

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ГЕЛЬ-ПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФЕРМЕНТНЫХ И ДЕТЕРГЕНТНЫХ МЕТОДОВ ЕЕ ОЧИСТКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

ASSESSMENT OF BIOCOMPATIBILITY OF BACTERIAL CELLULOSE GEL FILMS USING ENZYME AND DETERGENT METHODS FOR ITS PURIFICATION IN AN EXPERIMENT ON RATS

Ларионов П.М. **Larionov P.M.**
Погорелова Н.А. **Pogorelova N.A.**
Харченко А.В. **Kharchenko A.V.**
Терещенко В.П. **Tereshchenko V.P.**
Ступак Е.В. **Stupak E.V.**
Ступак В.В. **Stupak V.V.**
Самохин А.Г. **Samokhin A.G.**
Корель А.В. **Korel A.V.**
Кирилова И.А. **Kirilova I.A.**

ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна»
Минздрава России,
г. Новосибирск, Россия,
Novosibirsk Research Institute of Traumatology
and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan,
Novosibirsk, Russia,

ФГБОУ ВО «Омский государственный
аграрный университет имени П.А. Столыпина»,
г. Омск, Россия,
Omsk State Agrarian University named
after P.A. Stolypin,
Omsk, Russia

АНО ОВО «Университет «Сириус»,
пгт. Сириус, Россия,
Sirius University,
Sirius, Russia

Цель исследования – оценить влияние ферментных и детергентных методов очистки гель-пленок бактериальной целлюлозы (БЦ) в модели подкожной биосовместимости у крыс через 6 месяцев после имплантации.

Материалы и методы. Гель-пленки БЦ получались к 8-м суткам синтеза консорциумом *Medusomyces gisevii* при статических условиях. В 3 вариантах для очистки гель-пленок БЦ перед обработкой растворами NaOH применяли ферментные и детергентные методы, в качестве контроля использовали БЦ, обработанные только NaOH. После стерилизации гель-пленки БЦ имплантированы 6 крысам вистар. Через 6 месяцев после имплантации гель-пленки БЦ иссекались, проводилась стандартная гистологическая обработка экспериментального материала, готовились парафинированные срезы толщиной 6-7 мкм, которые окрашивались гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону, проводилась ПАС-реакция. При гистологическом исследовании периимплантных участков использовались оценочные критерии международного стандарта ISO 10993-6-2021. Для статистической оценки полученных показателей применяли непараметрический тест Краскела–Уоллиса с критерием Данна.

Результаты. К 6 месяцам при всех вариантах подготовки гель-пленок БЦ наблюдалось очаговое хроническое воспаление минимальной активности, преимущественно ориентированное на участки краевого расслоения БЦ. В таких местах чаще выявлялась очаговая хроническая воспалительная инфильтрация минимальной активности, представленная многоядерными клетками, гистиоцитами и лимфоцитами. В цитоплазмах многоядерных

Objective – to evaluate the effect of enzymatic and detergent purification methods of bacterial cellulose (BC) gel films in a subcutaneous biocompatibility model in rats 6 months after implantation.

Materials and methods. BC gel films were obtained by the 8th day of synthesis by the *Medusomyces gisevii* consortium under static conditions. In 3 variants, enzymatic and detergent methods were used to clean BC gel films before treatment with NaOH solutions. BC treated only with NaOH was used as a control. After sterilization, BC gel films were implanted into 6 Wistar rats. 6 months after implantation, the implants were excised, standard histological processing of the experimental material was carried out, paraffin sections 6-7 microns thick were prepared and stained with hematoxylin-eosin and Van Gieson, and the PAS reaction was performed. For histological examination of peri-implant areas, the evaluation criteria of the international standard ISO 10993-6-2021 were used. To statistically evaluate the obtained indicators, the non-parametric Kruskal–Wallis test with Dunn's criterion was used.

Results. By 6 months, with all options for preparing BC gel films, focal chronic inflammation of minimal activity was observed, predominantly focused on areas of marginal BC separation. In such places, focal chronic inflammatory infiltration of minimal activity, represented by multinucleated cells, histiocytes and lymphocytes, was more often detected. In the cytoplasm of multinucleated cells, as well as histiocytes oriented to

Для цитирования: Ларионов П.М., Погорелова Н.А., Харченко А.В., Терещенко В.П., Ступак Е.В., Ступак В.В., Самохин А.Г., Корель А.В., Кирилова И.А. ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ГЕЛЬ-ПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФЕРМЕНТНЫХ И ДЕТЕРГЕНТНЫХ МЕТОДОВ ЕЕ ОЧИСТКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС //ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2024. № 1. С. 67-74.

Режим доступа: <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/494>

DOI: 10.24412/1819-1495-2024-1-67-74

клеток, а также гистиоцитов, ориентированных на участки краевого расслоения гель-пленок БЦ, определялась акцентированная ПАС-положительная реакция, что может быть связано с локальной биодegradацией имплантатов. Анализ морфометрических показателей клеточных реакций периимплантатной области выявил статистически значимое снижение плотности многоядерных клеток, гистиоцитов и лимфоцитов при включении ферментных и детергентных методов очистки гель-пленок БЦ помимо растворов NaOH ($p < 0,001$).

Заключение. Примененные в исследовании методы очищения гель-пленок БЦ, помимо обработки NaOH, снижают выраженность периимплантных очаговых хронических воспалительных реакций к сроку 6 месяцев после имплантации в подкожной модели у крыс, однако не отменяют его полностью. Выявление гистиоцитов и многоядерных клеток с акцентированно позитивной ПАС-реакцией в цитоплазме, в участках краевого расслоения может являться признаком очаговой биодegradации имплантов БЦ.

