные – до 150000 Да. Низкомолекулярные препараты применяют для дезинтоксикации. К ним относятся гемодез и неогемодез (Советский Союз), перистон-н (Германия), представляющие собой 6% водные растворы, содержащие хлориды (натрия, калия, кальция, магния), и неоконпенсан (Австрия), содержащий вместо солей 5% глюкозы; энтеродез (Советский Союз), используемый для перорального введения с целью связывания и выведения токсических веществ из желудочно-кишечного тракта при отравлениях, ряде инфекционных болезней и др. [10;11; 50; 53].

Препараты с молекулярным весом 25000 – 40000 – перистон (Германия) и конпенсан (Австрия) – широко применяли во время второй мировой войны в качестве противошоковых средств. Препараты с ММ 30000 – 60000 Да используют для пролонгации действия лекарственных средств, в основном анальгетиков и антибиотиков, так как будучи связанными с ПВП, они дольше удерживаются в организме, что позволяет удлинить сроки между их введением [8; 55; 56; 300].

ПВП используют также при изготовлении таблеток в качестве связывающего вещества, при замораживании крови как защитный компонент. ПВП, меченный радиоактивными изотопами трития или йода, применяют для изучения его распределения в организме, скорости его выведения, а также для диагностики нарушений проницаемости сосудистой стенки в гастроэнтерологии, клеточных мембран в гематологии, для количественного определения тока лимфы [300].

После появления ПВП среди биосовместимых полимеров, были проведены многочисленные исследования на различных моделях (на животных и людях) по определению его фармакокинетического и токсикологического профиля [256]. Поскольку представляющие интерес

области применения ПВП относились к медицине и фармацевтике, анализ его безопасности был необходимостью, и подробная информация была задокументирована в литературе. Как отдельные исследователи, так и регулирующие органы пришли к выводу, что использование ПВП безопасно как в качестве пищевой добавки, так и в качестве фармацевтического наполнителя. ВОЗ установила диапазон допустимых суточных доз от 0 до 50 мг/кг [301].

В ряде исследований было показано, что абсорбция, распределение, метаболизм и экскреция ПВП связаны с его молекулярной массой, частотой дозирования и способом введения [256]. Исследования по абсорбции полимера показали, что у людей и животных (крысы, кролики, морские свиньи) абсорбция ПВП в ткани отсутствует либо очень ограничена [256]. Это приводит к его накоплению в брыжеечных лимфатических узлах и поглощается ретикулоэндотелиальной системой по механизму пиноцитоза или фагоцитоза [150; 218; 244; 251]. Равин и соавторы, считают, что время удержания ПВП в ретикулоэндотелиальной системе пропорционально его молекулярной массе – более высокомолекулярный ПВП показал более длительное время удерживания. Причина может быть связана с недостаточной фильтрацией молекул большого размера в клубочках почечных капсул [251].

В результатах лабораторных исследований биологического материала (кровь и моча), отобранного у лабораторных животных и людей после внутривенного введения ПВП, не были найдены никаких доказательств метаболизма ПВП в биологической системе ни у животных, ни у людей [218; 256]. Выведение низкомолекулярного ПВП ($MM < 25000$ Да) при внутривенном и внутрибрюшинном введении происходит в основном через почки [218; 251; 256]. Препараты с MM 6000 – 12000 Да полностью выводятся почками за 3–24 часа, средне-молекулярные могут задерживаться в организме в течение нескольких месяцев, а фракции с MM свыше 150000 Да длительно задерживаются в тканях.

При пероральном введении ПВП не всасывается в кровь, а практически полностью выводится через кишечник, не оказывая раздражающего действия. Многими научными исследованиями было утверждено, что ПВП является биологически инертным, нетоксичным веществом и обладает хорошей переносимостью [218; 256; 300]. Многочисленные данные токсикологических исследований на животных, таких как крысы, свиньи, собаки и кролики, показали, что пероральный прием ПВП не вызывает острой, субхронической или хронической токсичности [256;150; 181; 218; 302]. В некоторых случаях при высоких дозах наблюдался крайне слабый эффект в виде диареи. Причина такого эффекта в осмотическом действии ПВП в высоких дозах, который действует как слабительное средство. Нет никаких доказательств токсичности с точки зрения клинической химии, гистопатологии и гематологии, за исключением диареи при его применении в высоких дозах. Небольшой уровень отложения перорально введенного ПВП в мезентериальных лимфатических узлах также не имеет токсикологического значения [256].

Согласно литературным данным, при пероральном введении ПВП (средняя молекулярная масса 40000 Да) ЛД₅₀ (полулетальная доза - доза вызывающая 50% летального исхода у испытуемого поголовья) превышает значение 100 г/кг, как у крыс, так и у морских свинок. Следовательно, ПВП не считается ни сенсibilизатором, ни раздражителем. Даже у людей не наблюдались побочные эффекты перорального применения ПВП [256].

Таким образом, ПВП индифферентен для организма, не расщепляется ферментами, из организма выделяется в неизмененном виде.

В настоящее время ПВП имеет применение в различных областях фармацевтики и медицины, рис. 1.3:

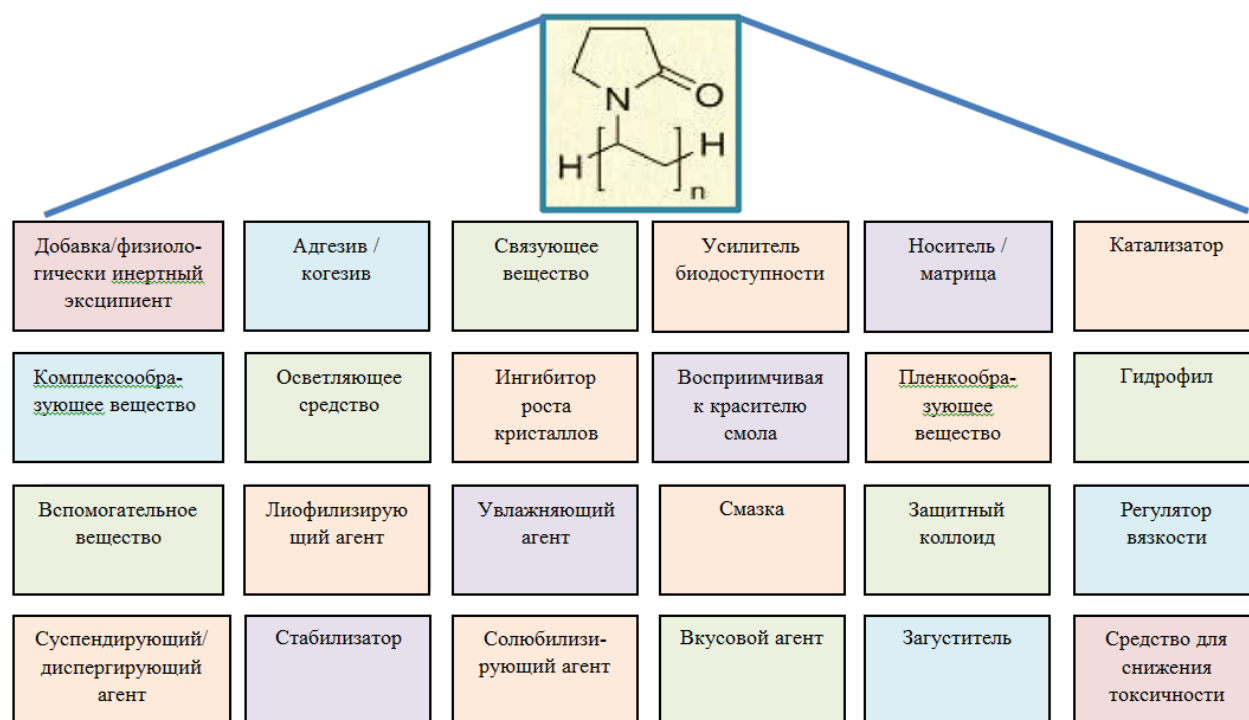


Рисунок 1.3 – Различные фармацевтические применения ПВП

Разнообразие применения ПВП в основном связано с его индивидуальными свойствами, в зависимости от молекулярной массы и пространственного строения. Например, скорость растворения ПВП обратно пропорциональна молекулярной массе, тогда как вязкость, комплексообразующая природа и адгезионная способность прямо пропорциональны молекулярной массе. Даже биологическая элиминация ПВП при парентеральном введении обратно пропорциональна его молекулярной массе. Следовательно, в зависимости от желаемого применения, необходимо выбрать ПВП с подходящей молекулярной массой.

ПВП используют в составе фармацевтических субстанций, начиная от обычных лекарственных форм (в качестве вспомогательного вещества) и заканчивая системами с контролируемым высвобождением, рис.1.4 [138; 181]:



Рисунок 1.4. – Традиционные лекарственные формы с ПВП

В производстве традиционных твердых лекарственных форм (таблетки, капсулы, гранулы) растворы ПВП используются в качестве связующего вещества при влажной грануляции в воде, спирте или смеси растворителей, так как хорошо растворимы в разных полярных растворителях, и его растворы характеризуются хорошими адгезионными свойствами. ПВП также используется в качестве сухого связующего при смешивании с порошковыми смесями в сухом виде, когда грануляция проводится *in situ* при смешивании с растворителем. Поскольку ПВП свободно растворим в водной среде, такой как желудочный сок, присутствие ПВП в качестве связующего не влияет на дезинтеграцию или скорость растворения лекарственного средства из таблеток. В 2019 г. Кимаро и др. разработали жевательные таблетки альбендазола методом влажной грануляции с использованием ПВП К30 (ММ 35000 – 51000 Да), чтобы увеличить скорость растворения препарата [172].

В офтальмологии ПВП используется для увеличения времени контакта глазных капель с тканями глаза за счет повышения вязкости (густоты) растворов, а также как эффективная смазка при сухости глаз [235]. Также,

ПВП может выступать в качестве солюбилизатора для получения прозрачных растворов, предназначенных для офтальмологического применения, при этом способствуя улучшению эффекта и биодоступности активных ингредиентов [79; 294]. Низкомолекулярные ПВП используются в составе глазных капель и суспензий, а высокомолекулярные предпочтительны для растворов для контактных линз [155].

При парентеральном введении предпочтительны низкомолекулярные ПВП, такие как K12 (3100 – 5700 Да) или K17 (7900 – 10800 Да), поскольку они легко выводятся без накопления в организме. В инъекционных препаратах ПВП присутствует в качестве солюбилизатора, например, для антибиотиков рифампицина и окситетрациклина [256].

Благодаря своей комплексообразующей природе ПВП снижает уровень раздражающего действия или токсичность многих препаратов при их парентеральном введении. Например, в комплексе с ПВП йод теряет раздражающее, прижигающее действие и полностью сохраняет бактерицидные свойства. Комплексы ПВП с йодом применяют внутривенно для дезинтоксикации, а также наружно для стерилизации кожи [93].

В трансдермальных терапевтических системах, таких как мази, кремы и гели, ПВП используется в качестве диффузионных матриц в форме гидрогеля и в качестве адгезива в некоторых мукоадгезивных системах доставки лекарств [105; 142; 275; 289].

Кроме того, ПВП широко используется при разработке систем с контролируемым высвобождением и носителей лекарственных препаратов, область применения которых показано на рис.1.5 [138]:

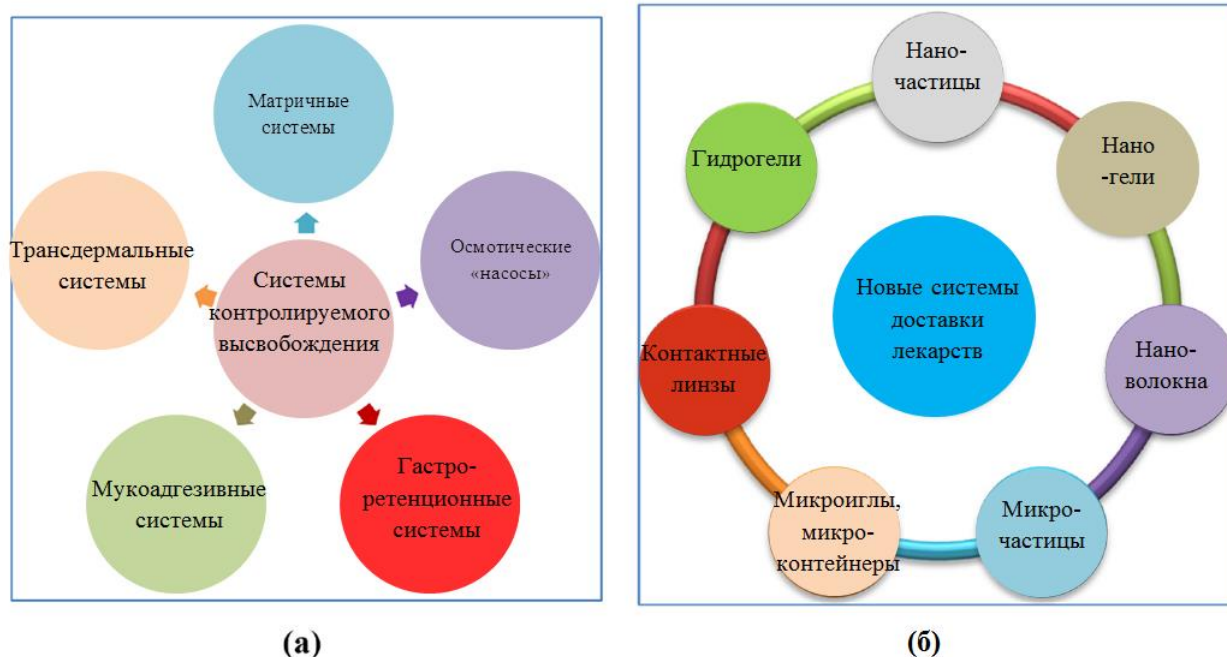


Рисунок 1.5. – Применение ПВП в системах с контролируемым высвобождением (а) и новых системах доставки лекарств (б)

Таким образом, основываясь на литературных данных, можно сказать, что ПВП считается широко распространенным вспомогательным веществом в фармацевтической промышленности. На начальном этапе получения полимера он в основном предназначался для использования в качестве расширителя объема плазмы, но с изменениями и прогрессом в фармацевтической промышленности ПВП показал свою важность как очень хорошего наполнителя при изготовлении разных лекарственных форм. Высокая стабильность, уникальные физико-химические свойства, способность к растворению в разных растворителях, нетоксичность и способность доставлять как гидрофильные, так и липофильные лекарства делают ПВП универсальным компонентом в разработке лекарственных форм с контролируемым высвобождением [138; 181].

1.6 Выводы по литературному обзору

Эндопротезирование крупных суставов является одним из эффективных среди существующих способов лечения заболеваний суставов разной этиологии и их последствий, способствующее восстановлению утраченной функции конечности и улучшающее качество жизни пациентов. Однако, по наблюдениям специалистов, после первичной операции по эндопротезированию показатели эффективности лечения не высокие в связи с появлением послеоперационных глубоких инфекционных осложнений, вследствие чего возрастает необходимость проведения сложных ревизионных операций. Несмотря на совершенствование техники выполнения операций, использование современных технологий, качества медицинских изделий и конструкций, количество ревизионных вмешательств имеет тенденцию к увеличению.

Для улучшения эффективности лечения инфекционных осложнений важно изучение причин их появления и особенности развития. Особенностью развития ППИ в ортопедии является способность возбудителей патологии адгезировать на поверхности биотического субстрата (кости) и абиотического (имплантаты) субстратов и образовывать на них биопленку, проявляющую резистентность к воздействию антибактериальных препаратов.

Существующие на сегодняшний день все меры профилактики и лечения ортопедической инфекции в основном направлены на эрадикацию возбудителей в планктонной форме. Вследствие ненадлежащего качества мероприятий по профилактике инфекций и ее контролю, в частности, неправильного и избыточного применения антибактериальных препаратов и появляется устойчивость множества штаммов бактерий к препаратам, представляющую собой глобальную угрозу для здоровья пациента. Проблема устойчивости патогенов к препаратам порождает значительные экономические убытки. Помимо смерти и инвалидности, затяжное течение болезней приводит к удлинению сроков госпитализации, требует более

дорогостоящих лекарственных препаратов и создает финансовые затруднения для лиц, столкнувшихся с этой проблемой.

Современный этап развития методов профилактики и лечения ППИ переживает период трансформации, характеризующийся переходом к устранению причины возникновения воспалительного процесса в области суставного имплантата, главной отличительной особенностью которого является формирование на поверхности имплантата биопленки. На данный момент в медицинской практике имеется достаточная теоретическая и практическая база для разработки эффективных средств в борьбе с ППИ.

Таким образом, остро встает задача создания депо антибиотиков, что исключит одну из возможных причин неудовлетворительных результатов лечения и профилактики перипротезной инфекции – недостаточную концентрацию антибиотиков в очаге воспаления. Антимикробные средства «нового поколения» должны одновременно выступать в роли антиадгезивного барьера, и которые, благодаря своим физико-химическим свойствам, дали бы возможность покрыть поверхность имплантата любой формы, препятствуя адгезии бактерий и элюируя антибиотики непосредственно после установки эндопротеза. При этом «запуск» антибактериальной и антибиопленочной защиты важен непосредственно при выполнении операции.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Объекты исследования

В качестве объектов исследования использовались:

1. ПВП с молекулярной массой 30 кДа, производства КНР в форме порошка, CAS № 9003-39-8, ИК-спектр представлен на рис. 2.1:

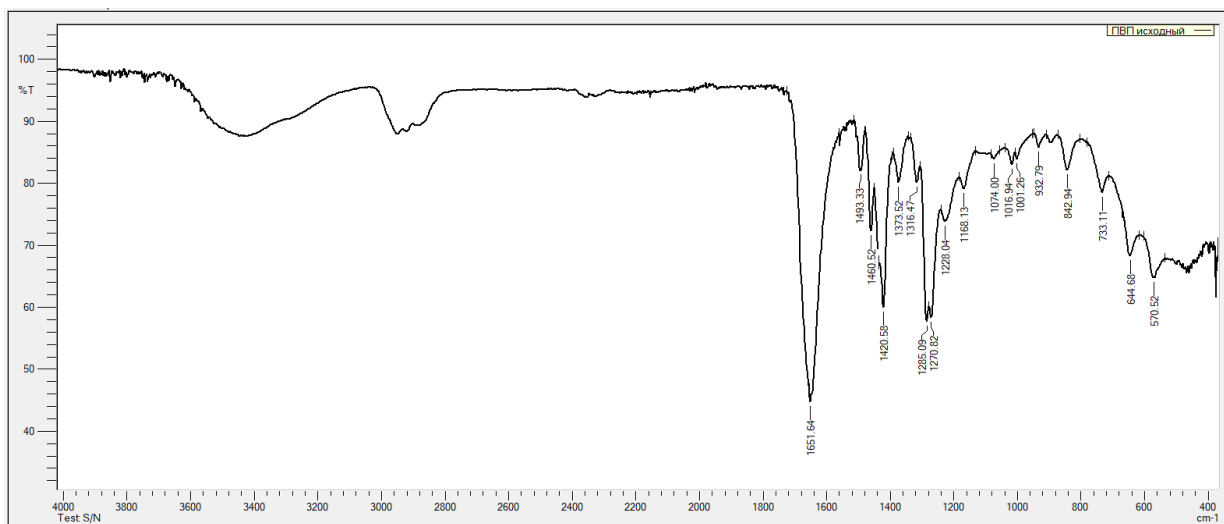


Рисунок 2.1 – ИК-спектр исходного ПВП в форме порошка

2. Гентамицин, производства РУП «Белмедпрепараты» в форме водного раствора, ИК-спектр представлен на рис. 2.2:

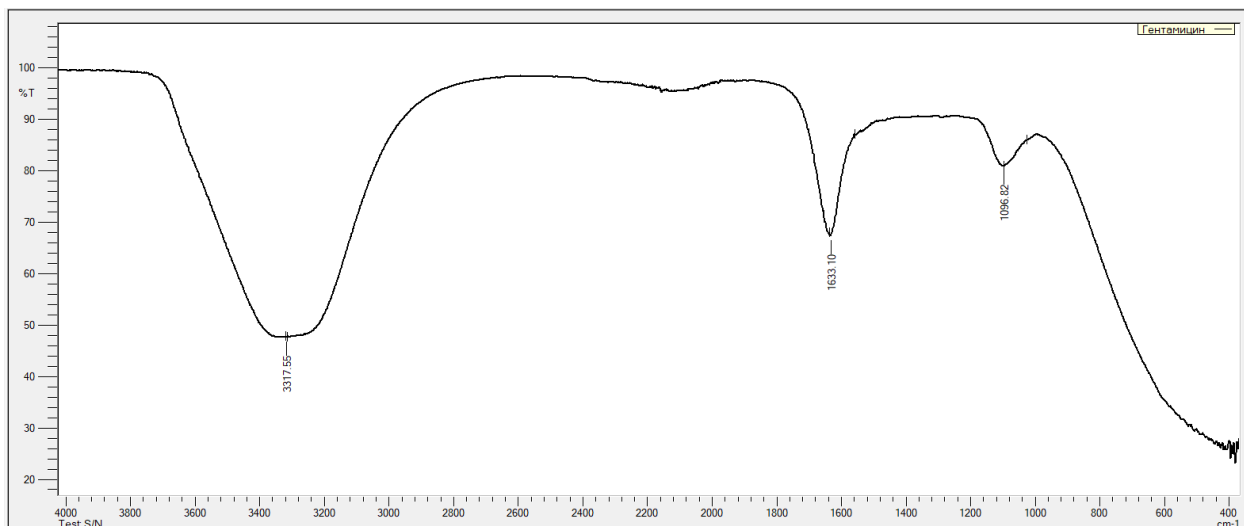


Рисунок 2.2 – ИК-спектр водного раствора гентамицина

3. Фосфомицин, производства ООО «Красфарма» в форме порошка, ИК-спектр представлен на рис. 2.3:

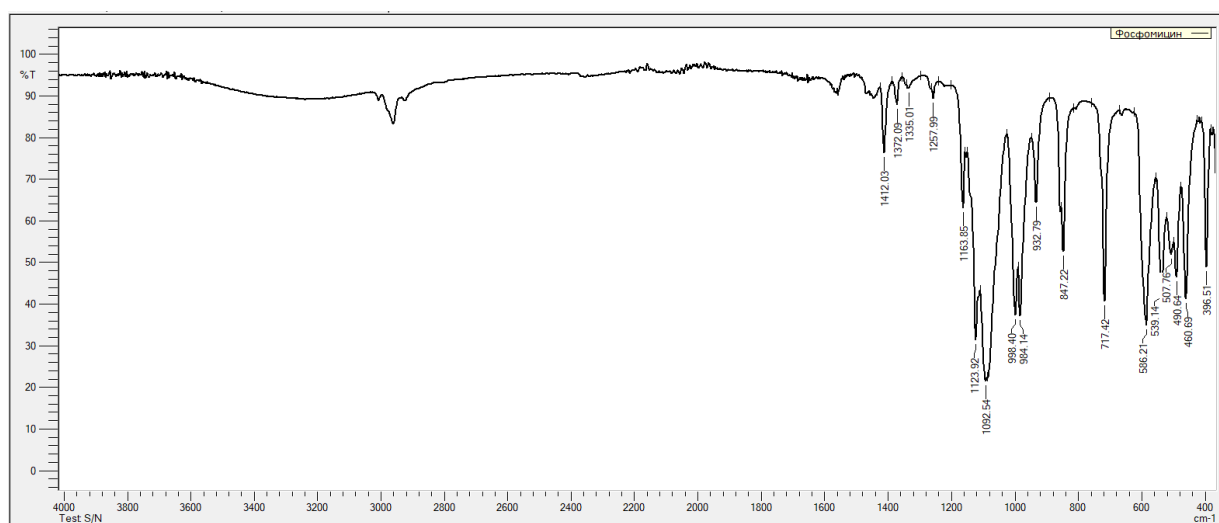


Рисунок 2.3 – ИК-спектр фосфомицина

Дизайн исследования приведен на рис.2.4.

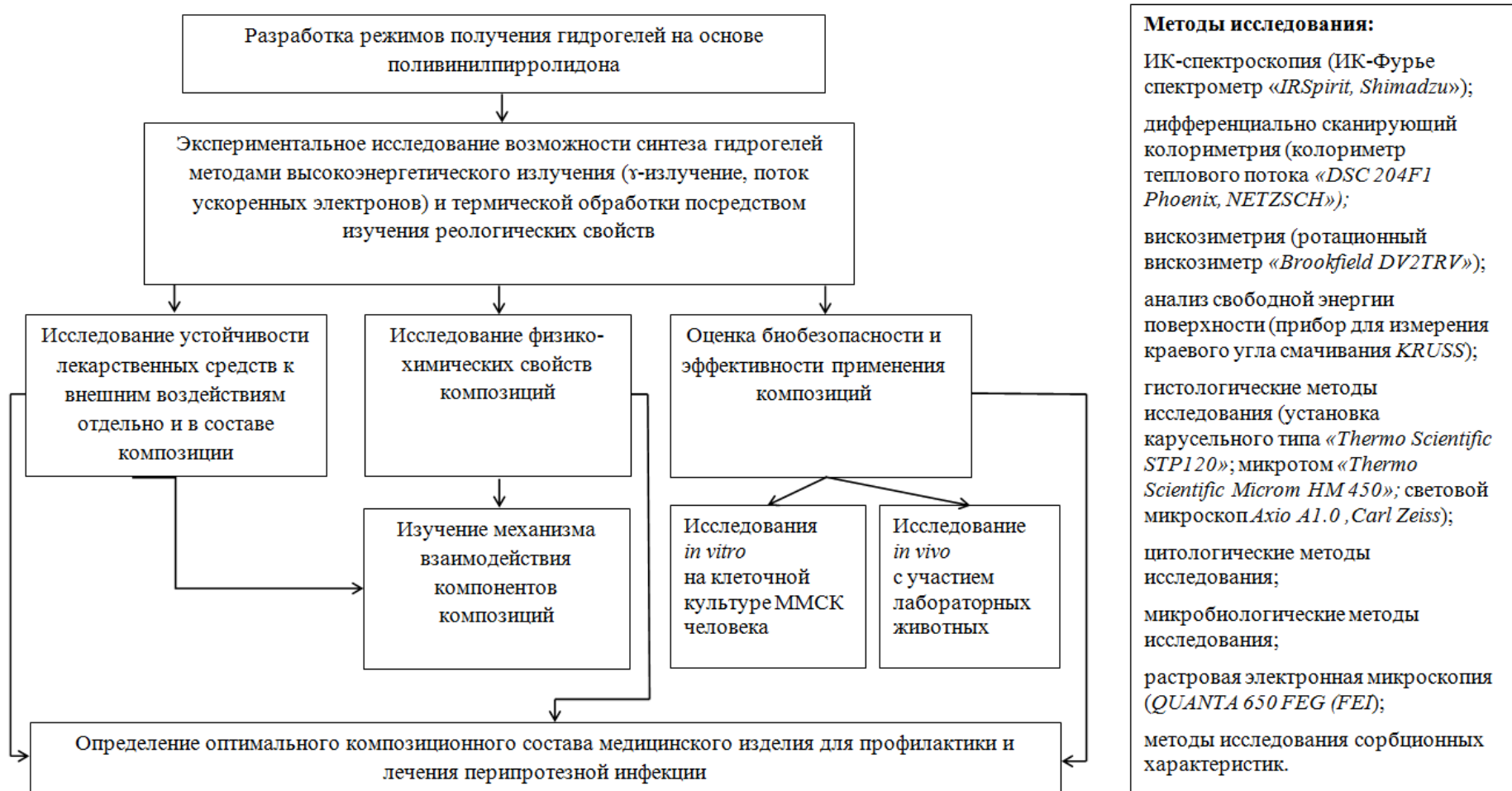


Рисунок 2.4 – Дизайн исследования

2.2 Методы исследования

2.2.1 Воздействие ионизирующего излучения посредством γ -излучения и потока ускоренных электронов (УЭ)

Обработка высокоэнергетическим излучением экспериментальных образцов выполняли в АО «Научно-исследовательский институт технической физики и автоматизации», Москва. Доза облучения варьировалась в пределах 15-30 кГр, концентрация исследуемых систем по содержанию ПВП 10-30 масс. %. Далее по тексту ПВП- γ .

2.2.2 Разработка режимов термической обработки

Исследование влияния термической обработки на свойства ПВП выполняли при различных температурах (от 160 до 180 °С и временных диапазонах (от 1 до 8 часов) в термостойкой стеклянной посуде в муфельной печи. Полимерную матрицу на основе ПВП использовали в двух вариантах приготовления:

-матрица на основе термообработанного ПВП с добавлением немодифицированного ПВП в массовом соотношении 5:1 (далее по тексту ПВП – комб, комбинированная технология);

- матрица на основе термообработанного ПВП (далее по тексту ПВП–ТО).

Лекарственные препараты добавляли после получения полимерной основы при перемешивании.

2.2.3 Исследование реологических характеристик гидрогелей

К важнейшим реологическим свойствам полимерных систем относится вязкость - способность системы оказывать сопротивление перемещению одной ее части относительно другой под действием внешней силы. Вязкость определяется внутренней структурой исследуемых систем.

В данной работе динамическую вязкость определяли на ротационных вискозиметрах *Brookfield CAP 2000+* с системой «конус-плита» и *Brookfield DV2T RV* с рабочим узлом в виде коаксиальных цилиндров.

Характеристическую вязкость определяли с помощью капиллярного вискозиметра Уббелоде при 25 °С по ГОСТ Р 58484-2019 «Имплантаты хирургические неактивные. Имплантаты на основе гиалуроновой кислоты. Стандартное руководство по определению характеристик гиалуроновой кислоты как основы медицинских изделий». Для этого готовили разбавленные растворы ПВП в дистиллированной воде с концентрацией $C = (0,5 - 5)$ г/100 мл. Расчет MM_{η} проводили по уравнению Марка-Куна-Хаувинка $\eta = K \times M_m^{\alpha}$ со значениями констант $K = 0,000565$ дл/г; $\alpha = 0,55$ [29; 287].

2.2.4 Исследование сорбционных свойств гидрогелей ПВП

При исследовании характеристик полимерных систем, обеспечивающих пролонгированное действие лекарственных средств, важно изучение сорбционных характеристик системы, так как элиминация (высвобождение) лекарственных средств из полимерной матрицы посредством диффузии напрямую связана со свойством набухания матрицы под действием физиологической жидкости.

Для определения количественных характеристик набухания взвешенные на аналитических весах образцы исследуемых систем помещали в колбу с модельной средой – дистиллированной водой при комнатной температуре (23 ± 2 °С). Масса исследуемой системы составляла 1 г, масса модельной среды – 50 г. Периодически образцы извлекали (через 5, 10, 20, 30, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 110, 130 мин до 4 суток), просушивали с помощью фильтровальной бумаги и взвешивали на аналитических весах, после чего обратно помещали в модельную среду до достижения

равновесного состояния (равновесной степени набухания). Степень набухания в момент времени τ высчитывалась по следующей формуле:

$$Q = (m_\tau - m_0) / m_0 \quad (1),$$

где m_τ – масса набухшего образца через τ время, m_0 – начальная масса образца.

Скорость набухания подчиняется уравнению

$$\frac{dQ}{d\tau} = K(Q_m - Q_\tau) \quad (2),$$

где Q_τ – количество жидкости, поглощенной одним граммом набухающего вещества за время τ , Q_m – максимальное количество поглощенной жидкости (предельное набухание), K – константа, характеризующая способность вещества к набуханию, которая получается после интегрирования уравнения (2):

$$K = \frac{1}{\tau} \ln \frac{Q_m}{Q_m - Q_\tau} \quad (3).$$

Откладывая по оси абсцисс τ , а по оси ординат – $\ln \frac{Q_m}{Q_m - Q_\tau}$ получим прямую, тангенс угла наклона которой даст значение константы [65].

2.2.5 Оценка плотности сшивания ПВП методом ДСК

Плотность сшивания ПВП при разных способах его обработки оценена методом ДСК. Термограммы были сняты на приборе *DSC 214 Polyma* (*NETZSCH*, Германия). Для каждого образца проводили два сканирования в динамическом режиме в атмосфере азота высокой чистоты со скоростью нагревания - 10 °С/мин в диапазоне температур от 0 °С до 230 °С. Масса микро-образцов составляла 30-35 мг.

2.2.6 Исследование межмолекулярных взаимодействий в гидрогелях методом ИК-спектроскопии НПВО

Исследования проводили методом ИК спектроскопии НПВО в области волновых чисел 7800 – 350 см⁻¹ на ИК-Фурье спектрометре *Shimadzu IR Spirit*.

Интерпретацию спектров выполняли с использованием характеристических частот [39; 54], табл. 2.1.

Таблица 2.1 – Типы и диапазоны поглощения характерных колебаний гидрогелей ПВП

<i>№</i>	<i>Типы колебаний</i>	<i>Волновое число, ν, см⁻¹</i>
1	Валентные колебания ОН группы (водородные связи)	3600-3200
2	Общий диапазон поглощения валентных колебаний связей С – Н в алканах	2957 – 2848
3	Валентные колебания связи С – С	2919
4	Валентные колебания карбонильной группы С=О в лактаме	1650
5	Плоские деформационные колебания ножничных NH ₂	1640-1560
6	Валентные колебания связи – С=N	1580-1530
7	Деформационные колебания связанной–ОН групп	1500-1300
8	Ножничные деформационные колебания –CH ₂ – групп	1470
9	Деформационные колебания гетероциклического кольца – С – С – С –	1460
	Деформационные колебания –N – Н циклических амидах	
	Деформационные колебания С – N в циклических амидах	
10	Деформационные колебания всех активных метиленовых групп – CH ₂ – СО –	1440 - 1400
11	Деформационные веерные колебания – CH ₂ – СН –	1370
12	Валентные колебания связи С – О	1310 - 1320
13	Валентные колебания связи С – Н	1340

№	Типы колебаний	Волновое число, ν , см^{-1}
14	Валентные колебания связи С – N	1225
15	Асимметричные валентные колебания С– O – С	1300 - 1050
16	Деформационные колебания угла С – С – С	1016
17	Асимметричные валентные колебания эпокси группы	990-810

Расчет оптической плотности при отдельно взятых волновых числах в ИК-спектрах выполняли методом построения базовой линии, рис. 2.5[21]:

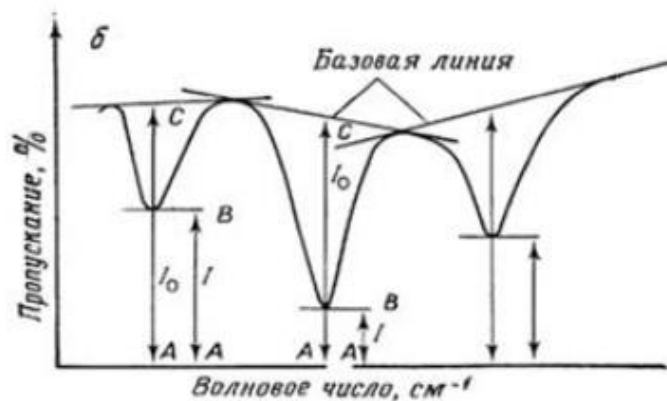


Рисунок 2.5 – Построение базовой линии для обработки ИК-спектров

Количественный анализ в ИК-спектроскопии основывается на использовании закона Ламберта – Бера, в соответствии с которым интенсивность полосы является функцией концентрации вещества.

$$A = \lg \left(\frac{I_0}{I} \right) = ac l,$$

где A – поглощение (безразмерная величина); I_0 – интенсивность падающего инфракрасного излучения; I – интенсивность инфракрасного излучения, прошедшего через образец; a – коэффициент поглощения; c – концентрация образца; l – толщина образца.

Величина I_0 оценивается относительно базовой линии.

Определение оптической плотности проводили следующим образом:

$$D = \lg \frac{1}{T},$$

где T – коэффициент пропускания, равный:

$$T = \frac{I}{I_0} \times 100\%.$$

Для достоверного определения изменений, происходящих в исследуемых полимерных системах под воздействием ионизирующего излучения и высокой температуры, была проведена «количественная оценка», мерой которой является отношение оптических плотностей при определенной длине волны и полосы поглощения внутреннего стандарта. В случае исследуемой нами системы в качестве внутреннего стандарта была принята полоса поглощения пироллидонового цикла (в диапазоне волновых чисел 1634 – 1652 см^{-1}) [31; 39; 54; 67; 165; 213; 248; 265; 279; 314], интенсивность которой не зависит от молекулярной массы, примесей и т.д.

2.2.7 Исследование адгезионных свойств гидрогелей

При изучении адгезионных взаимодействий между двумя фазами важнейшими характеристиками для них являются поверхностные свойства. Для оценки величины поверхностной энергии исследуемых объектов, ее полярной и дисперсионной составляющих, был использован метод краевых углов смачивания исследуемых поверхностей.

Краевой угол смачивания был определен с помощью набора тестовых жидкостей на приборе *KRUSS DSA 25*, который работает с программным обеспечением *ADVANCE*.

Результаты измерений обрабатывали с использованием известного уравнения Оуэнса-Вендта [24]:

$$\frac{\gamma_{lv}(1+\cos\theta)}{2(\gamma_{lv}^d)^{\frac{1}{2}}} = (\gamma_s^d)^{\frac{1}{2}} + (\gamma_s^p)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\gamma_{lv}^p}{\gamma_{lv}^d} \right)^{\frac{1}{2}},$$

где θ – краевой угол смачивания, γ_{lv} – поверхностная энергия смачивающей жидкости, γ_{lv}^d – ее полярная, и γ_{lv}^p – дисперсионная составляющая поверхностной энергии, γ_s – поверхностная энергия смачиваемого тела, его γ_s^d – дисперсионная и γ_s^p – полярная составляющие.

В качестве тестовых жидкостей использовались: дистиллированная вода ($\gamma_{lv}^d = 51,00$, $\gamma_{lv}^p = 21,80$), трикрезилфосфат ($\gamma_{lv}^d = 39,20$, $\gamma_{lv}^p = 1,70$), формамид ($\gamma_{lv}^d = 39,00$, $\gamma_{lv}^p = 19,00$), диметилсульфоксид ($\gamma_{lv}^d = 36,00$, $\gamma_{lv}^p = 8,00$). В качестве тестовых поверхностей были взяты: политетрафторэтилен ($\gamma_{lv}^d = 18,60$, $\gamma_{lv}^p = 0,50$), полиэтилен ($\gamma_{lv}^d = 31,10$, $\gamma_{lv}^p = 1,10$), полистирол ($\gamma_{lv}^d = 38,40$, $\gamma_{lv}^p = 2,20$), полиэтилентерефталат ($\gamma_{lv}^d = 33,60$, $\gamma_{lv}^p = 7,80$).

2.2.8 Исследование топографии места расположения гидрогеля

Исследование топографии места расположения гидрогеля в растровом электронном микроскопе (РЭМ) с полевым катодом *QUANTA 650 FEG (FEI, Нидерланды)*, оснащенный энергодисперсионным датчиком рентгеновского излучения (*EDS, EDX Octane Elect Plus (EDAX, США)*) в режиме высокого вакуума при ускоряющем напряжении 30 кВ. Для этого образец, отобранный в ходе эксперимента, помещали на двусторонний проводящий углеродный скотч, приклеенный к алюминиевому держателю, и помещали в камеру прибора. Анализ спектров проводили в оригинальном программном обеспечении *EDAX Genesis* [28].

2.2.9 Исследование антимикробной активности гидрогелей

Антимикробную активность исследуемых композиций определяли методом диффузии в агар (метод «колодцев») на стандартной плотной питательной среде Мюллера - Хинтона, разлитой в чашки Петри [35]. С

помощью полого цилиндра получали в агаре лунку диаметром 6 - 8 мм, после чего из суточной культуры по стандарту мутности Мак Фарланда 0,5 ед. готовили микробную взвесь и в количестве 0,2 мл засеивали газоном на поверхность агара, заполняли лунку испытуемым веществом в количестве 0,1 мл, и инкубировали 18 – 24 часа при температуре (37 ± 1) °С. Результаты оценивали путем измерения диаметра зон задержки роста микроорганизмов вокруг «колодца» с исследуемыми образцами, включая диаметр самого колодца.

Исследование в условиях *in vitro* проводили при 3-х посевных дозах тест – культуры: 10^2 , 10^6 , 10^8 КОЕ/мл. В ходе эксперимента следили за величиной зоны подавления в динамике. Исследование экспериментальных образцов в ходе эксперимента *in vivo* оценивали при посевной дозе тест-культуры 10^6 КОЕ/мл.

Критерием оценки антимикробных свойств является зона задержки роста микроорганизмов вокруг лунки: до 10 мм – микроорганизмы не чувствительны к нанесенному в лунку препарату; до 15 мм – малая чувствительность культур; до 25 мм – зона задержки расценивается как показатель чувствительности микроорганизмов; более 25 мм – свидетельство высокой чувствительности микроорганизмов [32].

В качестве тест-культур для определения антимикробной активности использовали музейные тест-культуры грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* MSSA ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и госпитальные штаммы *Staphylococcus aureus* MSSA, *Staphylococcus aureus* MRSA, выделенные от госпитальных пациентов в Отделе ран и раневых инфекций в ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России.

2.2.10 Исследование токсичности и адгезионных свойств ПВП – гидрогелей в культуре клеток

Для определения токсичности и адгезионных свойств исследуемых полимерных композиций в отношении клеточных культур в качестве тест-системы использовали мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (ММСК), выделенные из подкожно-жировой ткани (ПЖТ) человека и депонированные в Специализированную Коллекцию перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных при ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН под № 65. В работе были использованы клетки 3-го пассажа. Эксперименты имели трехкратную повторность.

ММСК ПЖТ культивировали в ростовой среде, которая состояла из ДМЕМ с низким (1 г/л) содержанием глюкозы (ПанЭко, Россия), дополненная 10% сывороткой крови плодов коров (СКПК) (*HyClone, Perbio*, Бельгия), 2мМ α -глутамином, без антибиотиков. Клетки снимали с субстрата с помощью 0,04% раствора версена (ПанЭко, Россия) и 0,25 % раствора трипсина (ПанЭко, Россия) в соотношении 1:3 при 37 °С в течение 1-3 мин, после чего нейтрализовали действие фермента ростовой средой. Клетки осаждали низкоскоростным центрифугированием (5 мин, 200 g). После осаждения надосадочную жидкость удаляли, а к комочку клеток добавляли ростовую среду (т.е. с добавками), тщательно пипетировали и подсчитывали концентрацию с помощью камеры Горяева. Клетки пассировали при плотности 5×10^3 клеток/см².

Для определения цитотоксичности и адгезионных свойств образцы гидрогелей массой 0,1г наносили на дно лунки 48-луночного планшета (*Costar*, США) и выдерживали при температуре 37 °С 1 час. После этого в каждую лунку добавляли суспензию клеток в объеме 1 мл. Контролем были те же ММСК ПЖТ, посеянные в той же концентрации на дно чашки 48-луночного планшета.

Образцы культивировали в стандартных условиях в CO₂-инкубаторе в течение 5 суток в атмосфере с 5% CO₂. Наблюдение проводили через 24 ч и 5 сут. Морфологический анализ клеток проводили в образцах, окрашенных красителем Гимза. Критериями оценки являлись размер и форма клеток, ядерно-цитоплазматическое соотношение, гомогенность цитоплазмы и наличие ядрышек в ядре.

Токсичность препаратов в культуре клеток оценивали по их влиянию на жизнеспособность клеток. Жизнеспособность клеток в трех повторах для каждого образца определяли по стандартной методике окраской 0,1 % - ным раствором трипановой сини. Для этого с каждого образца перед трипсинизацией предварительно собирали ростовую среду, а затем клетки через 24 ч (или 5 сут) снимали с гелей и объединяли с соответствующим образцом (т.е. оценивали суммарно количество клеток в лунке до трипсинизации и после). В клеточную суспензию (вносили краситель в отношении 1:1) и помещали в камеру Горяева. Под микроскопом подсчитывали количество всех (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток. Количество клеток определяли по формуле:

$$X = \frac{a \times 1000 \times 1}{0.9}$$

где X – количество клеток; a - среднее число клеток в трех пробах; 1000 – коэффициент перевода [см³] в [мм³]; 1-коэффициент разведения; 0,9 – объем камеры Горяева в кубических миллиметрах.

