

УДК 616.728.2-089.844-022-092.4

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНОГО ПОЛИМЕРНОГО ГЕЛЯ ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА КРОЛИКА В УСЛОВИЯХ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИИ

© 2024 г. С. А. Божкова¹, В. Н. Ливенцов¹ *, Ю. С. Корнева^{1, 2, 3}, О. А. Легонькова⁴, Е. М. Гордина¹, Г. И. Нетьлько¹, М. Ш. Гаджимагомедов¹, Б. Г. Ахмедов⁴

¹Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, 195427 Россия

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, 191015 Россия

³Смоленский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск, 214018 Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117997 Россия

*e-mail: vnliventsov@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.05.2024 г.

После доработки 14.05.2024 г.

Принята к публикации 17.05.2024 г.

Представлены результаты применения оригинального антимикробного полимерного гидрогеля на основе поливинилпирролидона как локального депо антибактериальных препаратов для предупреждения хронизации инфекционного процесса при эндопротезировании тазобедренного сустава в условиях имплантат-ассоциированной инфекции у кроликов. На первом этапе эксперимента моделировали интрамедуллярный остеомиелит бедренной кости животных путем имплантации инфицированных спиц. На 14 сутки проводили повторное оперативное вмешательство с санацией очага инфекции, удалением спицы и однополярным эндопротезированием тазобедренного сустава. Животных разделили на 2 группы: опытная – с использованием экспериментального геля на этапе эндопротезирования ($n = 3$) – и контрольная – без геля ($n = 3$). После выведения из эксперимента на 90 сутки проводили морфологическое исследование с оценкой изменений в мягких тканях и костномозговом канале, а также микробиологический анализ образцов мягких тканей, костных структур и удаленной ножки эндопротеза. В контрольной группе обсеменение *Staphylococcus aureus* выявлено у двух из трех животных, в то время как в опытной группе клетки стафилококка не обнаружены ни в одном из исследованных образцов. При сравнительном анализе состава клеточного инфильтрата выявлено, что в мягких тканях количество гигантских многоядерных клеток было значимо больше в опытной группе, а нейтрофильных гранулоцитов – как показателей активности инфекционного процесса – значимо больше в контрольной группе. Таким образом, применение экспериментального антимикробного полимерного гидрогеля позволило предупредить развитие хронического инфекционного процесса, несмотря на то, что эндопротезирование было выполнено в ходе санации очага остеомиелита и короткого курса антибактериальной терапии. Наличие выраженной гиганто-клеточной реакции в мягких тканях, направленной на биодеградацию геля, требует дальнейшего изучения на более поздних сроках.

Ключевые слова: эндопротезирование, антимикробный гель, имплантат-ассоциированная инфекция, перипротезная инфекция

DOI: 10.56304/S0234275824030074

Одно из наиболее тяжелых осложнений после операций на опорно-двигательном аппарате с установкой металлоконструкций, включая эндопротезирование крупных суставов, – имплантат-

ассоциированная инфекция (ИАИ). Это создает серьезную угрозу здоровью пациентов: требует повторных хирургических вмешательств, длительной антибактериальной терапии и существенно удлиняет сроки госпитализации в медицинских учреждениях, – что в совокупности значительно увеличивает финансовые затраты на лечение [1, 2]. К

Список сокращений: Г-Э – гематоксилин и эозин; ИАИ – имплантат-ассоциированная инфекция; ПВП – поливинилпирролидон; ПММА – полиметилметакрилат.

основным способам лечения ИАИ относятся хирургическая санация очага, как правило с удалением имплантата, и проведение массивной и длительной антибактериальной терапии.

Сложности в подборе препаратов для терапии ИАИ определяются, во-первых, постоянным ростом числа устойчивых к антибактериальным препаратам возбудителей [3, 4]; во-вторых, особенностями патогенеза ИАИ, которые заключаются в способности микроорганизмов, в частности *Staphylococcus aureus*, формировать на поверхности имплантатов биопленки, проникать в клетки организма и длительное время существовать внутриклеточно, а также колонизировать остеоцитарно-лакунарно-канальцевую сеть кости, что приводит к развитию остеомиелита [5]. Указанные факторы значительно снижают эффективность антибиотиков в тех концентрациях, которые создаются в очаге инфекции при системном введении препаратов [6, 7]. Для преодоления этих проблем при лечении инфекции, ассоциированной с ортопедическими имплантатами, во всем мире активно применяют различные методы локальной антибактериальной терапии [8].

До настоящего времени при хирургическом лечении хронической ИАИ, в том числе перипротезной инфекции, после удаления имплантата [9] в подавляющем большинстве случаев используют костный цемент из полиметилметакрилата (ПММА), дополнительно импрегнированный антибиотиками. Однако известно, что из-за неконтролируемого и непродолжительного высвобождения антимикробного препарата из костного цемента этот метод далеко не всегда решает проблему ИАИ [10, 11]. Перспективным направлением в локальной терапии ортопедической инфекции считают создание непосредственно в очаге инфекции депо препаратов с пролонгированной антимикробной активностью, таких как биодеградируемые полимерные матрицы в любой форме: гели, губки, пленки, содержащие лекарственные препараты [12–17]. Одним из наиболее изучаемых полимеров для разработки гидрогелей является поливинилпирролидон (ПВП) и его производные [18–20]. Так, А. Цискарашвили с соавт. [21] сообщали об отсутствии токсических и других негативных процессов в костной ткани экспериментальных животных при замещении остеомиелитических дефектов полимерным гидрогелем, содержащим антибиотик. Разработанные нами ранее антимикробные полимерные гели с гентамицином и фосфомицином [22] также не вызывали у экспериментальных животных морфологических изменений в структуре паренхиматозных и лимфоидных органов, что свидетельствует об отсутствии у них общетоксического действия [13]. Кроме того, показано, что применение разработанных антимикробных полимерных гелей на основе ПВП эффективно пре-

дупреждало развитие острого остеомиелита у экспериментальных животных [23].