Ключевые слова: бактериальная целлюлоза; децеллюляризация; биосовместимость

Бактериальная целлюлоза (БЦ) — биополимер, продуцируемый аэробными грам-негативными бактериями, принадлежащими к семейству *Acetobacteraceae*. По химическому составу это полисахарид, обладающий уникальными химическими и механическими свойствами и представленный структурой, состоящей из волокон наноразмерного диапазона [1-4].

Все это является притягательной альтернативой синтетическим материалам для разработки широкого спектра изделий медицинского назначения различных биомедицинских направлений. Так, в недавнем масштабном исследовании на крупных животных для целей реконструктивной кардиохирургии БЦ была использована в качестве материала по созданию искусственных сосудов малого диаметра, обеспечивающих прямую реваскуляризацию миокарда при лечении ишемической болезни сердца — показана принципиальная возможность этого подхода. В этой работе формирование сосудистого каркаса БЦ выполнялось в условиях динамического культивирования [5]. Обращает также внимание исследование с использованием БЦ, направленное на реконструктивную хирургию по созданию искусственной роговицы глаза [6].

В области регенеративной медицины на основе функционализированной БЦ и ее композитов разрабатываются тканеинженерные конструкции для восстановления и регенерации различных тканей, включая кожу, сердечную,

нервную, хрящевую и костную ткани. Так, для регенерации костной ткани преобладают исследования с использованием композитных скаффолдов на основе БЦ и наноразмерный гидроксиапатит является элементом физиологического метаболизма минералов организма человека и обнаруживается в крови здоровых доноров, зрелой костной ткани, а также участвует в патологической минерализации клапанов сердца [8].

К инновационным продуктам на основе БЦ, нашедшим применение в клинической практике нейрохирургии, относят заменитель твердой мозговой оболочки [9, 10], а также мембраны на основе БЦ, используемые в качестве перевязочных материалов для лечения ран, хирургии диабетической стопы и ожогов с доказанной клинической эффективностью [11, 12].

Однако, несмотря на серьезные продвижения в биотехнологии БЦ, считается, что нельзя полностью исключить риск потенциальных воспалительных или иммунных реакций при использовании ее в качестве импланта. Значительные проблемы также представляет изменчивость БЦ от партии к партии и сложность обеспечения долгосрочной стабильности имплантатов на ее основе [13]. Кроме того, агентами, инициирующими воспалительные реакции при использовании БЦ, могут быть эндотоксин бактерий-продуцентов и компонент бактериальной стенки (1,3)- β -D-гликан [14]. В этой проекции актуализи-

руются исследования по удалению бактерий-продуцентов (децеллюляризации), а также их производных ферментными и детергентными методами [15].

Conclusion. The methods used in the study to purify BC gel films, in addition to NaOH treatment, reduce the severity of peri-implant focal chronic inflammatory reactions by 6 months after implantation in a subcutaneous model in rats. However, they do not completely eliminate it. Identification of histiocytes and multinucleated cells with an accentuated positive PAS reaction in the cytoplasm, in areas of marginal separation, may be a sign of focal biodegradation of BC implants.

Key words: bacterial cellulose; decellularization; biocompatibility

руются исследования по удалению бактерий-продуцентов (децеллюляризации), а также их производных ферментными и детергентными методами [15].

Цель исследования — оценить биосовместимость гель-пленок БЦ при использовании ферментных и детергентных методов очистки в модели подкожной имплантации у крыс в срок 6 месяцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гель-пленки БЦ получались к 8-м суткам синтеза консорциумом *Medusomyces gisevii* при статических условиях, детали представлены в следующих источниках [16, 17].

Предимплантационная обработка гель-пленок БЦ (кратко) включала для варианта БЦ1 (контроль) отмывку в 0,1 М растворе NaOH 72 часа, затем пленки промывали H₂O dist. с последующей нейтрализацией в 0,1 М HCl; БЦ2 дополнительно обрабатывалась 0,5 %-ным раствором лизоцима, затем 1 %-ным раствором додецилсульфата натрия; БЦ3 предварительно обрабатывалась СВЧ, затем 2 %-ным раствором Тритона X100, потом следовала отмывка H₂O dist., далее выполнялась обработка в 0,1 М растворе NaOH 24 часа с последующей нейтрализацией в 0,1 М растворе HCl, с контролем pH и финальной отмывкой H₂O dist.; БЦ4 — выполнялась обработка 2 %-ным раствором Тритона X100, далее — отмывка H₂O dist., обработка 0,1 М NaOH 2 часа при температуре 100 °C, следовала от-

мывка H₂O dist. с нейтрализацией в 0,1 М HCl. Для всех образцов гель-пленок БЦ проводилась однотипная стерилизация. Детали подготовки гель-пленок БЦ, а также методика проведения подкожной имплантации фрагментов БЦ (хирургическая процедура) представлены в пилотном исследовании [18].

Схема организации эксперимента. Лабораторные животные были представлены 6 крысами вистар обоого пола массой 240-310 г, каждой из которых была выполнена подкожная имплантация 4 вариантов обработки БЦ, всего 24 импланта. По достижении 6 месяцев после имплантации БЦ крысы подвергались эвтаназии хлороформом.

Биоэтика. Эксперимент соответствовал рекомендациям локального биоэтического комитета, при его постановке руководствовались приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Правила надлежащей лабораторной практики».