Процент жизнеспособных клеток определяли по формуле:

$$\frac{(\text{общее количество клеток} - \text{количество мертвых клеток}) \times 100 \%}{\text{общее количество клеток}}$$

Монослой оценивали визуально путем подсчета клеток 10 спонтанно выбранных полей зрения в объективе инвертированного фазово-контрастного микроскопа *Axio Observer D.1* при увеличении в 400 раз (об -

x40, ок - x10) и рассчитывали среднеарифметическое значение. За основу при расчете принимали данные, полученные ранее в лаборатории при депонировании стандартизированной культуры клеток ММСК ПЖТ человека, что на этом увеличении (об - x40, ок - x10) на том же микроскопе при 100% монослое в одном поле зрения визуализируется 107-110 клеток данного типа.

Адгезивную способность ММСК в отношении поверхности гидрогелей определяли путем подсчета не прикрепившихся клеток через 24 ч по разности между количеством клеток в исходной суспензии и их количеством после процедуры нанесения на гели, отнесенной к исходному количеству клеток.

Процедуры визуализации клеток проводили на аппаратно-программном комплексе инвертированный фазово-контрастный микроскоп *Axio Observer D.1 B* («Carl Zeiss», Германия).

В эксперименте использовали стерильные образцы гидрогелей ПВП – ТО, ПВП – комб, и гибридных гидрогелей ПВП – ТО, ПВП – комб.

2.2.11 Исследование биобезопасности местного применения ПВП – гидрогелей *in vivo*

Безопасность длительного применения гидрогелей исследована в эксперименте *in vivo*.

Экспериментальные животные – белые крысы (самцы) линии «Вистар» (*Wistar*) весом 250 – 400 г, были выращены в виварии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Все манипуляции осуществляли в соответствии с правилами гуманного обращения с лабораторными животными [16; 45; 46; 144].

Животных содержали в стандартных условиях вивария с открытым доступом к пище и воде[28].

Имплантацию гидрогелей животным выполняли в состоянии общей анестезии рассечением кожи с латеральной поверхности бедра. Слои мышц бедра препарировали тупым способом, создавая искусственный карман, затем вносили гель в объеме 0,5 мл (соответствует 0,7 г), и сшивали ткани двухэтажным швом [28].

Общую анестезию выполняли лекарственным средством Ксилозин внутримышечно (в/м) 0,08 мл (как седативное средство, премедикация), а затем также в/м вводили Золетил-50 в объеме 0,05 мл для общей анестезии. Выводили животных из эксперимента с превышением дозы Золетил-50 в 100 раз [28].

Эффективность и безопасность применения гидрогелей оценивали в условиях *in vivo* в течение 1 года. Исследование выполняли на 155 лабораторных животных.

В эксперименте *in vivo* были протестированы гибридный гидрогель ПВП–комб (количество животных (n) – 45), гидрогель ПВП–комб (n=45), гидрогель ПВП – γ (n=45).

В качестве контроля был использован рассасывающийся гель «Мезогель» производства компании «Линтекс», разрешенного к использованию в медицине (n=15); 5 животных были как интактный контроль.

Контрольные сроки наблюдения составляли 7, 14, 21, 28, 60, 90, 120, 180 и 365 суток после введения гидрогелей. В каждой временной «точке», количество животных из каждой экспериментальной группы составляло 5 голов. С каждого животного было отобрано 5 образцов гидрогеля, 5 – мышечной ткани, прилежащей к гидрогелю, по 5 – из паренхиматозных органов (почка, печень селезенка). В общей сложности в каждой временной точке количество образцов каждого исследуемого препарата составляло – 25 [28].

В качестве критериев оценки были выбраны:

- адгезия геля к окружающим тканям, оцениваемая визуально;

- антимикробная активность гидрогелей, извлеченных после экспозиции в условиях *in vivo* на разных сроках эксперимента в течение 4 месяцев;

- местная реакция тканей на имплантируемые гидрогели (гидрогель с антибиотиками и без) по степени воспаления и характеру образования соединительной ткани в местах, прилегающих к введенному гидрогелю, оцениваемая гистологическим методом исследования;

- состояние паренхиматозных и лимфатических органов, оцениваемое гистологическим методом исследования.

2.2.12 Гистологические исследования

Для гистологических исследований образцы помещали в 10 % забуференный раствор формалина, выполняли парафиновую заливку образцов и окрашивали срезы гематоксилином и эозином, для визуализации гистоархитектоники стандартным методом. Для выявления степени развития соединительной ткани применили метод Маллоури, подразумевающий дифференциальную окраску соединительной ткани. Оценку гистологической картины выполняли в световом микроскопе *Axio A1.0 (Carl Zeiss)*, при увеличении 100×.

2.2.13 Статистическая обработка результатов

Обработку полученных данных осуществляли с использованием программы *Microsoft Office Excel*. Точность результатов измерений, полученных в нескольких повторностях (3 и более), определяли по стандартному отклонению измеряемых величин. Результаты выражены как среднее арифметическое значение ± стандартное отклонение. Статистически значимым считался уровень $p = 0,05$.

Для оценки различий между двумя независимыми выборками использовали U-критерий Манна — Уитни.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Определение оптимальной концентрации лекарственных средств в составе полимерных композиций

Эффективно действующая концентрация лекарственных средств была определена экспериментальным путем, табл. 3.1, посредством изучения антимикробной активности индивидуальных и смешанных растворов антибиотиков в зависимости от соотношений концентраций гентамицина и фосфомицина. За основу взяли минимальную концентрацию гентамицина в преформированных спейсерах, интегрированных антибиотиками, составляющей 1,2 масс. % (см. табл. 1.1). Концентрация фосфомицина варьировалась в пределах 0,3 – 7,0 масс. %.

Таблица 3.1– Антимикробная активность растворов антибиотиков при их различном концентрационном соотношении (микробная нагрузка 10^6 КОЕ/мл)

<i>Штамм</i> <i>Состав композиции</i>	<i>Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм</i>		
	<i>S. aureus</i> <i>ATCC 25923</i> <i>(MSSA)</i>	<i>E.coli</i> <i>ATCC 35218</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>ATCC 27853</i>
Вода	0	0	0
Вода / гентамицин (1,2 %)	45 ± 3	44 ± 2	48 ± 4
Вода / фосфомицин (0,3 %)	39 ± 2	48 ± 4	42 ± 2
Вода / фосфомицин (5 %)	43 ± 3	44 ± 3	53 ± 4
Вода / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (0,3 %)	45 ± 3	44 ± 4	52 ± 3
Вода / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (1,2 %)	49 ± 4	40 ± 2	54 ± 4
Вода / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	74 ± 4	72 ± 3	70 ± 5
Вода / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (7 %)	73 ± 5	70 ± 5	68 ± 5
Вода / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (10 %)	73 ± 4	72 ± 3	72 ± 3

Как видно из табл. 3.1, в отношении исследуемых микроорганизмов более эффективно работает система, состоящая из 1,2 масс.% гентамицина и 5,0 масс. % фосфомицина, проявляя синергетический эффект. При этом такое концентрационное соотношение антибиотиков является оптимальным, так как дальнейшее увеличение концентрации фосфомицина не влияет на антимикробную активность системы.

При разработке медицинских изделий следует учитывать, что в ряде случаев, в частности в случае изделий, контактирующих с поврежденными тканями и кровью пациента, стерилизация является обязательной процедурой. Как правило, используется радиационная стерилизация согласно ГОСТ Р ИСО 11737-1 «Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Оценка популяции микроорганизмов на продукции». Поскольку известен эффект влияния радиационного излучения на физико-химические свойства и биологическую активность фармацевтических субстанций, была проверена устойчивость гентамицина и фосфомицина к ионизирующему излучению в зависимости от источника и величины дозы облучения в присутствии ПВП (15 масс. %, 30 масс. %), табл. 3.2 – 3.5.

Таблица 3.2 – Антимикробная активность полимерных композиций на основе ПВП 15 масс. % при различном концентрационном соотношении составов (источник облучения ^{60}Co , доза облучения 15 кГр, микробная нагрузка 10^6 КОЕ/мл)

<i>Штамм</i>	<i>Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм</i>		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
ПВП	0	0	0
ПВП / гентамицин (1,2 %)	43 ± 3	44 ± 2	48 ± 3
ПВП / фосфомицин (0,3 %)	37 ± 2	45 ± 3	41 ± 2
ПВП / фосфомицин (5 %)	43 ± 2	43 ± 2	55 ± 2

Штамм Состав композиции	Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (0,3 %)	46 ± 3	44 ± 2	48 ± 2
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (1,2 %)	48 ± 3	41 ± 2	53 ± 2
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	73 ± 4	70 ± 3	69 ± 2

Таблица 3.3 – Антимикробная активность композиций на основе ПВП 15масс. % при различном концентрационном соотношении составов (источник облучения ^{60}Co , доза облучения 30 кГр, микробная нагрузка 10^6 КОЕ/мл)

Штамм Состав композиции	Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
ПВП	0	0	0
ПВП / гентамицин (1,2 %)	41 ± 3	41 ± 2	46 ± 3
ПВП / фосфомицин (0,3 %)	30 ± 2	39 ± 2	35 ± 2
ПВП / фосфомицин (5 %)	35 ± 2	34 ± 2	46 ± 2
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (0,3 %)	41 ± 2	41 ± 3	50 ± 2
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (1,2 %)	48 ± 2	35 ± 2	52 ± 3
ПВП / гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	70 ± 2	68 ± 3	67 ± 2

Таблица 3.4 – Антимикробная активность композиций на основе ПВП при различном концентрационном соотношении составов (источник облучения – пучок ускоренных электронов, доза облучения 15кГр, микробная нагрузка 10^6 КОЕ/мл)

Штамм Состав композиции	Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
ПВП (15%)	0	0	0
ПВП (30%)	0	0	0

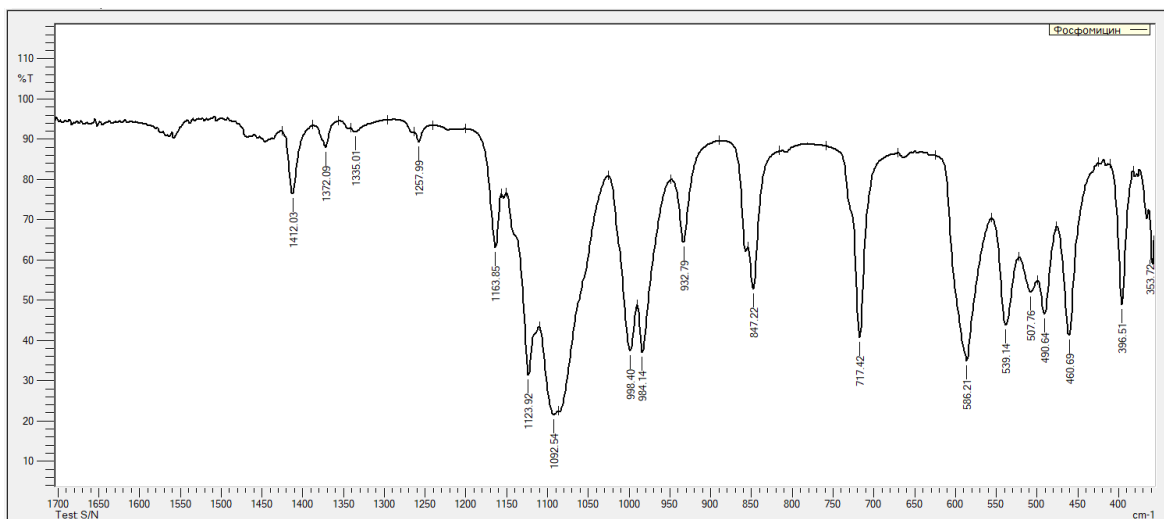
<i>Штамм</i> <i>Состав композиции</i>	<i>Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм</i>		
	<i>S. aureus</i> <i>ATCC 25923</i> <i>(MSSA)</i>	<i>E.coli</i> <i>ATCC</i> <i>35218</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>ATCC</i> <i>27853</i>
ПВП (15%)/ гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	70 ± 5	68 ± 3	66 ± 3
ПВП (30%)/ гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	69 ± 3	68 ± 2	65 ± 2

Таблица 3.5 – Антимикробная активность композиций на основе ПВП при различном концентрационном соотношении составов (источник облучения – пучок ускоренных электронов, доза облучения 30 кГр, микробная нагрузка 10⁶ КОЕ/мл)

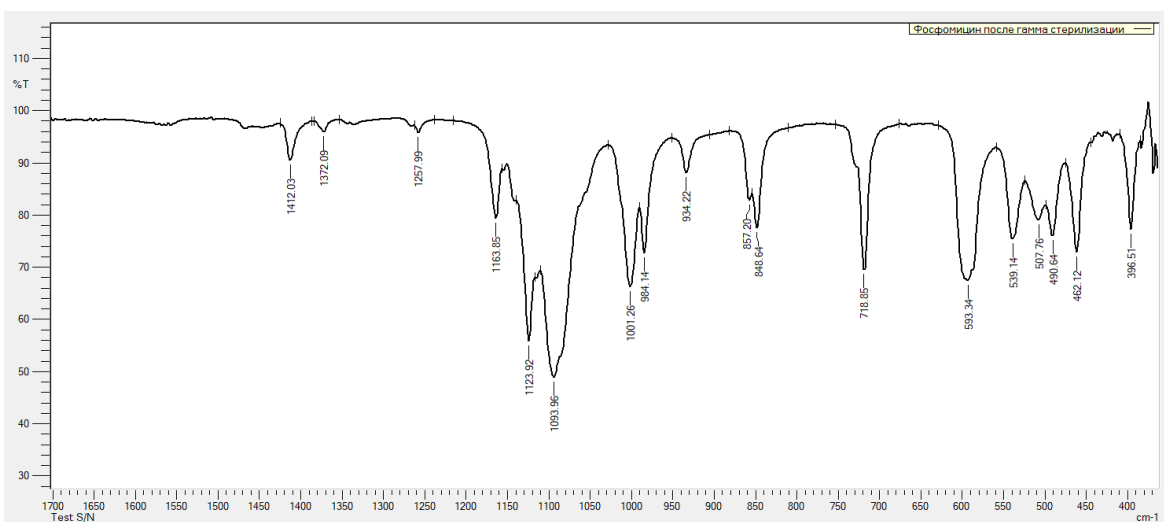
<i>Штамм</i> <i>Состав композиции</i>	<i>Диаметр зоны подавления роста микрофлоры тестируемым образцом, мм</i>		
	<i>S. aureus</i> <i>ATCC 25923</i> <i>(MSSA)</i>	<i>E.coli</i> <i>ATCC</i> <i>35218</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>ATCC</i> <i>27853</i>
ПВП (15%)	0	0	0
ПВП (30%)	0	0	0
ПВП (15%)/ гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	71 ± 3	67 ± 2	67 ± 2
ПВП (30%)/ гентамицин (1,2 %) / фосфомицин (5 %)	70 ± 2	67 ± 3	69 ± 3

Как видно из представленных данных вне зависимости от источника, дозы облучения и присутствия ПВП эффективность антимикробного действия лекарственных средств сохраняется (величины зон подавления роста микрофлоры остаются на одном уровне), что свидетельствует об отсутствии влияния источников облучения на их биологическую активность.

Факт отсутствия влияния режимов обработки на химическую структуру фармацевтических субстанций был подтвержден методом ИК спектроскопии НПВО, рис. 3.1; 3.2.



(1)

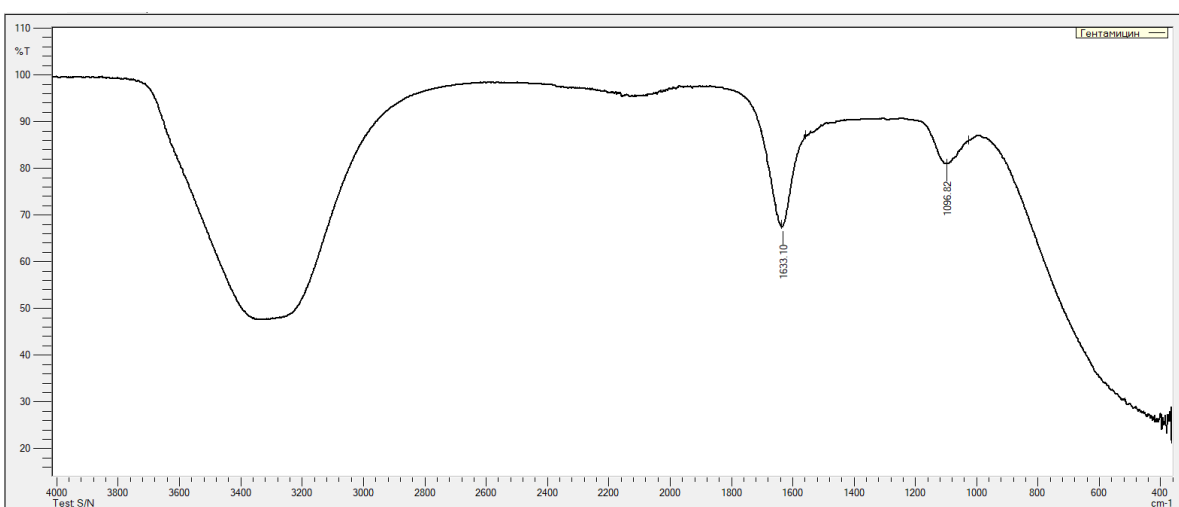


(2)

Рисунок 3.1 – ИК-спектры фосфоміцина в форме порошка:

1 – до воздействия радиационного излучения;

2 – после воздействия радиационного излучения, доза облучения 15 кГр.



(1)

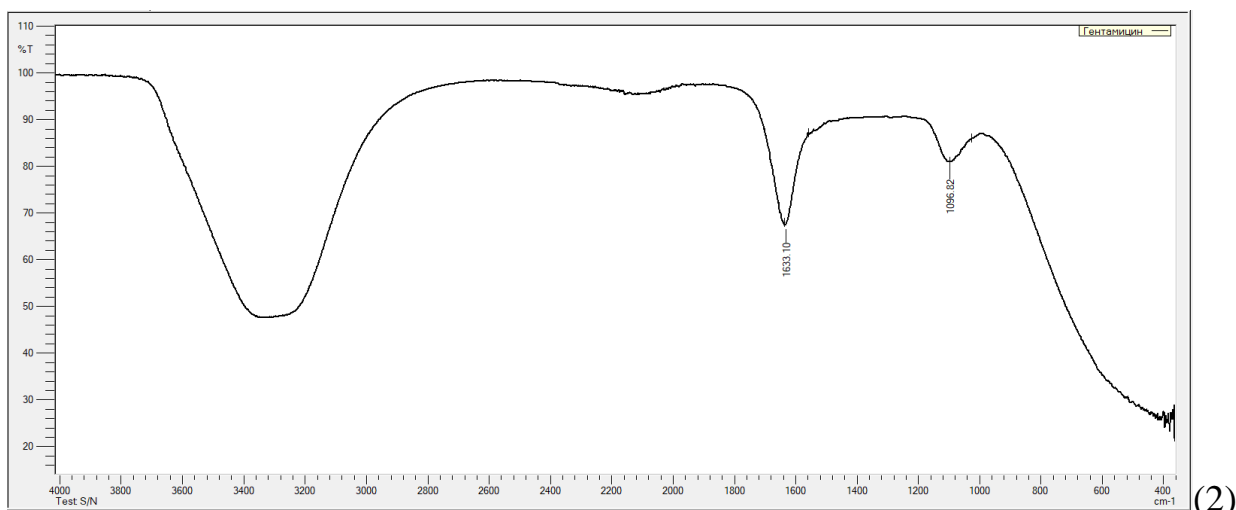


Рисунок 3.2 – ИК-спектры водного раствора гентамицина:

- 1 – до воздействия радиационного излучения;
- 2 – после воздействия радиационного излучения, доза облучения 15 кГр.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что вне зависимости от интенсивности облучения, используемые фармацевтические субстанции устойчивы к радиационному излучению, так как до и после воздействия радиационного излучения ИК-спектры идентичны.

3.2 Реологические свойства гидрогелей ПВП при различных способах обработки

Для получения гидрогелей ПВП с оптимальной консистенцией в качестве источников внешнего воздействия были применены γ -облучение (^{60}Co), воздействие потока УЭ, температурная обработка и их сочетание.

Известно, что для сшивки ПВП в качестве инициатора используется персульфат натрия – сильно окисляющее химическое вещество, используемое в качестве отбеливающего и окислительного агента. Однако, обязательным условием разработки режимов получения гидрогелей медицинского назначения является отсутствие применения соединений, не разрешенных в медицинской практике. В этой связи в проведенных исследованиях не были использованы инициаторы сшивания.

Критерием оценки оптимальной консистенции гидрогеля являлась динамическая вязкость, характеризующая текучесть системы. Данные по изменению значений динамической вязкости растворов ПВП в зависимости от источника высокоэнергетического излучения и концентрации исходного раствора полимера представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 - Эффективная вязкость водных растворов ПВП после воздействия потока УЭ и γ -излучения (^{60}Co) при скорости сдвига $1 \times 10^3 \text{c}^{-1}$, температура измерения (Т) 25 °С

Содержание ПВП в полимерной композиции, масс. %	Эффективная вязкость, мПа×с				
	До облучения	После облучения			
		γ -излучение (Co^{60}), кГр		Поток УЭ, кГр	
		15 ± 2	30 ± 2	15 ± 2	30 ± 2
10	0,010 ± 0,001	0,020 ± 0,004	2,10 ± 1,02	0,010 ± 0,002	0,010 ± 0,002
15	0,015 ± 0,001	0,020 ± 0,005	5,70 ± 2,30	0,016 ± 0,003	0,030 ± 0,006
30	0,100 ± 0,006	0,120 ± 0,005	1,50 ± 0,05	0,103 ± 0,003	0,100 ± 0,004

γ -облучение (^{60}Co) в дозах, превышающих 15 кГр, способствует более эффективному повышению вязкости по сравнению с обработкой УЭ. Так, вязкость 15 масс. %-ного исходного раствора ПВП при воздействии γ -излучения (^{60}Co) дозой 30 кГр возрастает практически в 400 раз (от 0,015 до 5,70 Па×с), в то время как вязкость того же образца при УЭ увеличивается лишь в 2 раза. Увеличение концентрации ПВП не привело к значительному увеличению вязкости. Обратило на себя внимание то, что после воздействия γ -излучения (Co^{60}) дозой 30 кГр вязкость 30% ПВП ниже, чем в случае 15% ПВП, а после испытаний происходило выделение воды из геля, что можно объяснить явлениями синерезиса под воздействием механического поля. Поэтому дальнейшие исследования были проведены для системы с содержанием ПВП 15 масс. %. Приведенные результаты исследования опубликованы в статье [29].

Как видно из рис. 3.3, в интервале скоростей сдвига $1 \times 10^2 - 1 \times 10^4 \text{ с}^{-1}$ происходит разрушение первоначальной структуры системы с содержанием 15,0 масс % ПВП, полученной γ -облучением (доза облучения 30 кГр). Глубина деструкции составляет десятки раз, но при этом система обладает тиксотропностью, рис. 3.3:

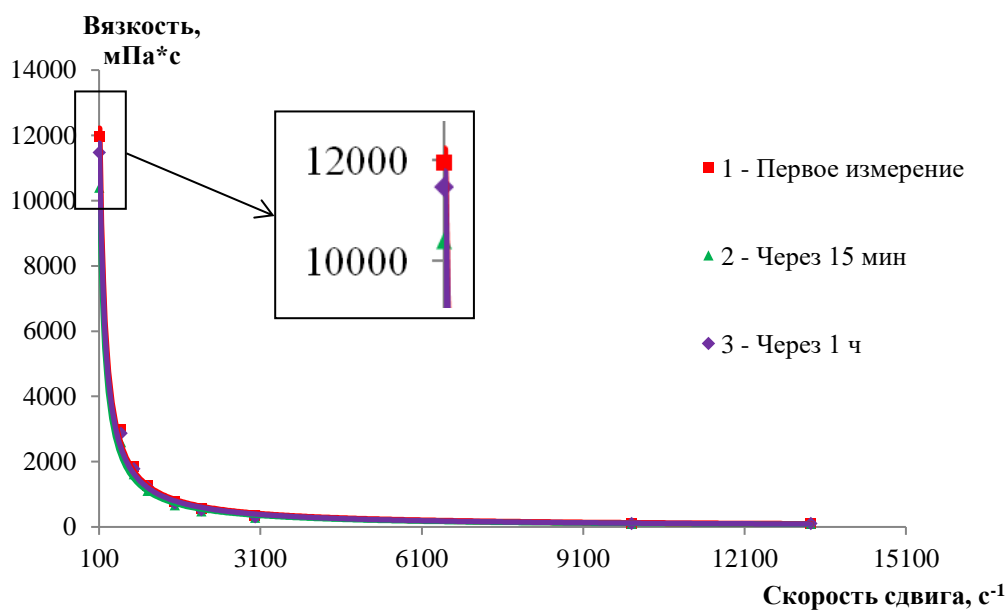


Рисунок 3.3 – Вязкостно – скоростные кривые системы с содержанием 15,0 масс % ПВП после γ -облучения интенсивностью 30 кГр, $T - 25 \text{ }^\circ\text{C}$:

- 1 – первое измерение;
- 2 – измерение через 15 мин после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 87 %);
- 3 – измерение через 1 ч после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 96 %)

В таблице 3.7 приведены значения MM_η . В растворе с концентрацией ПВП 15 масс. % происходит увеличение характеристической вязкости в 1,5 раза при дозе облучения 15 кГр и в 2,5 раза при дозе 30 кГр в сравнении с необлученным раствором ПВП. Таким образом, при высокоэнергетической обработке (γ -облучение, поток УЭ) протекают два параллельных процесса: поперечное сшивание и увеличение молекулярной массы.

Таблица 3.7 – Гидродинамические параметры образцов ПВП, облученных УЭ

Образец	Доза облучения УЭ, кГр	Гидродинамические параметры	
		[η], дл/г	ММ _η , кДа
ПВП исходный	-	0,2	30
15 % ПВП	15	0,3	100
	30	0,5	200

Визуально системы с вязкостью от $2,5 \times 10^3$ до 10×10^3 мПа·с представляют собой форму неустойчивого геля. Системы с более низкой вязкостью (до 1×10^3 мПа·с) можно отнести к структурированным растворам. Системы с вязкостью 10×10^3 мПа·с и более обладают устойчивой формой, что делает невозможным ее нанесение на поверхность ортопедического имплантата сложной конфигурации. Для практического применения оптимальными являются системы с вязкостью от 1×10^3 до 10×10^3 мПа·с. Таким образом, гель 15 масс.% полимера после облучения γ – лучами с интенсивностью 30 кГр обладает необходимыми свойствами для данного медицинского применения [29].

Однако, импрегнирование «сшитой» γ – облучением полимерной системы антибиотиками фосфомицином и гентамицином не представилось возможным: антибиотики не растворяются в гидрогеле. Была предпринята попытка обработать γ – лучами (дозой 30 кГр) многокомпонентный раствор (ПВП - гентамицин – фосфомицин). В многокомпонентной системе гелеобразование не произошло, рис. 3.4. Такой результат показывает существенное ограничение протекания реакции «сшивания» ПВП в присутствии антибиотиков, ингибирующих «сшивание» полимера. Поскольку в системе ПВП/фосфомицин после облучения происходит гелеобразование, а в системе ПВП/гентамицин гелеобразование не происходит, то к стерическим затруднениям процесса гелеобразования приводит молекула гентамицина (что прогнозируемо ввиду ее большей громоздкости).

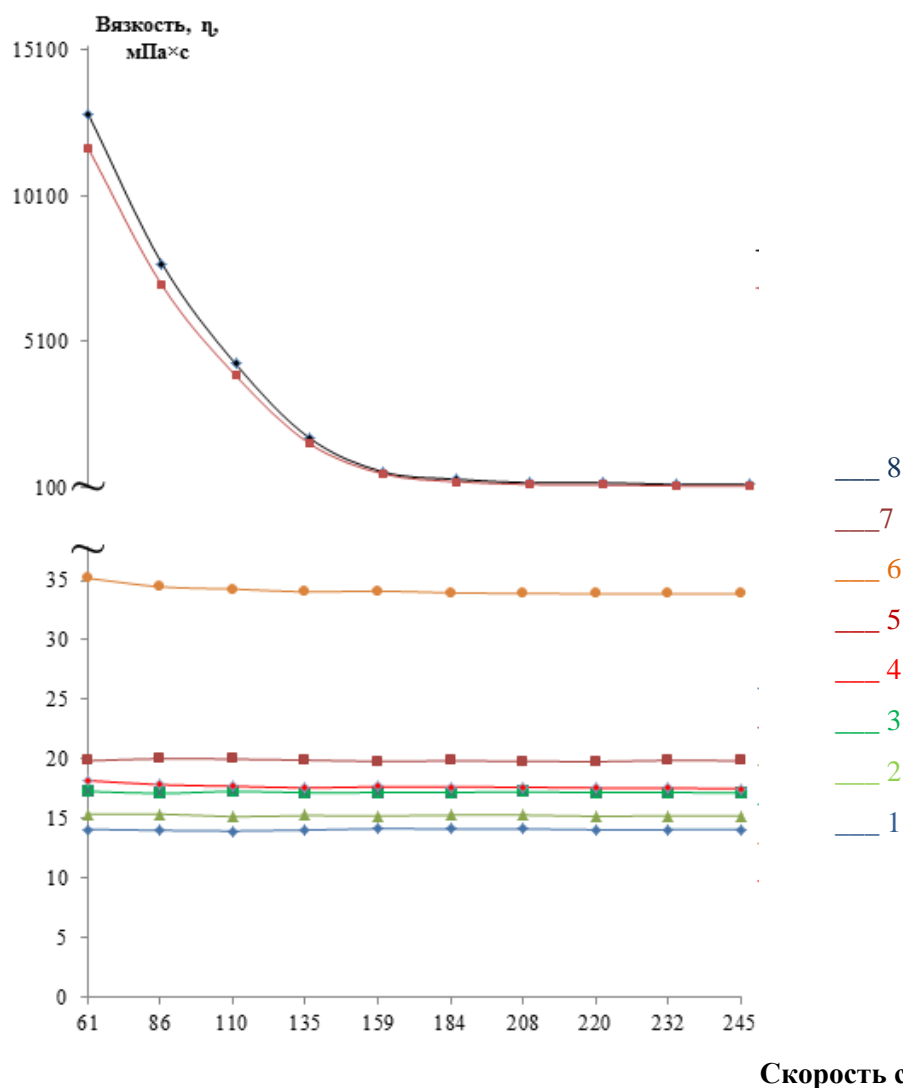


Рисунок 3.4 – Вязкостно-скоростные кривые систем на основе 15 масс.% ПВП с антибиотиками и без них до и после воздействия γ -излучения дозой 30 кГр, T – 25 °C:

- 1,8 – раствор 15 масс. % ПВП до облучения и после;
- 2,4 – раствор 15 масс. % ПВП с содержанием 1,2 масс. % гентамицина до облучения и после;
- 3,7 – раствор 15 масс. % ПВП с содержанием 5,0 масс. % фосфомицина до облучения и после;
- 5,6 – раствор 15 масс. % ПВП с содержанием 1,2 масс. % гентамицина и 5,0 масс. % фосфомицина до облучения и после

Следующим этапом было изучение влияния тепловой обработки на свойства ПВП, результаты приведены в таблице 3.8:

Таблица 3.8 – Влияние режима термообработки на внешний вид и растворимость порошкообразного ПВП в воде

Температура (Т), °С	Время выдержки (t), ч	Внешний вид	Растворимость в воде
140	8	Спеченный материал оранжевого цвета	Набухает в воде с последующим полным растворением
160	2	Спеченный материал оранжевого цвета	Набухает в воде с последующим полным растворением
160	4	Спеченный материал оранжевого цвета	Набухает в воде с последующим полным растворением
160	6	Спеченный материал оранжевого цвета	Набухает в воде с образованием необратимого студня
160	8	Спеченный материал оранжево-бурового цвета	Не набухает в воде
180	1	Спеченный материал оранжево-бурового цвета	Не набухает в воде
180	2	Спеченный материал оранжево-бурового цвета	Не набухает в воде

Физико-химические свойства порошкообразного ПВП после термической обработки в диапазоне температур 140 – 180 °С претерпевают изменения. Материалы, полученные при температуре 140 °С (время выдержки 8ч) характеризуются неограниченным набуханием, заканчивающимся полным растворением полимера и образованием раствора. Относительно короткая выдержка (2 – 4 ч) при температуре 160 °С также приводит к образованию материала, полностью растворимого в воде. При

температуре выше 160 °С получают материалы, не способные растворяться в воде и не набухающие в ней. Наиболее оптимальным режимом является нагревание при 160 °С в течение 6 ч. Данный режим приводит к образованию продукта (ПВП-ТО), не способного растворяться в воде, но хорошо набухающего в ней. Его ограниченное набухание заканчивается образованием необратимого геля.

На рис. 3.5 – 3.6 представлены вязкостно-скоростные кривые 15% ПВП –ТО гидрогелей и гибридных гидрогелей (с содержанием антибиотиков (АБ)).

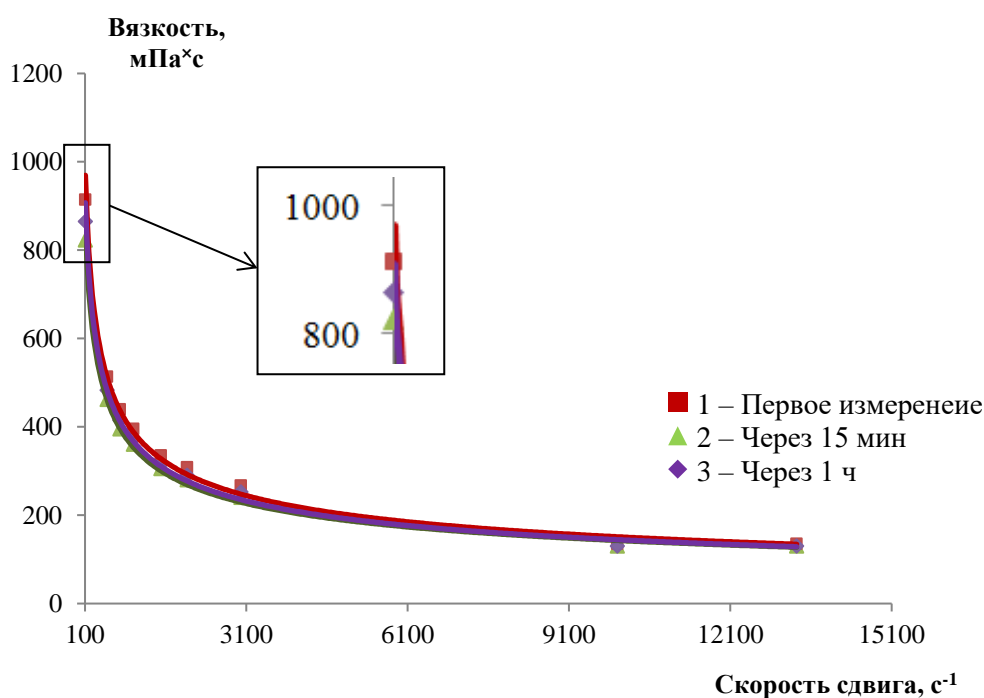


Рисунок 3.5 – Вязкостно-скоростные кривые гидрогеля ПВП – ТО, Т – 25 °С:

- 1 – первое измерение;
- 2 – измерение через 15 мин после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 90 %);
- 3 – измерение через 1 ч после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 95 %)

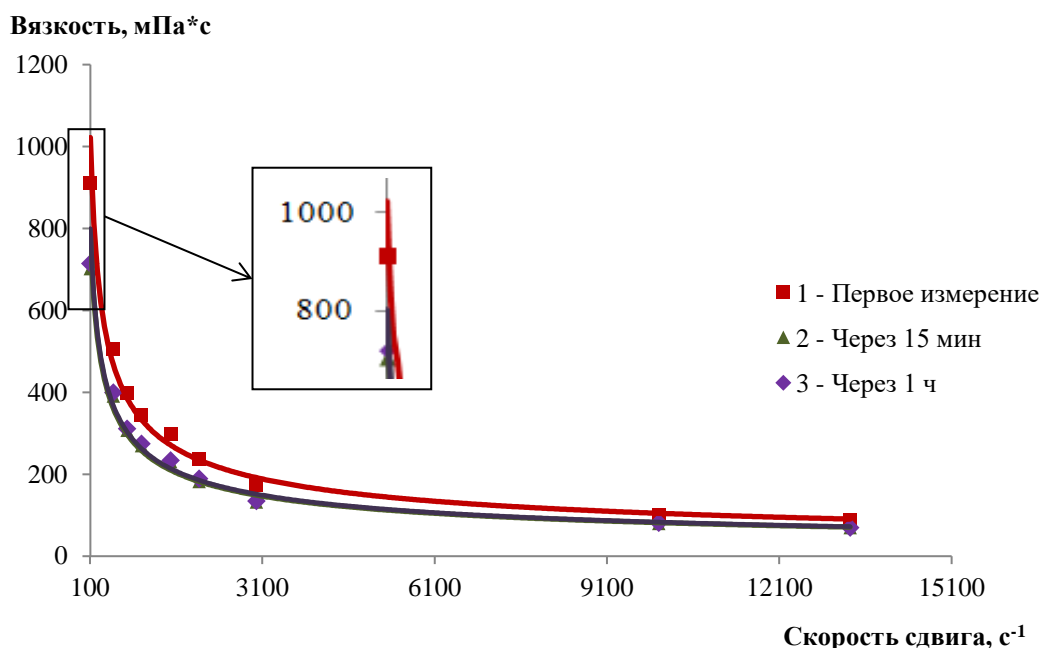


Рисунок 3.6 – Вязкостно-скоростные кривые гибридных гидрогелей ПВП – ТО с АБ, T – 25 °C:

- 1 – первое измерение;
- 2 – измерение через 15 мин после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 77 %);
- 3 – измерение через 1ч после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 79 %)

Отмечается схожее поведение гидрогелей ПВП – ТО с γ – обработанными составами: неньютоновоский характер, тиксотропность, добавление антибиотиков приводит к снижению значения вязкости.

Дополнительная γ – обработка гидрогелей ПВП – ТО (с целью стерилизации) приводит к увеличению вязкости: значение вязкости от 1×10^3 мПа*с становится 11×10^3 мПа*с, рис. 3.7, что находится на пределе значений для практического применения. Система теряет свойства текучести.

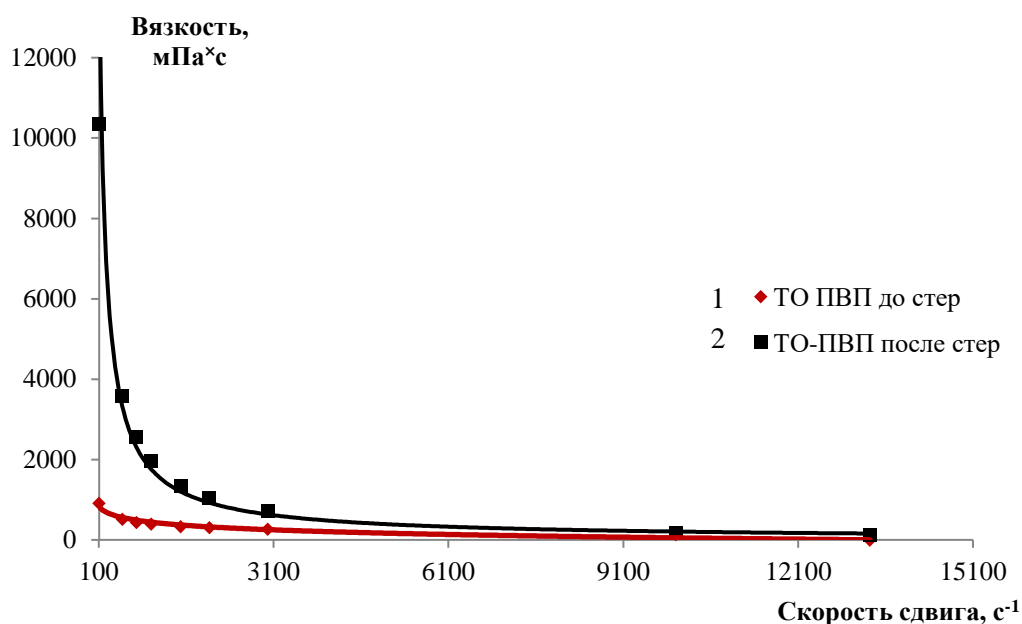


Рисунок 3.7 – Вязкостно-скоростные кривые гидрогелей ПВП – ТО,Т – 25 °С:
 1 – до γ -обработки;
 2 – после γ -обработки дозой 15кГр

Таким образом, учитывая полученные закономерности и необходимость получения гибридных композиций с оптимальными эксплуатационными характеристиками, был разработан комбинированный способ, заключающийся в том, что поливинилпирролидон в количестве 80 – 85 масс.% от исходного количества перед смешением предварительно подвергают термической обработке при температуре 160 °С в течение 6 часов, затем полученный термически сшитый поливинилпирролидон соединяют с дистиллированной водой с получением полимерного тиксотропного геля, в который добавляют гентамицина сульфат 1,2 масс. % и фосфомицин 5,0масс. %, далее в полученную смесь добавляют оставшееся количество несшитого (немодифицированного) поливинилпирролидона, после чего полученную смесь и подвергают γ -облучению дозой 10-15 кГр. На разработанный способ изготовления гидрогеля получен патент на изобретение РФ [43].

На рис. 3.8 – 3.10 показаны свойства гидрогелей, полученных комбинированной технологией: система обладает тиксотропностью, сохраняет однородную «мягкую», «подвижную» консистенцию. Значение

вязкости находится в пределах от $2,5 \times 10^3$ до 10×10^3 мПа·с, что является оптимальным для практического применения.