Морфология. При анатомировании лабораторных животных импланты гель-пленок БЦ иссекались, фиксировались в 10 %-ном растворе формальдегида. Затем следовала стандартная гистологическая обработка, готовились серийные парафинизированные срезы толщиной 6-7 мкм, которые окрашивались гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону, проводилась ПАС-реакция. При микроскопии использовался микроскоп Olimpus CX43 и программный пакет CellSens Standard. Плотность клеток воспалительного инфильтрата периимплантной области для каждого типа клеток анализировалась с использованием оценочных критериев действующего международного стандарта ISO 10993-6:2016, с оценкой плотности клеток инфильтратов в баллах от 0 до 4, при увеличении объектива ×40 в 15 полях зрения для каждого из 24 имплантов БЦ. Гистологический анализ выполнял сертифицированный патологоанатом.

Статистическая обработка. Тест Шапиро–Уилка использован для определения характера распределения полученных в баллах показателей плотности клеток воспалительного инфильтрата периимплантной области гель-пленок БЦ, распределение которых оказалось не-Гауссовским с вероятностью ($p < 0,05$), что обусловило использование непараметрического теста Краскела–Уоллиса с применением критерия Данна для уточнения статистической значимости различий уровней медианных значений в сравниваемых группах. Графическое выражение результатов представлено уровнями медианных значений плотности клеток воспалительных инфильтратов с их межквартильными интервалами (рис. 9). При оценке статистической значимости различий медианных уровней плотности клеток воспалительных инфильтратов периимплантных областей между вариантами обработки гель-пленок БЦ вероятность $p < 0,05$ принималась как значи-

Рисунок 1

Обзорная микроскопия импланта БЦ3. Имплант окрашен в светло-розовый цвет, его окружает тонкая непостоянная капсула, местами отслоенная периимплантным отеком. Отсутствуют расслоения импланта и воспалительные реакции. Через 6 месяцев после имплантации, ПАС-реакция, увеличение объектива ×5

Figure 1

Survey microscopy of the BC3 implant. The implant is colored light pink; it is surrounded by a thin, unstable capsule, peeled off in places by peri-implant edema. There are no implant delaminations or inflammatory reactions. 6 months after implantation, PAS reaction, lens magnification ×5

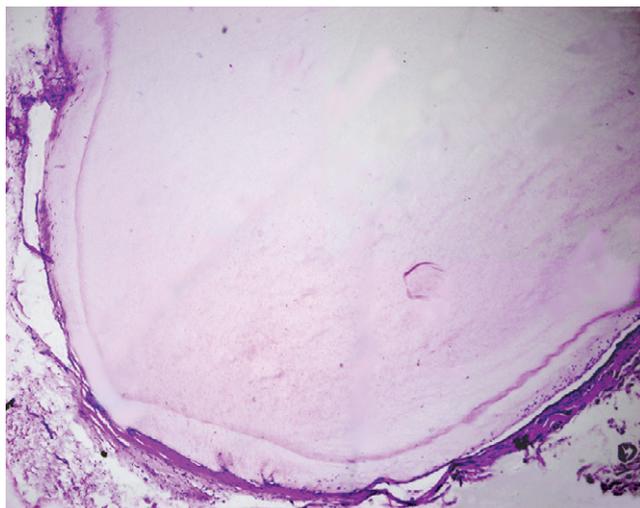


Рисунок 2

Обзорная микроскопия импланта БЦ4. Имплант окрашен в светло-розовый цвет, его окружает тонкая непостоянная капсула, местами отслоенная периимплантным отеком. Отсутствуют расслоения импланта и воспалительные реакции. Через 6 месяцев после имплантации, ПАС-реакция, увеличение объектива ×5

Figure 2

Survey microscopy of the BC4 implant. The implant is colored light pink. It is surrounded by a thin, unstable capsule, peeled off in places by peri-implant edema. There are no implant delaminations or inflammatory reactions. 6 months after implantation, PAS reaction, lens magnification ×5

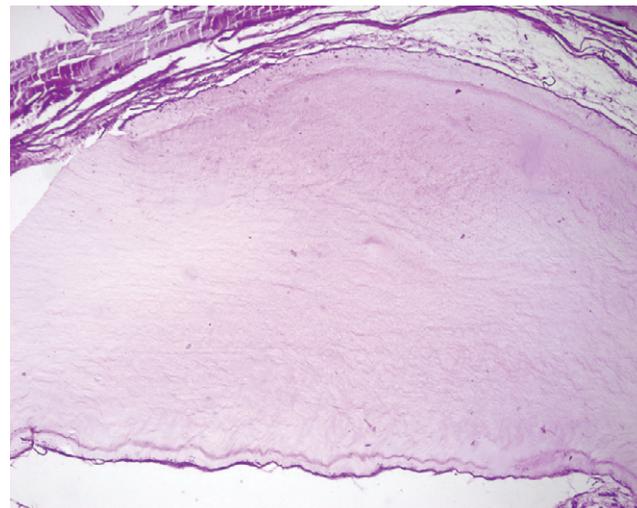


Рисунок 3

Обзорная микроскопия импланта БЦ3. Имплант окрашен в светло-розовый цвет, его окружает тонкая постоянная капсула, к которой прилежат снаружи склерозированные окружающие ткани. В верхней части импланта очаговая воспалительная реакция с начальным расслоением. Через 6 месяцев после имплантации, ПАС-реакция, увеличение объектива $\times 5$

Figure 3

Survey microscopy of the BC3 implant. The implant is colored light pink. It is surrounded by a thin permanent capsule, to which sclerotic surrounding tissues are adjacent on the outside. In the upper part of the implant there is a focal inflammatory reaction with initial separation. 6 months after implantation, PAS reaction, lens magnification $\times 5$