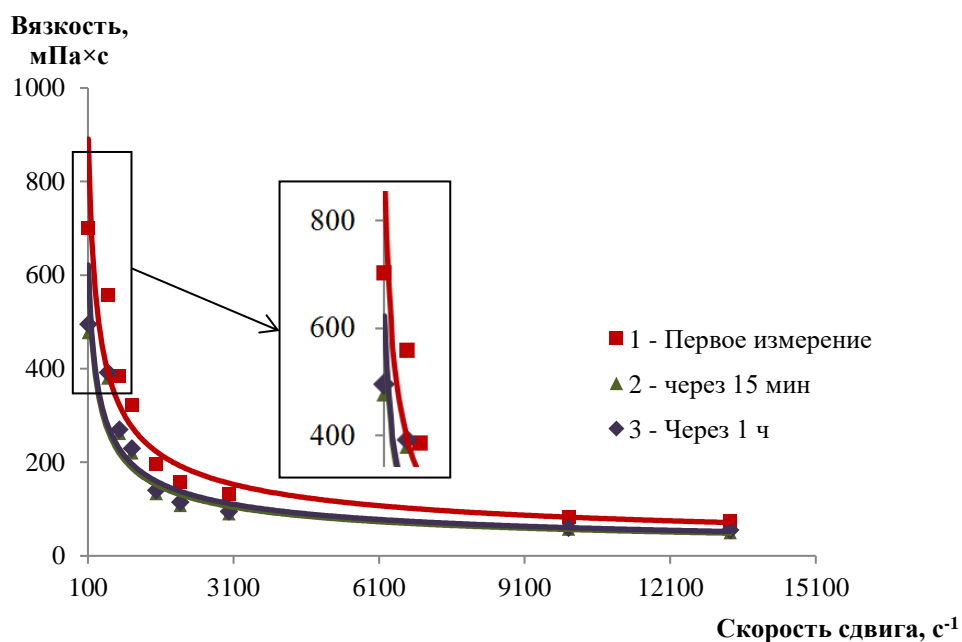


Рисунок 3.8 – Вязкостно-скоростные кривые гидрогелей ПВП – комб (без АБ), T – 25 °C:

- 1 – первое измерение;
- 2 – измерение через 15 мин после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 68 %);
- 3 – измерение через 1 ч после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 71 %)

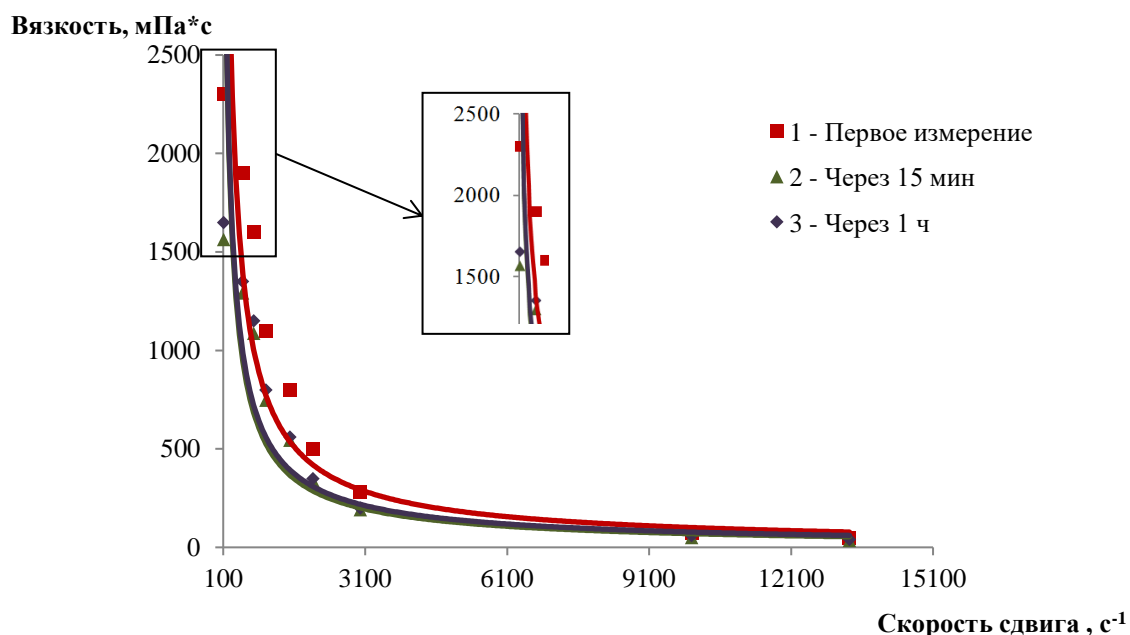


Рисунок 3.9 – Вязкостно-скоростные кривые гибридных гидрогелей ПВП – комб (с АБ), T – 25 °C:

- 1 – первое измерение;
- 2 – измерение через 15 мин после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 68 %);
- 3 – измерение через 1 ч после устранения внешнего воздействия (восстановление структуры на 72 %)

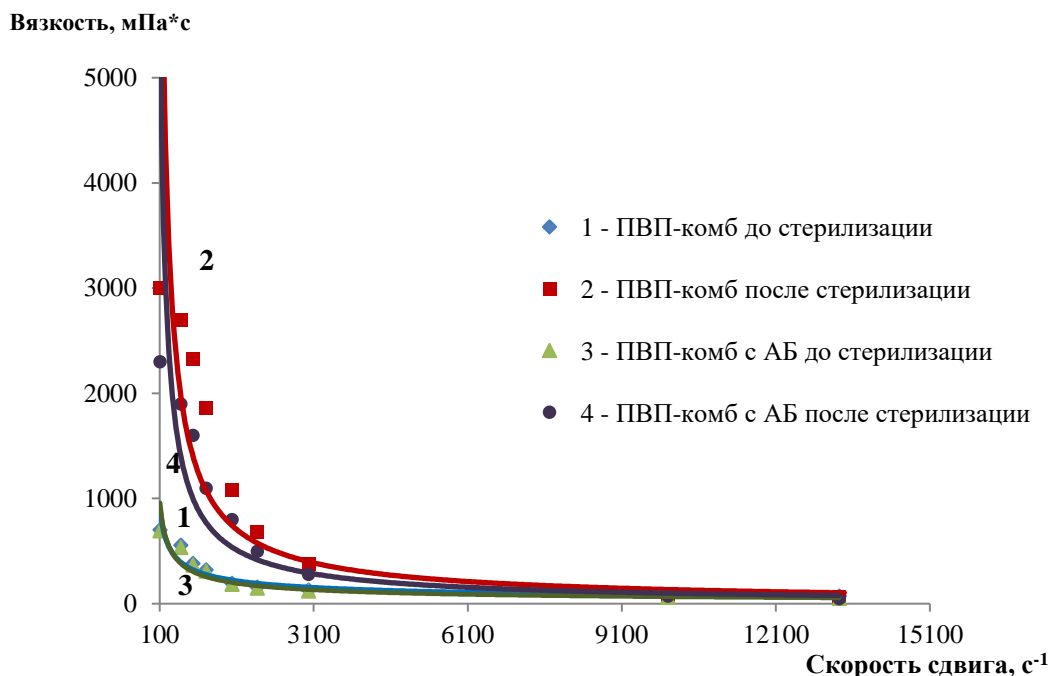


Рисунок 3.10 – Вязкостно-скоростные кривые гидрогелей ПВП–комб без антибиотиков и с антибиотиками до и после стерилизации, T – 25 °C:

- 1 – гидрогель ПВП–комб без антибиотиков до γ -обработки;
- 2 – гидрогель ПВП–комб без антибиотиков после γ -обработки;
- 3 – гидрогель ПВП–комб с антибиотиками до γ -обработки;
- 4 – гидрогель ПВП–комб с антибиотиками после γ -обработки

В таблице 3.9 обобщены значения динамической вязкости композиций с одинаковым содержанием ПВП при различных технологических режимах получения:

Таблица 3.9 – Динамическая вязкость полимерных композиций на основе ПВП, скорость сдвига 10² с⁻¹, T – 25 °C

Композиция	Динамическая вязкость, мПа*с	
	До стерилизации	После стерилизации
ПВП – γ (без АБ)	13 ± 2	12 000 ± 1500

Композиция	Динамическая вязкость, мПа·с	
	До стерилизации	После стерилизации
ПВП – γ (с АБ)	20 ± 3	35 ± 5
ПВП – ТО (без АБ)	1000 ± 90	$10\ 000 \pm 1500$
ПВП – ТО (с АБ)	$1\ 000 \pm 100$	$5\ 000 \pm 700$
ПВП – комб (без АБ)	700 ± 10	$3\ 000 \pm 500$
ПВП – комб (с АБ)	700 ± 10	2500 ± 350

При хранении при температурах 25 и 37 °С в течение 180 суток вязкость гидрогелей не меняется.

Следует отметить, что гибридные гидрогели ПВП хорошо адгезируют к металлической поверхности. Экспериментальные данные по определению значений свободной поверхностной энергии образцов гидрогелей и металлического образца приведены в табл. 3.10.

Существуют разные теории адгезии: адсорбционная, диффузионная, химическая теория; микрореологическая; электрическая. Широко используется метод исследования и расчета поверхностной и дисперсионной составляющих, предложенный Оуэнсом-Вендтом (концепция аддитивности компонентов поверхностного взаимодействия), развитая в дальнейшем Липатовым Ю.С., который настаивал на превалировании дисперсионной составляющей в адгезионном процессе [24]. Как видно из полученных данных, хорошая смачиваемость металлической поверхности медицинского NiTi гидрогелями происходит за счет дисперсной составляющей, а плотное прилегание должно предотвратить образование биопленки, что далее подтверждается гистологически в эксперименте *in vivo*.

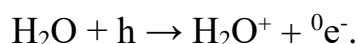
Таблица 3.10 – Энергетические характеристики поверхности медицинского NiTi и гидрогелей ПВП

Образец	Общая поверхностная энергия (γ), мДж/м ²	Дисперсионная составляющая поверхностной энергии (γ^d), мДж/м ²	Полярная составляющая поверхностной энергии (γ^p), мДж/м ²
Металлическая поверхность из медицинского NiTi	34,2 ± 1,6	25,8 ± 1,3	8,4 ± 0,5
Гибридный гидрогель ПВП – ТО	63,7 ± 1,9	24,1 ± 1,1	39,6 ± 1,5
Гибридный гидрогель ПВП – комб	66,0 ± 1,8	20,9 ± 1,1	45,1 ± 1,6

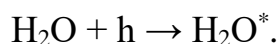
3.3 Исследования межмолекулярных взаимодействий в гидрогелях методом ИК-спектроскопии НПВО

При получении гидрогелей ПВП из раствора воздействием ионизирующего излучения основной составляющей системы является вода, молекулы которой склонны к радиолизу под воздействием ионизирующего излучения. Разного рода превращения веществ, растворенных в воде, подвергающихся действию облучения, обусловлены, в первую очередь, взаимодействием этих веществ с продуктами радиолиза воды.

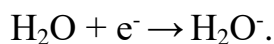
Воздействие ионизирующего излучения генерирует в воде процессы ионизации и возбуждения [278]. «В результате ионизации из молекулы воды выбивается электрон и образуется положительно заряженная молекула воды:



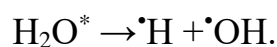
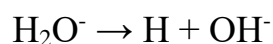
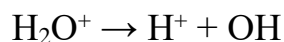
Если энергии для ионизации недостаточно, то возможно образование возбужденной молекулы воды:



Электрон, освободившийся при ионизации молекулы воды, постепенно теряет свою энергию и может быть захвачен другой молекулой воды, которая превращается в отрицательно заряженную молекулу воды:



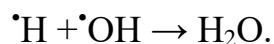
Все перечисленные первичные продукты взаимодействия молекулы воды с излучением (H_2O^+ , H_2O^- , H_2O^*) являются нестабильными и распадаются с образованием ионов и свободных радикалов:



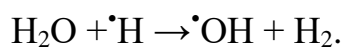
Кроме того, выбитый электрон может окружить себя четырьмя молекулами воды и превратиться в гидратированный электрон $e^-_{\text{H}_2\text{O}}$ и может быть захвачен молекулой H_2O^+ с образованием возбужденной молекулы воды:



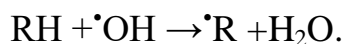
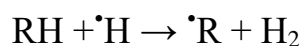
Возбужденная молекула воды распадается на атомарный водород H и гидроксильный радикал $\cdot\text{OH}$. Далее радикалы могут реагировать друг с другом. Это, в первую очередь, касается радикалов $\cdot\text{H}$ и $\cdot\text{OH}$, образующихся при распаде H_2O^* , после реакции:



Образовавшиеся радикалы могут вступать в реакцию с другими молекулами воды:



Продукты радиолиза воды способны вырывать атом водорода из органических молекул, превращая их в радикалы:



Таким образом, исходными частицами при ионизирующем излучении могут являться $\cdot OH$, $e^-_{H_2O}$ и атомы H. Возможные механизмы реакции образующихся активных частиц с ПВП представлены на рисунках 3.11 – 3.12: $e^-_{H_2O}$ реагирует с карбонильной группой ПВП с образованием анион-радикалов (А) и (Б) с последующим быстрым протонированием каждого переходного иона.

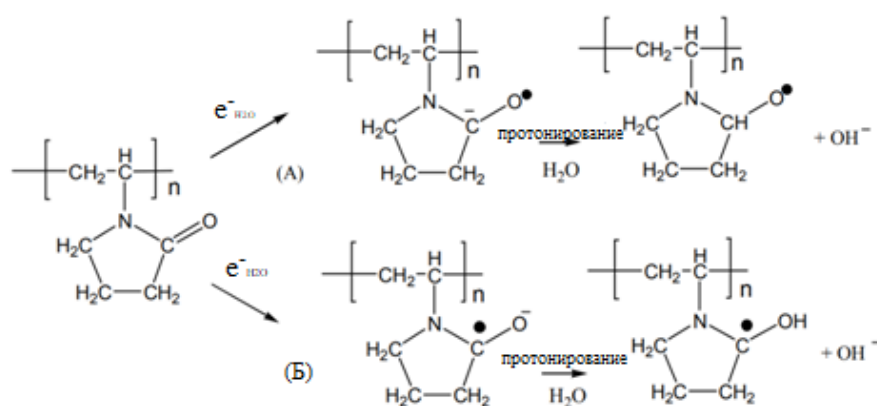


Рисунок 3.11 – Возможные механизмы реакции гидратированных электронов с ПВП

Как правило, радикалы $\cdot OH$ реагируют с полимером, отщепляя атом H или присоединяясь к двойной связи. Поскольку ПВП не имеет ненасыщенного углерода в своей структуре, возможно, что отщепление H будет происходить от атома углерода в основной полимерной цепи (рис. 3.12, В), а также от атома углерода в пирролидоновом кольце (рис. 3.12, Г)» [278].

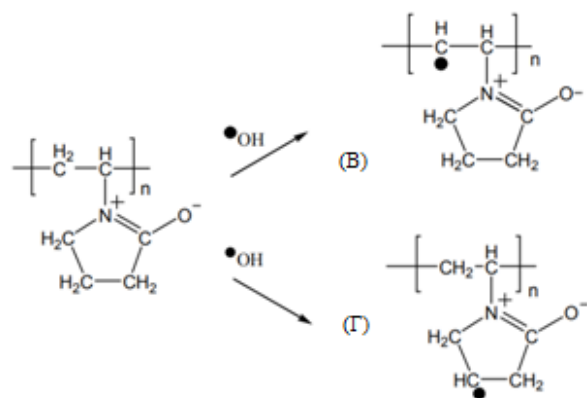


Рисунок 3.12 – Возможные механизмы реакции гидроксильных радикалов с ПВП

Таким образом, ионизирующее излучение в исследуемой системе может привести к образованию следующих макрорадикалов (рис. 3.13):

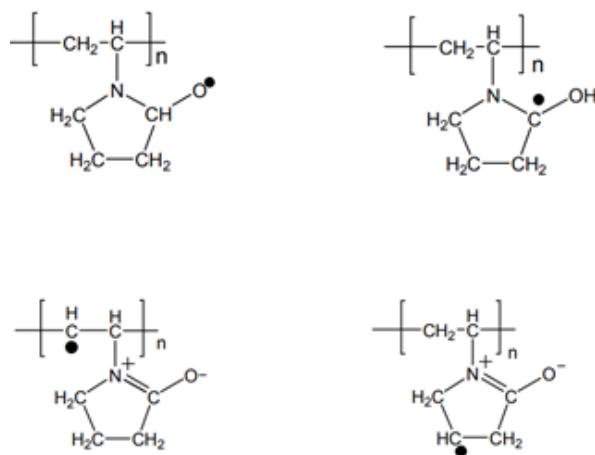


Рисунок 3.13 – Возможные макрорадикалы, образовавшиеся при ионизирующем излучении системы ПВП/вода

В результате случайного столкновения образовавшихся макрорадикалов с «нейтральными» молекулами полимера по механизму радикального присоединения происходит развитие цепи, образуются «продукты» реакции и новые радикалы, либо в результате столкновения двух радикалов – рекомбинация свободных радикалов с обрывом цепи (рис. 3.14).

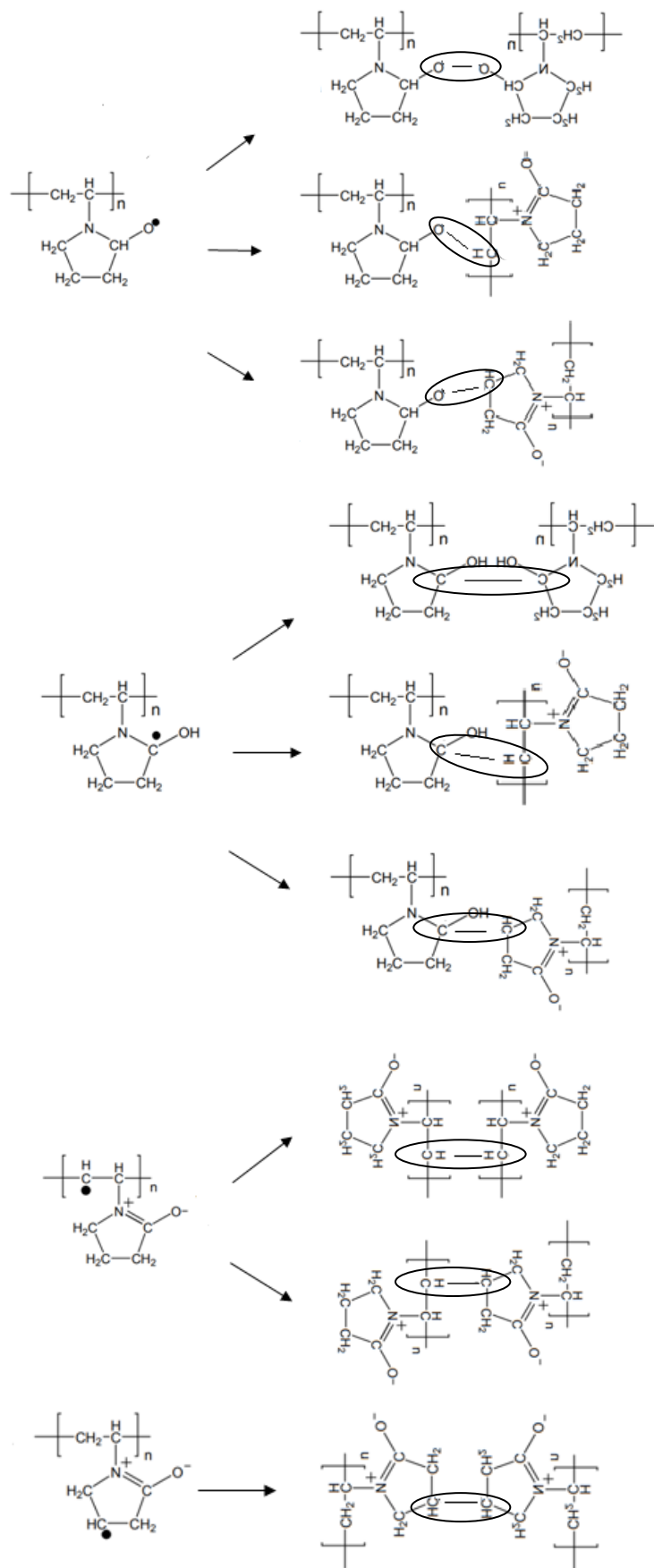


Рисунок 3.14 – Возможные варианты рекомбинации свободных радикалов с обрывом цепи

Для выявления произошедших взаимодействий с целью подтверждения или отрицания предположенных механизмов, в исследовании был применен метод НПВО. На рис. 3.15 представлены НПВО ИК-спектры раствора ПВП (15% масс.) до и после обработки γ -излучением:

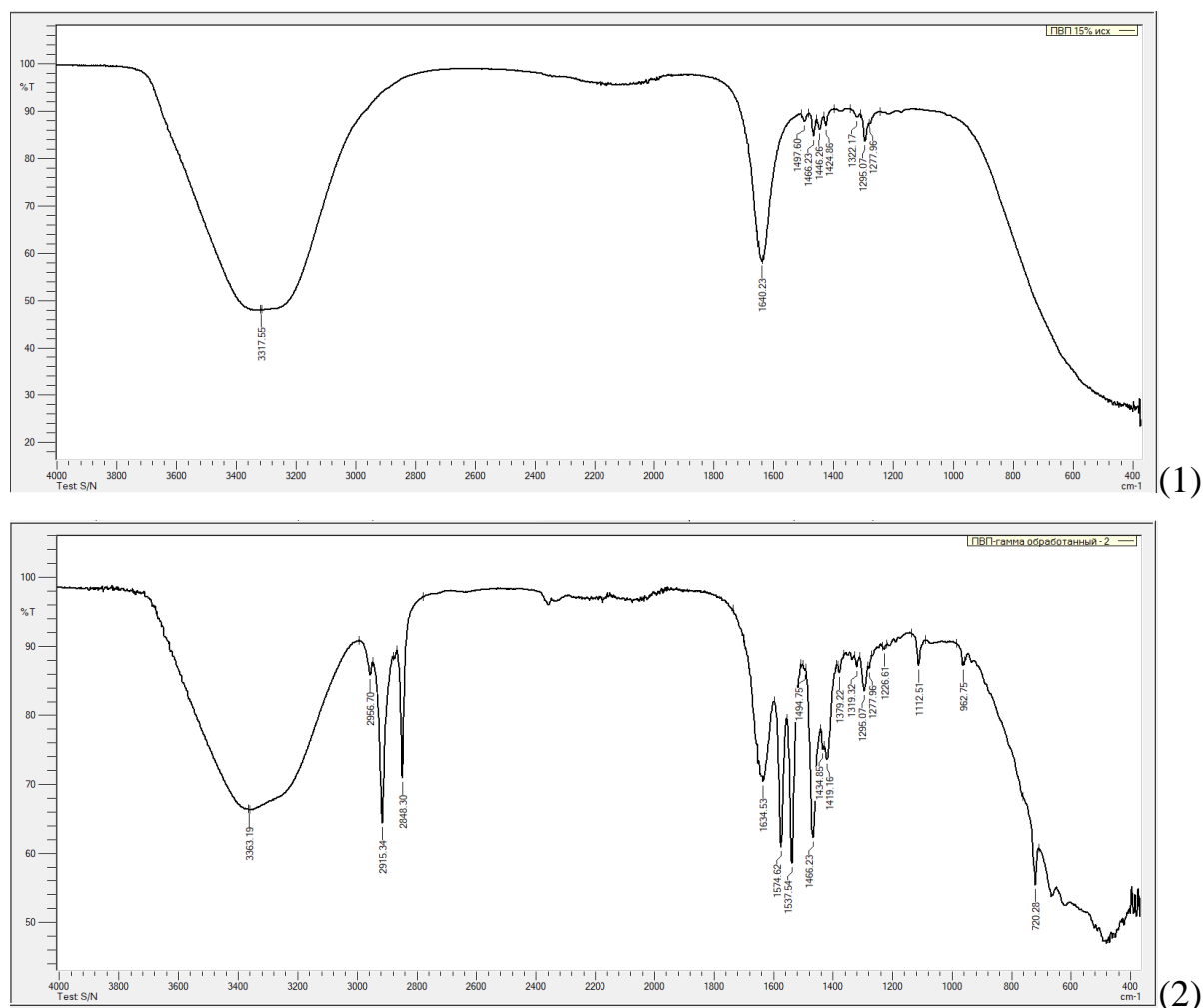


Рисунок 3.15 – ИК–спектры системы ПВП/вода:

- 1 – до γ -облучения;
- 2 – после γ -облучения

ИК-спектр системы ПВП/вода после γ -излучения несколько отличается от ИК-спектра немодифицированной системы ПВП/вода, в частности, в ИК-спектре γ -обработанной системы появились полосы поглощения $1574,62 \text{ см}^{-1}$ и $1537,54 \text{ см}^{-1}$, отвечающие за валентные колебания связи $\text{C}=\text{N}$, появление которых можно связать с тем, что в системе ПВП/вода происходит

стабилизация енольной формы молекулы ПВП в результате процессов, происходящих под воздействием γ -облучения. Процесс перехода кето-формы молекулы в енольную можно объяснить тем, что при ионизирующем облучении разбавленных растворов полимеров первичные реакционноспособные частицы преимущественно образуются в растворителе, которые затем взаимодействуют с молекулами растворенного вещества, вызывая в них вторичные химические эффекты [26; 278].

Согласно рис. 3.15 есть изменения в интенсивности полос поглощения функциональных групп при длинах волн $1466,23\text{ см}^{-1}$; $(1419,16 - 1424,86)\text{ см}^{-1}$; $(1319,32 - 1322,17)\text{ см}^{-1}$; $(1226,61 - 1215,20)\text{ см}^{-1}$, для которых определены отношение оптических плотностей при данных длинах волны внутреннего стандарта ($1634 - 1652\text{ см}^{-1}$). Результаты приведены в таблице 3.11, первичные данные и соответствующие расчеты представлены в Приложении № 3.

Таблица 3.11 – Относительная интенсивность полос поглощения в ИК-спектрах исходного водного раствора ПВП и модифицированного раствора ПВП воздействием ионизирующего излучения

№	Волновое число, ν , см^{-1}	Соотношение $D/D_{\text{вн.ст}}$		D''/D'
		Исходный раствор ПВП (D')	Модифицированный раствор ПВП (D'')	
1	1466,23	$0,076 \pm 0,003$	$1,333 \pm 0,060$	$17,518 \pm 0,9$
2	1419,16 - 1424,86	$0,058 \pm 0,002$	$0,352 \pm 0,015$	$6,100 \pm 0,3$
3	1374,94 - 1379,22	$0,012 \pm 0,001$	$0,079 \pm 0,003$	$6,337 \pm 0,3$
4	1319,32 - 1322,17	$0,023 \pm 0,001$	$0,089 \pm 0,004$	$3,859 \pm 0,2$

Многokратное увеличение относительной интенсивности полос поглощения при волновом числе $1466,23$, характерного для функциональных групп $C - C - C$ и $C - N$ в гетероциклическом кольце, а также изменение относительной интенсивности полосы поглощения при $1319,32 - 1322,17) -$

валентные колебания связи С – О, свидетельствуют о том, что «сшивка» ПВП под воздействием высокоэнергетического излучения происходит с участием той функциональной группы, изменения с которой влияют на колебания вышеуказанных связей. В данном случае этой группой является карбонильная группа С=О. При этом не исключается «сшивка» макромолекул по главной цепи полимера, так как выявлены значительные изменения и по полосам поглощения связи СН₂–СН–. Увеличение относительной интенсивности полос поглощения, представленных в табл. 3.11, позволяет предположить, что реакции «сшивания» могут происходить по схемам, продемонстрированным на рис. 3.16, то есть по карбонильной группе и основной цепи:

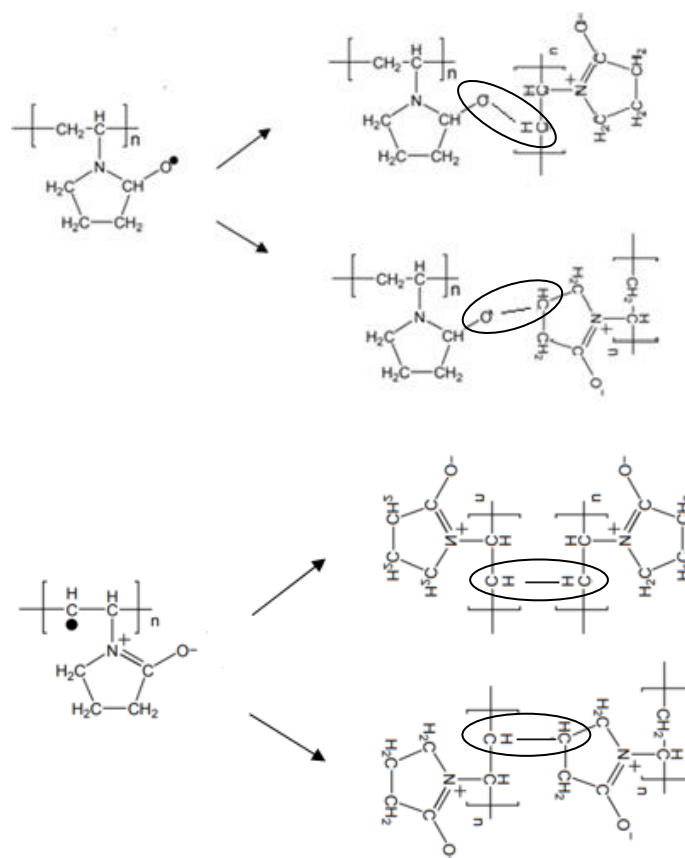


Рисунок 3.16 – Предполагаемый механизм «сшивания» ПВП под воздействием высокоэнергетического излучения

На рис. 3.17 приведены ИК–спектры ПВП до и после его модифицирования при помощи термического воздействия

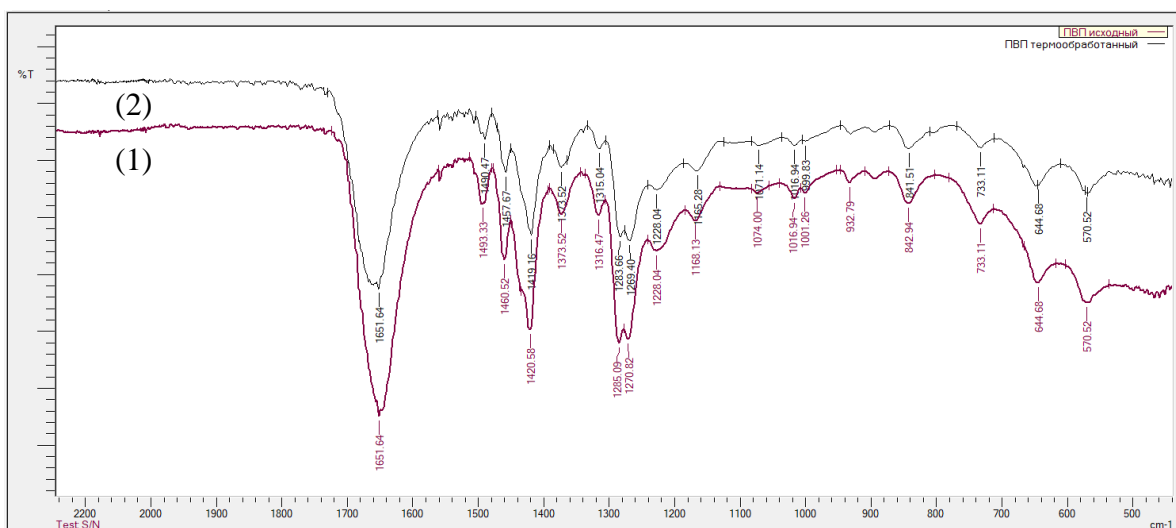


Рисунок 3.17 – ИК – спектры ПВХ:
1 – до термической обработки; 2 – после термической обработки

В табл. 3.12 представлены результаты относительной интенсивности полос поглощения ИК-спектров.

Таблица 3.12 – Относительная интенсивность полос поглощения в ИК – спектрах исходного ПВХ и ПВХ – ТО

№	Волновое число, ν , cm^{-1}	$D/D_{\text{вн.ст}}$		D''/D'
		ПВП исходный(D')	ПВП – ТО (D'')	
1	1457,67 -1460,52	$0,179 \pm 0,014$	$0,157 \pm 0,006$	$0,881 \pm 0,040$
2	1419,16 -1420,58	$0,434 \pm 0,015$	$0,461 \pm 0,020$	$1,062 \pm 0,009$
3	1373,52	$0,097 \pm 0,004$	$0,134 \pm 0,006$	$1,381 \pm 0,005$
4	1315,04 -1316,47	$0,075 \pm 0,003$	$0,068 \pm 0,004$	$0,902 \pm 0,019$
5	1228,04	$0,063 \pm 0,003$	$0,065 \pm 0,003$	$1,032 \pm 0,002$

Статистическая значимость изменений величин относительной интенсивности оценена с применением U-критерия Манна-Уитни, табл. 3.13.

Таблица 3.13–Результаты оценки различий между двумя выборками (D' и D'')

№	Волновое число, ν , cm^{-1}	U-критерий Манна Уитни при $p \leq 0.05$		Вывод о достоверности
		$U_{\text{эмп}}$	$U_{\text{кр}}$	
1	1457,67 -1460,52	0,5	0	$U_{\text{эмп}} > U_{\text{кр}}$, недостоверно
2	1419,16 -1420,58	1	0	
3	1373,52	0	0	$U_{\text{эмп}} \leq U_{\text{кр}}$, достоверно
4	1315,04 -1316,47	0,5	0	$U_{\text{эмп}} > U_{\text{кр}}$, недостоверно
5	1228,04	3	0	

Таким образом при термообработке ПВП значимое изменение в величинах относительной интенсивности полос поглощения функциональных групп было при длине волны 1373,52, отражающей изменения функциональной группы $\text{CH}_2\text{-CH-}$. Это свидетельствует о том, что «сшивка» макромолекул ПВП в случае термообработки происходит в основном с участием группы $\text{CH}_2\text{-CH-}$ либо по главной цепи полимера (рис. 3.18(1)), либо по лактамному кольцу (рис. 3.18(2)).

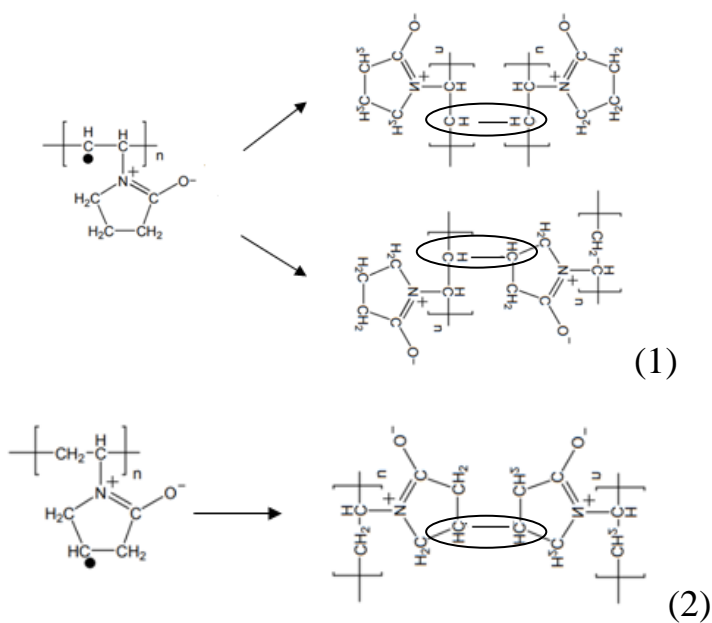
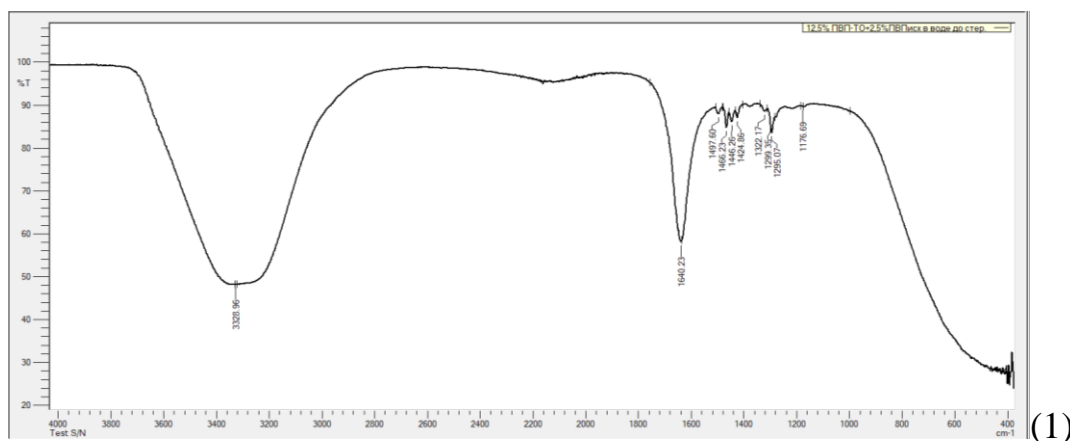


Рисунок 3.18 – Предполагаемый механизм «сшивания» ПВП при термообработке

В случае комбинированного метода ИК-спектр гидрогелевой полимерной матрицы выглядит следующим образом, рис. 3.19:



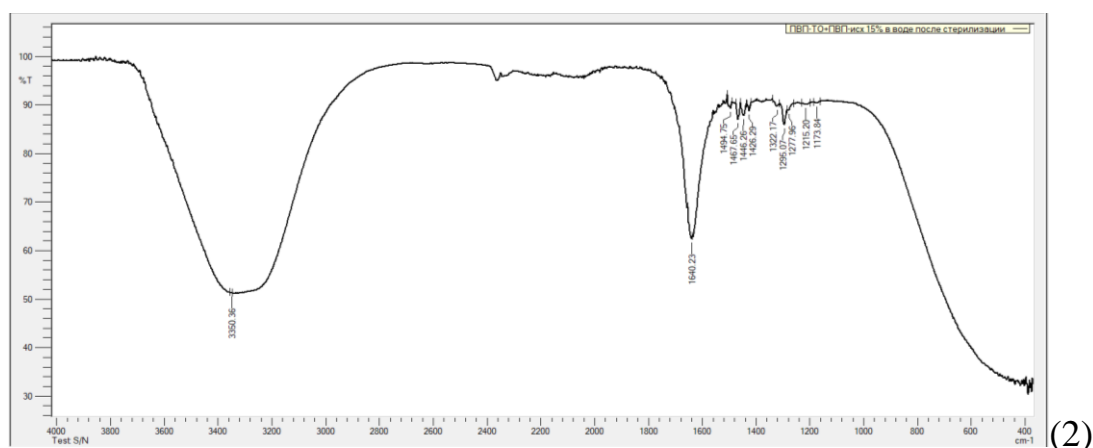


Рисунок 3.19 – ИК – спектры системы ПВП – комб.: 1 – до γ -обработки; 2 – после γ -обработки

Расчеты по относительной интенсивности полос поглощений для этой системы приведены в табл. 3.14.

Таблица 3.14 – Относительная интенсивность разных полос поглощения в ИК – спектрах гидрогеля ПВП – комб до и после γ -обработки

№	Волновое число, ν , cm^{-1}	$D/D_{\text{вн.ст}}$		D''/D'
		Гидрогель ПВП – комб до γ -обработки (D')	Гидрогель ПВП – комб после γ -обработки (D'')	
1	1466,23 - 1467,65	$0,098 \pm 0,005$	$0,103 \pm 0,005$	$1,051 \pm 0,003$
2	1446,26	$0,055 \pm 0,003$	$0,076 \pm 0,004$	$1,382 \pm 0,003$
3	1424,86 - 1426,29	$0,041 \pm 0,003$	$0,046 \pm 0,002$	$1,114 \pm 0,020$
4	1322,17	$0,006 \pm 0,0003$	$0,021 \pm 0,001$	$3,5 \pm 0,008$

Статистическая значимость изменений величин относительной интенсивности оценена с применением U-критерия Манна-Уитни, табл. 3.15.

Таблица 3.15 – Результаты оценки различий между двумя выборками (D' и D'')

№	Волновое число, ν , cm^{-1}	U-критерий Манна Уитни при $p \leq 0.05$		Вывод о достоверности
		$U_{\text{эмп}}$	$U_{\text{кр}}$	
1	1466,23 - 1467,65	2	0	$U_{\text{эмп}} > U_{\text{кр}}$, недостоверно
2	1446,26	0	0	$U_{\text{эмп}} \leq U_{\text{кр}}$, достоверно
3	1424,86 - 1426,29	0,5	0	$U_{\text{эмп}} > U_{\text{кр}}$, недостоверно
4	1322,17	0	0	$U_{\text{эмп}} \leq U_{\text{кр}}$, достоверно

В случае комбинированного метода γ -облучению подвергается смесь сшитого (термической обработкой) и несшитого ПВП, в системе происходит дополнительная сшивка по механизму приведенному в рис. 3.16.

Для изучения межмолекулярных взаимодействий компонентов внутри гибридных гидрогелей, содержащих фосфомицин и гентамицин, при разных способах получения приведены ИК-спектры полимерных систем до и после добавления антибиотиков, рис. 3.20 – 3.27.

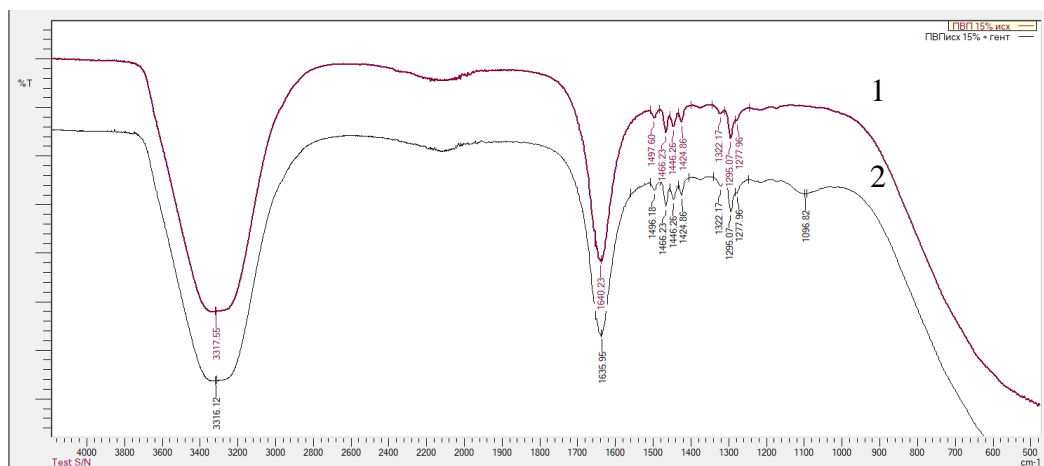


Рисунок 3.20 – ИК-спектры:

- 1 - исходный 15 масс.% раствор ПВП;
- 2 - 15 масс.% раствор ПВП с добавлением гентамицина – 1,2 масс. %

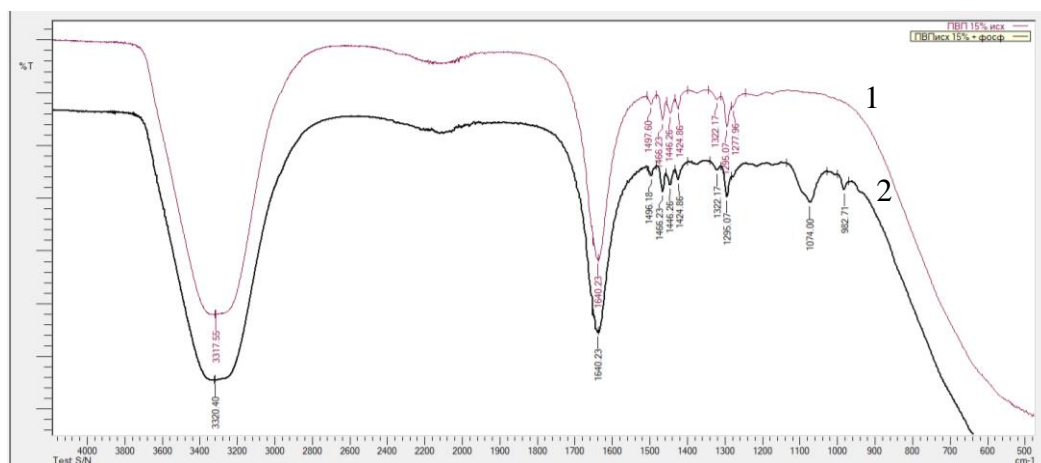


Рисунок 3.21 – ИК-спектры:

- 1 - исходный 15 масс.% раствор ПВП;
- 2 - 15 масс. % раствор ПВП с добавлением фосфомицина – 1,2 масс. %

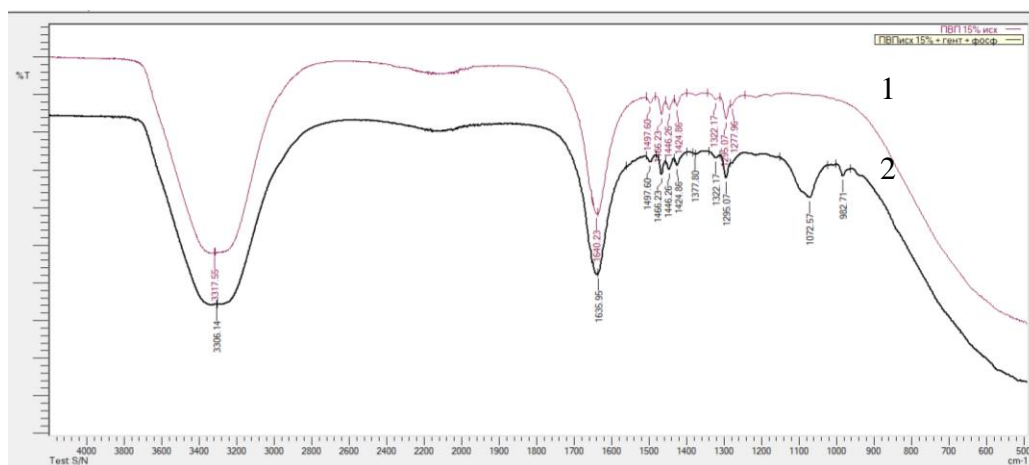


Рисунок 3.22 – ИК-спектры:

1 - исходный 15 масс.% раствор ПВП;

2 - 15 масс. % раствор ПВП с добавлением гентамицина–1,2 масс. % и фосфомицина – 5,0 масс. %

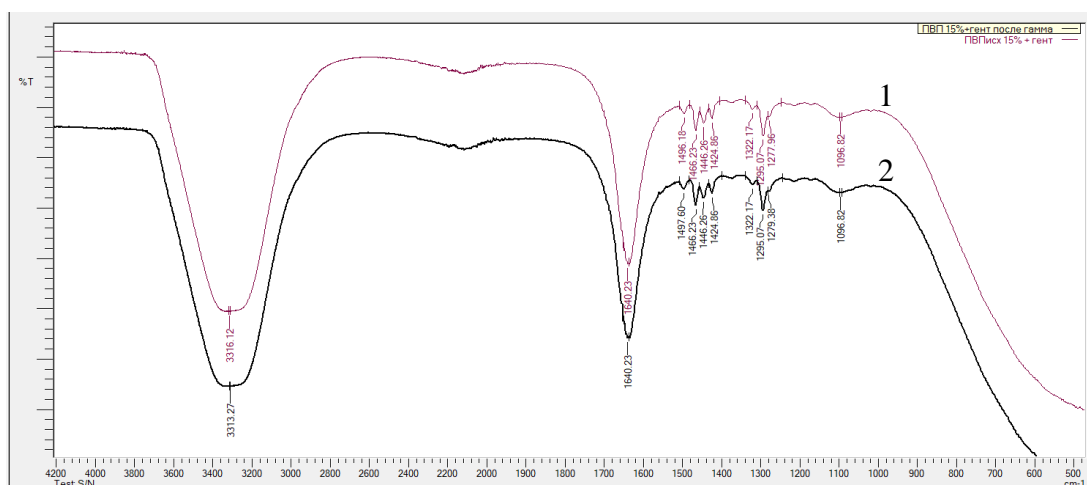


Рисунок 3.23 – ИК-спектры 15 масс.% раствора ПВП с добавлением гентамицина – 1,2 масс. %: 1 – до γ -облучения; 2 – после γ -облучения

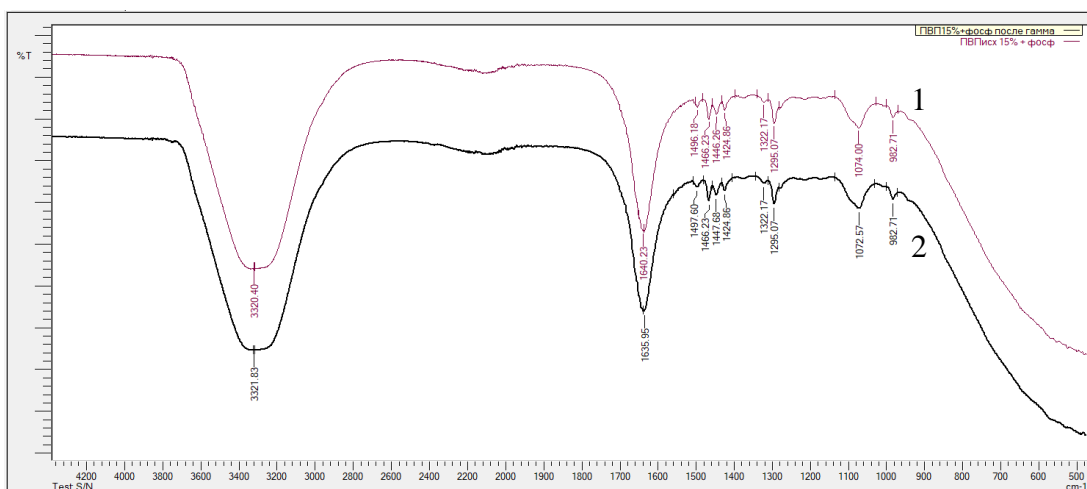


Рисунок 3.24 – ИК-спектры 15 масс.% раствора ПВП с добавлением фосфомицина – 5,0 масс. %: 1 – до γ -облучения; 2 – после γ -облучения

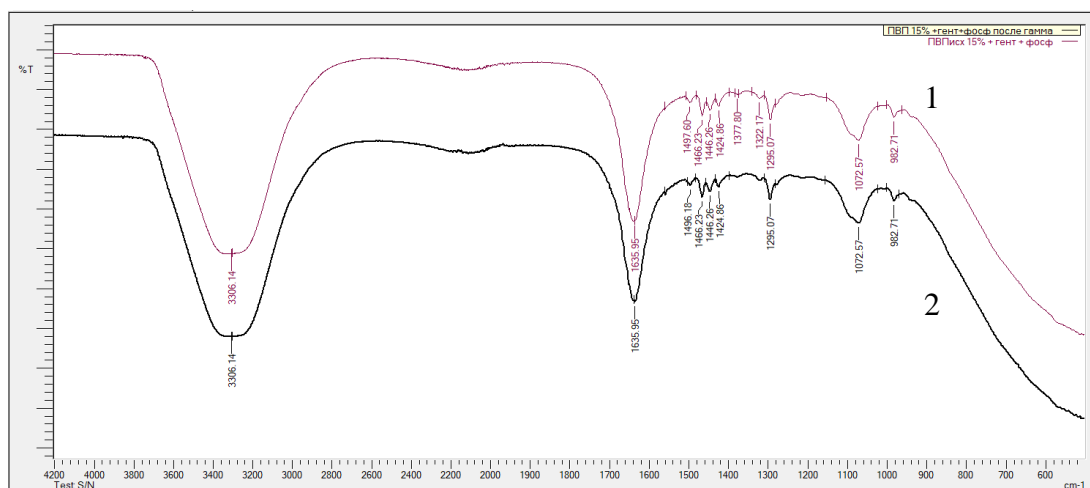


Рисунок 3.25 – ИК-спектры 15 масс.% раствора ПВП с добавлением одновременно гентамицина – 1,2 масс. % и фосфомицина 5,0 масс. %: 1 – до γ -облучения; 2 – после γ -облучения

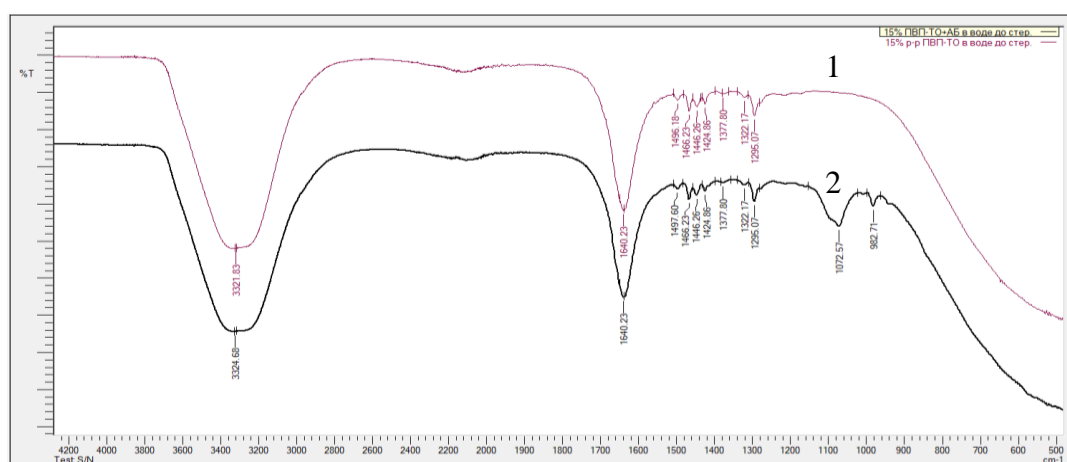


Рисунок 3.26 – ИК-спектры до γ -облучения: 1 – гидрогель ПВП – ТО; 2 – гибридный гидрогель ПВП – ТО

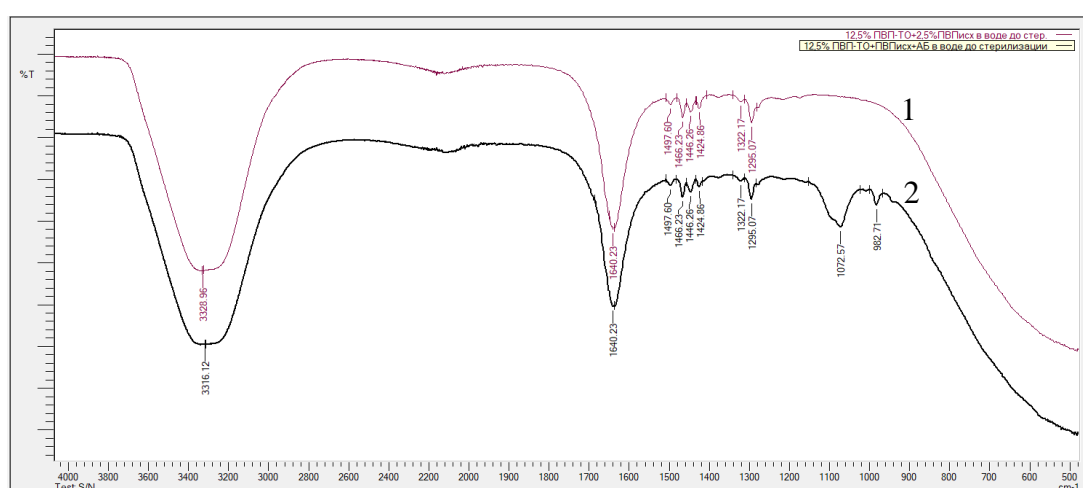


Рисунок 3.27 – ИК-спектры до γ -облучения: 1 – гидрогель ПВП – комб; 2 – гибридный гидрогель ПВП – комб

Анализ ИК-спектров полимерных систем показал, что после добавления антибактериальных фармацевтических субстанций изменения произошли в области волновых чисел 1100 – 980 см⁻¹: после добавления гентамицина появился слабый пик в области 1100 – 1050 см⁻¹ (асимметричное валентное колебание связи С – О – С в гетероцикле гентамицина); после добавления фосфомицина появился пик не только в области волновых чисел 1100 – 1050 см⁻¹, но и в области 982 см⁻¹ (асимметричные валентные колебания эпокси группы); в присутствии обеих фармацевтических субстанций ИК-спектр идентичен с ИК-спектром системы с фосфомицином и отличается лишь интенсивностью пика в области волновых чисел 1100 – 1050 см⁻¹. Интенсивность пиков, характерных для исходного ПВП, не изменились.

Таким образом, вне зависимости от способа получения, в гибридных гидрогелях взаимодействие между полимерной матрицей и лекарственными средствами отсутствует как в системах в исходном состоянии, так и после γ -обработки.

3.4 Свойства гидрогелей ПВП

3.4.1 Оценка плотности сшивания ПВП методом ДСК

Свойства гидрогелей были охарактеризованы методом ДСК, данные представлены на рис. 3.28– 3.31 и в табл. 3.16.

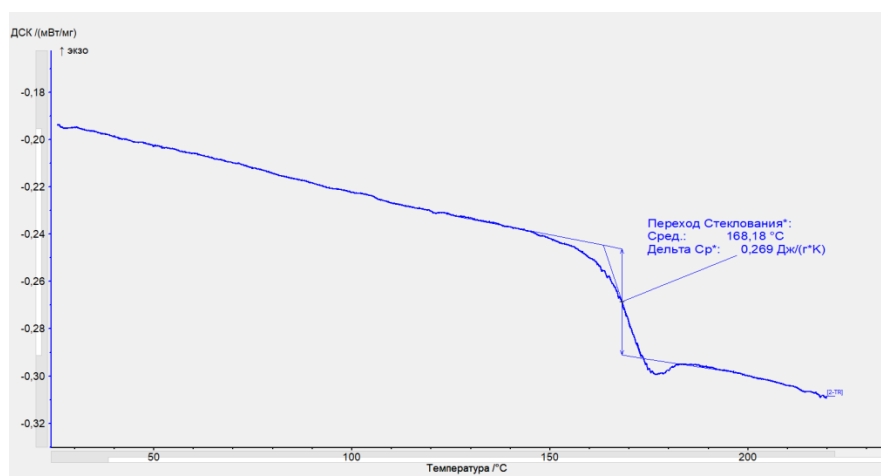


Рисунок 3.28 – Термограмма исходного ПВП в форме порошка

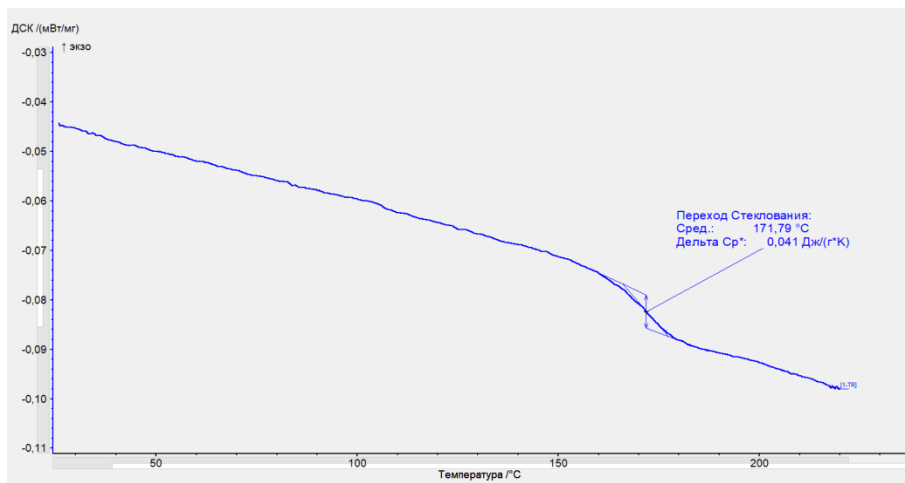


Рисунок 3.29 – Термограмма гидрогеля ПВП – γ

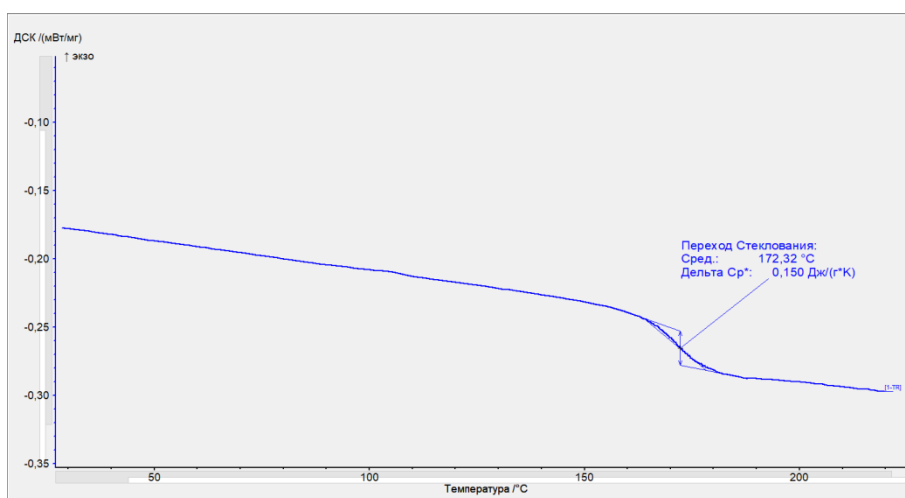


Рисунок 3.30 – Термограмма термообработанного ПВП в форме порошка

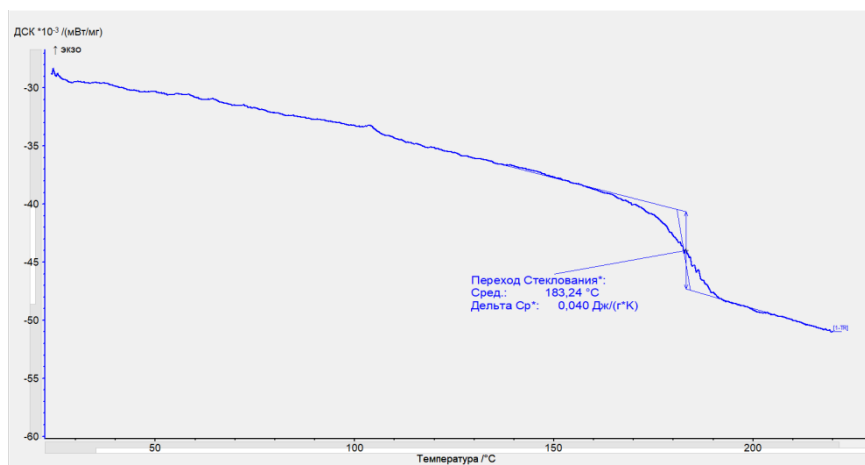


Рисунок 3.31 – Термограмма гидрогеля ПВП – ТО после воздействия γ – облучения

Оценку плотности сшивания провели по методу Нильсена по уравнению [225]:

$$T_g - T_{g0} = \frac{k_N}{M_c},$$

где T_g – температура стеклования «сшитого» полимера; T_{g0} – температура стеклования «несшитого» полимера; $k_N = 3,9 \times 10^4 (\text{г} \cdot \text{К}) / \text{моль}$ – коэффициент, не зависящий от природы системы; M_c – молекулярная масса фрагмента между узлами сетки.

Таблица 3.16 – Удельная теплоемкость и молекулярная масса фрагментов между узлами сетки (M_c) «сшитого» ПВП различными технологическими приемами

Композиция	Температура стеклования, T_g , °С	Удельная теплоемкость, C , Дж/(г*К)	M_c
ПВП _{исх} (в форме порошка)	168,2	0,3	–
Гидрогель ПВП – γ	171,8	0,04	$1,0 \times 10^4$
ПВП – ТО (в форме порошка)	171,3	0,2	$1,2 \times 10^4$
Гидрогель ПВП – ТО после воздействия γ – облучения	183,2	0,04	$0,3 \times 10^4$

Таким образом, после воздействия γ – облучения и температуры получаются системы с одинаковой плотностью сшивания. В результате γ – облучения термообработанного ПВП M_c уменьшается, то есть происходит дополнительная сшивка, что также было показано в разделе 3.3 по результатам исследований по изучению межмолекулярных взаимодействий методом ИК-спектроскопии НПВО.

3.4.2 Сорбционные свойства гидрогелей ПВП

Изучение сорбционных характеристик полимерных матриц, полученных по разным способам, при одинаковом содержании полимера (15 масс. %), показало, что они проявляют одинаковое поведение. Процесс набухания систем может быть разделен на четыре этапа:

1-й этап – резкое увеличение скорости набухания;

2-й этап – замедление увеличения степени набухания;

3-й этап – резкое снижение скорости набухания;

4-й этап – достижение равновесного набухания, рис. 3.32, табл. 3.17 –

3.19.

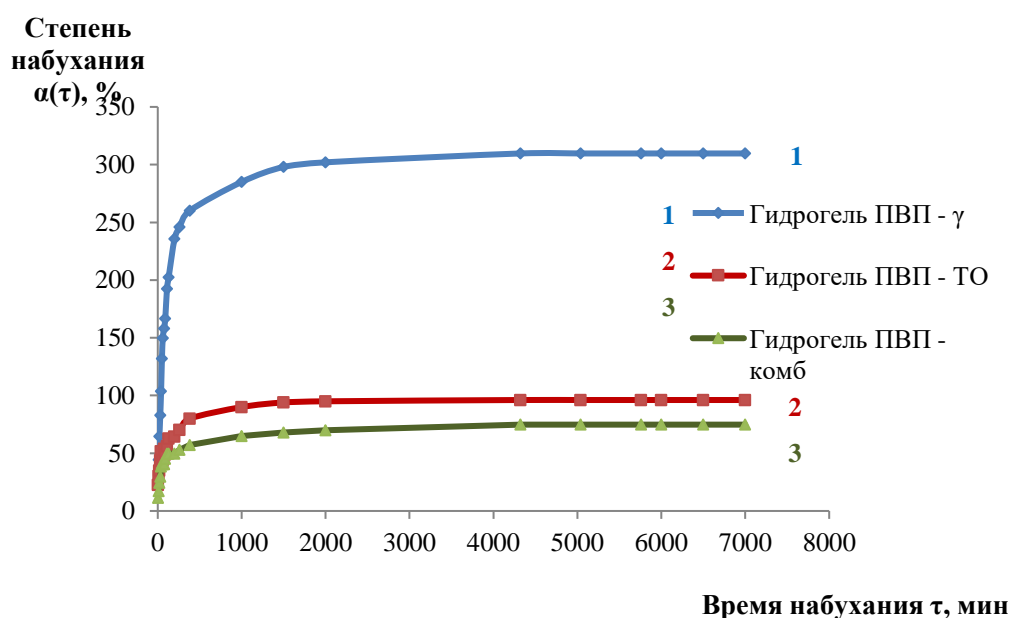


Рисунок 3.32 – Кинетические кривые набухания ПВП-гидрогелей:

1 – гидрогель ПВП-γ;

2 – гидрогель ПВП-ТО;

3 – гидрогель ПВП-комб

Расчетные данные по скорости набухания приведены в таблицах 3.17–3.19:

Таблица 3.17 – Скорость набухания гидрогеля ПВП-γ

Время набухания (τ), мин	Константа скорости набухания ($K = \operatorname{tg}\alpha$)	Скорость набухания, %/мин
0-10	0,016	4,49
10-130	0,010	1,74

130-380	0,006	0,38
После 380	< 0,006	→ 0

Таблица 3.18 – Скорость набухания гидрогеля ПВП-ТО

Время набухания (τ), мин	Константа скорости набухания ($K = \text{tg}\alpha$)	Скорость набухания, %/мин
0-40	0,018	1,12
40-200	0,007	0,32
200-380	0,002	0,05
После 380	< 0,001	→ 0

Таблица 3.19 – Скорость набухания гидрогеля ПВП – комб

Время набухания (τ), мин	Константа скорости набухания ($K = \text{tg}\alpha$)	Скорость набухания, %/мин
0-40	0,023	1,20
40-200	0,011	0,35
200-380	0,004	0,10
После 380	<0,004	→ 0

Как видно из рис. 3.32, табл. 3.17–3.19, в зависимости от технологии получения гели характеризуются разными величинами степени набухания. Наибольшей степенью набухания характеризуется полимерная матрица, полученная воздействием высокоэнергетического излучения, величина равновесного набухания достигает до 310%. Величины равновесного набухания полимерных матриц, полученных методом термообработки и комбинированным методом, не превышают значение - 100%. Различие в степени набухания связано с разными плотностями упаковки макромолекул. Импрегнирование лекарственных препаратов в последние две полимерные матрицы несколько повышает степень набухания до 130%, рис. 3.33, табл. 3.20 – 3.21.

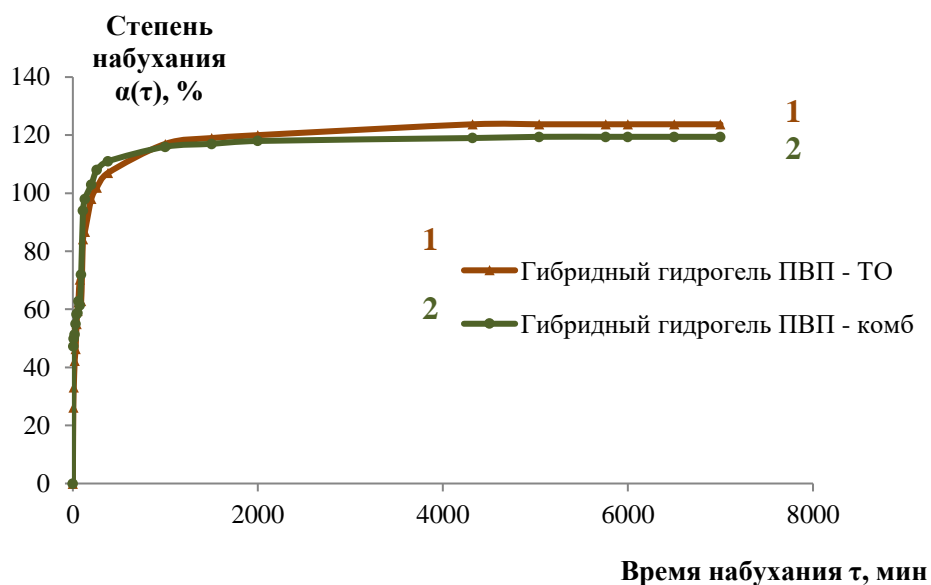


Рисунок 3.33 – Кинетические кривые набухания гибридных гидрогелей на основе термообработанного ПВП:

- 1 –гибридный гидрогель ПВП-ТО;
- 2 –гибридный гидрогель ПВП-комб

Таблица 3.20 – Скорость набухания гибридного гидрогеля ПВП-ТО

Время набухания (τ), мин	Константа скорости набухания (K = tgα)	Скорость набухания, %/мин
0-10	0,039	3,73
10-40	0,017	1,31
40-380	0,009	0,43
После 380	< 0,001	→ 0

Таблица 3.21 – Скорость набухания гибридного гидрогеля ПВП – комб

Время набухания (τ), мин	Константа скорости набухания (K = tgα)	Скорость набухания, %/мин
0-10	0,076	5,54
10-40	0,020	1,40
40-380	0,011	0,44
После 380	< 0,001	→ 0

Следует отметить, что не всегда чрезмерное набухание полимерного материала желательно – излишне высокая степень набухания, в случаях, подразумевающих однократное применение гидрогеля на длительный срок,

может привести к нежелательным последствиям в виде увеличения механического травмирования прилегающих к гелю тканей, что будет обсуждено ниже (п. 3.5.1 Главы 3).

3.4.3 Вязкоупругие свойства ПВП–гидрогелей после экспозиции *in vivo*

На рис. 3.34 – 3.36 и в табл. 3.22 приведены результаты изменения вязкоупругих свойств гидрогелей в динамике после экспозиции *in vivo*, температура измерения – 25 °С.

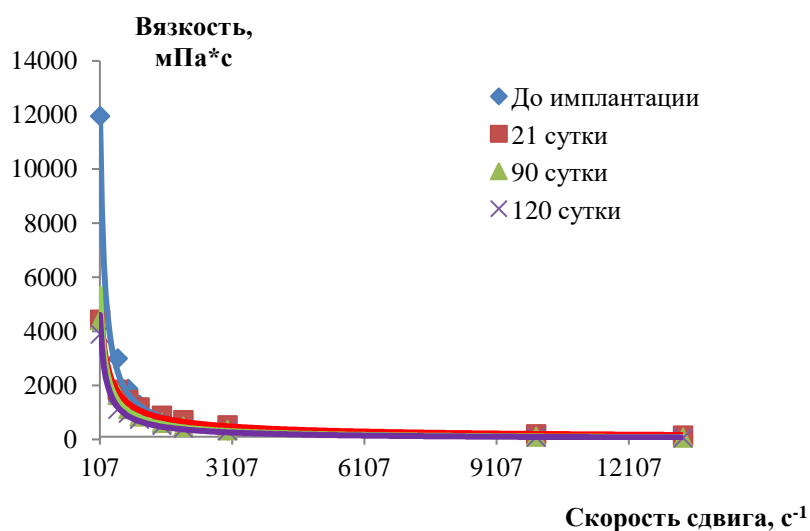


Рисунок 3.34 – Вязкостно-скоростные зависимости образцов гидрогеля ПВП –γ

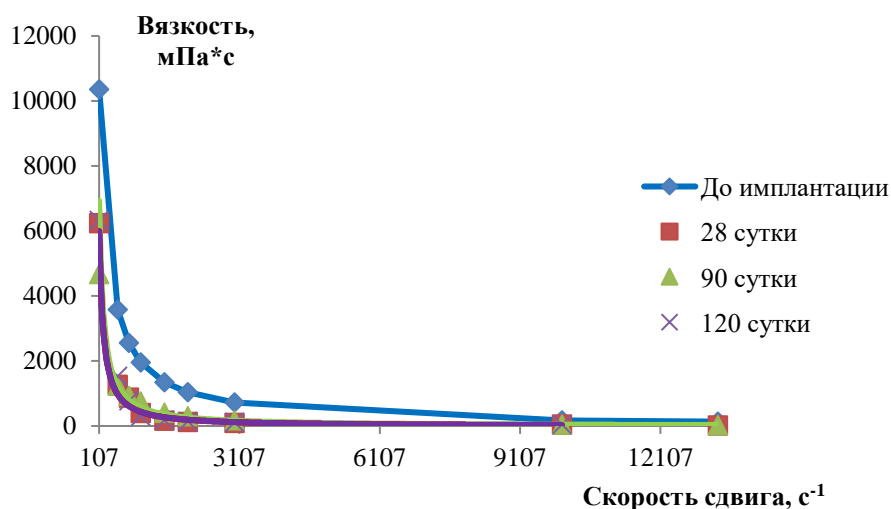


Рисунок 3.35–Вязкостно-скоростные зависимости образцов гидрогеля ПВП–ТО

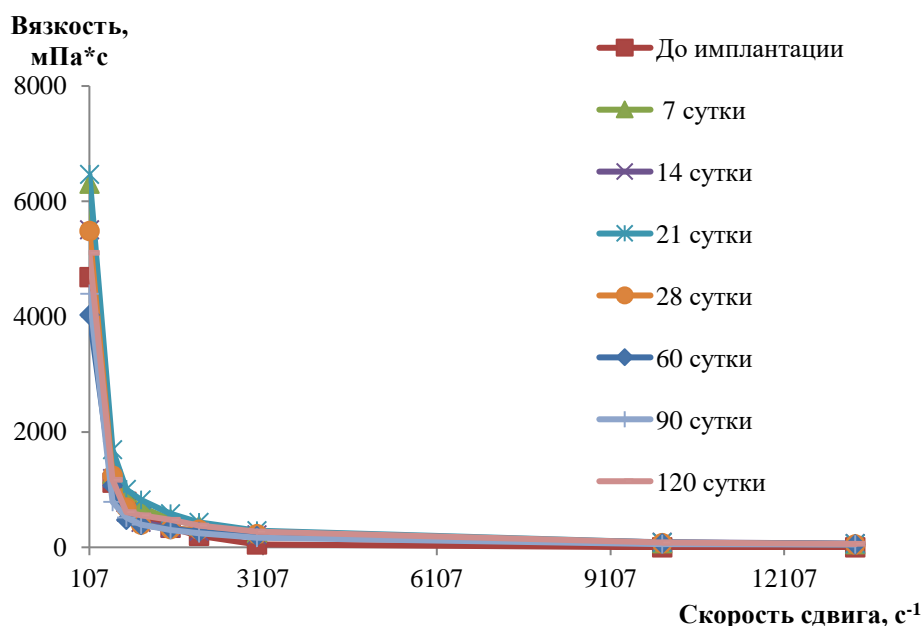


Рисунок 3.36 – Вязкостно-скоростные зависимости образцов гибридного гидрогеля ПВП – ТО

Таблица 3.22 – Динамическая вязкость образцов гидрогелей при скорости сдвига 10^2 с^{-1} , $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

Экспериментальные образцы	Наибольшая ньютоновская вязкость, мПа*с			
	До имлантации	28-е сутки эксперимента	90-е сутки эксперимента	120-е сутки эксперимента
Гидрогель ПВП – γ	12000 ± 1000	4400 ± 430	4400 ± 420	3900 ± 400
Гидрогель ПВП – ТО	10000 ± 530	6200 ± 370	4700 ± 330	6200 ± 510
Гибридный гидрогель ПВП – ТО	5000 ± 200	4500 ± 320	4400 ± 310	5100 ± 300

Как видно из рис. 3.34 – 3.36 и табл. 3.22 динамическая вязкость исследуемых полимерных матриц, полученных по разным методам с течением времени меняется в сторону уменьшения, составляя на 28 сутки эксперимента 37% от первоначального значения (до иплантации) в случае полимерной матрицы ПВП- γ и 60% в случае ПВП–ТО, оставаясь практически неизменным до 120-х суток эксперимента. Снижение вязкости *in vivo* связано с воздействием биологической жидкости.

Вязкость антимикробного гибридного гидрогеля ПВП – ТО до 120-х

суток практически не меняется, а на 180-е и 365-е сутки экспозиции *in vivo* образцы гидрогелей проросли соединительной тканью, что препятствовало возможности измерить показания динамической вязкости.

3.4.4 Антимикробная активность ПВП – гидрогелей *in vitro* и *in vivo*

Зависимость зоны угнетения гидрогеля от посевной дозы тест-микроорганизма на примере гибридного гидрогеля ПВП–комб в отношении госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus* MSSA и MRSA приведены в табл.3.23:

Таблица 3.23 – Оценка антимикробного действия гибридного гидрогеля ПВП-комб в зависимости от степени обсемененности в условиях *in vitro* в отношении госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus* MSSA и MRSA

Композиция	Посевная доза тест микроорганизма, КОЕ/мл	Зона угнетения роста тест-культуры, мм			
		1-е сутки	2-е сутки	7-е сутки	9-е сутки
Гибридный гидрогель ПВП – комб	10 ⁸	70 ± 6	60 ± 5	55 ± 5	40 ± 4
	10 ⁶	72 ± 6	65 ± 5	55 ± 5	45 ± 5
	10 ²	80 ± 7	70 ± 6	60 ± 6	50 ± 5

Гибридный гидрогель ПВП – комб *in vitro* проявлял сохранность высокой антимикробной активности, о чем свидетельствует одинаковая большая остаточная величина зоны подавления роста как микроорганизмов *Staphylococcus aureus* MSSA, так и *Staphylococcus aureus* MRSA (к концу эксперимента образцы гидрогеля сохранили свою антимикробную активность на 55 – 75 % от первоначального значения); высвобождение антимикробных средств происходило в первые сутки, при этом гидрогель продолжал эффективно «работать» даже при высокой степени обсемененности (10⁸ КОЕ/мл) в течение 9-и суток, табл. 3.23.

Поскольку экспериментальные образцы гибридного гидрогеля ПВП – комб в условиях *in vitro* продемонстрировали высокую антимикробную

активность, исследования были продолжены в условиях *in vivo* в течение 4 месяцев, рис. 3.37. Изъятые образцы гибридных гидрогелей были исследованы при степени обсемененности *Staphylococcus aureus* 10^6 КОЕ\мл, соответствующей уровню обсемененности гнойной раны.

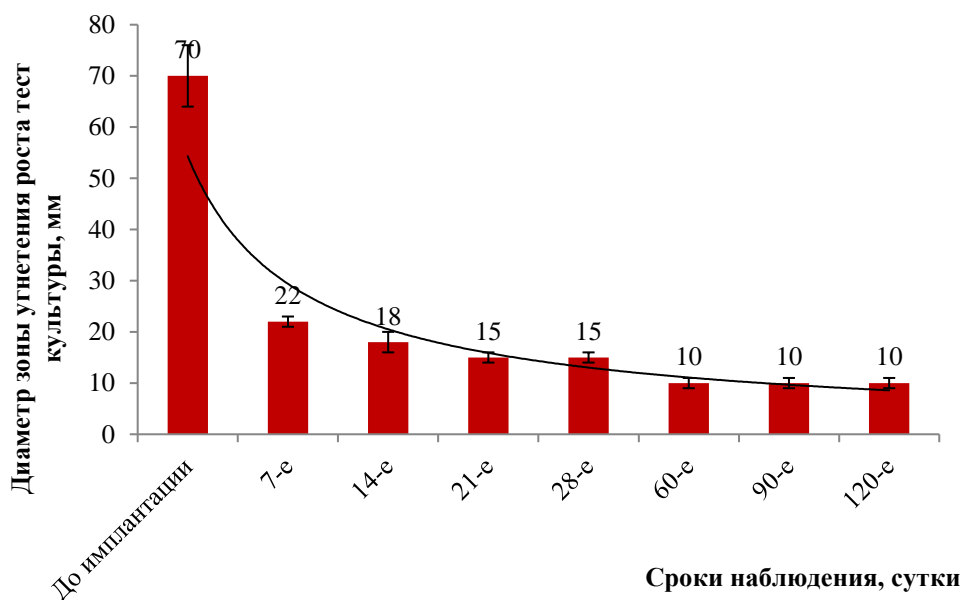


Рисунок 3.37 – Динамика изменения антимикробной активности в эксперименте в условиях *in vivo* с применением гибридного гидрогеля ПВП – комб в отношении госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus*

После имплантации гидрогеля в организм подопытного животного, первое наблюдение проводилось через 7 дней от начала эксперимента. Извлеченный образец геля сохранил свои антимикробные свойства на ~31 % от первоначальной активности. По результатам второго наблюдения, через 14 дней от начала эксперимента, антимикробная активность образца геля составляла 25 – 26% от первоначального значения. К 28-му дню уменьшилось до 21%, к 60-му дню – до 14% и дальше осталось неизменным до 120 дня эксперимента. Приведенные результаты исследования опубликованы в статье [28].

В условиях *in vivo* основная часть антибактериальных средств высвобождается из полимерной матрицы в первые семь суток после

имплантации, причем скорость «высвобождения» лекарственных средств в 2,5 раза выше, чем в условиях *in vitro*.

3.5 Оценка токсичности и адгезионных свойств ПВП – гидрогелей в культуре клеток

Для оценки адгезивных свойств ПВП – гидрогелей и отсутствия их токсичности были использованы клетки с высоко выраженными адгезивными свойствами – ММСК ПЖТ человека. Серией экспериментов было показано, что тестируемые в культуре ММСК гели не токсичны и клетки способны к ним прикрепляться и пролиферировать. Данные, приведенные в этом разделе, опубликованы в статье [51].

Согласно результатам экспериментов через 24 часа после культивирования на наложенных препаратах и даже в промежутках между частицами наложенного геля – на пластиковом дне планшета, в отличие от контрольного образца, где хорошо визуализируются узкие вытянутые веретенообразные клетки, отмечены клетки округленной («ошаренной») формы (рис. 3.38).

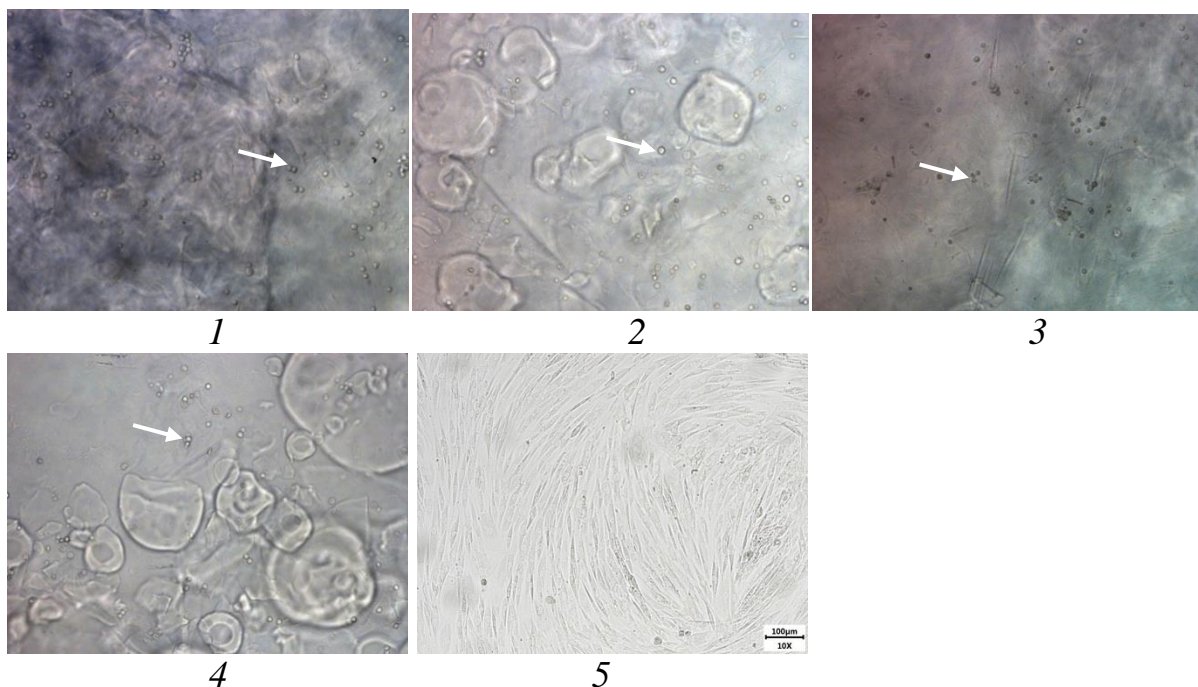


Рисунок 3.38 – Морфология ММСК на 1-е сутки культивирования: 1– гидрогель ПВП – ТО; 2 – гибридный гидрогель ПВП – ТО; 3 – гидрогель ПВП – комб; 4 – гибридный гидрогель ПВП – комб; 5 – контроль. Ув. ×100. Стрелками указаны клетки «ошаренной» формы.

Только в гидрогеле ПВП – комб визуализировались единичные распластанные клетки. Следует отметить, что, несмотря на нехарактерную для ММСК форму, что говорит о «стрессовом» состоянии клеток в «новой», для них непривычной среде, клетки были прочно прикреплены к поверхности исследуемых полимерных композиций. Жизнеспособность клеток была подтверждена окрашиванием экспериментальных образцов трипановым синим, который проникает только через поврежденную мембрану и окрашивает мертвые клетки. В табл. 3.24 приведен подсчет количества живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток.

Таблица 3.24 – Определение жизнеспособности (%) ММСК ПЖТ в гидрогелях

№	Название образца	№ опыта	Количество мертвых клеток	Количество живых клеток	Жизнеспособность клеток, %	
					-	Среднее
1	Гидрогель ПВП – ТО	1	118,50	3831,50	97,00	97 ± 0,04
		2	116,92	3833,08	97,04	
		3	120,08	3829,92	96,96	
2	Гибридный гидрогель ПВП – ТО	1	592,50	3357,50	85,0	85 ± 0,1
		2	588,55	3361,45	85,1	
		3	596,45	3353,55	84,9	
3	Гидрогель ПВП – комб	1	316,00	3634,00	92,0	92 ± 0,5
		2	296,25	3653,75	92,5	
		3	335,75	3614,25	91,5	
4	Гибридный гидрогель ПВП – комб	1	790	3160,00	80,0	80 ± 0,01
		2	789,60	3160,40	80,0	
		3	790,39	3159,61	79,9	
5	Контроль	1	0	3950	100	99,9 ± 0,08
		2	4	3946	99,90	
		3	6	3944	99,85	

Как видно из результатов, представленных в таблице 3.24 во всех исследуемых препаратах клетки были жизнеспособные. Выживаемость клеток в среде исследуемых полимерных композиций составила (97 ± 0,04)%; (85 ± 0,1)%; (92 ± 0,5)%; (80 ± 0,01)% для гидрогеля ПВП – ТО, гибридного

гидрогеля ПВП – ТО, гидрогеля ПВП – комб, гибридного гидрогеля ПВП – комб соответственно.

Согласно полученным результатам (табл. 3.24) гидрогели без антибиотиков обеспечивают более высокую клеточную витальность, что является закономерным.

ММСК ПЖТ на 5 сут распластывались и формировали монослой как на пустотах пластика, так и на матрицах. Было выявлено некоторое снижение скорости формирования монослоя в образцах (гибридных гидрогелей ПВП – ТО и ПВП – комб), в которых присутствовали антибиотики в отличие от гидрогелей ПВП – ТО и ПВП – комб, табл. 3.25.

Таблица 3.25 – Оценка формирования монослоя

№	Название образца	№ опыта	Количество клеток в 10 спонтанно выбранных полях зрения в объективе (ув: x400)										Ср.
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	Гидрогель ПВП – ТО	1	33	30	29	27	35	31	28	32	32	33	31±3
		2	32	31	28	28	31	34	29	31	33	32	
		3	28	29	31	31	33	32	30	30	31	34	
2	Гибридный гидрогель ПВП – ТО	1	57	68	61	63	68	59	65	67	67	64	64±4
		2	59	66	62	62	67	60	64	68	65	66	
		3	62	65	60	64	65	62	62	65	66	68	
3	Гидрогель ПВП – комб	1	37	29	30	31	35	37	34	35	38	30	34±3
		2	31	35	29	32	36	36	37	31	34	35	
		3	29	32	32	34	35	37	36	32	35	34	
4	Гибридный гидрогель ПВП – комб	1	69	63	68	59	62	68	67	65	67	66	65±3
		2	65	67	62	65	64	66	65	67	68	64	
		3	64	68	60	67	65	65	66	66	65	67	
5	Контроль	1	110	100	99	103	111	107	105	108	108	107	106± 4
		2	107	102	100	109	101	99	103	110	107	108	
		3	105	101	102	110	104	103	108	104	110	109	

Так, в лунках с нанесенными образцами гибридных гидрогелей ПВП – ТО и ПВП – комб ММСК ПЖТ формировали монослой на 29 % и 32% соответственно, рис. 3.39 (2) и 3.39 (4). В образцах гидрогелей ПВП – ТО и ПВП – комб ММСК ПЖТ формировали монослой на 60 % и 61% соответственно, рис. 3.39 (1) и 3.48 (3) 3.39.