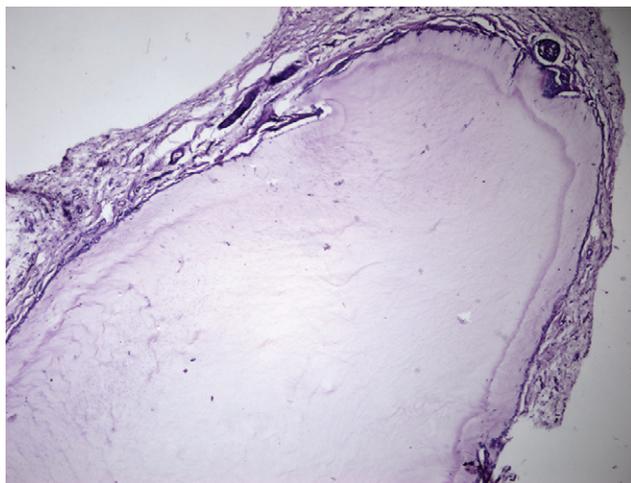


Рисунок 5

Имплант окрашен в светло-розовый цвет. В верхней части импланта очаговая воспалительная реакция в области существенного расслоения БЦ3 (фрагмент рис. 4). Через 6 месяцев после имплантации. ПАС-реакция, увеличение объектива $\times 20$

Figure 5

The implant is colored light pink. In the upper part of the implant there is a focal inflammatory reaction in the area of significant separation of BC3 (fragment of Fig. 4). 6 months after implantation. PAS reaction, lens magnification $\times 20$

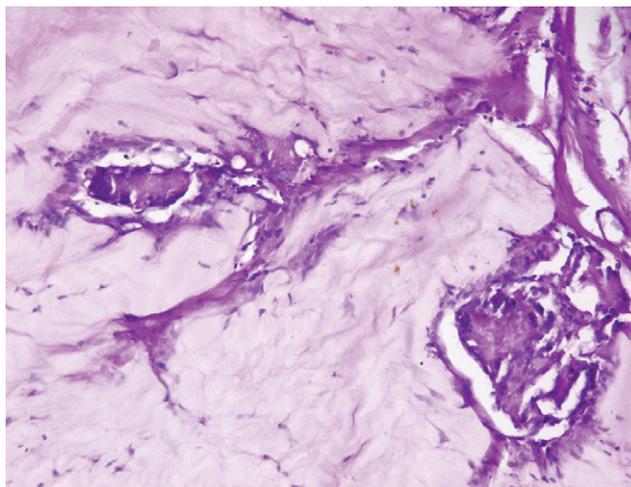


Рисунок 4

Имплант окрашен в светло-розовый цвет. В левой части импланта очаговая воспалительная реакция в области расслоения. Через 6 месяцев после имплантации, БЦ3. ПАС-реакция, увеличение объектива $\times 5$

Figure 4

The implant is colored light pink. On the left side of the implant there is a focal inflammatory reaction in the area of dissection. 6 months after implantation, BC3, PAS reaction, lens magnification $\times 5$

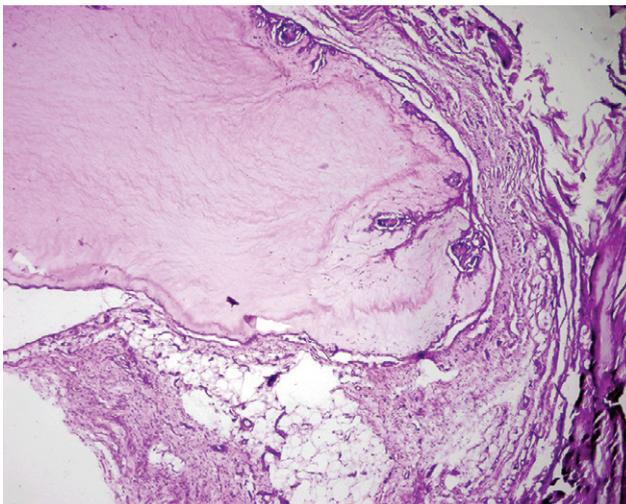
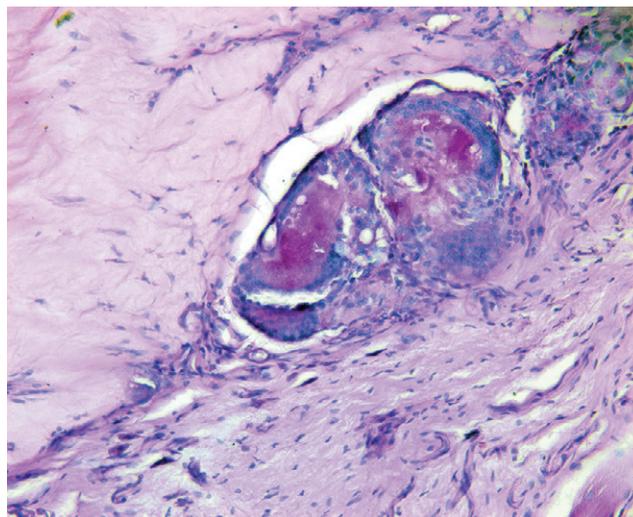


Рисунок 6

Имплант окрашен в светло-розовый цвет слева и сверху. В центре расслоение импланта, крупные многоядерные сливающиеся клетки. Очаговое хроническое воспаление. В цитоплазме многоядерных клеток акцентированный ПАС-позитивный материал. БЦ2, 6 месяцев после имплантации. ПАС-реакция, увеличение объектива $\times 40$

Figure 6

The implant is painted light pink, left and top. In the center there is a delamination of the implant, large multinucleated merging cells. Focal chronic inflammation. In the cytoplasm of multinucleated cells there is accentuated PAS positive material. BC2, 6 months after implantation. PAS reaction, lens magnification $\times 40$



мая. Статистические вычисления проведены с помощью программы GraphPad Prism v.9.5.1.733.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологический анализ имплантов с вариантами обработки гель-пленок БЦ выявил общие закономерности для всех четырех типов. Так, преобладающей морфологической картиной являлось либо полное отсутствие признаков воспаления (рис. 1, 2), либо определялись очаговые непостоянные хронические воспалительные инфильтраты с минимальным присутствием лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток, которые располагались вокруг многоядерных клеток (рис. 3). Многоядерные клетки периимплантной области наблюдались при всех изучаемых вариантах обработки гель-пленок БЦ. Было замечено, что эти клетки чаще локализовались в местах краевых расслоений БЦ (рис. 4, 5), в цитоплазме

многоядерных клеток выявлялась акцентированная ПАС-позитивная реакция (рис. 6), такая же акцентированная ПАС-позитивная реакция наблюдалась в гистиоцитах, ориентированных на места расслоений (рис. 7). Периимплантная капсула при всех вариантах обработки гель-пленок БЦ была представлена тонкой непостоянной соединительнотканной прослойкой и непосредственно прилегала к имплантам БЦ, если не была отслоена периимплантным отеком. Замечено, что следующий кнаружи от периимплантной капсулы слой представлял собой склеротические и атрофические изменения окружающих тканей, ширина этих вторичных изменений могла варьировать в зависимости от ориентации имплантов БЦ на подкожно-жировую клетчатку или поперечно-полосатую мускулатуру; при прилегании к поперечно-полосатой мускулатуре ширина слоя заметно возрастала, что, вероятно, связано с боль-

шим механическим повреждением окружающих тканей (рис. 8).

На рисунке 9 представлены результаты статистического анализа клеточных реакций периимплантных областей к сроку 6 месяцев после имплантации гель-пленок БЦ у крыс. Так, полинуклеарные и эозинофильные лейкоциты наблюдались с минимальной плотностью периимплантно БЦ1, БЦ2, и не определялись БЦ3 и БЦ4. Кроме того, выявлено значимое снижение уровней плотности гистиоцитов, лимфоцитов, многоядерных клеток при вариантах подготовки с БЦ2, БЦ3 и БЦ4 против контроля (БЦ1) ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В продолжительном по срокам наблюдении исследовании (до года) в подкожной модели у крыс при оценке биосовместимости мембран БЦ, синтезированных разными штаммами *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 53582 и ATCC

Рисунок 7

Значительное расслоение импланта в центре, ориентированная на расслоение инфильтрация гистиоцитами и лимфоцитами, макрофаги с акцентированной ПАС позитивной реакцией цитоплазмы. БЦ4, 6 месяцев после имплантации. ПАС-реакция, увеличение объектива $\times 60$

Figure 7

Significant stratification of the implant in the center, infiltration of histiocytes and lymphocytes oriented towards the stratification, macrophages with an accentuated PAS positive reaction of the cytoplasm. BC4, 6 months after implantation. PAS reaction, lens magnification $\times 60$

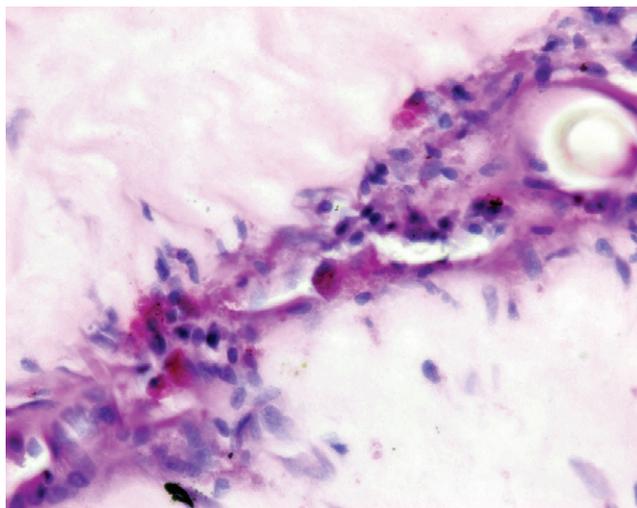


Рисунок 8

В центре фотографии имплант БЦ 1, гомогенно окрашен в сиреневый цвет, слева подкожно-жировая клетчатка, примыкающая к импланту, здесь тонкая капсула частично отслоена периимплантным отеком, справа вторично измененная склеротическая ткань примыкает к поперечно-полосатой мускулатуре. ПАС-реакция, 6 месяцев. Увеличение объектива $\times 5$

Figure 8

In the center of the photograph, the BC 1 implant is homogeneously colored lilac, on the left is subcutaneous fat adjacent to the implant. Here is a thin capsule, partially exfoliated by peri-implant edema, on the right is secondary changed sclerotic tissue, adjacent to the striated muscles. PAS reaction, 6 months. Lens magnification $\times 5$