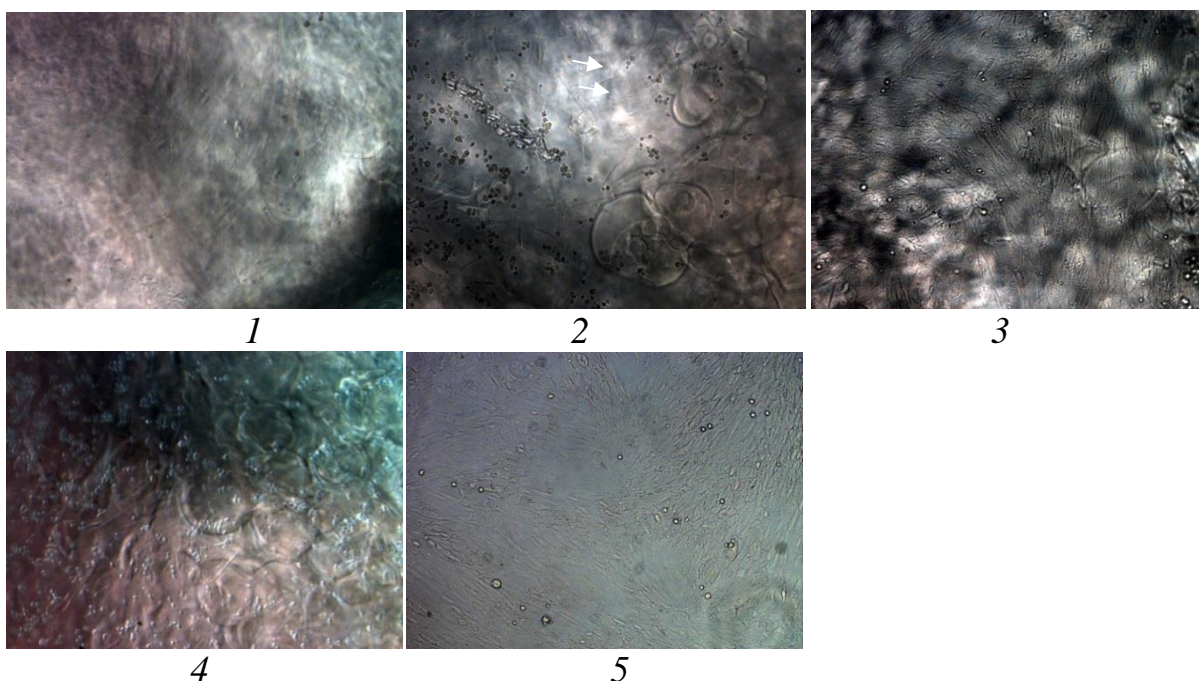


Рисунок 3.39 – Морфология ММСК на 5-е сутки культивирования:
 1– гидрогель ПВП – ТО; 2 – гибридный гидрогель ПВП – ТО; 3 – гидрогель
 ПВП – комб; 4 – гибридный гидрогель ПВП – комб; 5 – контроль. Ув. *100.

Морфологическим анализом ММСК были выявлены изменения в морфологии клеток в гибридных гидрогелях ПВП – ТО и ПВП – комб по сравнению с контролем и этими же гидрогелями без антибиотиков, рис. 3.40: клетки в препаратах с антибиотиками укрупнялись, принимали более округлую форму «звезды», уплощались. В цитоплазме появились вакуоли, которые отсутствовали в клетках контрольной группы, и наблюдались изменения в хроматине клеточных ядер. ММСК на гидрогеле ПВП – ТО на 5-е сутки были эквивалентны контролю, что может свидетельствовать о его успешном применении в качестве матрицы для их культивирования. Клетки имели веретеновидную форму, крупное овальное ядро с 2-3 ядрышками и с мелкозернистым хроматином.

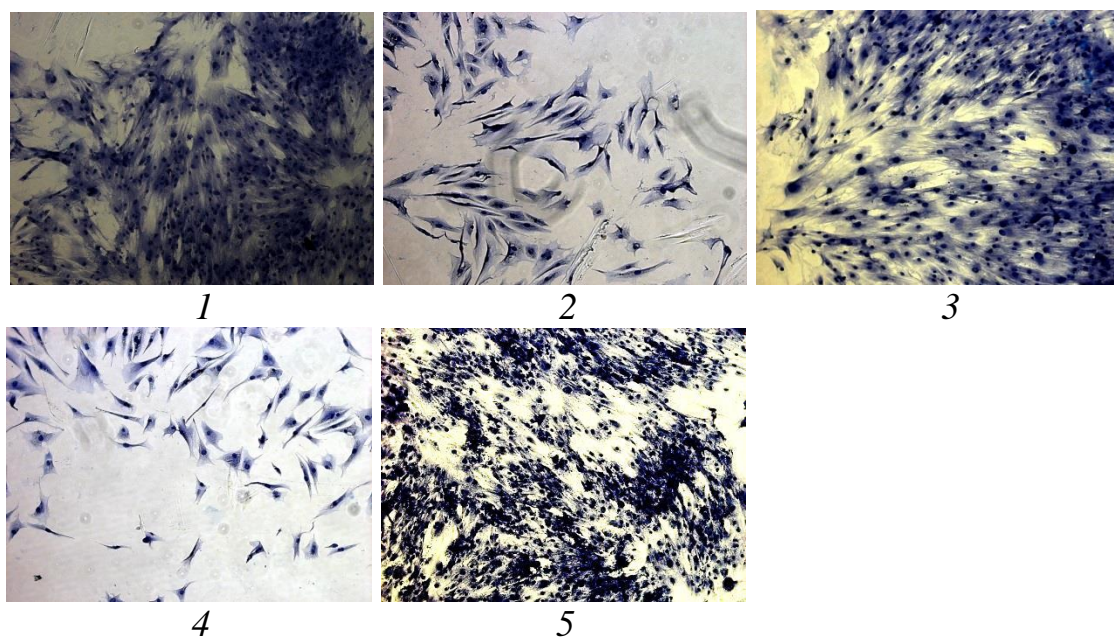


Рисунок 3.40 – Морфология ММСК на 5-е сутки культивирования в окрашенных по Гимза препаратах:

1– гидрогель ПВП – ТО; 2 – гибридный гидрогель ПВП – ТО; 3 – гидрогель ПВП – комб; 4 – гибридный гидрогель ПВП – комб; 5 – контроль. Ув. *100

Адгезивная способность ММСК ПЖТ в отношении поверхности гидрогелей была высокая, табл. 3.26:

Таблица 3.26 – Оценка адгезивной способности ММСК ПЖТ в отношении поверхности гидрогелей ПВП

№	Название образца	Количество клеток, прикрепившихся на поверхность гидрогелей (%)			
		1	2	3	Сред.
1	Гидрогель ПВП – ТО	86,0	86,01	85,99	86 ± 0,01
2	Гибридный гидрогель ПВП – ТО	81,9	82,3	82,1	82 ± 0,2
3	Гидрогель ПВП – комб	81,03	80,99	81,01	81 ± 0,02
4	Гибридный гидрогель ПВП – комб	79,4	78,8	79,2	79 ± 0,3

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии токсичности ПВП и высокой адгезивной способности ПВП – гидрогелей в отношении клеток человека, выделенных из подкожного жира.

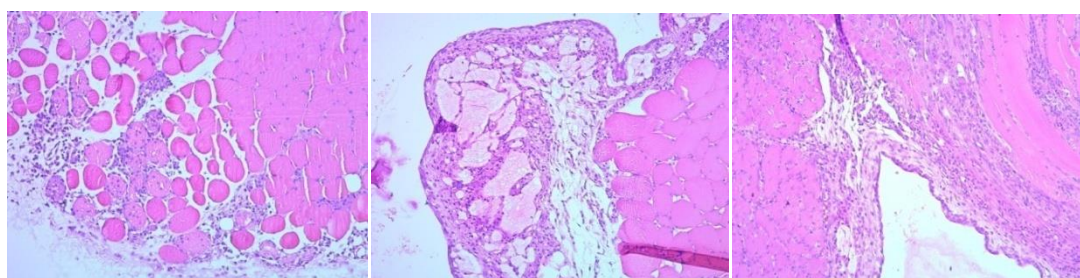
3.6 Исследование биобезопасности местного применения ПВП–гидрогелей *in vivo*: гистологическая оценка

На первом этапе необходимо было оценить реакцию тканей экспериментальных животных при введении гидрогелей с разными вязкоупругими свойствами в отсутствие в их составе лекарственных препаратов с целью определения влияния механического воздействия имплантатов в гелевой форме на малых сроках экспозиции имплантата. Для достижения результата использовали гидрогели ПВП – γ ($\eta = 12 \times 10^3 \text{ мПа} \cdot \text{с}$), ПВП – ТО ($\eta = 10 \times 10^3 \text{ мПа} \cdot \text{с}$) и зарегистрированный препарат Мезогель (РУ № ФСР 2010/08895 от 14.10.2021 г.), отличающийся от ПВП – гидрогелей вязкоупругими свойствами ($\eta = 2,2 \times 10^3 \text{ мПа} \cdot \text{с}$). Изложенные в этом разделе результаты исследований опубликованы в статьях [28; 41].

При макроскопическом исследовании мягких тканей животных после имплантации гидрогелей не было выявлено наличие бактериальной микрофлоры (признаков воспаления). Только при применении гидрогеля ПВП – γ на 3-и сутки эксперимента, было замечено утолщение тазовой конечности в области бедра из-за увеличения объема самого гидрогеля примерно в 3 раза (в п.3.4.2 Главы 3 был отмечен данный эффект *in vitro*), что сохранилось на протяжении всего периода эксперимента (14 суток).

При гистологическом исследовании на 3-й день эксперимента между гидрогелем ПВП– γ и мышечной тканью была выявлена лимфоцитарная реакция, рис. 3.41(1). Местами мышечная ткань была в состоянии отёка, но мышечные пучки были без изменений. Наблюдалась инфильтрация лимфоидными клетками, преимущественно в перимизии. Лимфоцитарная реакция в подлежащих к гидрогелю тканях сохранилась до 14-ого дня эксперимента, рис. 3.41(2,3). На 14-й день замечена организация тканей, образование капсулы, активный рост фибробластов, рис. 3.41(3). Гистоархитектоника тканей сохранена, попавшие в срез кровеносные сосуды венозного типа хорошо сформированы, их структуры полностью сохранены.

Воспалительной реакции и каких-либо патологических выделений, не характерных для данных тканей, не выявлено.



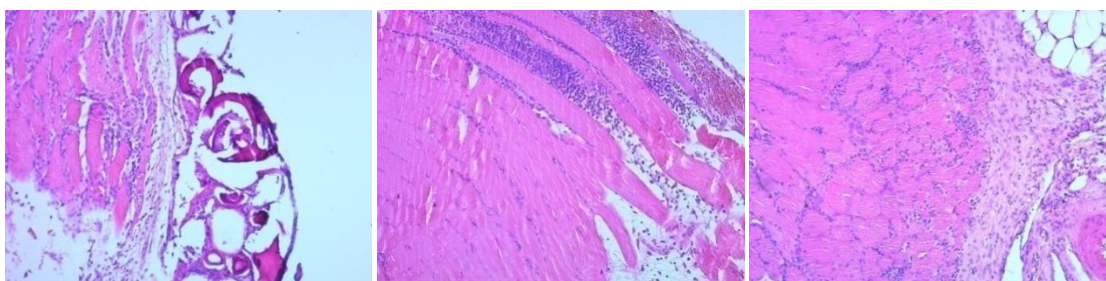
1

2

3

Рисунок 3.41 – Гистологическая картина мышечной ткани животных после имплантации гидрогеля ПВП- γ в динамике: 1 – 3-е сутки; 2 – 7-е сутки; 3 – 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

При гистологическом исследовании мягких тканей животных после имплантации гидрогеля ПВП – ТО на 3-и сутки исследования гидрогель плотно прилегал к окружающим тканям. Вблизи предлежания гидрогеля к жировой ткани было выявлено наличие лимфоцитов, количество которых увеличивалось по мере приближения к мышечной ткани, рис. 3.42 (1).



1

2

3

Рисунок 3.42 – Гистологическая картина мышечной ткани животных после имплантации гидрогеля ПВП-ТО в динамике: 1 – 3-е сутки; 2 – 7-е сутки; 3 – 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

На 7-й день эксперимента в гистосрезях видно значительное снижение воспалительной реакции в тканях. На 14-й день гистологическая картина препаратов практически не отличалась от таковых на 7-й день эксперимента. В более отдалённой, от места нахождения геля, мышечной ткани не было

выявлено никаких патологических изменений, ткань была компактная, хорошо сформированная [41].

При гистологическом исследовании мягких тканей животных после имплантации Мезогеляна 3-й день эксперимента было выявлено формирование бурой жировой ткани, наличие умеренной лимфоидной реакции в перимизии и рыхлой соединительной ткани. Лимфоциты располагались в тканях вокруг введенного препарата, не продолжаясь вглубь окружающих тканей, рис. 3.43 (1). На 7-й день эксперимента сохранилось наличие бурой жировой ткани, но с более крупными белковыми отложениями в адипоцитах. В соединительной и мышечной ткани патологий не выявлено, рис. 3.43(2). На 14-й день гистологическая картина не отличалась от 7-го дня эксперимента. В перимизии было выявлено единичное присутствие лимфоцитов, рис.3.43 (3).



1

2

3

Рисунок 3.43 – Гистологическая картина мышечной ткани животных после имплантации Мезогеля в динамике: 1 – 3-е сутки; 2 – 7-е сутки; 3 – 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

В результате во всех макроскопически исследуемых образцах тканей после введения 3-х типов гелей, различающиеся разными вязкоупругими свойствами, наличие воспалительной реакции не было выявлено. Присутствующая реакция в виде инфильтрации лимфоидными клетками характеризуется как асептическое воспаление. Подобная реакция была замечена лишь вблизи введенных гелей и не имела распространение в более глубокие слои тканей [41].

Окраска образцов по Маллоури подтвердила полученные результаты, позволив определить толщины образования соединительной ткани, значения приведены в табл. 3.27, рис. 3.44, из которых видно, что в тканях, подверженных меньшим механическим воздействиям, в данном случае определяемым вязкоупругими свойствами гелей, толщина соединительной ткани меньше.

Таблица 3.27 – Динамика изменения толщины соединительной ткани после введения испытуемых образцов

Сроки наблюдения (сутки)	Толщина образования соединительной ткани, мкм		
	при использовании гидрогеля ПВП – γ	при использовании гидрогеля ПВП – ТО	при использовании Мезогеля
3-и	$3,36 \pm 0,31$	$2,43 \pm 0,18$	$1,02 \pm 0,09$
7-е	$4,92 \pm 0,37$	$7,01 \pm 0,45$	$2,18 \pm 0,18$
14-е	$5,88 \pm 0,40$	$5,70 \pm 0,42$	$1,54 \pm 0,13$

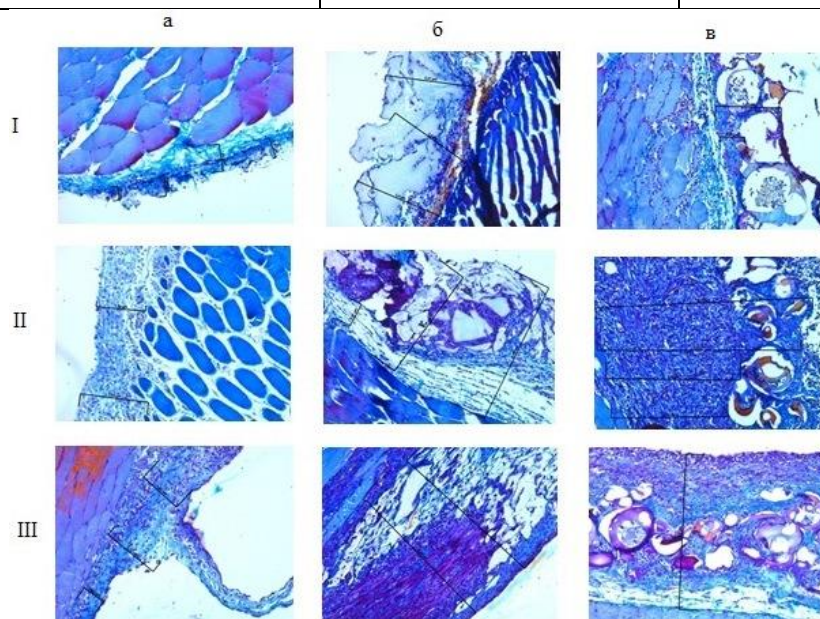


Рисунок 3.44– Морфометрия образцов мягких тканей в динамике. Окраска по Маллоури, ув. $\times 100$:

- а – ткани, при использовании Мезогеля;
- б – ткани, при использовании гидрогеля ПВП– γ ;
- в – ткани, при использовании гидрогеля ПВП – ТО;
- строка I – 3-и сутки эксперимента;
- строка II – 7-е сутки эксперимента;
- строка III – 14-е сутки эксперимента

На протяжении всего эксперимента показатели лейкоформулы животных не выходили за пределы референтных значений, что свидетельствует об отсутствии усугубляющих факторов (экспериментальные данные приводятся в Приложении № 4).

Поскольку исследования показали, что гидрогели на основе ПВП, вне зависимости от способа изготовления не оказывают токсического действия на мягкие ткани и организм в целом, а выявленная незначительная асептическая воспалительная реакция в окружающих тканях свидетельствует об адекватной местной реакции тканей на введение инородного вещества, то дальнейшие исследования были направлены на изучение реакции тканей при длительном локальном использовании [41].

Результаты в силу их идентичности представлены для случая использования гибридного гидрогеля ПВП – комб. Результаты для гидрогелей ПВП – γ и ПВП – комб приведены в Приложениях №№ 5, 6.

В ходе всего эксперимента не наблюдали изменений в общем состоянии и поведении животных: в послеоперационном периоде не наблюдали признаков боли, дистресса, состояние послеоперационной раны было удовлетворительное, без признаков воспаления и инфицирования.

На ранних сроках наблюдения (до 120 суток) место расположения гидрогеля спокойное. Гидрогель прилегает к мышечной фасции свободно, но его консистенция более рыхлая по сравнению с исходной. На месте имплантации свободной жидкости не выявлено (Приложение № 7).

Мышечная ткань на протяжении всего эксперимента не претерпевает критических патологических изменений, рис. 3.45: везде наблюдается чёткая поперечно полосатая исчерченность мышечной ткани, пучки миоцитов равномерные, трофика тканей не нарушена. На 7-е сутки эксперимента в прилегающих к месту локализации гидрогеля мышцах выявлена незначительная воспалительная реакция в виде небольшого скопления клеток лимфоидного ряда между пучками мышечных волокон. Наличие в тканях эозинофилов может свидетельствовать о развитии индивидуальной местной

аллергической реакции, которая к 14 – м суткам снижается и не имеет критического диагностического значения. Перимизий слегка отекает.

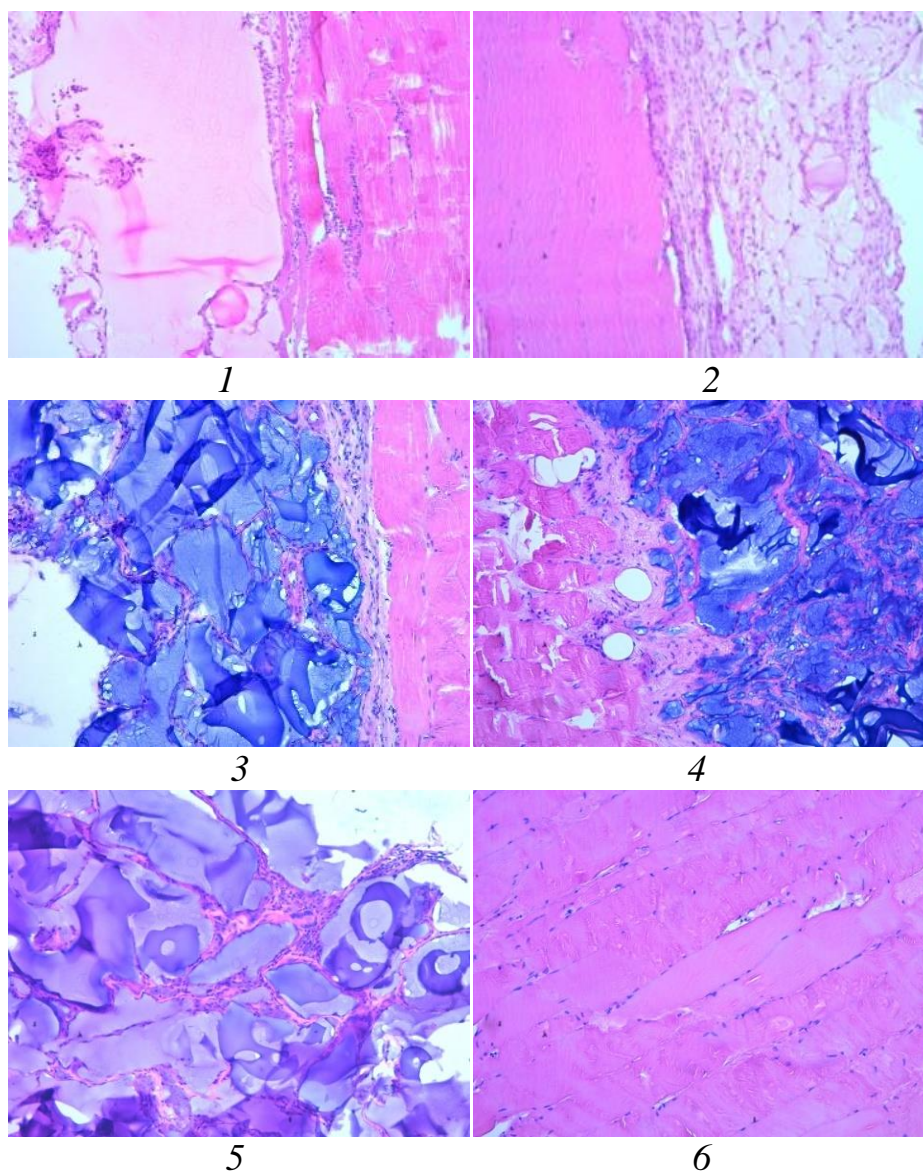


Рисунок 3.45 – Гистологическая картина мышечной ткани животных в динамике: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

Исследования в последующие контрольные точки отбора материала на 21-е, 28-е, 60-е и 90-е сутки эксперимента показало практически идентичную микрокартину с таковой на 14 сутки. До 120-х суток эксперимента гидрогель прилегает к мышечной фасции свободно. На 120-е сутки образцы гидрогеля уже обрамлены волокнами соединительной ткани, рис. 3.45(3). В препарате выражено срастание гидрогеля с мышечной тканью, характеризуется данный

процесс наличием неровного края на стыке, плавным вхождением соединительнотканых волокон вглубь прилегающего гидрогеля. На 180-е сутки волокна соединительной ткани располагаются хаотично в массе геля и прорастают по всей площади наблюдаемого объекта, рис. 3.45(4). Гидрогель хорошо адгезирован к поверхности окружающих тканей, при этом легко поддается эвакуации без травматизации окружающих мягких тканей. На 365-е сутки эксперимента в месте введения гидрогеля выявлено обрастание его частиц волокнами соединительной ткани, рис. 3.45(5).

Факт прорастания гидрогелей соединительной тканью подтвердился при более детальном изучении образцов с помощью РЭМ при более крупном увеличении, рис. 3.46 [28]:

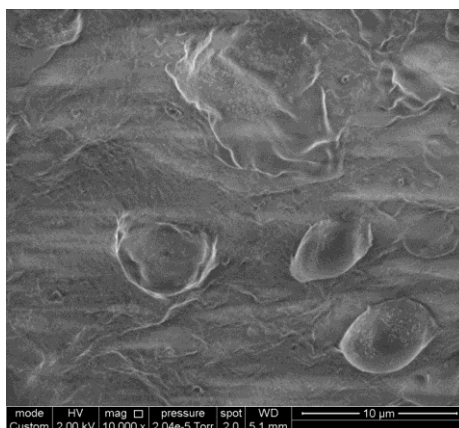


Рис. 3.46 – Микрофотография гибридного гидрогеля ПВП-комб в окружении соединительной ткани, полученная на РЭМ, ув. $\times 10\ 000$, срок имплантации 180 суток

Морфологическое строение паренхиматозных и лимфоидных органов до конца эксперимента соответствовало анатомо-физиологической норме, рис. 3.47 – 3.49, что говорит об отсутствии общетоксического действия составляющих гидрогелей на организм экспериментальных животных [28].

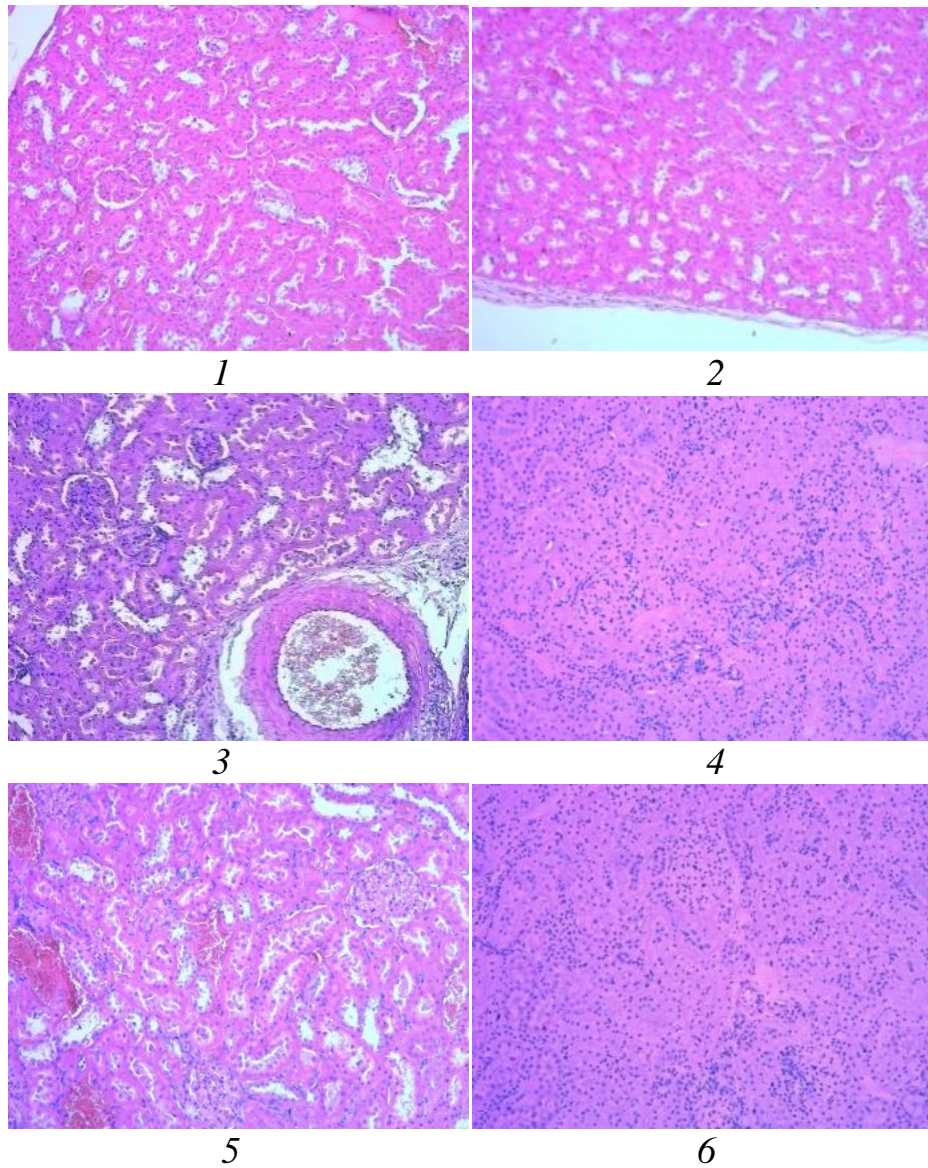


Рисунок 3.47 – Гистологическая картина почки животного в динамике: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

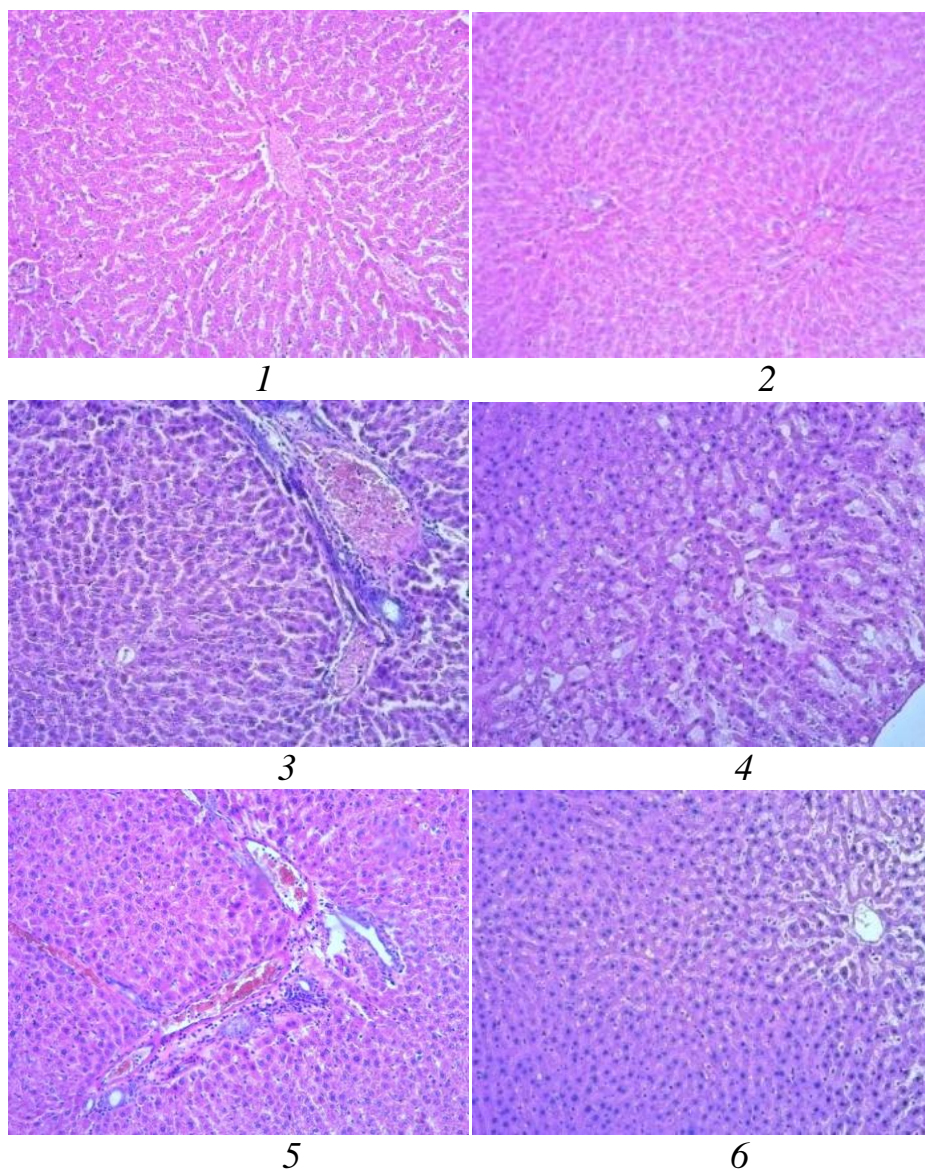


Рисунок 3.48 – Гистологическая картина печени животного в динамике: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

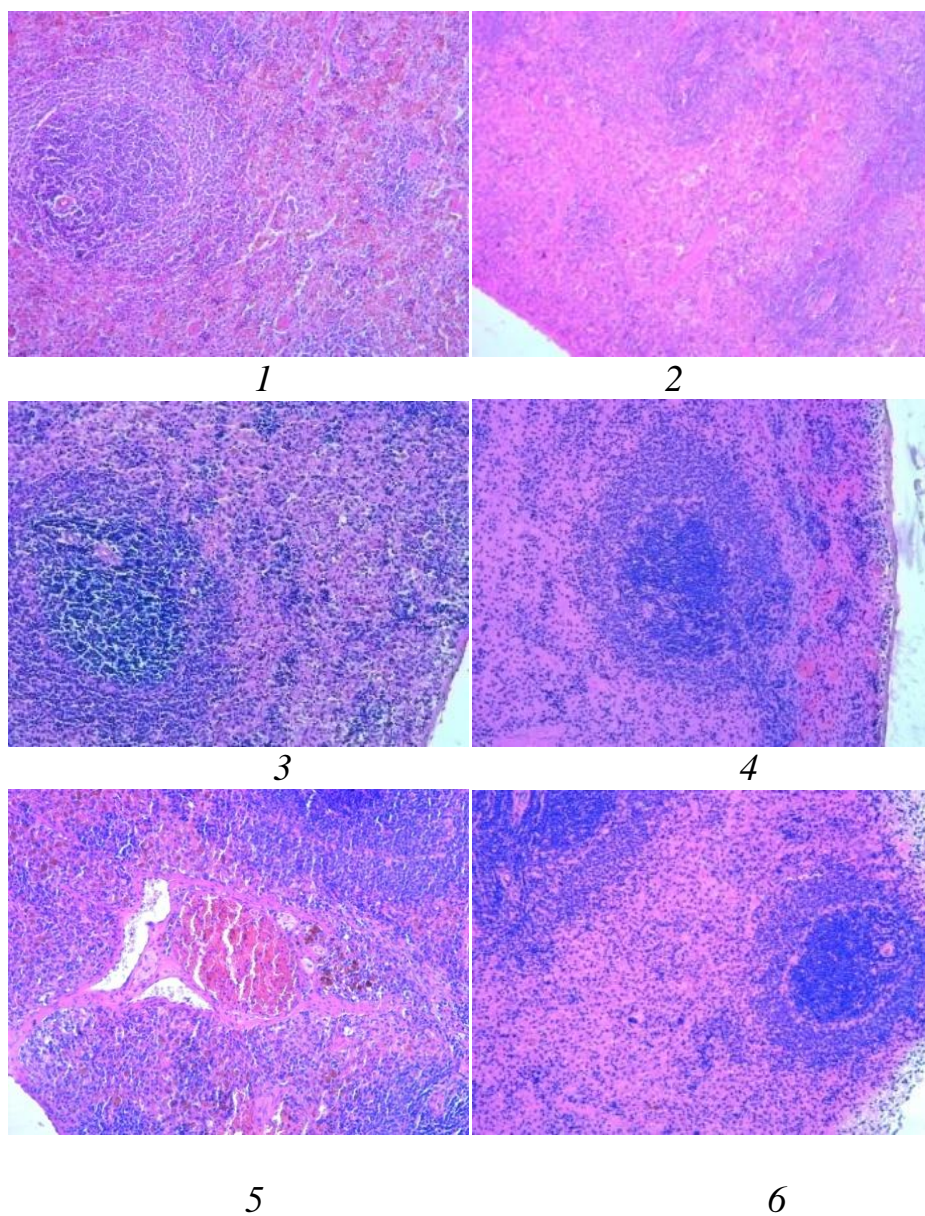


Рисунок 3.49 – Гистологическая картина селезенки животного в динамике: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основная задача при профилактике и лечении перипротезной инфекции - предотвращение образования микробной биопленки на поверхности эндопротеза. Доступные в настоящее время профилактические меры, хотя и частично эффективны в борьбе с ППИ, но не учитывают патогенез инфекции, связанной с образованием биопленки.

Согласно литературным данным консервативная тактика антибиотикотерапии при ППИ бесперспективна. Концентрация антибиотиков, которая достигается с помощью системного введения, может обеспечить эрадикацию бактерий только в планктонной форме. Когда уже имеются адгезированные формы бактерий, требуются высокие концентрации антибиотиков, которые невозможно обеспечить их системным введением без токсических эффектов на организм.

Защита имплантата может быть достигнута с помощью местной антибактериальной терапии. Возможным альтернативным решением рассматривается применение препаратов в форме геля, которые бы покрыли поверхность имплантата любой формы, препятствуя адгезии бактерий и элюируя антибиотики непосредственно после установки эндопротеза. Однако на фармацевтическом рынке РФ отсутствуют зарегистрированные препараты с такими характеристиками и назначением.

Поэтому цель данного исследования состоит в том, чтобы предложить теоретически и экспериментально обоснованные состав и технологию получения биобезопасного гидрогеля для ортопедии и травматологии с оптимальными эксплуатационными характеристиками.

При обзоре литературных источников выявлено, что при лечении инфекционных осложнений в ортопедии и травматологии эффективными могут быть антибиотики из ряда аминогликозидов в сочетании с фосфомицином.

В данной работе была исследована комбинация гентамицин/фосфомицин. Экспериментально установлены оптимальные

концентрации лекарственных средств (5 масс. % по фосфомицину и 1,2 масс. % по гентамицину), при которых проявляется высокая антимикробная активность в отношении ведущих возбудителей ППИ, в частности *Staphylococcus aureus* MSSA и MRSA. При этом отмечен синергетический антибактериальный эффект.

В качестве объекта исследования для получения гидрогелевой матрицы (носителя лекарственных средств) служил ПВП, синтетический полимер, который при действии различных внешних воздействий подвергается сшиванию с образованием гидрогелей, является биологически инертным, нетоксичным веществом и обладает хорошей переносимостью, что утверждено многочисленными научными исследованиями. Гидрогели ПВП перспективны благодаря совместимости с тканями и тканеподобной консистенции.

Для получения гидрогелей на основе ПВП в качестве источников внешнего воздействия были применены γ -облучение (^{60}Co), воздействие потока УЭ, температурная обработка и их сочетание. Были получены гидрогелевые системы разной консистенции и вязкости в отсутствие применения катализаторов сшивания, соединений, не разрешенных в медицинской практике. Было выявлено, что для данного медицинского применения практичными являются системы с вязкостью от 1×10^3 до 10×10^3 мПа \cdot с, которые получают при концентрации ПВП 15,0 масс. % с использованием сочетания методов γ -облучения (^{60}Co) и термической обработки (комбинированный метод).

Механизмы получения гидрогелей и взаимодействия между их компонентами были изучены с помощью ИК-спектроскопии НПВО. Были определены реакции взаимодействия макромолекул ПВП, приводящие к сшиванию, которые в зависимости от применяемой обработки отличаются. Под воздействием γ -облучения образование поперечных связей происходит между атомами кислорода карбонильной группы и углерода основной цепи или пирролидинового кольца, а в случае термообработки – в основном с

участием группы $\text{CH}_2\text{-CH-}$ по главной цепи полимера или по лактамному кольцу. Вне зависимости от способа получения взаимодействие между полимерной матрицей и лекарственными средствами отсутствует.

Сшитая структура полимера охарактеризована молекулярной массой фрагментов между узлами сетки, рассчитанной по уравнению Нильсена, используя значения температуры стеклования, определенные методом ДСК.

Внешнее механическое воздействие приводит к разрушению первоначальной структуры гидрогелей, но при этом вне зависимости от способа получения системы обладают свойством тиксотропии, и в течение 1 часа вязкость восстанавливается до 96 %.

Гидрогель, полученный по комбинированному методу, обладает хорошими адгезионными свойствами по отношению металлической поверхности из никелида титана – сплава, из которого изготавливаются эндопротезы крупных суставов, что обеспечит защиту поверхности от окружающей среды и предотвратит образование биопленки, препятствуя прикреплению свободно плавающих микроорганизмов.

Гидрогель ПВП-комб характеризуется низкой степенью набухания (130%), что делает его атравматичным.

Гидрогель ПВП – комб *in vitro* и *in vivo* проявляет высокую антимикробную активность в отношении микроорганизмов *Staphylococcus aureus* MSSA и MRSA. Антибактериальный эффект гидрогеля *in vivo* сохраняется вплоть до 4-х месяцев экспозиции благодаря сшитой структуре системы, характеризующейся тиксотропностью, где отсутствует химическое взаимодействие между полимерной матрицей и антибиотиками.

Биобезопасность гидрогеля ПВП-комб доказана в экспериментах в условиях *in vitro* - в культуре мультипотентных мезенхимных стромальных клеткок, выделенных из подкожного жира человека и в условиях *in vivo* – на лабораторных животных - белых крысах линии *Wistar*. Выживаемость клеток *in vitro* в среде гидрогелей ПВП составляет 80 – 97 %. Гидрогель не оказывает токсического действия на мягкие ткани и организм в целом.

Таким образом, комбинированный метод получения гидрогеля является оптимальным, так как на выходе получается продукт, который по всем показателям качества соответствует предъявляемым требованиям, при этом на одном технологическом этапе совмещается формирование и стерилизация продукта.

В настоящее время классическим методом лечения перипротезной инфекции является двухэтапное лечение с установлением временного эндопротеза. На этапе установления временного эндопротеза (после удаления инфицированного эндопротеза и санации очага воспаления) применение разработанного геля необходимо с целью создания адекватных доз антибиотиков на местном уровне. Обычно через 3 месяца временный эндопротез удаляется, вместе с ним и гель.

Учитывая свойства геля – пролонгированный характер антибактериального действия, хорошая адгезия к имплантату, низкая степень набухания и биобезопасность, можно предложить одноэтапное лечение перипротезной инфекции – установление постоянного эндопротеза после удаления инфицированного эндопротеза и санации очага воспаления, минуя этап установления временного эндопротеза. Благодаря применению разработанного геля, не имеющего эквивалентных зарегистрированных аналогов в РФ, будет в дальнейшем хирургами отработана новая тактика для лечения и профилактики перипротезной инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Разработана комбинированная технология получения биобезопасных гидрогелей на основе ПВП и фармацевтических субстанций фосфомицина и гентамицина, сочетающая термическую обработку и γ -облучение без применения инициаторов химического сшивания.
2. Установлено, что для практического применения при перипротезной инфекции оптимальными являются системы с вязкостью от 1×10^3 до 10×10^3 мПа \times с, которые получаются использованием сочетания методов термической обработки и γ -облучения (комбинированным методом). Внешнее механическое воздействие приводит к разрушению первоначальной структуры гидрогелей, но при этом системы обладают свойством тиксотропии, и в течение 1 часа вязкость восстанавливается до 96 %.
3. Применение комбинированной технологии обеспечивает получение гидрогеля с вязкостью – 2500 ± 350 мПа \times с, величиной равновесного набухания – 130 %, адгезионными свойствами в отношении NiTi поверхности ($\gamma^d = 20,9 \pm 1,1$ мДж/м²; $\gamma^p = 45,1 \pm 1,6$ мДж/м²).
4. Показано, что процесс структурирования макромолекул ПВП сочетает в себе одновременное прохождение процессов увеличения молекулярной массы полимера и образования поперечных связей между его макромолекулами. Под воздействием γ -облучения образование поперечных связей происходит между атомами кислорода карбонильной группы и углерода основной цепи или пирролидинового кольца, а в случае термообработки – в основном с участием группы $\text{CH}_2 - \text{CH}$ – по главной цепи полимера или по лактамному кольцу. Установлены отсутствие взаимодействия гентамицина и фосфомицина с макромолекулами сшитого ПВП в гибридном гидрогеле, стабильность антибиотиков к γ – облучению, что в сочетании с тиксотропными свойствами обеспечивает пролонгированный антибактериальный эффект медицинского изделия.

5. Установлено, что одновременное применение фосфомицина и гентамицина приводит к синергетическому антибактериальному эффекту, развитие которого проявляется при концентрации 5 масс. % по фосфомицину и 1,2 масс. % по гентамицину. Антибактериальный эффект гидрогеля ПВП *in vivo* сохраняется в течение 4-х месяцев.

6. Доказана биобезопасность гибридного ПВП – гидрогеля в эксперименте в условиях *in vitro* - в культуре ММСК (выживаемость клеток в среде гидрогелей ПВП составила 80 – 97 %) и в условиях *in vivo* – на белых крысах линии *Wistar* при имплантировании материала в мышечную ткань бедра (гидрогель не оказывает токсического действия на мягкие ткани и организм в целом: наличие воспалительной реакции не было выявлено, присутствующая реакция вблизи имплантированного геля в виде инфильтрации лимфоидными клетками характеризуется как асептическое воспаление; на протяжении всего эксперимента показатели лейкоформулы животных не выходили за пределы референтных значений; морфологическое строение паренхиматозных и лимфоидных органов в течение эксперимента соответствовало анатомо-физиологической норме).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абельцев, В. П. Особенности эндопротезирования при диспластических коксартрозах / В.П. Абельцев, В.Г. Крымзлов // Кремлевская медицина. – 2002. – N 2. –С. 47–48.
2. Ахтямов, И. Ф. Новые способы профилактики интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава / И.Ф. Ахтямов, Г.Г. Гарифуллов// Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2010. – № 1. – С. 25 – 28.
3. Битюгов, И. А. Сплавы на основе никелида титана, обладающие памятью формы, и перспективы применения их в травматологии и ортопедии / И. А. Битюгов, Котенко В. В. // Имлантаты с памятью формы. – 1990. –№1. – С. 25 – 28.
4. Божкова, С. А. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей / С.А. Божкова, А.Р. Касимова, Р.М.Тихилов, Е.М. Полякова, А.Н. Рукина, В.В. Шабанова, В.Н. Ливенцов // Травматология и ортопедия России. – 2018. – № 24 (4). – С.20 – 31.
[DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31).
5. Божкова, С. А., Оптимизация антибактериальной терапии у пациентов с перипротезной инфекцией стафилококковой этиологии (экспериментально-клиническое исследование): дис. ...д-ра мед.наук: 14.01.15 / Божкова Светлана Анатольевна. – СПб., 2016. – 308 с.
6. Божкова, С.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы) / С.А. Божкова, А. А. Новокшонова, В. А. Конев // Травматология и ортопедия России. –2015. – № 3. – С. 92-107.
7. Божкова, С.А. Фосфомицин - возможности применения для локальной терапии перипротезной инфекции / С. А. Божкова, Е. М. Полякова, А. В.