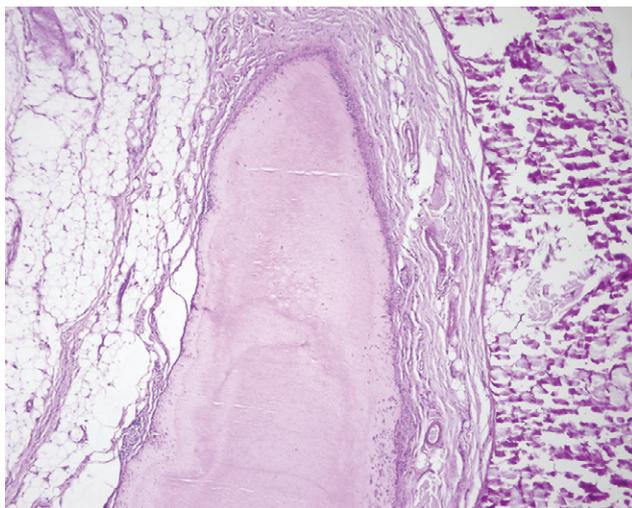
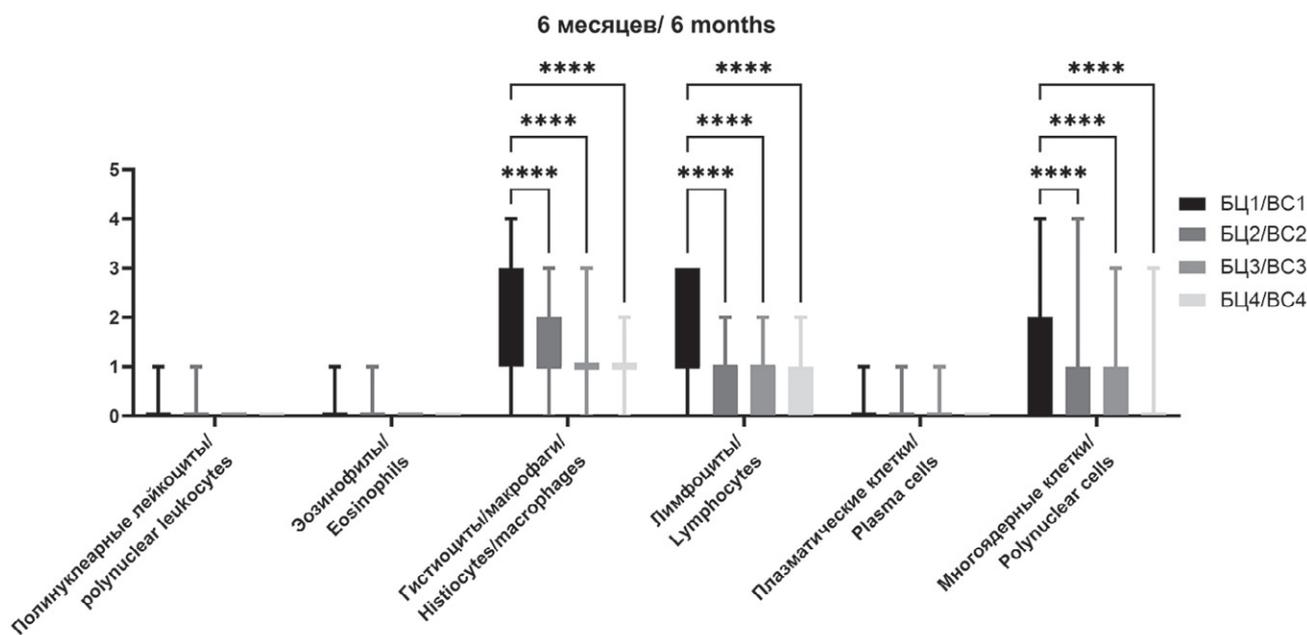


Рисунок 9

Графическое выражение результатов плотности воспалительных клеток каждого типа периимплантной области, представленное в виде уровней медианных значений с их межквартильными интервалами, при сравнении с контролем (БЦ1) против вариантов с использованием ферментно-детергентных методов очищения, помимо обработки раствором NaOH (БЦ2, БЦ3, БЦ4) в срок 6 месяцев. Тест Краскела–Уоллиса с применением критерия Данна для уточнения статистической значимости: (****) – $p < 0,001$

Figure 9
Graphic expression of the results of the density of inflammatory cells (for each type) of the peri-implant area, presented in the form of levels of median values with their interquartile ranges, when compared with the control (BC1) against options using detergent-enzyme cleansing methods – BC2, BC3, BC4 at time 6 months. Kruskal–Wallis test and Dunn’s test to clarify statistical significance: (****) – $p < 0.001$



10245 с однотипной предварительной обработкой раствором Тригона X100 и последующей очисткой 4 %-ным раствором NaOH на протяжении 90 мин при температуре 60 °С, к сроку 5 месяцев наблюдалась умеренная или значительная воспалительная макрофагально-лейкоцитарная инфильтрация периимплантной области обоих вариантов БЦ, а к сроку 7 месяцев для первого варианта БЦ воспалительные реакции стихали, для второго – оставались умеренными. Это исследование показывает значимость для проявлений биосовместимости разных штаммов продуцентов БЦ [19].

В другом исследовании, выполненном на подкожной модели у крыс, к 12-й неделе после имплантации БЦ в периимплантной области наблюдалось минимальное количество гистиоцитов, верифицированных иммунофлуоресцентными методами, многоядерные клетки не определялись. В этой работе перед имплантацией БЦ очищалась в 0,1 М NaOH 60 °С 4 часа

с последующим кипячением в деионизированной воде [20]. Фактически результаты этих исследований представляют широкий диапазон в целом хорошей биосовместимости БЦ.

Выходя за пределы подкожной модели, нельзя не упомянуть другое исследование, где при подготовке сосудистого импланта на основе БЦ раствор NaOH использовался на протяжении 11 суток с прогреванием до 60 °С на 8-е сутки. После имплантации этого кондуита в качестве аорто-коронарного шунта у мини-свиней через 28 суток функционирования морфологический анализ не выявил воспалительных реакций в искусственной сосудистой стенке ксенографта, однако наблюдалась интимальная пролиферация гладкомышечных и эндотелиальных клеток [5].