- Афанасьев, Д. В. Лабутин, Г. В. Ваганов, В. Е. Юдин // Клинический микробиологический журнал. – 2016. – Том 18. – № 2. – С. 104 – 112.
8. Большая Медицинская Энциклопедия (БМЭ), под редакцией Петровского Б.В., 3-е издание.
 9. Бут-Гусаим, А. Б. Локальная антибиотикопрофилактика препаратом *Collatamp EG* при бесцементном эндопротезировании тазобедренного сустава / А. Б. Бут-Гусаим, И. В. Сиротин, А. А. Пименов // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2013. – № 2 (6). – С. 7–9.
 10. Васильев П. С. и др. Сравнительная характеристика препаратов поливинилпирролидона различного молекулярного веса, Труды 12-го Международн. конгр. по перелив, крови, с. 56, М., 1972.
 11. Виноград-Финкель, Ф. Р. Актуальные проблемы замораживания крови / Ф. Р. Виноград-Финкель, А. Е. Киселев // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1970. – Т. 15. - № 4. - С. 3.
 12. Гордина, Е. М. Бактериальные биопленки в ортопедии: проблема и возможные перспективы профилактики / Е. М. Гордина, С. А. Божкова // РМЖ. – 2021. – Vol. 8. – Р. 29-32.
 13. Грицюк, А. А. Осложнения эндопротезирования тазобедренного сустава в рамках высокотехнологичной медицинской помощи / А. А. Грицюк, П. Д. Кузьмин, И. А. Папаценко, А. П. Середа // Сборник тезисов IX Съезда травматологов-ортопедов. – Саратов: Научная книга, 2010. – Т. 1. – С. 354 – 355.
 14. Гюнтер, В. Э. Применение сплавов с памятью формы в медицине / В. Э. Гюнтер, В. В. Котенко, В. В. Поленичкин и др. // Имплантаты с памятью формы. – 1990. – №1. – С. 16 – 21.
 15. Гюнтер, В. Э. Физико-механические критерии разработки материалов с памятью формы для медицины / В. Э. Гюнтер, В. И. Итин, Л. А. Монасевич и др. // Имплантаты с памятью формы. – 1990. – №1. – С. 13 – 15.
 16. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, используемых для научных целей от 22

сентября 2010 г. Rus–LASA, 2012.

17. Дрягин, В. Г. Асептическая нестабильность после эндопротезирования тазобедренного сустава / В. Г. Дрягин, И.А.Атаманский, С.Ю.Истомин и др. // Вестн. травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина. – 2009. – №1. – С. 25 – 28.
18. Ефименко, Н.А. Профилактика инфекций области хирургического вмешательства в травматологии и ортопедии: использование антибиотиков в костном цементе / Н.А. Ефименко // Инфекции в хирургии. – 2009. – №2. – С. 15-27.
19. Иванов, П.А. Применение интрамедуллярных блокируемых штифтов с активным антибактериальным покрытием при лечении тяжелых открытых переломов и их осложнений // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2009. – №1. – С. 13-18.
20. Кавалерский, Г.М., Мурылев В.Ю., Петров Н.В. и др. Асептическое расшатывание эндопротеза тазобедренного сустава (этиопатогенез, особенности клиника и оперативного лечения). Москва 2011, 40 – 44.
21. Казарин, Л.А. Методические разработки к спецпрактикуму «Метод инфракрасной спектроскопии и его применение в химии высокомолекулярных соединений». Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, М., 1978г.
22. Карбышева, С. Б. D-лактат – маркер бактериального воспаления нативных и протезированных суставов / С. Б. Карбышева, Л. Г. Григоричева, И. В. Жильцов, В. М. Семенов, А. Г. Золовкина, И. С. Веремей, А. Трампуш // Травматология и ортопедия России. – 2017. – № 23(2). – С. 6–14. [DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-2-6-14](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-2-6-14).
23. Кегги, К. Дж. Передний доступ к тотальному замещению тазобедренного сустава / К.Дж. Кегги, М.Ш. Хуо, Л.И. Заторски // Материалы VI съезда травматологов ортопедов СНГ. Ярославль. – 1993.– С.432–446.
24. Кинлок, Э. Адгезия и адгезивы, пер. с англ. под ред. д.х.н. Л.И.

- Притыкина, М., "Мир", 1991, 484с.
25. Короткин, А. А. Опыт применения индивидуальных трехфланцевых вертлужных компонентов при ревизионноэндопротезировании тазобедренного сустава / Короткин А. А., Захарова Д. В., Новикова Я. С., Горбатов Р. О., Ковалдов К. А., Эль Мудни Ю. М. // Травматология и ортопедия России. – 2017. – №23(4). – С.101–111.
[DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-4-101-111](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-4-101-111).
26. Кудряшов, Ю.Б. Радиационная биофизика. — Москва: Физматлит, 2004. — С. 208.
27. Куропаткин, Г.В. Костный цемент в травматологии и ортопедии / Г.В. Куропаткин. – Казань, 2014г. – 188с.
28. Легонькова, О. А. Экспериментальное исследование возможности применения полимерного геля как локального депо антимикробных препаратов / О. А. Легонькова, А.С. Оганнисян, В.В. Стаффорд, Б.Г. Ахмедов, С.А. Божкова, Р.П. Терехова // Политравма. – 2022.– N 3. – С.67–73
29. Легонькова, О.А. Свойства поливинилпирролидоновых гелей после стерилизующих воздействий / Легонькова О.А., Васильев В.Г., Божкова С.А., Терехова Р.П., Оганнисян А.С., Григорьев М.М., Винокурова Т.И., Чилилов А.М., Ахмедов Б.Г. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22. –№ 11. С. –19-24.
30. Мамонова, И.А. Видовой состав возбудителей гнойных осложнений, возникших после эндопротезирования крупных суставов / И.А. Мамонова, И.В.Бабушкина,Е.В.Гладкова // Хюбил. Всерос. Съезд травматологов-ортопедов.–М.: Человек и здоровье, 2014.– С.387 – 388.
31. Мельникова, О.А. ИК-спектроскопическое изучение химической структуры полимерных комплексов лекарственных веществ на основе поливинилпирролидона. О.А. Мельникова, И.А. Самкова, М.Ю. Мельников, А.Ю. Петров, О.С. Ельцов. Успехи современного естествознания. – 2016. - № 8. – С. 42 – 48.

32. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран. Министерство здравоохранения СССР, Фармакологический комитет. – 1989г.
33. Мидленко, В.И. Применение костного цемента в комбинации с антибиотиком для лечения больных хроническим остеомиелитом костей конечностей / Мидленко В.И., Шевалаев Г.А., Ефремов И.М. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5.
34. Миронов, С.П. Состояние травматолого-ортопедической помощи населению России / С.П. Миронов, Н.А. Еськин, А.А. Очкуренко [и др.] // X юбил. Всерос. съезд травматологов-ортопедов. – М.: Человек и здоровье. – 2014. – С. 3.
35. МУ № 28-6/32 от 18.11.1983 г. Методические указания по лабораторной оценке антимикробной активности текстильных материалов, содержащих антимикробные препараты, М., 1984 г.
36. Мурылев В.Ю. Применение спейсеров для лечения глубокой перипротезной инфекции тазобедренного и коленного суставов / В.Ю. Мурылев [и др.] // Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова. – 2013. – № 3. – С. 18-24.
37. Мурылев, В. Ю. Алгоритм первого этапа лечения поздней глубокой перипротезной инфекции тазобедренного сустава /В. Ю.Мурылев, Г. А. Куковенко, П. М. Елизаров [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2018. –Т.24,№4.– С.95 – 104.
38. Мурылев, В.Ю. Перипротезная инфекция при эндопротезировании тазобедренного сустава / В.Ю. Мурылев, Г.А. Куковенко, П.М. Елизаров, Я.А. Рукин, Н.А. Цыгин // Врач. – 2018. –N 29 (3). – С. 17–22. [DOI:10.29296/25877305-2018-03-04](https://doi.org/10.29296/25877305-2018-03-04) .
39. Наканиси, К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений / К. Наканиси. 1965. – 216 с.

40. Николенко, В.К. Особенности ревизионного эндопротезирования тазобедренного сустава по поводу инфекционных осложнений / В.К.Николенко, Б.П.Буряченко, Д.В.Давыдов // Инфекции в хирургии. – 2008. – Т. 6. – № 2. – С. 50 – 55.
41. Оганнисян, А. С. Гистологические исследования ответной реакции организма животных на применение антимикробного геля локального воздействия / А.С. Оганнисян, В.В. Стаффорд, О.А. Легонькова, Б.Г. Ахмедов, С.А. Божкова. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – № 10. – С. 23-30.
42. Папков, С. Л. Студнеобразное состояние полимеров / С. Л. Папков. – Москва: Химия, 1974. – 255 с.
43. Патент 2746709 Российская Федерация, МПКА 61P31/04, А61К9/06, А61К9/00, А61К47/58, А61К31/7036, А61К31/665. Способ получения антимикробного геля /Легонькова О. А., Божкова С. А., Терехова Р. П., Ахмедов Б. А., Оганнисян А. С., Гордина Е. М., Винокурова Т. И., Чилилов А. М.; заявители и патентообладатели: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НМИЦ хирургии им. А.В.Вишневского" Минздрава России), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Министерства здравоохранения Российской Федерации. -№ 2020134912/04; заявл. 23.10.2020; опубл. 19.04.2021.
44. Плоткин, Г.Л. Место конструкций из никелида титана в лечении травм и заболеваний опорно-двигательной системы (Обзор литературы) / Г.Л. Плоткин, А.А. Домашенко, О. К. Суховольский, К. Г. Плоткина, А. В. Олейник, А.Н. Рассошанский // Травмотология и ортопедия России. – 2005. – № 2(35). – С. 60 – 64.
45. Правила лабораторной практики в Российской Федерации. Приказ

Минздрава России № 267 от 19.06.2003 г.

46. Правила проведения работ с экспериментальными животными. Приказ № 724 от 13.11.1984 г. Министерства высшего и среднего специального образования СССР.
47. Привольнев, В.В. Местное применение антибиотиков в лечении инфекций костной ткани / В. В. Привольнев, А. В. Родин, Е. В. Каракулина // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2012. – Том 14 (№2). – С. 118-131.
48. Приказ Минздравсоцразвития РФ № 201н от 31.03.2010. Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению при травмах и заболеваниях костно-мышечной системы // Российская газета. – 2010. – 12мая. – № 100.
49. Роговина, Л. З. Природа студнеобразования, структура и свойства студней полимеров / Л. З. Роговина, Г. Л. Слонимский // Усп. хим. – 1974. – № 43 (6). – С. 1102 – 1135.
50. Руководство по общей и клинической трансфузиологии, под ред. Б. В. Петровского, с. 199, М., 1979.
51. Савченкова, И.П. Мезенхимные подобные стволовым стромальные клетки из подкожного жира человека и полимерные гидрогели на основе поливинилпирролидона: токсичность и адгезия / И.П. Савченкова, Д.Г. Коровина, Е.В. Викторова, А.С. Оганнисян, О.А. Легонькова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2023. – Т. 26. – № 3. – С. 27-32.
52. Сакалов, Д.А. Профилактика инфекционных осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава / Д.А.Сакалов, А.Ф.Скороглядов // Эндопротезирование в России: Всерос. монотематич. сб. науч. статей. – Казань; СПб., 2007. – Вып. 3. – С. 83-86.
53. Сидельковская Ф. П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров, М., 1970.
54. Сильверстейн, Р. Спектрометрическая идентификация органических

- соединений / Р. Сильверстейн, Г. Басслер, Т. Моррил. М.: Мир, 1977. – 592с.
55. Суздалева В. В. и др. Исследование влияния поливинилпирролидона на пролонгацию действия новокаина в эксперименте, Эксперим, хир. и анестезиол., № 3, с. 70, 1971.
56. Суздалева В. В. и др. Эффективность препаратов поливинилпирролидона при ожоговой интоксикации, Пат. физиол, и Эксперим, тер., № 5, с. 67, 1978.
57. Тагер, А. А. Физико-химия полимеров / А. А. Тагер. – Москва: Рипол Классик, 1978. – 544 с.
58. Тихилов, Р.М. Классификации дефектов вертлужной впадины: дают ли они объективную картину сложности ревизионного эндопротезирования тазобедренного сустава? (критический обзор литературы и собственных наблюдений). / Р.М.Тихилов, И.И. Шубняков, А.О. Денисов // Травматология и ортопедия России. – 2019. – №25(1). –С.122–141.
[DOI: 10.21823/2311-2905-2019-25-1-122-141](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2019-25-1-122-141).
59. Тихилов, Р.М. Руководство по эндопротезированию тазобедренного сустава / Р.М.Тихилов, В.М. Шаповалов – СПб, 2008. – 341 с.
60. Травматизм, ортопедическая заболеваемость, состояние травматолого-ортопедической помощи населению России в 2018 году: сборник. Под ред. Н.А. Еськина. М.: ЦИТО им. Н. Н .Приорова, 2019. 166 с.
61. ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России: официальный сайт. -СПб.- URL: <http://rniito.ru> (дата обращения: 15.02.2023).
62. Федеральная служба в сфере здравоохранения: официальный сайт. - Москва. - URL: <http://roszdravnadzor.gov.ru> (дата обращения: 15.02.2023)
63. Ферри, Дж. Вязкоупругие свойства полимеров / Дж.Ферри. – Москва: Изд-во иностранной литературы, 1963. – 535 с.
64. Хенч, Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей : монография / Хенч Л., Джоунс Д.. — Москва : Техносфера, 2007. — 304 с.

- ISBN 978-5-94836-107-9. — Текст : электронный // IPR SMART : [сайт].
— URL: <https://www.iprbookshop.ru/12722.html> (дата обращения: 02.09.2022). — Режим доступа: для авторизир. пользователей.
65. Цюрупа, Н. Н. Практикум по коллоидной химии / Н. Н. Цюрупа. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва: Высшая школа, 1963. – 183с.
66. Шералиев, Т.У. Ранняя глубокая перипротезная инфекция тазобедренного сустава одонтогенной этиологии (клинический случай) / Т.У.Шералиев, В.В.Павлов, С.О.Кретьен, Е.А.Фёдоров, С.И.Кирилина // Травматология и ортопедия России. – 2019. – № 25(4). – С. 141–149.
[DOI: 10.21823/2311-2905-2019-25-4-141-149.](https://doi.org/10.21823/2311-2905-2019-25-4-141-149)
67. Abd El-Kader, M.F.H. Structural, morphological features, and antibacterial behavior of PVA/PVP polymeric blends doped with silver nanoparticles via pulsed laser ablation / M.F.H. Abd El-Kader, M.T. Elabbasy, M.K. Ahmed et al // Journal of Materials Research and Technology. – 2021. – Vol. 13. – P. 291 – 300.
68. Abdollahiyan, P. Cutting-edge progress and challenges in stimuli responsive hydrogel microenvironment for success in tissue engineering today / P. Abdollahiyan, B. Baradaran, M. de la Guardia, F. Oroojalian, A. Mokhtarzadeh // J Control Release. – 2020. – Vol.328. –P.514 – 531. [DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.09.030.](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.030)
69. Abune, L. Affinity hydrogels for protein delivery / L. Abune, Y. Wang // Trends Pharmacol Sci. –2021. – Vol. 42. – P. 300–312.
70. Ahmed, E.M. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: A review / E. M. Ahmed // J Adv Res. – 2015. – Vol. 6. – N. 2. – P. 105 – 121.
[DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.](https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006)
71. Ajjji, Z. Grafting of poly(vinyl pyrrolidone) with citric acid using gamma irradiation / Z. Ajjji // Nuclear Instrum. Methods Phys. Res. B. – 2007. – Vol. 265. – P. 179 – 182.

72. Ajji, Z. Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation / Z. Ajji, I. Othoman, J. Rosiak // Nucl. Instrum. & Methods in Phys. Res. B. – 2005. – Vol. 229. – P. 375 – 380. [DOI: 10.1016/j.nimb.2004.12.135](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2004.12.135).
73. Ajji, Z. Use of electron beam for the production of hydrogel dressings / Z. Ajji, G. Mirjalili, A. Alkhatib, H. Dada // Radiation Physics and Chemistry. – 2008. – Vol. 77. – P. 200 – 202.
74. Akhtar, M. F. Methods of synthesis of hydrogels... A review / M. F. Akhtar, M. Hanif, N. M. Ranjha // Saudi Pharmaceut J. – 2016. – Vol. 24. – N. 5. – P. 554 – 559. [DOI: 10.1016/j.jsps.2015.03.022](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.022).
75. Allerberger, F. In-vitro activity of fosfomycin against vancomycinresistant enterococci / F. Allerberger, I. Klare // J Antimicrob Chemother. – 1999. – N. 43. – P. 211–217.
76. Aprile, A. In vitro fosfomycin study on concordance of susceptibility testing methods against ESBL and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae / A. Aprile, G. Scalia, S. Stefani, M. L. Mezzatesta // Journal of Global Antimicrobial Resistance. – 2020. – Vol. 23. – P. 286–289. [DOI: 10.1016/j.jgar.2020.09.022](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.022).
77. Ascherl, R. Treatment of local infections with collagen-gentamicin / R. Ascherl, A. Stemberger, F. Lechner, G. Blümel // Aktuelle Probl Chir Orthop. – 1990. – Vol. 34. – P. 85 – 93. [German].
78. Attmanspacher, W. Mid-term outcome of post-operative infections of the shoulder / W. Attmanspacher, V. Dittrich, A. Schatzler, H. W. Stedtfeld // Unfallchirurg. – 2000. – Vol. 103. – P. 1048 – 1056. [German].
79. Awasthi, R. Poly(vinylpyrrolidone) / R. Awasthi, S. Manchanda, P. Das, et al. // Eng. Biomater. Drug Deliv. Syst. – 2018. – Vol. 9. – P. 255–272. [DOI:10.1016/B978-0-08-101750-0.00009-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101750-0.00009-X).
80. Baccaro, S. Mechanical properties of polyvinylpyrrolidone (PVP) hydrogels undergoing radiation / S. Baccaro, L.A. Pajewski, G. Scoccia, R. Volpe, J.M. Rosiak // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B. – 1995. – Vol. 105. – P. 100 – 102.

81. Banon Arias, R. Time-kill evaluation of antimicrobial regimens against clinical isolates of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* / R. Banon Arias, M. Garcia Lopez, A. Pinedo Sanchez // *J Chemother.* – 2001. – N. 13. – P. 535–540. [DOI: 10.1179/joc.2001.13.5.535](https://doi.org/10.1179/joc.2001.13.5.535).
82. Barros, J.A.G. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels produced by Fenton reaction / J.A.G. Barros, G.J.M.Fechine, M.R.Alcantara, et al. // *Polymer.* – 2006. – Vol. 47. – P. 8414 – 8419. [DOI:10.1016/j.polymer.2006.10.033](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2006.10.033).
83. Barry, A.L. Antibacterial spectrum of fosfomicin trometamol / A. L.Barry, S. D. Brown // *J Antimicrob Chemother.* – 1995. – N. 35. – P. 228–230.
84. Bastos, E.L. Studies on PVP hydrogel-supported luminol chemiluminescence: 1. Kinetic and mechanistic aspects using multivariate factorial analysis / E.L. Bastos, L.F.M.L. Ciscato, F.H. Bartoloni // *Luminescence.* – 2007. – Vol.22. – P. 113 – 125.
85. Bauri, K. Aminoacid-derived stimuli-responsive polymers and their applications / K. Bauri, M. Nandi, P. De // *PolymChem.* – 2018. – Vol. 9. – N. 11. – P.1257 – 1287. [DOI: 10.1039/C7PY02014G](https://doi.org/10.1039/C7PY02014G).
86. Benamer, S. Synthesis and Characterisation of Hydrogels Based on Poly(Vinyl Pyrrolidone) / S. Benamer, M. Mahlous, A. Boukrif, B. Masouri, Y.S. Larbi // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B.* – 2006. – Vol. 248. – P. 284 – 290.
87. Berend, K.L. Enhanced early outcomes with the anterior-supine intermuscular approach in primary total hip arthroplasty / K.R.Berend, A.V. Lombardi, B.E. Seng, J.B. Adams // *J. Bone Joint Surg.* – 2009. – Vol. 91-A, suppl. 6. – P. 107 – 120.
88. Bettin, D. Comparative evaluation of results after local antibiotic therapy with gentamicin in form of beads and fleece / D. Bettin, H.Winkler // *J Bone Joint Surg Br.* – 2009. – Vol. 91-B. 311.
89. Bielen, L. Activity of fosfomicin against nosocomial multidrug-resistant bacterial pathogens from Croatia: a multicentric study / L. Bielen, R. Likic, V. Erdeljic, I.

- Marekovic, N. Firis, M. Grgic Medic, [etal.] // Croat Med J. – 2018. – Vol. 59. – P. 56–64.
90. Bozic, K. J. The impact of infection after total hip arthroplasty on hospital and surgeon resource utilization / K.J. Bozic, M.D. Ries // J. Bone Joint Surg. Am. – 2005. – Vol. 87. – N 8. – P.1746–1751.
91. Bozic, K.J. Variation in hospital-level risk-standardized complication rates following elective primary total hip and knee arthroplasty / K.J. Bozic, L.M. Grosso, Z.Lin [etal.] // J Bone Joint Surg.–2014. –Vol. 96-A. – N. 8.– P.640–647.
92. Braem, A. Staphylococcal biofilm growth on smooth and porous titanium coatings for biomedical applications / A. Braem, L. van Mellaert, T.Mattheys, D.Hofmans, E. de Waelheyns, L. Geris, [et al.] // J Biomed Mater Res A. – 2013. [DOI:10.1002/jbm.a.34688](https://doi.org/10.1002/jbm.a.34688).
93. Bühler, V. Polyvinylpyrrolidone – Excipients for Pharmaceuticals: Povidone, Crospovidone and Copovidone, Illustrate, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 2005. [DOI:10.1017/CBO9781107415324.004](https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004).
94. Burastero, G. Acetabular spacers in 2-stage hip revision: is it worth it? A single-centre retrospective study / G. Burastero, M. Basso, G. Carrega, L. Cavagnaro, F. Chiarlone, C. Salomone, G. Papa, L. Felli // Hip International. – 2016. [DOI: 10.5301/hipint.5000446](https://doi.org/10.5301/hipint.5000446).
95. Busscher, H. J. How do bacteria know they are on a surface and regulate the irresponse to an adheringstate? / H. J. Busscher, H. C.vanderMei // PLoSPathog. – 2012. – Vol. 8. – e1002440.
96. Cai, Y.Synergistic effects of aminoglycosides and fosfomycin on Pseudomonas aeruginosa in vitro and biofilm infections in a rat model / Y. Cai, Y. Fan, R. Wang, M.M. An, B.B. Liang // J Antimicrob Chemother. – 2009. – N. 64. – P. 563– 566.
97. Caliari, S.R. A practical guide to hydrogels for cell culture / S.R. Caliari, J.A. Burdick // Nat. Methods. – 2016. – Vol. 13. – N.5. – P. 405 – 414.

98. Cascone, S. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: a review / S. Cascone, G. Lamberti // *Int. J. Pharm.* – 2020. – Vol. 573. 118803.
99. Cavanaugh, D. L. Better Prophylaxis Against Surgical Site Infection with Local as Well as Systemic Antibiotics / D. L. Cavanaugh, J. Berry, S. R. Yarboro, L. E. Dahners // *J Bone and Joint Surgery Am.* – 2009. – Vol. 98. – N. 8. – P. 1907–1911. [DOI: 10.2106/JBJS.G.01237](https://doi.org/10.2106/JBJS.G.01237).
100. Chatterjee S. , Ch.-L. Hui P. Stimuli-responsive Hydrogels: an Interdisciplinary Overview / *Hydrogels – Smart Materials for Biomedical Applications.* – 2018.
101. Chen, K.S. Preparation and characterization of pH sensitive poly(N-vinyl-2-pyrrolidone/itaconic acid) copolymer hydrogels / K.S. Chen, Y.A. Ku, H.R. Lin et al. // *Mater. Chem. Phys.* – 2005. – Vol. 91. – P. 484 – 489. [DOI:10.1016/j.matchemphys.2004.12.037](https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2004.12.037).
102. Chen, W. Precise control of the structure of synthetic hydrogel networks for precision medicine applications / W. Chen, W. Tao // *Matter.* – 2022. – Vol. 5. – N. 1. – P. 18 – 19.
103. Chen, Y. Statistical analysis of long- and short- range forces involved in bacterial adhesion to substratum surfaces as measured using atomic force microscopy / Y. Chen, H.J. Busscher, H.C. vander Mei, Norde W. // *Appl Environ Microbiol.* – 2011. – Vol. 77 – P. 5065–5070.
104. Choi, S.W. Basic principles of hydrogel-based tissue transformation technologies and their applications / S.W. Choi, W. Guan, K. Chung // *Cell.* – 2021. – Vol. 184. – N. 16. – P. 4115 – 4136.
105. Chun, M. K. Application of Carbopol/PVP interpolymer complex to prepare mucoadhesive floating granule / M. K. Chun, P. Bhusal, H. K. Choi // *Arch Pharm. Res. (Seoul).* – 2013. – Vol. 36. – P. 745–751. [DOI:10.1007/s12272-013-0035-4](https://doi.org/10.1007/s12272-013-0035-4).
106. Cobo, J. Prosthetic joint infection: diagnosis and management // J. Cobo, J.L. Del Pozo // *Expert Rev. AntiInfect. Ther.* – 2011. – Vol. 9. – N. 9. – P. 787-802.

107. Cooper, R.C. /Hydrogel-based ocular drug delivery systems: emerging fabrication strategies, applications, and bench-to-bedside manufacturing considerations/R.C. Cooper, H. Yang // J Control Release. – 2019. – Vol. 306. – P. 29 – 39.
108. Costa Almeida, C. E. Collagen implant with gentamicin sulphate as an option to treat aneuroischaemic diabetic foot ulcer: Case report / C. E. Costa Almeida // International Journal of Surgery Case Reports. – 2016. – N. 21. – P. 48–51. [DOI:10.1016/j.ijscr.2016.02.023](https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2016.02.023).
109. Costa Almeida, C. E. P. Almeida Collagen implant with gentamicin sulphate reduces surgical site infection in vascular surgery: A prospective cohort study /C. E. P. Costa Almeida, L. Reis, L. Carvalho, C. M. Costa Almeida // International Journal of Surgery. – 2014. – N. 12. – P. 1100-1104. [DOI: 10.1016/j.ijssu.2014.08.397](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2014.08.397).
110. Costerton, W. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections / W. Costerton, R. Veeh, M. Shirtliff, M. Pasmore, C. Post, G. Ehrlich // J Clin Investig. – 2003. – Vol. 112. – P. 1466– 1477.
111. D’Errico, G. Structural and Mechanical Properties of UV-Photo-Cross-Linked Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) Hydrogels / G. D’Errico, M. De Lellis, G. Mangiapia, et al. // Biomacromolecules. – 2008. –Vol. 9. – P. 231–240. [DOI:10.1021/bm7008137](https://doi.org/10.1021/bm7008137).
112. Dai, K.R. Treatment of intra – articular fractures with shape memory compression staples / K.R. Dai, X. K. Hou, Y. H. Sun et al. // Injury. – 1993. – Vol. 24. – N. 4. – P. 651 – 655.
113. Daly, A. C. Hydrogel microparticles for biomedical applications / A. C. Daly, L. Riley, T. Segura, J. A. Burdick // Nat Rev Mater. –2020. – Vol. 5. – N. 1.– P. 20 – 43.
114. de Bruin, A. F.J. Local application of gentamicin-containing collagen implant in the prophylaxis of surgical site infection following gastrointestinal surgery / A. F.J. de Bruin, M. P. Gosselink, E. van der Harst // International Journal of Surgery. – 2012. – N. 10. – P. S21- S27. [DOI:10.1016/j.ijssu.2012.05.014](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2012.05.014).

115. Defensiv Antibacterial Coating: official website. - Italy. -URL: <http://www.dac-coating.com/dac/>.
116. Devine, D.M. The synthesis of a physically crosslinked NVP based hydrogel / D. M. Devine, C. L. Higginbotham // Polymer. – 2003. – Vol. 44. – P. 7851 – 7860. DOI: [10.1016/j.polymer.2003.10.017](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.017).
117. Diefenbeck, M. Prophylaxis and treatment of implant related infections by local application of antibiotics / M. Diefenbeck, T. Muckley, G. O.Hofmann // Injury. – 2006. – Vol. 37. – P. 95-104.
118. Diez-Pena, E. Gentamicin sulphate release from a modified commercial acrylic surgical radiopaque bone cement. I. Influence of the gentamicin concentration on the release process mechanism / E. Diez-Pena, G. Frutos, P. Frutos, J. M. Barrales-Rienda // Chem. Pharm. Bull. – 2002. – Vol. 50. – N. 9. – P. 1201–1208. DOI: [10.1248/cpb.50.1201](https://doi.org/10.1248/cpb.50.1201).
119. Dispenza, C. Electrical Properties of γ -Crosslinked Hydrogels Incorporating Organic Conducting Polymers / C. Dispenza, G. Fiandaca, C. Lo Presti, S. Piazza, G. Spadaro // Radiat. Phys. Chem. – 2007. – Vol. 76. – P. 1371 – 1375.
120. Distler, T. 3D printing of electrically conductive hydrogels for tissue engineering and biosensors – a review / T. Distler, A.R. Boccaccini // Acta Biomater. – 2020. – Vol. 101. – P. 1–13.
121. Dunbar, M. J. Antibiotic bone cements: their use in routine primary total joint arthroplasty is justified / M. J. Dunbar // Orthopedics. – 2009. – Vol. 32. – P. 9. DOI: [10.3928/01477447-20090728-20](https://doi.org/10.3928/01477447-20090728-20).
122. Dunne, N. J. Thermal characteristics of curing acrylic bone cement / N. J. Dunne, J. F. Orr // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2001. – Vol. 22. – N. 2. – P. 88-973.
123. Dwivedi, Ch. Fabrication and Assessment of Gentamicin Loaded Electrospun Nanofibrous Scaffolds as a Quick Wound Healing Dressing Material / Ch. Dwivedi, H. Pandey, A. C. Pandey, P. W. Ramteke // Current Nanoscience. – 2015. – Vol. 11. – N. 2. – P. 222-228.

124. El-Husseiny, M. Biodegradable antibiotic delivery systems / M. El-Husseiny, S. Patel, R. J. MacFarlane, F. S. Haddad // *J Bone Joint Surg Br.* – 2011. – Vol. 93. – P. 151 – 157. [DOI: 10.1302/0301-620X.93B2.24933](https://doi.org/10.1302/0301-620X.93B2.24933).
125. El-Sherbiny, I.M. Updates on Stimuli-Responsive Polymers: Synthesis Approaches and Features / I.M. El-Sherbiny, I.A. Khalil, I.H. Ali // *PolymerGels.* – 2018. – P. 129-146. [DOI:10.1007/978-981-10-6086-1_4](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6086-1_4).
126. Elumalaia, K. The high lymphadenopathy and subcutaneous edema are associated with development of foot ulcer in type 2 diabetes: A collagen implanted antibiotic therapy / K. Elumalaia , Ch. Yadhav , S. S. Nishad , S. Srinivasan , K. Mounika , S. Sivannan , K. Supriya , A. Kumar // *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University.* – 2018. – Vol. 56. – P. 101–103. [DOI: 10.1016/j.bfopcu.2018.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2018.03.002).
127. Engesaeter, L.B. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0–14 years in the Norwegian Arthroplasty Register / L.B. Engesaeter, S.A. Lie, B. Espehaug, et al. // *Acta Orthop Scand.* – 2003. – Vol. 74. – P. 644 – 651.
128. Fabi, D. W. Unilateral vs Bilateral Total Knee Arthroplasty: Risk Factors Increasing Morbidity / D.W. Fabi, V. Mohan, W.M. Goldstein, J.H. Dunn, B.P. Murphy // *Journal of Arthroplasty.* – 2011. – Vol. 26. – N 5. – P. 668 – 673.
129. Fachine, G.J.M. Fluorescence polarization and rheological studies of the poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels produced by UV radiation / G.J.M. Fachine, J.A.G. Barros, M.R. Alcantara, et al. // *Polymer.* – 2006. – Vol. 47. – P. 2629 – 2633. [DOI:10.1016/j.polymer.2006.02.001](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2006.02.001).
130. Fachine, G.J.M. Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogel production by ultraviolet radiation: new methodologies to accelerate crosslinking / G.J.M. Fachine, J.A.G. Barros, L.H. Catalani // *Polymer.* – 2004. – Vol. 45. – P. 4705 – 4709. [DOI:10.1016/j.polymer.2004.05.006](https://doi.org/10.1016/j.polymer.2004.05.006).

131. Feil, J. Bioresorbablecollagengentamicin compound as local antibiotic therapy / J. Feil, S. Bohnet, R. Neugebauer, S.Rübenacker //AktuelleProblChirOrthop. – 1990. – Vol. 34. – P. 94 –103 [German].
132. Feng, C. Germanene-based theranostic materials for surgical adjuvant treatment: inhibiting tumor recurrence and wound infection / C. Feng, J. Ouyang, Z. Tang, [et al.] // Matter. – 2020. – Vol. 3. – N. 1. – P. 127 – 144.
133. Ferrara, A.Effect of different combinations of sparfloxacin, oxacillin, and fosfomycin against methicillinresistant staphylococci / A. Ferrara, C. Dos Santos, M. Cimbro, G.GialdroniGrassi// Eur J Clin Microbiol Infect Dis. – 1997. – N. 16. – P. 535– 537.
134. Filip,P. Structure and surface of TiNi human implants / P. Filip, J. Lausma, J. Musialek, K. Mazanek // Biomaterials. – 2001. – Vol. 22. – N. 51. – P. 2131 – 2138.
135. Flemming, H.C.Biofilms: an emergent form of bacterial life / H. C. Flemming, J. Wingender, U. Szewzyk [et al.] // Nat Rev Microbiol. – 2016. – Vol. 14. – P. 563–575. [DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94](https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94).
136. Foroutan, H. Investigation of synthesis of PVP hydrogel by irradiation / H. Foroutan, M. Khodabakhsh, M. Rabbani // Iran J. Radiat. Res. – 2007. – Vol. 5. – P. 131 – 136. [260]
137. Foster, T.J. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus / T. J. Foster, J. A. Geoghegan, V. K. Ganesh, M. Hook // Nat Rev Microbiol. – 2014. – Vol. 12. – P. 49–62. [91]
138. Franco, P. The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review /P. Franco, I. De Marco // Polymers. – 2020.– Vol. 12, N 5. [DOI:10.3390/polym12051114](https://doi.org/10.3390/polym12051114).
139. Frossard, M. Distribution and antimicrobial activity of fosfomycin in the interstitial fluid of human soft tissues / M. Frossard, C. Joukhadar, B. M. Erovic, P. Dittrich, P. E.Mrass, M. Van Houte, [et al.] //Antimicrob Agents Chemother. – 2000. – Vol. 44. – P. 2728–2732.

140. Fuchs, S. Hydrogels in emerging technologies for type 1 diabetes / S. Fuchs, A.U. Ernst, L.-H. Wang, [et al.] // *Chem Rev.* – 2021. – Vol. 121. – N. 18. – P. 11458 – 11526. [213]
141. Ghobril, C. The chemistry and engineering of polymeric hydrogel adhesives for wound closure: a tutorial / C. Ghobril, M.W. Grinstaff // *Chem Soc Rev.* – 2015. – Vol. 44. – N. 7. – P. 1820 – 1835. [DOI: 10.1039/c4cs00332b](https://doi.org/10.1039/c4cs00332b).
142. Giuliano, E. Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: an overview / E. Giuliano, D. Paolino, M. Fresta, D. Cosco // *Pharmaceutics.* – 2018. – Vol. 10. 159. [DOI: 10.3390/pharmaceutics10030159](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030159).
143. Gottlieb, R. Synthesis of temperature-sensitive hydrogel blends by high-energy irradiation / R. Gottlieb, T. Schmidt, K. Arndt // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms.* – 2005. – Vol. 236. – P. 371 – 376.
144. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eight Edition.* – Washington: The National Academies Press. 2011, 220pp.
145. Gutowski, C.J. The economics of using prophylactic antibiotic-loaded bone cement in total knee replacement / C. J. Gutowski, B.M. Zmistowski, C.T. Clyde, J. Parvizi // *Bone Joint J.* – 2014. – Vol. 96-B(1). – P. 65–69.
146. Hansen, E.N. Periprosthetic joint infection: what is on the horizon / E.N. Hansen, B. Zmistowski, J. Parvizi // *Int J Artif Organs.* – 2012. – Vol. 35. – N. 10. – P. 935–950.
147. Hanssen, A.D. Local antibiotic delivery vehicles in the treatment of musculoskeletal infection / A.D. Hanssen // *Clin Orthopaed Relat Res.* – 2005. – Vol. 437. – P. 91 – 96. [DOI: 10.1097/01.blo.0000175713.30506.77](https://doi.org/10.1097/01.blo.0000175713.30506.77).
148. Hayami, H. Activities of β -lactams, fluoroquinolones, amikacin and fosfomycin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from complicated urinary tract infections / Hayami H., Goto T., Kawahara M., Ohi Y. // *J Infect Chemother.* – 1999. – N. 5. – P. 130–138.
149. He, W. Effects of silica–gentamicin nanohybrids on osteogenic differentiation of human osteoblastlike SaOS-2 cell / W. He, D.A. Mosselhy, Y.

- Zheng, Q. Feng, X. Li, X. Yang, L. Yue, S. Hannula // International Journal of Nanomedicine . – 2018. – Vol. 13. – P. 877–893.
150. Heinrich, H.C. Studies on I-131 labelled polyvinylpyrrolidone metabolism in the human body / H. C. Heinrich, E. E. Gabbe, W. P. Nass, K. Becker // Klin. Wochenschr. – 1966. – Vol. 44. – P. 488–493. [DOI:10.1007/bf01727574](https://doi.org/10.1007/bf01727574).
151. Hennink, W.E. Novel crosslinking methods to design hydrogels /W.E. Hennink, C.F. van Nostrum // Adv Drug Deliv Rev.– 2002. – Vol. 54. – N. 1. – P. 13 – 36.
152. Heydemann, J. S. Short-term preventive antibiotics / J. S. Heydemann, C. L. Nelson //Clin Orthop Relat Res. – 1986. – Vol. 205. – P. 184–187.
153. Hoffman, A. Hydrogels for biomedical applications/ A.Hoffman //Adv Drug Deliv Rev. – 2002.– Vol. 51. – P. 3–12. [DOI: 10.1016/s0169-409x\(01\)00239-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00239-3).
154. Holá, V. The dynamics of staphylococcus epidermis biofilm formation in relation to nutrition, temperature, and time / V.Holá, F.Růžička, M.Votava // ScrMedica. – 2006. – Vol. 79. – P. 169–174.
155. Hoteling, A.J. Characterization and quantitation of PVP content in a silicone hydrogel contact lens produced by dual-phase polymerization processing / A.J. Hoteling, W.F. Nichols, P.S. Harmon, et al. // J. Biomed. Mater.Res. B Appl. Biomater. – 2018. – Vol. 106.– P. 1064–1072. [DOI:10.1002/jbm.b.33904](https://doi.org/10.1002/jbm.b.33904).
156. Hu, Q. Inhibition of Post-surgery Tumour Recurrence via a Hydrogel Releasing CAR-T Cells and Anti-PDL1-conjugated Platelets /Q. Hu, H. Li, E. Archibong, [et al.] // Nature Biomedical Engineering. – 2021. – Vol. 5. – P. 1038 – 1047.
157. Hu, W. Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels / W. Hu, Z. Wang, Y. Xiao, S. Zhang, J. Wang // Biomater Sci. – 2019. – Vol. 7. – N. 3. – P.843 – 855.
158. Hussain, S. T. Local application of gentamicin-containing collagen implant in the prophylaxis and treatment of surgical site infection following vascular surgery / S. T. Hussain // International Journal of Surgery. – 2012. – N. 10. – P. S5 - S9. [DOI:10.1016/j.ijssu.2012.05.015](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2012.05.015).

159. Ipsen, T. Gentamicin-collagen sponge for local applications: 10 cases of chronic osteomyelitis followed for 1 year / T. Ipsen, P.S. Jørgensen, V. Damholt, C.Tørholm // *Acta Orthop Scand.* – 1991. – Vol. 62. – P. 592 – 594.
160. Jenny, J.-Y. Specificities of total hip and knee arthroplasty revision for infection / J.-Y. Jenny // *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research.* – 2020. – Vol. 106. – N 1. – P. 27 – 34.
161. Jiang, Y. Nanoparticle–hydrogel superstructures for biomedical applications / Y. Jiang, N. Krishnan, J. Heo, R. H. Fang, L. Zhang // *J Contr Release.* –2020. – Vol. 324. – P. 505-521. [DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.05.041](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.05.041).
162. Jiranek, W. Antibiotic-loaded bone cement for infection prophylaxis in total joint replacement / W. Jiranek, A. Hanssen, A. Greenwald // *J of Bone and Joint Surgery Am.* – 2006. – Vol. 88. – P. 2487–2500. [DOI: 10.2106/JBJS.E.01126](https://doi.org/10.2106/JBJS.E.01126).
163. Joukhadar, C. Target site penetration of fosfomycin in critically ill patients / C. Joukhadar, N. Klein, P. Dittrich, M. Zeitlinger, A. Geppert, K. Skhirtladze, [etal.] // *JAntimicrobChemother.* – 2003. – Vol. 51. – P. 1247–1252.
164. Joulie, D. Factors governing the healing of Staphylococcus aureus infections following hip and knee prosthesis implantation: A retrospective study of 95 patients / D. Joulie, O. Mares, E. Beltrand [et al.] // *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* – 2011. – Vol. 97. – N. 7. – P. 685-692.
165. Kamaruddin. Synthesis of Polyvinylpyrrolidone (PVP)-Green Tea Extract Composite Nanostructures using Electrohydrodynamic Spraying Technique / Kamaruddin, D. Edikresnha, I. Sriyantiet al // *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* – 2017. – Vol. 202. – 012043. [DOI:10.1088/1757-899X/202/1/012043](https://doi.org/10.1088/1757-899X/202/1/012043).
166. Kaplan, C. H. Preparation and Swelling Studies of Biocompatible Hydrogel Systems by Using Gamma Radiation-induced Polymerization / C. H. Kaplan, B. K. Denizli, S. Kavlak, A. Guner // *Radiation Physics and Chemistry.* – 2005. – Vol. 72. – N 4. – P. 483 – 488.
167. Kaplan, C. Synthesis of Persulfate Containing Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP) Hydrogels in Aqueous Solutions by γ -induced Radiation / C. H. Kaplan // *Radiation Physics and Chemistry.* – 2005. – Vol. 72. – P. 703 – 710.

168. Khajouei, S. DNA hydrogel-empowered biosensing/S. Khajouei, H. Ravan, A. Ebrahimi // *Adv Colloid Interface Sci.* –2020. – Vol. 275. – P.102060.
169. Khandaker M. The Effect of Nanoparticles and Alternative Monomer on the Exothermic Temperature of PMMA Bone Cement / M. Khandaker, Zh.Meng // *ProcediaEngineering.* –2015. – Vol. 105. – P. 946 – 952.
170. Kikgel: official website. - Poland. - URL: <https://kikgel.com.pl/en/products/neoheal/#-1>.
171. Kim, T. Polymeric aggregate-embodied hybrid nitric-oxide-scavenging and sequential drug-releasing hydrogel for combinatorial treatment of rheumatoid arthritis / T. Kim, J. Suh, W.J. Kim // *Adv Mater.* –2021. – Vol. 33. – Vol. 34. 2008793.
172. Kimaro, E. Formulation development of chewable albendazole tablets with improved dissolution rate / E. Kimaro, P. Tibalinda, R. Shedafa et al. // *Heliyon.* –2019. – Vol. 5 . [DOI:10.1016/j.heliyon.2019.e02911](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02911).
173. Klosterman E.L. Creation of a Custom-Length, Humeral Antibiotic Cement Spacer for Use in Treatment of Shoulder Periprosthetic Joint Infection / E.L. Klosterman, E.J. Cotter, M.W. Squire, B.F. Grogan / *Arthroscopy Techniques.*– 2021. – Vol. 10.–N. 2.– P. 481 – 486.
174. Knaepler, H. Local application of gentamicin-containing collagen implant in the prophylaxis and treatment of surgical site infection in orthopaedic surgery / H. Knaepler// *International Journal of Surgery.* – 2012. – N. 10. – P. S15 - S20. [DOI:10.1016/j.ijssu.2012.05.020](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2012.05.020).
175. Koenig, K. Advanced age and comorbidity increase the risk for adverse events after revision total hip arthroplasty / K. Koenig, J.I. Huddleston, H. Huddleston, W.J. Maloney, S.B. Goodman // *Journal of Arthroplasty.* –2012. τ– Vol. 27. – N.7. – P. 1402 – 1407.
176. Komatsuzawa H. Effect of combination of oxacillin and non-beta-lactam antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / H. Komatsuzawa, J. Suzuki, M. Sugai, Y. Miyake, H.Suginaka// *J Antimicrob Chemother.* – 1994. – N. 33. – P. 1155– 1163.

177. Konopka, J.F. Risk assessment tools used to predict outcomes of total hip and total knee arthroplasty / J.F. Konopka, V.J. Hansen, H.E. Rubash, A.A. Freiberg // *Orthop Clin North Am.*–2015.–Vol.46. –N. 3.–P.351–362.
178. Kose, N.A Silverion-doped calcium phosphate-based ceramic nano powder-coated prosthesis increased infection resistance / N. Kose, A. Otuzbir, C.Peksen [et al.]// *Clin.Orthop.Relat.Res.*–2013.–Vol.471, - N. 8. –P.2532–2539.
179. Kowalewski, M. Gentamicin-collagen sponge reduces the risk of sternal wound infections after heart surgery: Meta-analysis / M. Kowalewski, W. Pawliszak, K. Zaborowska, E. P. Navarese, K. A. Szwed, M. E. Kowalkowska, J. Kowalewski, A. Borkowska, L. Anisimowicz // *J ThoracCardiovasc Surg.* – 2015. – Vol. 149. – N. 6. – P 1631-1640. [DOI: 10.1016/j.jtcvs.2015.01.034](https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2015.01.034).
180. Kurakula, M. Moving polyvinyl pyrrolidone electrospun nanofibers and bioprinted scaffolds toward multidisciplinary biomedical applications / M. Kurakula, G.S.N.K. Rao // *European Polymer Journal.* – 2020. – Vol. 136. [DOI:10.1016/j.eurpolymj.2020.109919](https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109919).
181. Kurakula, M. Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition / M. Kurakula, G.S.N.K. Rao // *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* – 2020. – Vol. 60. 102046. [DOI:10.1016/j.jddst.2020.102046](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046).
182. Kurtz, S. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030 / S. Kurtz, K. Ong, E. Lau [et al.] // *J Bone JointSurg.*–2007.–Vol.89-A. – N4.–P.780 – 785.
183. Kurtz, S.M. Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States / S.M. Kurtz, E. Lau, H. Watson, J.K.Schmier, J.Parvizi // *J Arthroplasty.* – 2012. – Sep.27(8 Suppl). – P.61-65.e1. [DOI: 10.1016/j.arth.2012.02.022](https://doi.org/10.1016/j.arth.2012.02.022).
184. Kusachi S. Antibiotic time-lag combination therapy with fosfomycin for postoperative intra-abdominal abscesses / S. Kusachi, J. Nagao, Y. Saida, M.

- Watanabe, Y. Okamoto, K. Asai[et al.] // J Infect Chemother. – 2011. – N. 17. – P. 91–96.
185. Kusswetter, W. Introduction. Noncemented total hip replacement / W. Kusswetter // International Symposium Tubingen. Stuttgart; N.Y. – 1991. – P. 1–3.
186. Kwasny, O. The use of gentamicin collagen floss in the treatment of infections in trauma surgery / O. Kwasny, G. Bockhorn, V. Vécsei // Orthopedics. – 1994. – Vol. 17. – P. 421 – 425.
187. Langer, R. Advances in biomaterials, drug delivery and bionanotechnology / R. Langer, N.Peppas // Bioeng, Food & Nat Prod. – 2003. – Vol. 49. – N. 12. – P. 2990 – 3006. [DOI:10.1002/aic.690491202](https://doi.org/10.1002/aic.690491202).
188. Laverty, G. Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation / G. Laverty, S.P. Gorman, B.F. Gilmore // Future Microbiol. – 2013. – Vol. 8. – P. 509–524.
189. Legat, F.J. Penetration of fosfomycin into inflammatory lesions in patients with cellulitis or diabetic foot syndrome / F. J. Legat, A. Maier, P. Dittrich, P.Zenahlik, T. Kern, S.Nuhsbaumer, [et al] // Antimicrob Agents Chemother. – 2003. – Vol. 47. – P. 371–374.
190. Letsch, T. Local antibiotic administration in osteomyelitis treatment: a comparative study with two different carrier substances / T. Letsch, E. Rosenthal, T.Joka // Aktuelle Traumatol.– 1993. – Vol. 23. – P. 324 – 329.[German].
191. Li, C. Management of Periprosthetic Joint Infection / Li C., Renz N., Trampuz A // HipPelvis. – 2018. – Vol. 30. – N. 3. – P. 138–146. [DOI: 10.5371/hp.2018.30.3.138](https://doi.org/10.5371/hp.2018.30.3.138).
192. Li, J. Designing hydrogels for controlled drug delivery / J. Li, D.J. Mooney // Nat RevMater. –2016. – Vol. 1. 16071.
193. Li, Z.Q. Organic-Inorganic hierarchical self-assembly into robust luminescent supramolecular hydrogel / Z.Q. Li, Z.H. Hou, H.X. Fan, H.R. Li // Adv Funct Mater. – 2017. – Vol. 27. – N. 2. 1604379.

194. Lichstein, P. One-stage vs two-stage exchange / P.Lichstein, T. Gehrke, A. Lombardi, [et al.] / *J Arthroplasty*. – 2014. – Vol. 29. –P. 108 – 111.
195. Lie, S.A. Dependency issues in survival analyses of 55,782 primary hip replacements from 47,355 patients / S.A. Lie, L. B. Engesaeter, L. I. Havelin [et al.] // *Stat Med*. – 2004. – Vol. 23. – P. 3227–3240.
196. Liu, W. Synthetic polymeric antibacterial hydrogel for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected wound healing: nanoantimicrobial self-assembly, drug-and cytokine-free strategy / W. Liu, O.-Y. Wenbin, C. Zhang, Q. Wang, X. Pan, P. Huang, C. Zhang, Y. Li, D. Kong, W. Wang // *ACS Nano*. – 2020. – Vol. 14. – N. 10. – P. 12905 – 12917.
197. Logroscino, G. The use of collatamp in total hip arthroplasty / G. Logroscino, G. Malerba, E. Pagano,[etal.] // *Acta Biomed*. – 2011. – Vol. 82. – N. 2. – P. 154–159.
198. Lopergolo, L.C. Direct UV photocrosslinking of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) (PVP) to produce hydrogels / Lopergolo, L.C., Lugao, A.B., Catalani, L.H. // *Polymer*. – 2003. – Vol. 44. – P. 6217 – 6222.
[DOI:10.1016/S0032-3861\(03\)00686-4](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(03)00686-4).
199. Lovering, A. M. Impact of soaking gentamicin-containing collagen implants on potential antimicrobial efficacy / A. M. Lovering, J. Sunderland // *International Journal of Surgery*. – 2012. – N. 10. – P. S2-S4.
[doi:10.1016/j.ijssu.2012.05.013](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2012.05.013).
200. Lübbecke, A. Influence of obesity on femoral osteolysis five and ten years following total hip arthroplasty/ A. Lübbecke, G. Garavaglia, C. Barea [et al.] // *J. BoneJoint Surg*. – 2010. – Vol. 92-A, N10. – P. 1964 – 1972.
201. Lugao, A. B. Study of wound dressing structure and hydration / dehydration properties / A. B. Lugao, L. D. B. Machado, L. F. Miranda, M. R. Alvarez, J. M. Rosiak // *Radiation Physics and Chemistry*. – 1998. – Vol. 52. – P.319 – 322.
202. Masters, E.A. Evolving concepts in bone infection: redefining «biofilm», «acute vs. chronic osteomyelitis», «the immune proteome» and «local antibiotic

- therapy» / E.A.Masters, R.P. Trombetta, K.L. deMesyBentley[etal.] // Bone Res. – 2019. – Vol.15. – N. 7. – P. 20. DOI: 10.1038/s41413-019-0061-z.
203. Mastouri, M. Antibiotics resistance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: detection of the first glycopeptides low sensibility strains in Tunisia / M. Mastouri, M. Nour, M. Ben Nejma, O. Bouallegue, M. Hammami, M. Khedher // PatholBiol (Paris). – 2006. – N. 54. – P. 33–36.
204. Matthews, P.C. Diagnosis and management of prosthetic joint infection / P.C. Matthews, A.R. Berendt, M.A. McNally, I. Byren // BMJ. – 2009. – Vol. 338. – P. 1773 .
205. Matzi, V. Extracellular concentrations of fosfomycin in lung tissue of septic patients / V. Matzi, J. Lindenmann, C. Porubsky, S. A. Kugler, A. Maier, P. Dittrich [et al.] // J AntimicrobChemother. – 2010. – Vol. 65. – P. 995–998.
206. Mehta, S. Gentamicin distribution from a collagen carrier / S. Mehta, J. S. Humphrey, D. I. Schenkman [etal.] // J Orthop Res.– 1996. – Vol. 14. – N. 5. – P. 749–754.
207. Meinhold, D. Hydrogel Characteristics of Electron-Beam-Immobilized Poly(vinylpyrrolidone) Films on Poly(ethylene terephthalate) Supports / D. Meinhold, R. Schweiss, S. Zschoche, et al // Langmuir. – 2004. – Vol. 20. – N 2. – P. 396 – 401.
208. Mellati, A. A biodegradable thermosensitive hydrogel with tuneable properties for mimicking three-dimensional microenvironments of stemcells / A.Mellati, S. Dai, J. Bi, B. Jin, H. Zhang // RCSAdv. – 2014. – Vol. 4. – P. 63951–63961.[DOI:10.1039/C4RA12215A](https://doi.org/10.1039/C4RA12215A).
209. Mendel, V. Therapy with gentamicin–PMMA beads, gentamicin collagen ponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to Staphylococcus aureus in rats / V. Mendel, H. J. Simanowski, H. C. Scholz, H. Heymann // Arch Orthop Trauma Surg. – 2005. – Vol. 125. – N. 6. – P. 363–368.
[DOI: 10.1007/s00402-004-0774-2](https://doi.org/10.1007/s00402-004-0774-2).

210. Michalopoulos A. S. The revival of fosfomycin/ A. S. Michalopoulos, I. G. Livaditis, V. Gougoutas // *Int J Infect Dis.* – 2011. – Vol. 15. – N. 11. – P. 732-739. [DOI: 10.1016/j.ijid.2011.07.007](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.07.007).
211. Michalopoulos, A. S. The revival of fosfomycin / A. S. Michalopoulos, I. G. Livaditis, V. Gougoutas // *IJID.* – 2011. – Vol. 15. – N. 11. – P. 732-739.
212. Mikuniya, T. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms with a combination of fluoroquinolones and fosfomycin in a rat urinary tract infection model / T. Mikuniya, Y. Kato, T. Ida, K. Maebashi, K. Monden, R. Kariyama, [et al.] // *J Infect Chemother.* – 2007. – N. 13. – P. 285– 290.
213. Mireles, L. K. Physicochemical Characterization of Polyvinyl Pyrrolidone: A Tale of Two Polyvinyl Pyrrolidones / L. K. Mireles, M. R. Wu, N. Saadeh et al // *ACS Omega.* – 2020. – Vol. 5. – P. 30461–30467.
214. Mohamadian, M. Biofilm formation in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* / M. Mohamadian, N. Sadeghifard, S. Ghafourian, I. Pakzad, B. Badakhsh // *Gene Reports.* – 2020. – Vol. 21.100923. [DOI:10.1016/j.genrep.2020.100923](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100923).
215. Monden, K. Role of fosfomycin in a synergistic combination with ofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* growing in a biofilm / K. Monden, E. Ando, M. Iida, H. Kumon // *J Infect Chemother.* – 2002. – N. 8. – P. 218– 226.
216. Morscher, E. Failures of total hip arthroplasty and probable incidence of revision surgery in the future / E. Morscher, A. Schmassmann // *Arch Orthop Trauma Surg.* – 1983. – Vol. 101. – N. 2. – P. 137-143.
217. Muta, H. An IR study on ion-specific and solvent-specific swelling of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) gel / H. Muta, K. Ishida, E. Tamaki, M. Satoh // *Polymer.* – 2002. – Vol. 43. – P. 103 – 110. [DOI: 10.1016/S0032-3861\(01\)00611-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00611-5).
218. Nair, B. Final report on the safety assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP)/ B. Nair // *Int. J. Toxicol.* – 1998. – Vol. 17. – P. 95–130. [DOI: 10.1177/109158189801700408](https://doi.org/10.1177/109158189801700408).

219. Namba, R.S. Risk factors associated with surgical site infection in primary total hip replacements / R.S. Namba, M.C.S. Inacio, E.W. Paxton // *J. Bone Joint Surg.*–2012.–Vol.94-B, N10. –P.1330–1338.
220. Nele, V. Tailoring gelation mechanisms for advanced hydrogel applications / V. Nele, J.P. Wojciechowski, J.P.K. Armstrong, M.M. Stevens // *Adv Funct Mater.* –2020. – Vol. 30. – N. 42. 2002759. [DOI: 10.1002/adfm.202002759](https://doi.org/10.1002/adfm.202002759).
221. Nelson, C. L. The current status of material used for depot delivery of drugs / Nelson C. L. // *Clin Orthop Relat Res.* –2004. – N. 427. – P. 72-78. [DOI:10.1097/01.blo.0000143741.92384.18](https://doi.org/10.1097/01.blo.0000143741.92384.18).
222. Neut, D. Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and slime excretion on antibiotic-loaded bone cement / Neut D, Hendriks JG, van Horn JR et al. // *Acta Orthop.* – 2005. – Vol. 76, N 1. – P. 109–114.
223. Nguyen, K. T. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications/ K. T. Nguyen, J. L. West // *Biomaterials.*–2002. – Vol. 23. – P.4307 – 4314.[DOI:10.1016/S0142-9612\(02\)00175-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00175-8).
224. Nho, YC. Preparation and characterization of PVA/PVP/glycerin/antibacterial agent hydrogels using γ -irradiation followed by freeze-thawing / Y-C. Nho, Y-M. Lim, H-J.Gwon et al // *Korean J. Chem. Eng.* – 2009. – Vol. 26. – P. 1675 – 1678. [DOI:10.1007/s11814-009-0231-6](https://doi.org/10.1007/s11814-009-0231-6).
225. Nielsen, L. E.Cross-Linking–Effect on Physical Properties of Polymers / L. E.Nielsen // *Journal of Macromolecular Science, Part C: PolymerReviews.* – 1969. – Vol. 3, – N1.– P. 69 – 103.[DOI: 10.1080/15583726908545897](https://doi.org/10.1080/15583726908545897).
226. Nierzwicki, W. Hydrogels of crosslinked poly(1-glyceryl methacrylate) and poly(2-hydroxypropyl methacrylamide) / W. Nierzwicki, W. Prins//*JApplPolym Sci.* –1975. – Vol. 19. – N. 7. – P. 1885 – 1892. [DOI: 10.1002/app.1975.070190709](https://doi.org/10.1002/app.1975.070190709).
227. Nishimura, S. Chronic renal failure due to amyloid nephropathy caused by chronic infection after hip replacement / S. Nishimura, T. Matsumae, Y. Murakami, Y. Abe // *CEN Case Reports.* – 2014. – N.3(2). – P. 217–222.

228. Oh, S. Effect of RGD peptide-coated TiO₂ nanotubes on the attachment, proliferation, and functionality of bone-related cells / S. Oh, K. S. Moon, S.H. Lee // *J Nanomaterials*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–11.
[DOI: 10.1155/2013/965864](https://doi.org/10.1155/2013/965864).
229. Okazaki, M. Effectiveness of fosfomycin combined with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using the efficacy time index assay / M. Okazaki, K. Suzuki, N. Asano, K. Araki, N. Shukuya, T. Egami, [et al.] // *J Infect Chemother*. – 2002. – N. 8. – P. 37–42.
230. Olay, T.A. Interaction of fosfomycin with other antimicrobial agents: in vitro and vivo studies / T.A. Olay, A. Rodriguez, L. E. Oliver, M. V. Vicente, M.C. Quecedo // *J Antimicrob Chemother*. – 1978. – N. 4. – P. 569–576.
231. Op't Veld, R. C. Design considerations for hydrogel wound dressings: strategic and molecular advances / R. C. Op't Veld, X. F. Walboomers, J. A. Jansen, F. A. Wagener // *Tissue Eng Part B Rev*. – 2020. – Vol. 26. – P. 230 – 248. [DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0281](https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2019.0281).
232. Overstreet, D. Local gentamicin delivery from resorbable viscous hydrogels is therapeutically effective / D. Overstreet, A. McLaren, F. Calara, B. Vernon, R. McLemore // *Clin Orthop Relat Res*. – 2015. – Vol. 473. – N. 1. – P. 337–347.
233. Ozyurek, C., Caykara, T., Kantoglu, O, Guven, O. *Polym. Adv. Technol.* 2002, 13, 87-93.
234. Parvizi, J. Proceedings of the International Consensus on Periprosthetic Joint Infection / J. Parvizi, T. Gehrke, A. F. Chen // *Bone Joint J*. – 2013. – N. 95-B. – P. 1450–1452.
235. Patel Dipti, H. Formulation and evaluation of drug-free ophthalmic films prepared by using various synthetic polymers / H. Patel Dipti, P. Patel Manish, M. Patel Madhabhai // *J Young Pharm*. – 2009. – Vol. 1.
[DOI: 10.4103/0975-1483.55742](https://doi.org/10.4103/0975-1483.55742).
236. Patel, A. The epidemiology of revision total knee and hip arthroplasty in England and Wales: a comparative analysis with projections for the United States. A study using the National Joint Registry dataset. / A. Patel, G. Pavlou,

- R. E. Mujica-Mota, A. D. Toms // *Bone Joint J.* – 2015. – Vol. 97-B. – N. 8.– P. 1076–1081. [DOI:10.1302/0301-620x.97b8.35170](https://doi.org/10.1302/0301-620x.97b8.35170).
237. Paz Y. Self-assembled monolayers and titanium dioxide: from surface patterning to potential applications / Y. Paz // *Beilstein J Nanotechnol.*– 2011. – Vol. 2. – P. 845– 861.
238. Paz, E. Evaluation of Elution and Mechanical Properties of High-Dose Antibiotic-Loaded Bone Cement: Comparative “In Vitro” Study of the Influence of Vancomycin and Cefazolin / E. Paz, P. Sanz-Ruiz, J. Abenojar, J. Vaquero-Martín, F. Forriol, J.C. DelReal // *The Journal of Arthroplasty.* – 2015. – Vol. 30.– N. 8. – P. 1423-1429. [DOI:10.1016/j.arth.2015.02.040](https://doi.org/10.1016/j.arth.2015.02.040).
239. Peel, T.N. Cost analysis of debridement and retention for management of prosthetic joint infection / T. N. Peel, M.M. Dowsey, K.L. Buising, D. Liew, P.F.M. Choong // *Clin Microbiol Infect.* – 2011. – V. 10. – P. 1469 – 1491.
240. Peppas, N.A. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review / N.A. Peppas, J.J. Sahlin // *Biomaterials.* – 1996. – Vol. 17. – P. 1553–1561.
241. Pitarresi, G. Medicated hydrogels of hyaluronic acid derivatives for use in orthopedic field / G. Pitarresi, F.S. Palumbo, F. Calascibetta, C. Fiorica, M. DiStefano, G.Giammona // *Int J Pharm.* – 2013. – Vol. 449(1–2). – P 84–94.
242. Pivec, R. Hip arthroplasty / R. Pivec, A. J. Johnson, S. C. Mears, M. A. Mont // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – N. 9855. – P. 1768-1777.
[DOI: 10.1016/S0140-6736\(12\)60607-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60607-2).
243. Popplewell, M. A. A new technique to explant an infected aortic endograft / M. A. Popplewell, A. W. Garnham, S. D. Hobbs // *J Vasc Surg.* – 2015. – N. 62. – P. 512-514. [DOI: 10.1016/j.jvs.2015.03.033](https://doi.org/10.1016/j.jvs.2015.03.033).
244. Pratten, M.K. Effects of temperature, metabolic inhibitors and some other factors on fluid-phase and adsorptive pinocytosis by rat peritoneal macrophages / M.K. Pratten, J.B. Lloyd // *Biochem. J.* – 1979. – Vol. 180. – P. 567–571.
[DOI:10.1042/bj1800567](https://doi.org/10.1042/bj1800567).
245. Qina, Ch.-H. Extensive eggshell-like debridement technique plus antibiotic-loaded calcium sulphate for one-stage treatment of chronic calcaneal

- osteomyelitis / Ch.-H. Qina, Ch.-H. Zhou, Y. Renc , G.-Y. Cheng, H.-A. Zhang, J. Fang, R. Tao // *Foot and Ankle Surgery*. – 2020. – Vol. 26. – P. 644–649. [DOI: 10.1016/j.fas.2019.08.008](https://doi.org/10.1016/j.fas.2019.08.008).
246. Queffelec, C. Surface modification using phosphonic acids and esters / C. Queffelec, M. Petit, P. Janvier, D.A. Knight, B. Bujoli // *ChemRev*. – 2012. – Vol. 112. – P. 3777– 3807.
247. Raghuram, T. Antibiotic Cement-Coated Nails for the Treatment of Infected Nonunions and Segmental Bone Defects/ T. Raghuram, J. D. Conway // *The Journal of Bone & Joint Surgery*. – 2008. – Vol 90.–N. 4. – P. 163–174.
248. Rahma, A. Intermolecular Interactions and the Release Pattern of Electrospun Curcumin-Polyvinyl(pyrrolidone) Fiber / A. Rahma, M.M. Munir, Khairurrijal et al // *Biol. Pharm. Bull*. – 2016. – Vol. 39. – P. 163–173.
249. Raja S. G. Local application of gentamicin-containing collagen implant in the prophylaxis and treatment of surgical site infection following cardiac surgery / S. G. Raja // *International Journal of Surgery*. – 2012. – Vol. 10. – P S10-S14. [DOI:10.1016/j.ijssu.2012.05.018](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2012.05.018).
250. Rasouli, M.R. Risk factors for surgical site infection following total joint arthroplasty / M.R. Rasouli, C. Restrepo, M.G. Maltenfort [etal.] // *J Bone Joint Surg*. –2014. –Vol. 96-A, N 18. –P.e-158.
251. Ravin, H. A. Polyvinylpyrrolidone as a plasma expander; studies on its excretion, distribution and metabolism / H. A. Ravin, A.M. Seligman, J. Fine // *N. Engl. J. Med*. – 1952. – Vol. 247. – P. 921 – 929. [DOI:10.1056/NEJM195212112472403](https://doi.org/10.1056/NEJM195212112472403).
252. Reed, K. The Effect of Polyvinylpyrrolidone (PVP) on Ocular Gel Forming Solutions Composed of Gellan and Calcium Gluconate / K. Reed, N. Berger // *International Journal of Pharma Sciences and Research*. – 2018. – Vol. 9. – P. 20-28.
253. Ribes, S. Evaluation of fosfomycin alone and in combination with ceftriaxone or vancomycin in an experimental model of meningitis caused by two strains of cephalosporinresistant *Streptococcus pneumonia* / S. Ribes, F. Taberner, A.

- Domenech, C. Cabellos, F. Tubau, J. Lin˜ares, [etal.] // J Antimicrob Chemother. – 2006. – Vol. 57. – P. 931–936.
254. Ricca, M. Probing the internal environment of PVP networks generated by irradiation with different sources / M. Ricca, V. Foderà, D. Giacomazza, et al. // Colloid and Polymer Science. – 2010. – Vol. 288. – N9. – P. 969–980. [DOI:10.1007/s00396-010-2217-7](https://doi.org/10.1007/s00396-010-2217-7)
255. Rice, L.B. In vivo activity of the combination of daptomycin and fosfomycin compared with daptomycin alone against a strain of Enterococcus faecalis with high-level gentamicin resistance in the rat endocarditis model / L. B. Rice, C. T. Eliopoulos, J. D. Yao, G. M. Eliopoulos, Jr R.C. Moellering // Diagn Microbiol Infect Dis. – 1992. – N. 15. – P. 173– 176.
256. Robinson, B.V.F.M. Sullivan, J.F. Borzelleca, S.L. Schwartz / PVP: a Critical Review of the Kinetics and Toxicology of Polyvinylprrolidone (Povidone), Lewis Publishers, 1990.[DOI:10.1201/9780203741672](https://doi.org/10.1201/9780203741672).
257. Rodrı́guez-Martı́nez, J.M. Activity and penetration of fosfomycin, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid and co-trimoxazole in Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa biofilms / J. M. Rodrı́guez-Martı́nez, S. Ballesta, A.Pascual// Int J Antimicrob Agents. – 2007. – N. 30. – P. 366–368.
258. Romanò, C. L. Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama / C.L. Romanò, S.Scarponi, E.Gallazzi[et al.] // JOrthoSurgRes. – 2015. – Vol. 10. – P. 157. [DOI: 10.1186/s13018-015-0294-5](https://doi.org/10.1186/s13018-015-0294-5).
259. Rosiak, J.M. Hydrogels and their medical applications / J.M. Rosiak, F. Yoshii // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B. – 1999. – Vol. 151. – P. 56 – 64. [DOI: 10.1016/S0168-583X\(99\)00118-4](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(99)00118-4).
260. Roy, N. Development and Characterization of Novel Medicated Hydrogels for Wound Dressing / N. Roy, N. Saha, T. Kitano, et. al // Soft Mater. – 2010. – Vol. 8. – N 2. – P. 130 – 148. [DOI:10.1080/15394451003756282](https://doi.org/10.1080/15394451003756282).

261. Roy, N. Effectiveness of polymer sheet layer to protect hydrogel dressings / N. Roy, N. Saha, T.Kitano, et al // Prog. Colloid Polym.Sci. – 2011. – Vol. 138. – P. 127 – 130.
262. Roy, N. Novel hydrogels of PVP–CMC and their swelling effect on viscoelastic properties/ N. Roy, N. Saha, T. Kitano, P. J. Saha // Appl Polym Sci. – 2010. – Vol. 117. – P. 1703 – 1710. [DOI:10.1002/app.32056](https://doi.org/10.1002/app.32056).
263. Roy, N. Permeability and biocompatibility of novel medicated hydrogel wound dressings / N. Roy, N. Saha, P. Humpolicek, et al // Soft Mater. – 2010. – Vol. 8. –N 4. – P. 338 – 357.
264. Sabah, Sh. A. An update on prosthetic joint infection for UK trainees/ Sh. A.Sabah, A. D.Shearman, A. Alvand // Surgery (Oxford). – 2021. – Vol. 39. – N. 11. – P. 748 – 751. DOI: [10.1016/j.mpsur.2021.09.007](https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2021.09.007).
265. Safo, I. A. The role of polyvinylpyrrolidone (PVP) as a capping and structure-directing agent in the formation of Pt nanocubes /I.A. Safo, M. Werheid, C. Dosche et al // Nanoscale Adv. – 2019. – Vol. 1. – P. 3095–3106.
266. Saginur, R. Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections / R. Saginur, M. Stdenis, W. Ferris [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. –2006. – Vol. 50 (1). –P.55–61.
267. Sahuquillo Arce J.M. In vitro activity of linezolid in combination with doxycycline, fosfomicin, levofloxacin, rifampicin and vancomycin against methicillin susceptible Staphylococcus aureus / J. M. Sahuquillo Arce, E. Colombo Gainza, A. Gil Brusola, vez R. Ortiz Este´, E. Canto´n, M.Gobernado// Rev EspQuimioter. – 2006. – N. 19. – P. 252– 257.
268. Scheirs, J. The Application of Simultaneous Chemiluminescence and Thermal Analysis for Studying the Glass Transition and Oxidative Stability of Poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) / J. Scheirs, S. W. Bigger, E. T. H. Then // Journal of Polymer Science: Part B Polymer Physics. – 1993. – Vol. 31. – P. 287-297.
269. Schintler, M.V. High fosfomicin concentrations in bone and peripheral soft tissue in diabetic patients presenting with bacterial foot infection / M.V.

- Schintler, F. Traunmüller, J. Metzler, G. Kreuzwirt, S.Spendel, O.Mauric, [et al.]//J AntimicrobChemother. – 2009. – Vol. 64. – P. 574–578.
270. Schwarzkopf, R. Medical clearance risk rating as a predictor of perioperative complications after total hip arthroplasty / R.Schwarzkopf, G.Katz, M.Walsh, P.M.Lafferty, J.D. Slover // Journal of Arthroplasty. – 2011. – Vol. 26, N 1.–P. 36 – 40.
271. Shiel A. I. Development of a facile fluorophosphonate-functionalised titanium surface for potential orthopaedic applications / A. I. Shiel, W. N. Ayre,A. W.Blom,K. R.Hallam,P. J.Heard,O. Payton, L. Piccod,J. P. Mansell //Journal of Orthopaedic Translation. –2020. – Vol. 23, – P. 140-151. [DOI:10.1016/j.jot.2020.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jot.2020.02.002).
272. Singhal, R. A review: tailor-made hydrogel structures (classifications and synthesis parameters) / R. Singhal, K. Gupta // Polym Plast Technol Eng. – 2016. – Vol. 55. – N. 1. – P. 54 – 70. [DOI: 10.1080/03602559.2015.1050520](https://doi.org/10.1080/03602559.2015.1050520).
273. Sionkowska, A.Gentamicin release from chitosan and collagen composites / A. Sionkowska, B. Kaczmarek, R. Gadzala-Kopciuch // Journal of Drug Delivery Science and Technology. –2016. – Vol.35. – P. 353-359. [DOI: 10.1016/j.jddst.2016.09.001](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2016.09.001).
274. Siqueira, N. M. Stimuli-responsive polymeric hydrogels and nanogels for drug delivery applications / N. M. Siqueira, M. F.R. Cirne, M. F. Immich, F. Poletto // Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications. – 2018. – Vol. 1. – P. 343 – 374. [DOI: 10.1016/B978-0-08-101997-9.00017-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101997-9.00017-5).
275. Sizílio, R. H. Chitosan/pvp-based mucoadhesive membranes as a promising delivery system of betamethasone-17-valerate for aphthous stomatitis / R.H. Sizílio, J.G. Galvão, G.G.G. Trindade, et al. // Carbohydr. Polym. – 2018. – Vol. 190. –P. 339–345. [DOI:10.1016/j.carbpol.2018.02.079](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.079).
276. Sorensen, T. S.Rapid release of gentamicin from collagen sponge. In vitro comparison with plastic beads / T. S.Sorensen, A. I.Sorensen, S.Merser // Acta Orthop Scand. – 1990. – Vol.61. – N 4. – P. 353–356.

277. Spicer, C.D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: the importance of polymer choice / C.D. Spicer // *Polym Chem.* – 2020. – Vol. 11. – P. 184–219. [DOI: 10.1039/C9PY01021A](https://doi.org/10.1039/C9PY01021A).
278. Spinks J. W., Woods R. J. , *An Introduction to Radiation Chemistry*. Third ed. 1990, New York: John Wiley and Sons, Inc.
279. Sreekanth, K. Optical and electrical conductivity studies of VO₂b doped polyvinyl pyrrolidone (PVP) polymer electrolytes / K. Sreekanth, T. Siddaiah, N.O. Gopal et al // *Journal of Science: Advanced Materials and Devices.* – 2019. – Vol. 4, Issue 2. –P. 230-236.
280. Stoodley, P. Orthopaedic biofilm infections / P.Stoodley, G. D.Ehrlich, P. P.Sedghizadeh, L.Hall-Stoodley, M. E.Baratz, D. T.Altman, [et al.] // *CurrOrthopPract.* – 2011. – Vol. 22. – P. 558–563.
281. Suchý, T. Evaluation of collagen/hydroxyapatite electrospun layers loaded with vancomycin, gentamicin and their combination: Comparison of release kinetics, antimicrobial activity and cytocompatibility / T. Suchý, M. Šupová, P. Sauerová, M. H. Kalbáčová, E. Klapková, M. Pokorný, L. Horný, J. Závora, R. Ballay, F. Denk, M. Sojka, L. Vištejnová // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* – 2019. – Vol. 140. – P. 50–59. [DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.04.021](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.04.021);
282. Takalea, A. M. Effect of wire electro discharge machining process parameters on surface integrity of Ti_{49.4}Ni_{50.6} shape memory alloy for orthopedic implant application / A. M. Takalea, N. K. Chouguleb // *Materials Science and Engineering: C.* – 2019. – Vol. 97. – P. 264–274.
283. Tan, L. Quality testing of human albumin by capillary electrophoresis using thermally cross-linked poly(vinyl pyrrolidone)-coated fused-silica capillary / L. Tan, X. Zheng, L. Chen, Y. Wang // *Journal of Separation Science.* – 2014. – Vol. 37. – P. 2974 – 2982. [DOI:10.1002/jssc.201400463](https://doi.org/10.1002/jssc.201400463).
284. Telford, A. M. Thermally Cross-Linked PNVP Films As Antifouling Coatings for Biomedical Applications / A. M. Telford, M. James, L. Meagher,

- Ch. Neto // ACS Appl Mater Interfaces.– 2010.– Vol. 2, N 8. – P.2399–2408. [DOI: 10.1021/am100406j](https://doi.org/10.1021/am100406j).
285. Teodorescu, M. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: perspectives and challenges / M. Teodorescu, M. Bercea, S. Morariu // Biotechnol. Adv. – 2019. – Vol. 37. – P. 109–131. [DOI:10.1016/j.biotechadv.2018.11.008](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.008).
286. Tong, Z. Adaptable hydrogel with reversible linkages for regenerative medicine: dynamic mechanical microenvironment for cells / Z. Tong, L. Jin, J.M. Oliveira, R.L. Reis, Q. Zhong, Z. Mao, C. Gao // Bioactive Mater. – 2021. – Vol. 6. – N. 5. – P. 1375 – 1387.
287. URL: <http://www.ampolymer.com/Mark-Houwink.html> / дата обращения: 18.06.19 г.
288. Uskoković, V. Nanostructured Platforms for the Sustained and Local Delivery of Antibiotics in the Treatment of Osteomyelitis / V. Uskoković // Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. – 2015. – Vol. 32. – N. 1. – P. 1–59. [DOI: 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2014010920](https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2014010920).
289. V. Rac, PVA Cryogel as model hydrogel for iontophoretic transdermal drug delivery investigations. Comparison with PAA/PVA and PAA/PVP interpenetrating networks / V. Rac, S. Lević, B. Balanć, et al. // Colloids Surf Biointerfaces. – 2019. – Vol. 180. – P. 441–448. [DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.05.017](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.05.017).
290. van de Belt, H. Staphylococcus aureus biofilm formation on different gentamicin-loaded polymethylmethacrylate bone cements / van de Belt H, Neut D, Schenk W, et al // Biomaterials. – 2001. – Vol. 22, N 12. – P. 1607–1611.
291. Van Vlierberghe, S. Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: a review / S. Van Vlierberghe, P. Dubruel, E. Schacht // Biomacromolecules. – 2011. – Vol. 12. – N. 5. – P. 1387–1408. [DOI: 10.1021/bm200083n](https://doi.org/10.1021/bm200083n).
292. van Vugt, T.A.G. Antibiotic-Loaded Collagen Sponges in Clinical Treatment of Chronic Osteomyelitis: A Systematic Review / T.A.G. van Vugt, J.M.B.

- Walraven, J.A.P. Geurts, J.J.C. Arts //The Journal of Bone and Joint Surgery. – 2018. – Vol. 100. – P. 2153 – 2161. [DOI: 10.2106/JBJS.17.01140](https://doi.org/10.2106/JBJS.17.01140).
293. Vanhegan, I. S. A financial analysis of revision hip arthroplasty: the economic burden in relation to the national tariff / I.S.Vanhegan, A. K. Malik, P. Jayakumar, S.Ul Islam, F. S.Haddad // J Bone Joint Surg Br. – 2012. – N. 94(5). – P. 619–23. [DOI:10.1302/0301-620x.94b5.27073](https://doi.org/10.1302/0301-620x.94b5.27073).
294. Wang, H. Nanocomplexes based polyvinylpyrrolidone K-17PF for ocular drug delivery of naringenin / H. Wang, X. Li, H. Yang, et al. // Int. J. Pharm.– 2020. – Vol. 578. 119133. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2020.119133](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119133).
295. Wang, J. Preparation and antidehydration of interpenetrating polymer network hydrogels based on 2-hydroxyethyl methacrylate and N-vinyl-2-pyrrolidone / J.Wang, F.Sun, X.Li // J. Appl. Polym. Sci.– 2010. – Vol. 117. – P. 1851–1858.
296. Wang, M. Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing / M. Wang, L. Xu, H. Hu, M. Zhai, J. Peng, et al. // Nucl Instrum Methods Phys Res – B. – 2007. – Vol. 265. – P. 385 – 389. [DOI: 10.1016/j.nimb.2007.09.009](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.09.009).
297. Wang, M. Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing / M. Wang, L. Xu, H. Hu et al.// Nucl. Instrum.&Methods inPhys. Res. B.– 2007. – Vol. 265. – P. 385 – 389. [DOI:10.1016/j.nimb.2007.09.009](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2007.09.009).
298. Wang, Y. The radiation-induced peroxidation of poly(N-vinylpyrrolidone) in an aqueous solution / Y. Wang, H. Wang // Radiation Physics and Chemistry. – 2009. – Vol. 78. – N3. – P. 234–237. [DOI: 10.1016/j.radphyschem.2008.11.005](https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2008.11.005).
299. Wernet, E. Collagenous sponge containing antibiotics in osteitis therapy / E. Wernet, J. Ekkernkamp, H. Jellestad, G.Muhr // Unfallchirurg. – 1992. – Vol. 95. – P. 259 – 264. [German].
300. Wessel W., Schoog M. a. Winkler E. Polyvinylpyrrolidone (PVP), its diagnostic, therapeutic and technical application and consequences thereof, Arzneimittelforschung, Bd 21, S. 1468, 1971.
301. WHO Technical Report Series 751, FAO/WHOReportNo. 30, 1987.

302. WHO, Polyvinylpyrrolidone (PVP) (WHO Food Additives Series 15), IPCS Inchem, 1998. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v15je08.htm>.
303. Wichterle, O. Hydrophilic Gels for Biological Use/ O. Wichterle, D. Lim // Nature. – 1960. – Vol. 185. – P. 117 -118.
304. Wiesel, S.W. Essentials of Orthopedic Surgery / S.W.Wiesel, J.N. Delahay. – Third Edition.– N.Y.: SpringerNew York, 2007.
305. Yoshida, M. Fabrication of channel waveguides from sol-gel-processed polyvinylpyrrolidone/SiO₂ composite materials / M. Yoshida, P. N. Prasad // Applied optics. – 1996. – Vol. 35, N9. – P. 1500-1506.
306. Youngblood, R. L. It's all in the delivery: designing hydrogels for cell and non-viral gene therapies / R. L. Youngblood, N. F. Truong, T. Segura, L. D. Shea // Mol Ther. – 2018. – Vol. 26. – P. 2087–2106. [DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.07.022](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.07.022).
307. Yu X.H. In vitro activity of two old antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus / X. H. Yu, X. J. Song, Y. Cai, B. B. Liang, D. F. Lin, R.J. Wang // Antibiot (Tokyo). – 2010. – N. 63. – P. 657– 659.
308. Yu, H. Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles / H.Yu,X.Xu,X.Chen, et al. // J. Appl. Polym. Sci. – 2007. – Vol. 103. – P. 125 – 133. [DOI:10.1002/app.24835](https://doi.org/10.1002/app.24835).
309. Yue, S. Hydrogel as a biomaterial for bone tissue engineering: a review / S. Yue, H. He, B. Li, T. Hou // Nanomaterials. – 2020. – Vol. 10. 1511. [DOI: 10.3390/nano10081511](https://doi.org/10.3390/nano10081511).
310. Zainuddin. Magnetization-prepared NMR imaging of water penetration into poly(vinylalcohol)-poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels / Zainuddin, Strounina, V. Ekaterina, et al // Polymer International. – 2010. – Vol. 59. – N 11. – P. 1520 – 1525. [DOI: 10.1002/pi.2860](https://doi.org/10.1002/pi.2860).
311. Zavan, B. Hydrogels and Tissue Engineering / B. Zavan, R. Cortivo, G. Abatangelo // Hydrogels Biological Properties and Applications. – 2009. – P.1 – 8.

312. Zhao, W. Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering / W. Zhao, X. Jin, Y. Cong, Y. Liu, J. Fu // J Chem Technol Biotechnol. – 2013. – Vol. 88. – N. 3. – P. 327 – 339.
313. Zhu, H. Adhesion behaviors on superhydrophobic surfaces / H. Zhu, Z. Guo, W. Liu // Chem Commun (Camb). – 2014. – Vol. 18. – P. 3900–3913.
314. Zhu, X. Studies of UV crosslinked poly(N-vinylpyrrolidone) hydrogels by FTIR, Raman and solid-state NMR spectroscopies / X. Zhu, P. Lu, W. Chen, J. Dong // Polymer. – 2010. – Vol. 51. – P. 3054 – 3063.
315. Zieba, J. Sol-Gel Processed Inorganic Oxides: Organic Polymer Composites For Second-Order Nonlinear Optical Applications / J. Zieba, Y. Zhang, P. N. Prasad // Sol-Gel Optics II. – 1992. – Vol. 1758. – P. 403 – 409.
316. Zilberman, M. Antibiotic-eluting medical devices for various applications / M. Zilberman, J. J. Elsner // Journal of Controlled Release. – 2008. – Vol. 130. – P. 202-215.
317. Zimmerli, W. Prosthetic-joint infections / W. Zimmerli, A. Trampuz, P. E. Ochsner // New England Journal of Medicine. – 2004. – N. 351(16). – P. 1645 – 1654.

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГБУ «НМИЦ хирургии
им. А.В. Вишневского» Минздрава России,
академик РАН Реяшвили А.Ш.



«04» февраля 2023 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

1. Наименование предложения для внедрения: «Применение методологического подхода по изучению межмолекулярных взаимодействий с применением инфракрасной спектроскопии (ИК) и метода получения гидрогелей на основе поливинилпирролидон (ПВП) без применения химических катализаторов» по специальностям 1.5.6 – «Биотехнология», 05.17.06 – «Технология и переработка полимеров и композитов», 3.4.1 – «Промышленная фармация и технология получения лекарств».
Отработанный методологический подход по обработке ИК спектров делает возможным проведение «количественной оценки» изменений, происходящих со структурными фрагментами молекулы, свойственными для данного класса соединений, путем определения относительных оптических плотностей характерных полос поглощения данного вещества или материала как отношение оптических плотностей при данных длинах волн и внутреннего стандарта. При применении данной методологии, в отличие от известного метода, где внутренний стандарт вводится извне, внутренним стандартом служит один из функциональных групп исследуемого вещества или материала, которая инертна – не вступает во взаимодействие с другими группами, имеющиеся в системе.
Предложенный метод получения гидрогелей на основе ПВП является простым, эффективным, чистым и экологически безопасным процессом и рекомендуется к применению особенно при разработке изделий медицинского назначения, так как исключает применение катализаторов сшивания, не разрешенных к применению в медицинской практике.
2. Кем предложено, адрес исполнителя: Оганнисян Арпине Сиракановна, ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27.
3. Источник информации: Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 22(11): 47-51. Патент 2746709 Российская Федерация, опубл. 19.04.2021, бюлл. № 11.
4. Где и когда внедрено: ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 27. Дата начала внедрения – июнь 2021 г.
5. Результаты работы Оганнисян А.С. включены в образовательную деятельность Испытательного центра Отдела перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии (ПШПМ) ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России по оценке качества, безопасности и степени изменений физико-механических характеристик материалов, применяемых в медицинской практике. Разработки Оганнисян А.С. представляются студентам по специальности «Биотехнология»,

«Технология и переработка полимеров и композитов», «Промышленная фармация и технология получения лекарств», проходящие учебную практику и выполняющие выпускную квалификационную работу в Отделе ПШПМ на основе Договора 341/2022 о практической подготовке обучающихся РТУ МИРЭА от 11.03. 2022 г. Результаты диссертационной работы используются при проведении лекционных и практических занятий.