Результаты приведенных выше исследований показывают, во-первых, значимость для биосовместимости свойств самих продуцентов целлюлозы, во-вторых, влияние на биосовместимость предимплан-

тационной подготовки БЦ, а также продолжительность наблюдения, которая связана со стабильностью импланта БЦ. Наше исследование, посвященное разработке унифицированных подходов к очищению БЦ, не противоречит приведенным выше данным других работ. Нами показано, что в срок 6 месяцев после имплантации БЦ наблюдается очаговая хроническая воспалительная реакция минимальной активности с многоядерными клетками, часто ориентированными на места расслоений БЦ. Очаговый характер хронических воспалительных реакций минимальной активности, вероятно, связан с неравномерной очисткой вариантов гель-пленок БЦ. В то же время ферментно-детергентные методы, использованные для очистки гель-пленок БЦ, значимо снижают активность хронических воспалительных реакций по сравнению с гель-пленками БЦ и очисткой только раствором NaOH. Однако использованные в нашем исследовании подходы очистки не от-

меняют полностью воспалительные проявления в периимплантной области. Ранее в своем пилотном исследовании мы продемонстрировали эффективность ферментно-детергентных методов децеллюляризации гель-пленок БЦ, которые помимо обработки NaOH достоверно снижали плотность клеток-участников воспалительных реакций в сроки 7, 10, 30 дней в подкожной модели биосовместимости, но не отменяли их полностью [18].

И, наконец, выявление гистиоцитов и многоядерных клеток с акцентированно позитивной ПАС-реакцией в цитоплазме, в местах краевого расслоения может являться

признаком локальной биодеградации имплантов.

К настоящему времени нет единого протокола очищения БЦ, к унифицированному подходу можно отнести использование растворов NaOH с различной концентрацией, экспозицией по времени и температурой обработки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Примененные в исследовании методы очищения гель-пленок БЦ, помимо обработки NaOH, снижают выраженность периимплантных очаговых хронических воспалительных реакций к сроку 6 месяцев после имплантации в подкожной

модели у крыс, однако не отменяют его полностью. Выявление гистиоцитов и многоядерных клеток с акцентированно позитивной ПАС-реакцией в цитоплазме, в участках краевого расслоения может являться признаком очаговой биодеградации имплантов БЦ.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 23-24-10052 от 20.04.2023).

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Revin VV, Liyaskina EV, Parchaykina MV, Kuzmenko TP, Kurgaeva IV, Revin VD, et al. Bacterial cellulose-based polymer nanocomposites: a review. *Polymers*. 2022; 14(21): 4670. DOI: 10.3390/polym142146702
2. Pogorelova N, Rogachev E, Digel I, Chernigova S, Nardin D. Bacterial cellulose nanocomposites: morphology and mechanical properties. *Materials (Basel)*. 2020; 13(12): 2849. DOI: 10.3390/ma13122849
3. Lipovka A, Kharchenko A, Dubovoy A, Fillipenko M, Stupak V, Mayorov A, et al. The effect of adding modified chitosan on the strength properties of bacterial cellulose for clinical applications. *Polymers*. 2021; 13(12): 1995. DOI: 10.3390/polym13121995
4. Larionov PM, Filippenko ML, Stupak VV, Kharchenko AV, Afonyushkin VN, Tereshchenko VP, Barinov AA. Structural analysis of biosynthesized cellulose based on the results of confocal microscopy. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2016; 36(4): 5-9. Russian (Ларионов П.М., Филиппенко М.Л., Ступак В.В., Харченко А.В., Афонюшкин В.Н., Терещенко В.П., Баринов А.А. Структурный анализ биосинтезированной целлюлозы (наноцеллюлозы) по результатам конфокальной микроскопии //Сибирский научный медицинский журнал. 2016. Т. 36, № 4. С. 5-9.)
5. Fusco D, Meissner F, Podesser BK, Marsano A, Grapow M, Eckstein F, et al. Small-diameter bacterial cellulose-based vascular grafts for coronary artery bypass grafting in a pig model. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9: 881557. DOI: 10.3389/fcvm.2022.881557
6. Chen Zhang Ch, Cao J, Zhao Sh, Luo H, Yang Zh, Gama M, et al. Biocompatibility evaluation of bacterial cellulose as a scaffold material for tissue-engineered corneal stroma. *Cellulose*. 2020; 27(2): 2775-2784. DOI: 10.1007/s10570-020-02979-0
7. Raut MP, Asare E, Syed Mohamed SMD, Amadi EN, Roy I. Bacterial cellulose-based blends and composites: versatile biomaterials for tissue engineering applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(2): 986. DOI: 10.3390/ijms24020986
8. Titov AT, Larionov PM, Shchukin VS, Zaikovskii VI. Possible formation of hydroxyapatite in blood. *Reports of the Academy of Sciences*. 2000; 373(1-6): 132-134. Russian (Титов А.Т., Ларионов П.М., Щукин В.С., Зайковский В.И. О возможности образования гидроксилапатита в крови //Доклады Академии наук. 2000. Т. 373, № 2. С. 257-259.)
9. Rosen CL, Steinberg GK, DeMonte F, Delashaw JB Jr, Lewis SB, Shafrey ME, et al. Results of the prospective, randomized, multicenter clinical trial evaluating a biosynthesized cellulose graft for repair of dural defects. *Neurosurgery*. 2011; 69: 1093-1104. DOI: 10.1227/NEU.0b013e3182284aca
10. Kharchenko AV, Stupak VV. Bacterial nanocellulose as a plastic material for closure of defects of the dura mater: literature review. *Russian Journal of Spine Surgery*. 2019; 16(3): 62-73. Russian (Харченко А.В., Ступак В.В. Бактериальная наноцеллюлоза как пластический материал для закрытия дефектов твердой мозговой оболочки: обзор литературы //Хирургия позвоночника. 2019. Т. 16, № 3. С. 62-73.) DOI: 10.14531/ss2019.3.62-73
11. Chernigova SV, Zubkova NV, Chernigov YuV, Pogorelova NA. Morphological changes in the tissue structures after thermal burns on the background of using dermarm wound dressing. *Prensa Medica Argentina*. 2019; 105(9): 521-525.
12. Catanzano O, Quaglia F, Boateng JS. Wound dressings as growth factor delivery platforms for chronic wound healing. *Expert Opin. Drug Deliv*. 2021; 18(6): 737-775. DOI: 10.1080/17425247.2021.1867096.
13. Liu D, Meng Q, Hu J. Bacterial nanocellulose hydrogel: a promising alternative material for the fabrication of engineered vascular grafts. *Polymers (Basel)*. 2023; 15(18): 3812. DOI: 10.3390/polym15183812
14. Liu J, Bacher M, Rosenau T, Willför S, Mitranyan A. Potentially immunogenic contaminants in wood-based and bacterial nanocellulose: assessment of endotoxin and (1,3)-β-d-Glucan Levels. *Biomacromolecules*. 2018; 19(1): 150-157. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b0133
15. Subbotin DV, Larionov PM, Sergeevichev DS, Subbotina OA, Zaitsev GS, Novruzov RBO, et al. Morphological evaluation of cytoarchitectonics of aortic graft at the biotechnological stage with analysis of changes in laser-induced fluorescence spectra. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 148: 684-688. Russian (Субботин Д.В., Ларионов П.М., Сергеевичев Д.С., Субботина О.А., Зайцев Г.С., Новрузов Р.Б. и др. Морфологическая оценка цитоархитектоники аортального графта на этапах биотехнологии с анализом изменений спектров лазерно-индуцированной флуоресценции //Клеточные технологии в биологии и медицине. 2009. № 4. С. 191-196.) DOI: 10.1007/s10517-010-0794-6.
16. Pogorelova N, Rogachev E, Digel I, Chernigova S, Nardin D. Bacterial cellulose nanocomposites: morphology and mechanical properties. *Materials (Basel)*. 2020; 13(12): 2849. DOI: 10.3390/ma13122849
17. Digel I, Akimbekov N, Rogachev E, Pogorelova N. Bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* on glucose and sucrose: biosynthesis and structural properties. *Cellulose*. 2023. DOI: 10.1007/s10570-023-05592-z
18. Larionov PM, Pogorelova NA, Kharchenko AV, Tereshchenko VP, Stupak EV, Stupak VV, et al. Morphological assessment of the biocompatibility of native bacterial cellulose membranes using tissue