6. Материалы диссертационного исследования Оганнисян А.С. позволили ознакомить студентов и специалистов в области химической технологии и физико-химических исследований веществ и материалов с алгоритмом применения нового методологического подхода по изучению межмолекулярных взаимодействий с применением инфракрасной спектроскопии и современными методами получения гидрогелей на основе ПВП.

Рекомендуется для использования в образовательных учреждениях высшего образования, а также в учреждениях, обучающих специалистов в рамках последипломного образования и повышения квалификации.

Начальник образовательного отдела «НМИЦ хирургии
им. А.В. Вишневского» Минздрава России, к.б.н.

Шутихина И.В.

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ хирургии
им. А.В. Вишневского» Минздрава России
д.м.н., профессор

Степанова Ю.А.

Адрес: 117997, г. Москва, ул. Б. Серпуховская, 27

*Внедрение осуществлено в целях апробации/проверки работоспособности результата, полученного в ходе выполнения диссертационной работы, без выплаты авторского вознаграждения за использование результата



«УТВЕРЖДАЮ»

Декан факультета «Биомедицинская техника»
МФТУ им. Н.Э. Баумана,
доктор физико-математических наук
Юрченко С.О.

2023 г.

А К Т

о внедрении результатов диссертационной работы
Оганнисян А. С. на тему «Гидрогели на основе поливинилпирролидона в качестве депо
лекарственных средств в ортопедии и травматологии»

Представленные в диссертационной работе Оганнисян А. С. результаты по экспериментальному и теоретическому обоснованию состава и технологии получения полимерного гидрогеля, обладающего антимикробным действием, имеют большую теоретическую и практическую значимость и используются в учебном процессе МФТУ им. Н.Э. Баумана, начиная с 2022 г. Результаты Оганнисян А. С., представленные в ее диссертационной работе, используются при проведении лекционных и практических занятий со студентам по направлению подготовки «Биотехнические системы и технологии», по профилям: «Биомедицинские технические системы», «Медикотехнические информационные технологии», «Биофотоника и тканевая инженерия». Материалы диссертационного исследования Оганнисян А.С. позволили ознакомить наших студентов с новой технологией получения гидрогелей методами высокоэнергетического излучения и термической обработки без применения катализаторов.

Из представленных в диссертационной работе результатов наибольший интерес представляет часть, где отражены результаты экспериментальной оценки реологических, сорбционных, адгезионных и теплофизических свойств гидрогелей в зависимости от состава и технологий, а также методики оценки их антибактериальных свойств. Предложенный в диссертационной работе Оганнисян А.С. метод получения гидрогелей является простым, эффективным, чистым и экологически безопасным процессом и рекомендуется к применению, в том числе, при разработке изделий медицинского назначения, так как исключает применение катализаторов сшивания, не разрешенных к применению в медицинской практике.

К.т.н., доцент кафедры
«Биомедицинские
технические системы»

«Биомедицинские

Беликов Н.В.

К.т.н., доцент кафедры
«Биомедицинские
технические системы»

«Биомедицинские

Сафонова Л.П.

Адрес: 2-я Бауманская ул., дом 5, Москва, 105005

Внедрение осуществлено в целях апробации/проверки работоспособности результатов, полученных в ходе выполнения диссертационной работы, без выплаты авторского вознаграждения за использование результата

ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУ «НМИЦ хирургии
им. А.В. Вишневского» Минздрава России,
академик РАН



А.Ш. Ревিশвили

М.П.

ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

ЛР 32.50.50-001-01897239 - 2023

на получение гидрогеля на основе поливинилпирролидона

РАЗРАБОТАНО:

Отделом перевязочных, шовных
и полимерных материалов в хирургии
Дата введения в действие: 15.02.2023 г.

Заведующая Отделом, д.т.н. О.А. Легонькова

«15» февраля 2023 г.

Москва – 2023

**Первичные данные по ИК-спектроскопии, расчеты соотношения
оптических плотностей при определенной длине волны и полосы
поглощения внутреннего стандарта**

Таблица 1 – Расчеты соотношения оптических плотностей при определенной длине волны и полосы поглощения внутреннего стандарта для немодифицированного (исходного) ПВП в форме порошка

Волновое число, ν , см^{-1}	Интенсивность падающего света, I_0	Интенсивность вышедшего света, I	I_0/I	$D=\lg(I_0/I)$	$D/D_{\text{вн.ст}}$
1651,14 (внутренний стандарт)	$92,0 \pm 4,0$	$44,8 \pm 2,0$	2,05	0,313	–
3435,93	$96,8 \pm 4,5$	$87,6 \pm 4,3$	1,10	0,043	0,138
2949,57	$95,0 \pm 4,4$	$87,9 \pm 4,3$	1,08	0,034	0,107
2919,62	$89,0 \pm 4,3$	$88,4 \pm 4,4$	1,01	0,003	0,010
1493,33	$89,0 \pm 4,3$	$82,2 \pm 4,0$	1,08	0,035	0,111
1460,52	$82,5 \pm 4,0$	$72,4 \pm 3,6$	1,14	0,057	0,182
1420,58	$82,0 \pm 4,0$	$60,0 \pm 3,0$	1,37	0,136	0,434
1373,52	$86,0 \pm 4,2$	$80,2 \pm 3,8$	1,07	0,030	0,097
1316,47	$84,5 \pm 4,2$	$80,1 \pm 3,5$	1,06	0,023	0,075
1228,04	$77,3 \pm 3,5$	$73,9 \pm 3,4$	1,05	0,020	0,063
1168,13	$82,0 \pm 4,0$	$79,1 \pm 3,2$	1,04	0,016	0,050
1016,94	$85,0 \pm 4,1$	$83,1 \pm 3,7$	1,02	0,010	0,032
644,68	$73,2 \pm 3,0$	$68,1 \pm 3,1$	1,07	0,030	0,097

Таблица 2 – Расчеты соотношения оптических плотностей при определенной длине волны и полосы поглощения внутреннего стандарта для немодифицированного водного раствора ПВП (15 масс. %)

Волновое число, ν , см^{-1}	Интенсивность падающего света, I_0	Интенсивность вышедшего света, I	I_0/I	$D=\lg(I_0/I)$	$D/D_{\text{вн.ст}}$
1635,95 (внутренний стандарт)	$92,5 \pm 4,1$	$58,6 \pm 2,6$	1,58	0,198	–
3328,96	$99,0 \pm 4,7$	$48,5 \pm 2,2$	2,04	0,310	1,568
1496,18	$89,6 \pm 4,4$	$88,0 \pm 3,8$	1,02	0,008	0,040
1466,23	$88,0 \pm 4,0$	$85,0 \pm 4,1$	1,04	0,015	0,076
1446,26	$88,6 \pm 4,1$	$86,3 \pm 4,2$	1,03	0,012	0,059
1424,86	$89,4 \pm 4,4$	$87,1 \pm 3,9$	1,03	0,011	0,058
1374,94	$90,4 \pm 4,0$	$89,9 \pm 3,5$	1,01	0,003	0,012
1322,17	$89,7 \pm 4,4$	$88,8 \pm 3,7$	1,01	0,005	0,023
1295,07	$88,4 \pm 4,1$	$83,9 \pm 3,4$	1,05	0,023	0,114
1279,38	$88,0 \pm 3,9$	$87,4 \pm 3,8$	1,01	0,003	0,015
1215,20	$89,8 \pm 4,3$	$89,4 \pm 4,3$	1,00	0,002	0,009
1173,84	$90,2 \pm 4,0$	$89,8 \pm 3,5$	1,00	0,002	0,009

Таблица 3 – Расчеты соотношения оптических плотностей при определенной длине волны и полосы поглощения внутреннего стандарта для гидрогеля ПВП – γ

Волновое число, ν , см^{-1}	Интенсивность падающего света, I_0	Интенсивность вышедшего света, I	I_0/I	$D=\lg(I_0/I)$	$D/D_{\text{вн.ст}}$
1634,53 (внутренний стандарт)	$86,0 \pm 1,5$	$70,5 \pm 2,1$	1,22	0,087	–
3363,19	$94,5 \pm 4,2$	$66,3 \pm 2,8$	1,42	0,154	1,777
2956,7	$88,5 \pm 3,0$	$85,8 \pm 1,5$	1,03	0,013	0,154
2915,34	$88,0 \pm 2,2$	$64,4 \pm 0,7$	1,37	0,135	1,565
2848,3	$92,1 \pm 3,4$	$70,9 \pm 2,5$	1,30	0,113	1,311
1574,62	$80,1 \pm 1,2$	$60,9 \pm 1,0$	1,32	0,119	1,378
1537,54	$81,2 \pm 1,5$	$58,6 \pm 0,9$	1,38	0,141	1,635
1496,18	$87,5 \pm 2,0$	$86,7 \pm 2,3$	1,01	0,004	0,044
1466,23	$81,2 \pm 1,3$	$62,3 \pm 1,1$	1,30	0,115	1,333
1419,16	$78,9 \pm 1,8$	$73,6 \pm 1,4$	1,07	0,030	0,352
1379,22	$87,5 \pm 1,7$	$86,1 \pm 2,0$	1,02	0,007	0,079
1319,32	$88,6 \pm 2,1$	$87,0 \pm 2,0$	1,02	0,008	0,089
1226,61	$90,0 \pm 2,5$	$89,5 \pm 1,9$	1,01	0,002	0,027
1112,51	$91,0 \pm 2,3$	$87,2 \pm 1,5$	1,04	0,018	0,212

Таблица 4 – Расчеты соотношения оптических плотностей при определенной длине волны и полосы поглощения внутреннего стандарта для ПВП – ТО

Волновое число, ν , см^{-1}	Интенсивность падающего света, I_0	Интенсивность вышедшего света, I	I_0/I	$D=\lg(I_0/I)$	$D/D_{\text{вн.ст}}$
1651,64(внутренний стандарт)	$92,2 \pm 3,8$	$59,5 \pm 1,0$	1,55	0,190	–
2946,74	$96,7 \pm 4,0$	$91,1 \pm 3,1$	1,06	0,026	0,136
2922,47	$96,5 \pm 4,0$	$91,3 \pm 2,7$	1,06	0,024	0,126
2882,53	$96,3 \pm 3,9$	$91,9 \pm 3,0$	1,05	0,020	0,105
1490,47	$90,0 \pm 3,5$	$85,6 \pm 2,8$	1,05	0,022	0,114
1457,67	$85,5 \pm 3,0$	$79,8 \pm 3,5$	1,07	0,030	0,157
1419,16	$84,2 \pm 3,1$	$68,8 \pm 1,4$	1,22	0,088	0,461
1373,52	$85,5 \pm 3,2$	$80,6 \pm 2,0$	1,06	0,026	0,134
1315,04	$86,5 \pm 3,4$	$84,0 \pm 2,3$	1,03	0,013	0,067
1228,04	$79,0 \pm 3,4$	$76,8 \pm 1,3$	1,03	0,012	0,065
1165,28	$83,0 \pm 2,5$	$80,1 \pm 1,8$	1,04	0,016	0,082
1016,94	$85,9 \pm 3,2$	$84,5 \pm 3,0$	1,02	0,007	0,037
644,68	$81,2 \pm 2,8$	$77,6 \pm 1,5$	1,05	0,020	0,104

Показатели лейкоформулы экспериментальных животных

Крыса	Лейкоцитарная формула (%)					
	Эозинофилы (0-4)	Базофилы (0-2)	Нейтрофилы		Лимфоциты (60-70)	Моноциты (2-4)
			Палочко- Ядерные (1-4)	Сегментно- Ядерные (18-30)		
Контроль	0	1	1,1	26,2	69,3	2,4
3 сутки эксперимента						
Гидрогель ПВП – ТО	1,2	2,1	1	22,2	72,5	1
Гидрогель ПВП – γ	2,1	2,2	2	25,2	65,4	3,1
Мезогель	2	2,3	2,2	26,4	64,1	3
7 сутки эксперимента						
Гидрогель ПВП – ТО	1,1	0,2	1,2	24,1	70	3,4
Гидрогель ПВП – γ	2	0	2	26,4	65,6	4
Мезогель	1,1	0	2,1	26,7	66,1	4
14 сутки эксперимента						
Гидрогель ПВП – ТО	0	0	1	23,6	73,4	2
Гидрогель ПВП – γ	1,3	0	1,2	25,3	68,2	4
Мезогель	1,2	0	1,1	22,4	72,2	3,1

Результаты патоморфологического исследования при применении
гидрогеля ПВП-γ

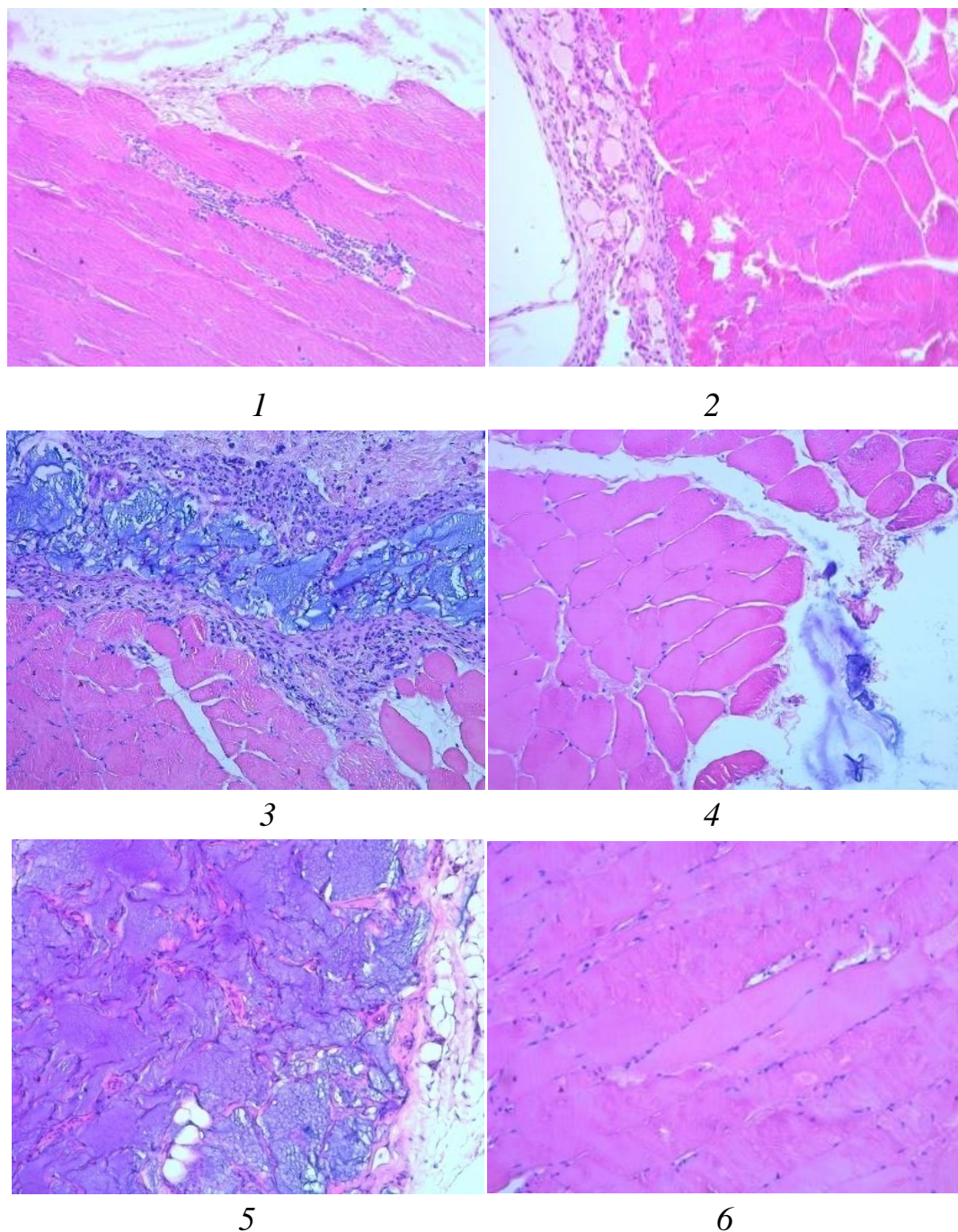


Рисунок 1 – Гистологическая картина экспериментальных образцов мышечной ткани животных в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х.

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

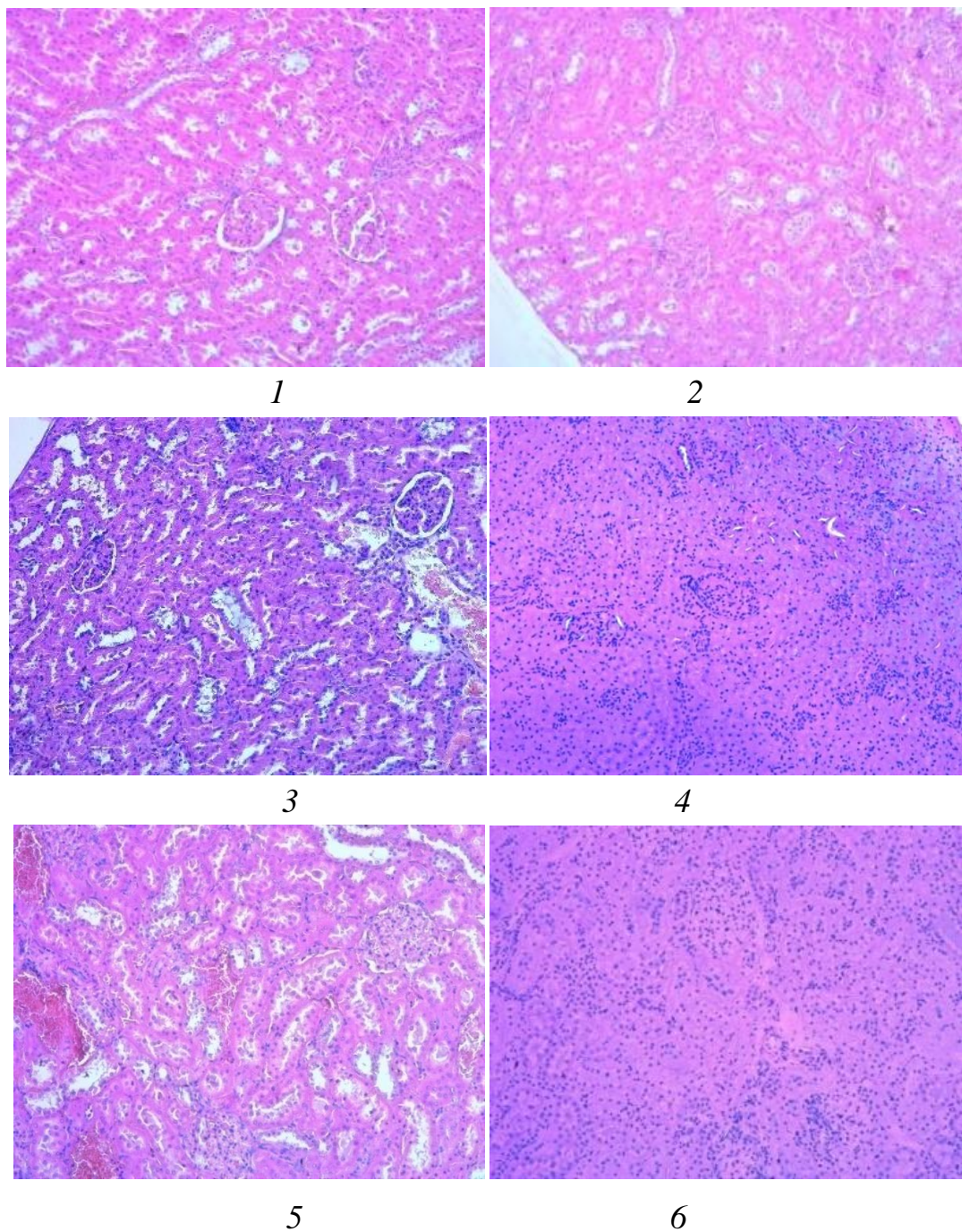


Рисунок 2 – Гистологическая картина почки животного в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин.ув. 100х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

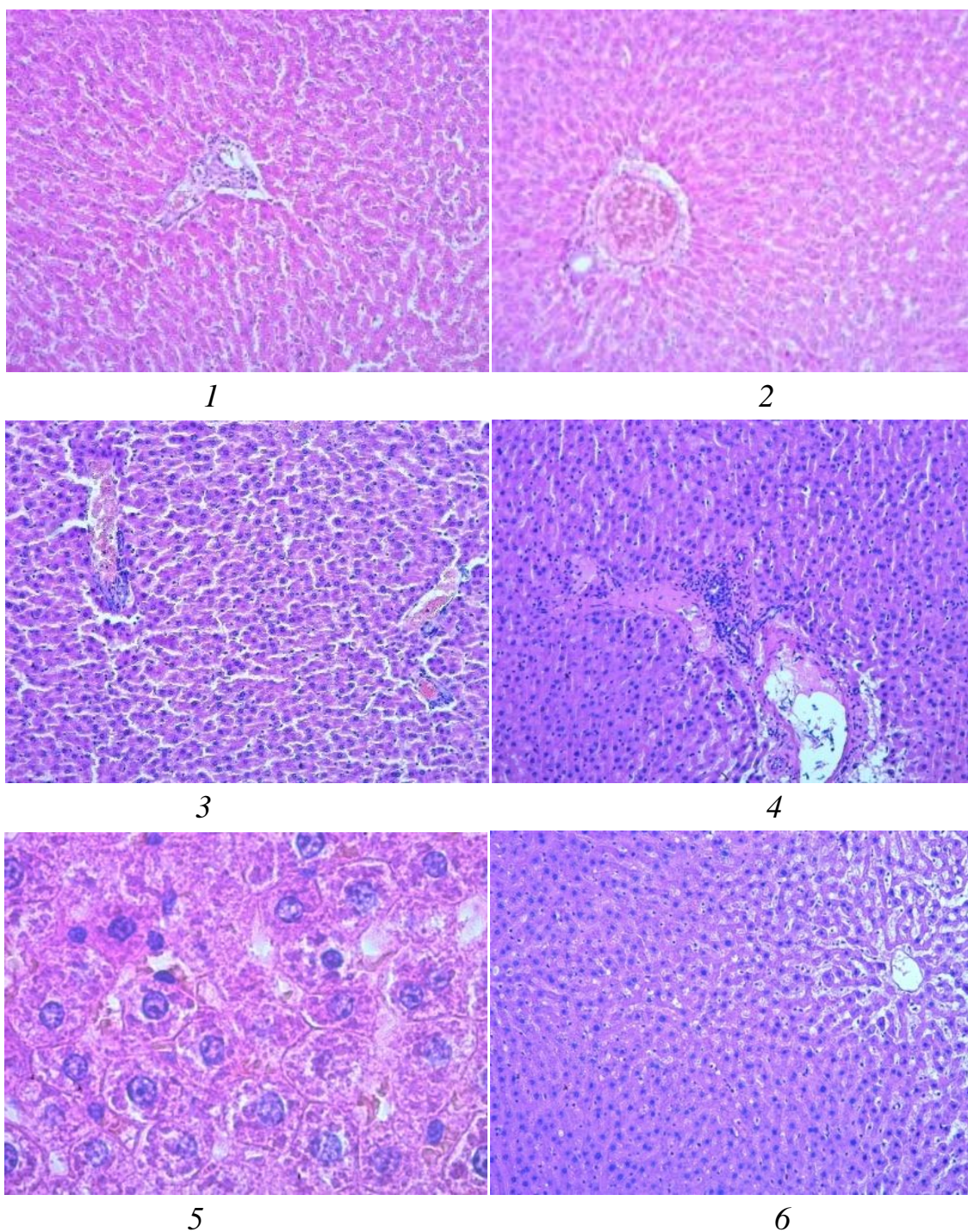


Рисунок 3 – Гистологическая картина печени животного в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х, 630х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

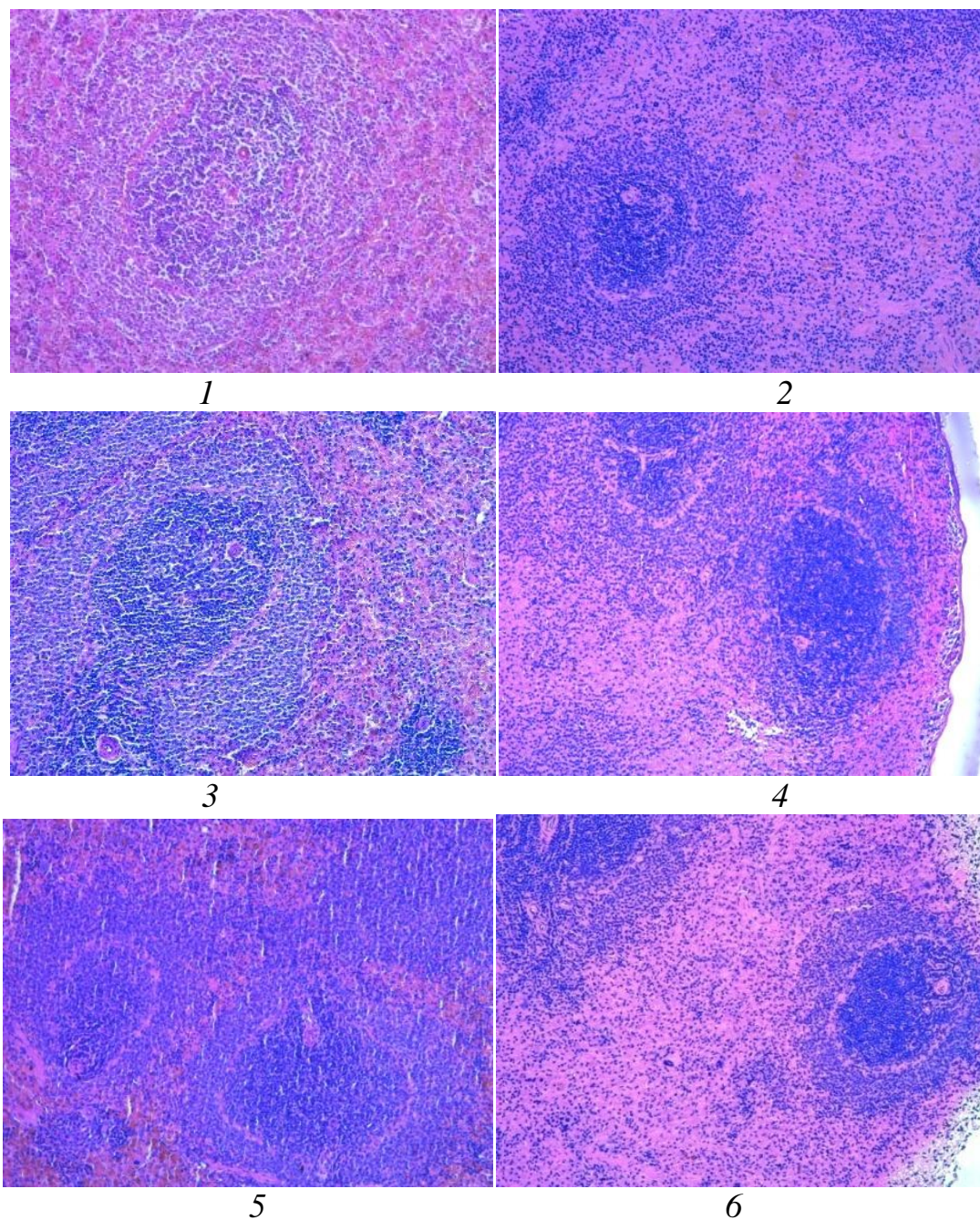


Рисунок 4 – Гистологическая картина селезенки животного в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

Результаты патоморфологического исследования при применении
гидрогеля ПВП-комб

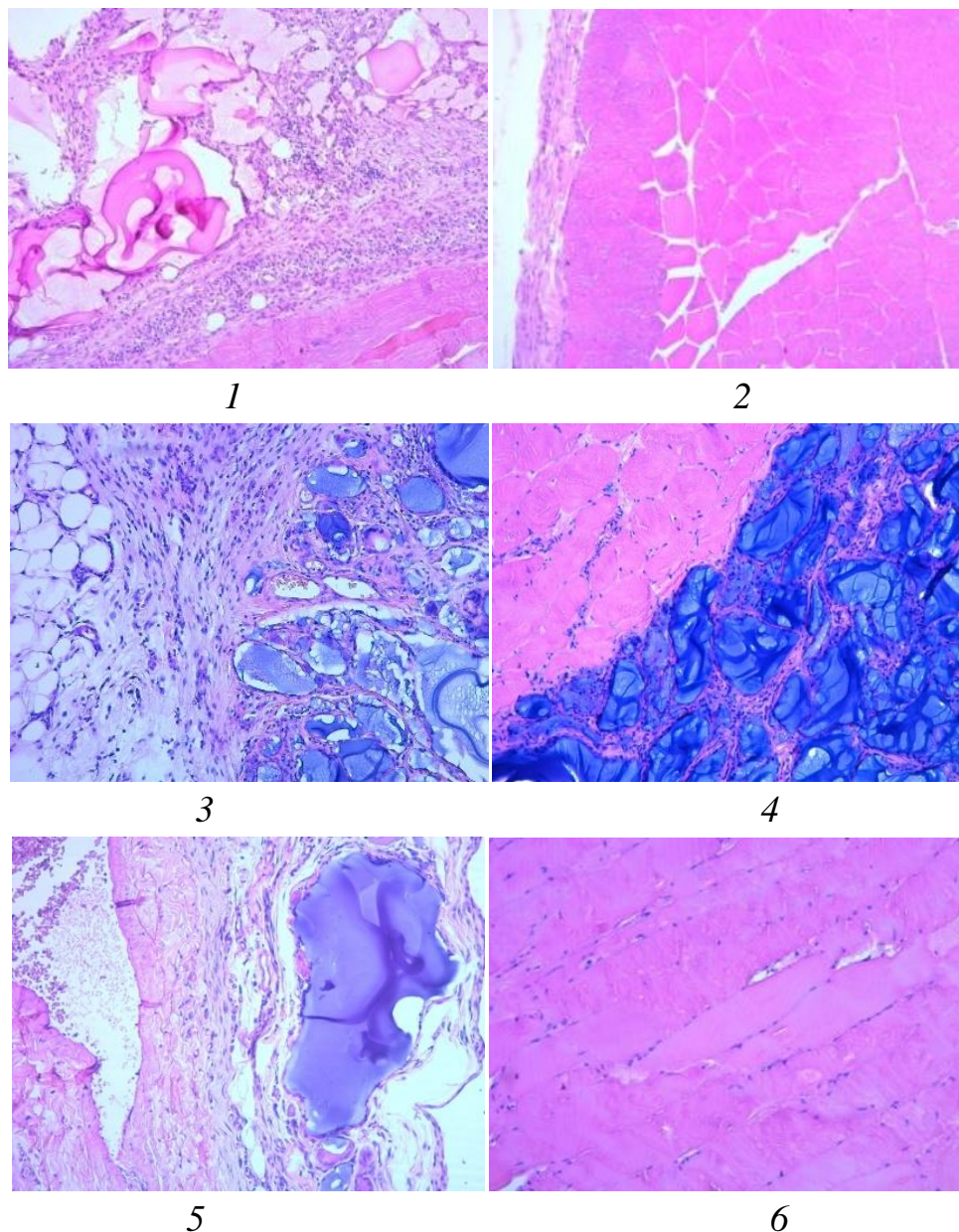
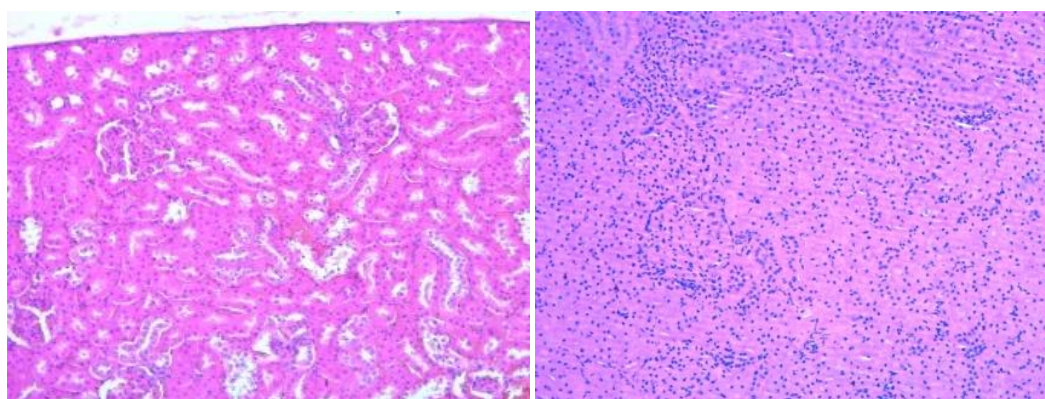


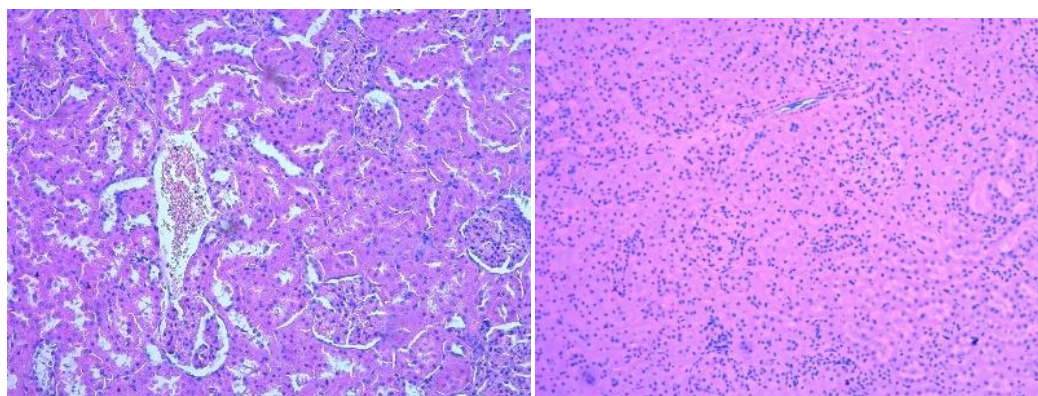
Рисунок 1 – Гистологическая картина экспериментальных образцов мышечной ткани животных в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4–180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х.

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.



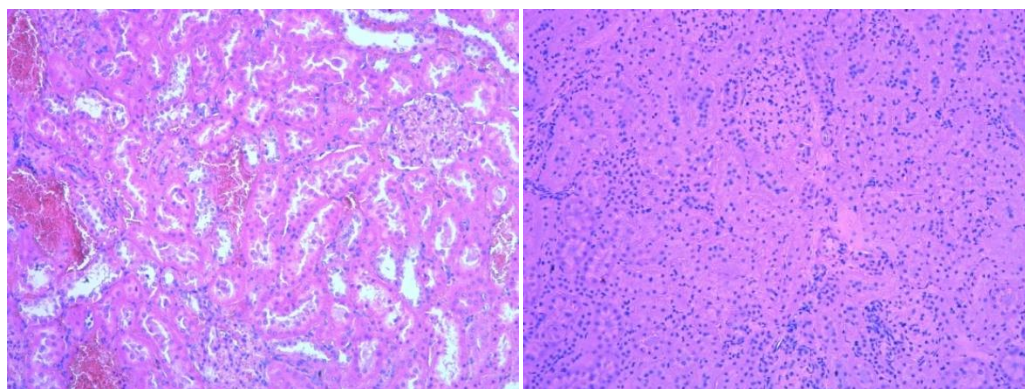
1

2



3

4



5

6

Рисунок 2 – Гистологическая картина почки животного в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

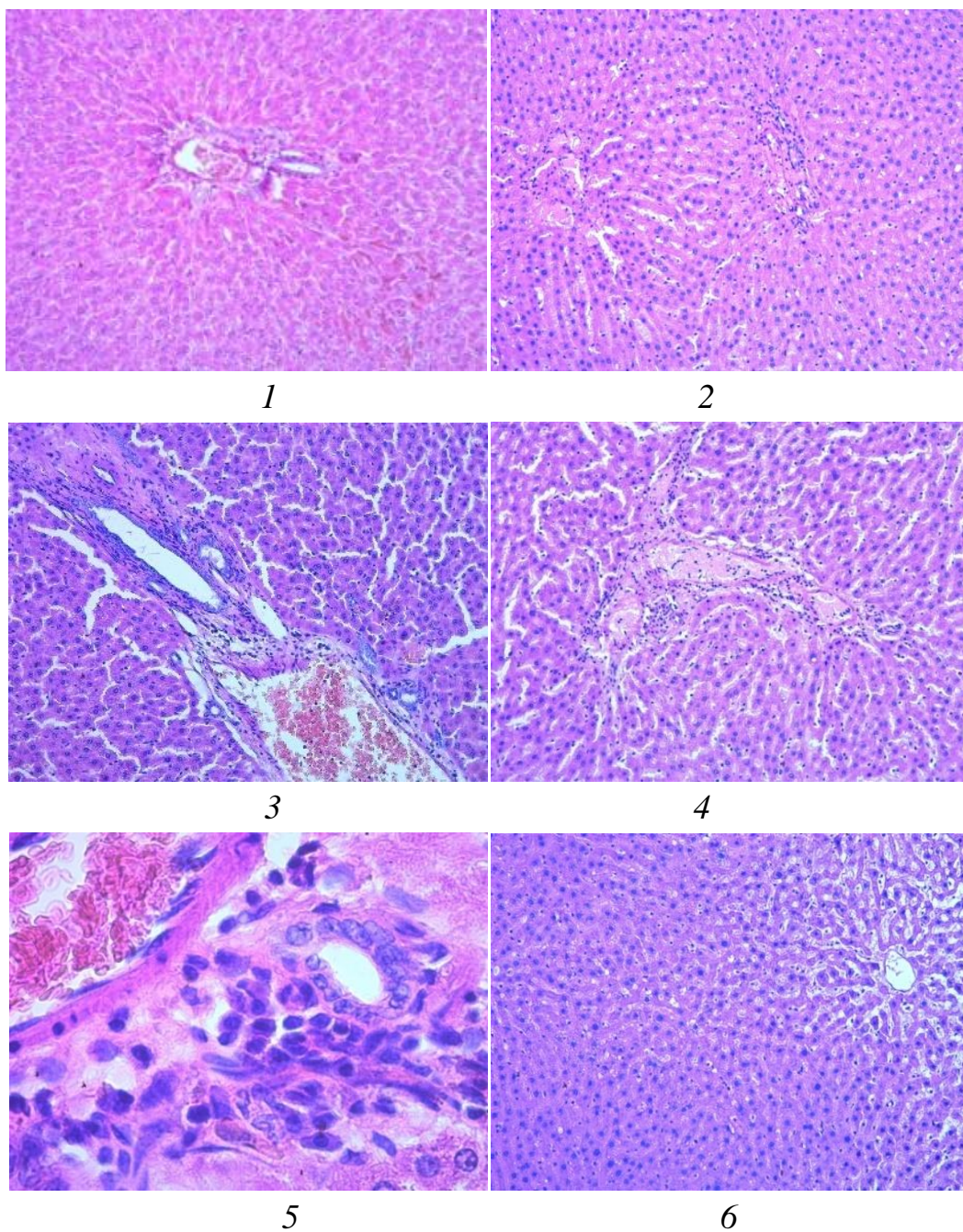


Рисунок 3 – Гистологическая картина печени животного в динамике*: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки; 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х, 630х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

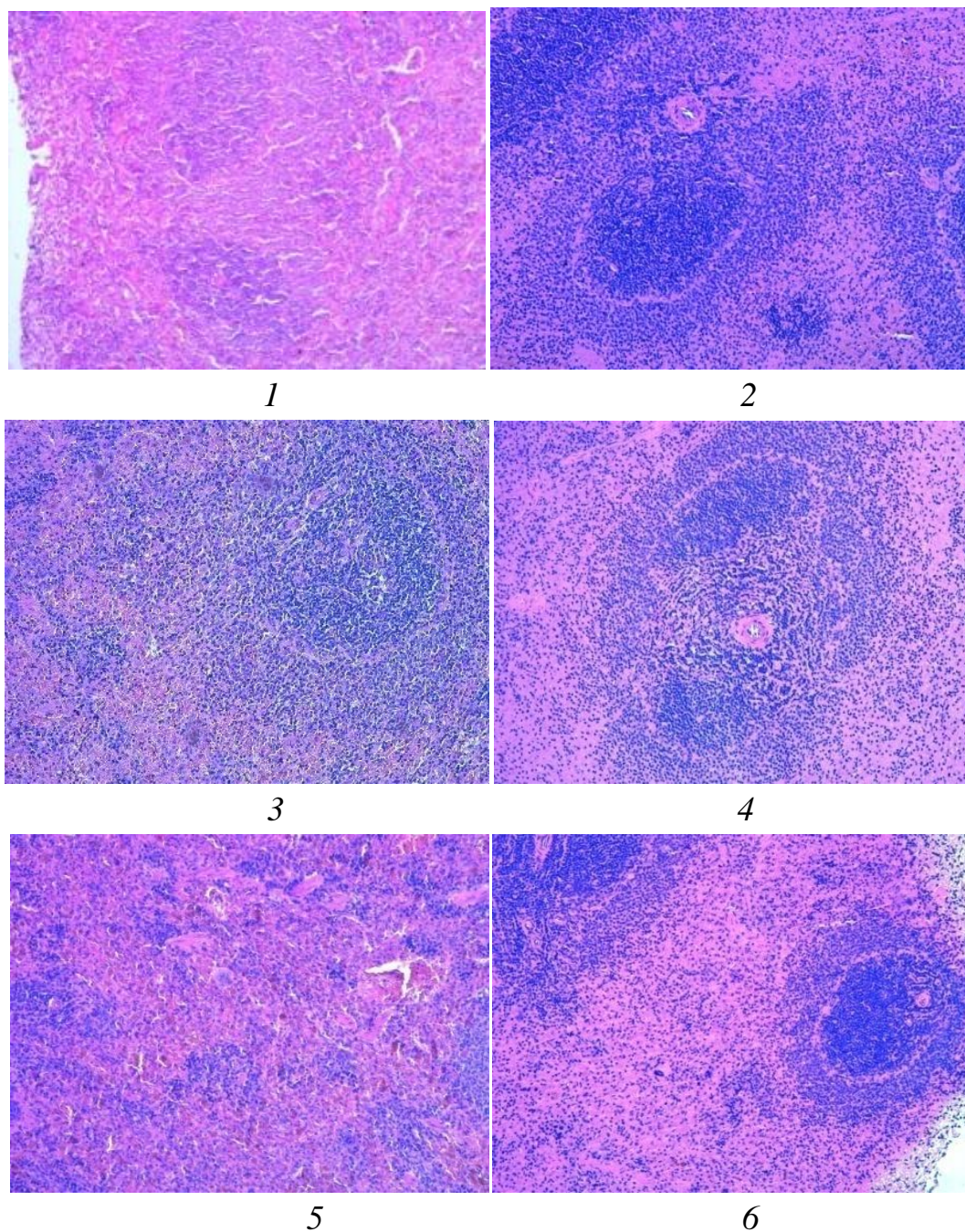


Рисунок 4 – Гистологическая картина селезенки животного в динамике*:
 1 – 7-е сутки; 2 – 14-е сутки; 3 – 120-е сутки; 4 – 180-е сутки; 5 – 365-е сутки;
 6 – интактный контроль. Гематоксилин и эозин. Ув. 100х

*Представленные фотографии органов являются компилятивными от всех животных.

Макроскопическое исследование места оперативного вмешательства



1



2



3



4



5



6

Рисунок 1 – Макрокартина на примере гидрогеля ПВП-комб в динамике: тазовая конечность животного, место локализации гидрогеля: 1 – 7-е сутки; 2 – 14-сутки; 3 – 21-сутки; 4 – 60-е сутки; 5 – 90 – сутки; 6 – 120-е сутки