engineering approaches to decellularization (pilot study). *Polytrauma*. 2023; (3): 14-23. Russian (Ларионов П.М., Погорелова Н.А., Харченко А.В., Терещенко В.П., Ступак Е.В., Ступак В.В., и др. Морфологическая оценка биосовместимости нативных мембран бактериальной целлюлозы при использовании тканеинженерных подходов децеллюляризации (пилотное исследование) //Политравма. 2023. № 3. С. 14-23.) DOI: 10.24412/1819-1495-2023-3-14-23

19. Pértile RAN, Moreira S, Gil da Costa RM, Correia A, Guãrdao L, Gartner F, et al. Bacterial cellulose: long-term biocompatibility studies. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*. 2012; 23(10): 1339-1354. DOI: 10.1163/092050611X581516
20. Helenius G, Bäckdahl H, Bodin A, Nannmark U, Gatenholm P, Risberg B. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. *J Biomed Mater Res A*. 2006; 76(2): 431-438. DOI: 10.1002/jbm.a.30570

Сведения об авторах:

Ларионов П.М., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Погорелова Н.А., к.б.н., доцент кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии агротехнологического факультета ФГБОУ ВО Омский ГАУ, г. Омск, Россия.

Харченко А.В., врач-нейрохирург приемного отделения ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Терещенко В.П., научный сотрудник АНО ОВО «Университет «Сириус», Краснодарский край, пгт. Сириус, Россия.

Ступак Е.В., к.м.н., врач-нейрохирург отделения нейрохирургии № 1 ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Ступак В.В., д.м.н., профессор, начальник научно-исследовательского отделения нейрохирургии ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Самохин А.Г., научный сотрудник ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Корель А.В., научный сотрудник ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Кирилова И.А., д.м.н., заместитель директора по научной работе ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Адрес для переписки:

Харченко Алексей Валерьевич, ул. Фрунзе 17, г. Новосибирск, Россия, 630091

Тел: +7 (913) 892-98-46

E-mail: alexdok2000@gmail.com

Статья поступила в редакцию: 27.12.2023

Рецензирование пройдено: 19.01.2024

Подписано в печать: 01.03.2024

Information about authors:

Larionov P.M., MD, PhD, professor, chief researcher, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Pogorelova N.A., candidate of biological sciences, associate professor, department of food products and food biotechnology, faculty of agrotechnology, Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia.

Kharchenko A.V., neurosurgeon of admission department, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Tereshchenko V.P., researcher, Sirius University, Krasnodar region, -Sirius, Russia.

Stupak E.V., candidate of medical sciences, neurosurgeon, department of neurosurgery No. 1, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Stupak V.V., MD, PhD, professor, head of research department of neurosurgery, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Samokhin A.G., researcher, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Korel A.V., researcher, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Kirilova I.A., MD, PhD, deputy director for research, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia.

Address for correspondence:

Kharchenko Alexey Valerievich, Frunze St., 17, Novosibirsk, Russia, 630091

Tel: +7 (913) 892-98-46

E-mail: alexdok2000@gmail.com

Received: 27.12.2023

Review completed: 19.01.2024

Passed for printing: 01.03.2024