Цель работы – используя микробиологические и гистологические методы, оценить эффективность применения экспериментального антимикробного полимерного гидрогеля как локального депо антибактериальных препаратов для предупреждения хронизации инфекционного процесса при эндопротезировании тазобедренного сустава на модели ИАИ у кроликов.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Получение антимикробного геля

Экспериментальный антимикробный полимерный гель получали путем термической обработки водного раствора ПВП (M_r 30 кДа) и лекарственных средств (гентамицин и фосфомицин) с последующим ионизирующим облучением (15 кГр) [22].

Животные

Исследование проводили на 6 лабораторных животных (кролики породы Шиншилла Советская), весом 2500–2800 г, полученных из сертифицированного питомника НИЦ “Курчатовский институт” – ПЛЖ “Рапполово”, содержащихся в условиях вивария. Работу с животными проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей, и требованиями “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных”. Все процедуры с животными были рассмотрены и утверждены Локальным этическим комитетом на предмет соответствия этическим принципам. Животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества состояния здоровья, находились в идентичных условиях кормления и содержания.

Экспериментальный остеомиелит

На первом этапе эксперимента моделировали интрамедуллярный остеомиелит бедренной кости животных путем имплантации инфицированных спиц. Инфицирование спиц проводили суспензией *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 с концентрацией 1×10^8 КОЕ/мл. Накануне операции стерильные спицы погружали в 4 мл готовой суспензии и оставляли на 18–20 ч в термостате при 37°C.

В положении животного на боку с фиксацией конечностей под общим наркозом (4.0 мл кетамина в/в, 2.0 мл сибазона в/м), после обработки кожи растворами антисептиков (йод, спирт) выполняли разрез и доступ к проксимальному отделу бедренной кости. В межвертельной зоне бедренной кости сверлом формировали трепанационное отверстие округлой формы ($d = 1$ мм),

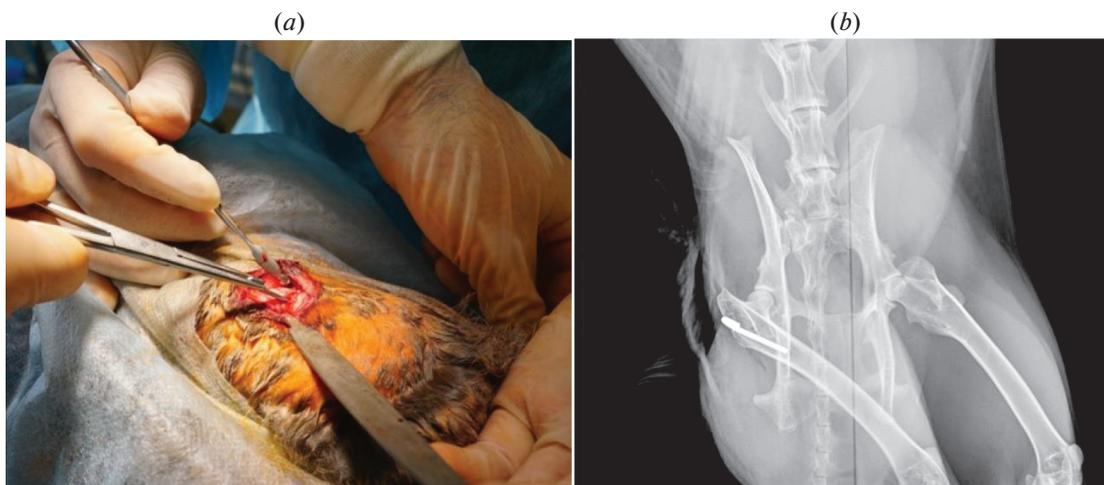


Рис. 1. Первый этап эксперимента – моделирование интрамедуллярного остеомиелита бедренной кости. Имплантация инфицированной спицы в костномозговой канал бедренной кости интраоперационно (а). Рентгенологическая картина после установки инфицированной спицы в костномозговой канал бедренной кости (б).

Fig. 1. The first stage of the experiment is the modeling of intramedullary osteomyelitis of the femur. Implantation of an infected spoke into the bone marrow canal of the femur intraoperatively (a). Radiogram after the installation of an infected spoke into the bone marrow canal of the femur (b).

сообщающееся с костномозговым каналом, имплантировали инфицированную стальную спицу ($d = 1 \text{ мм}$, $l = 10 \text{ мм}$) (рис. 1а). Рану ушивали узловыми швами, повторно обрабатывали растворами антисептиков.

Эндопротезирование тазобедренного сустава

На 14 сутки проводили повторное оперативное вмешательство с удалением спицы и однополярным эндопротезированием тазобедренного сустава. Операционный доступ выполняли по послеоперационному рубцу, удаленную спицу отправляли на бактериологическое исследование. Во всех 6 случаях при микробиологическом исследовании удаленных спиц выявлено наличие на их поверхности клеток *S. aureus* (рис. 2), фенотипически идентичных эталонному штамму, используемому для инфицирования спиц, что подтвердило наличие инфекционного процесса в зоне установки имплантатов.

Далее тупо и остро выделяли и отводили ягодичные мышцы бедра, выполняли доступ к тазобедренному суставу. После мобилизации мягких тканей вывихивали головку бедренной кости и выполняли остеотомию шейки бедра. Проводили иссечение инфицированных мягких тканей, патологических грануляций творожистой консистенции. После удаления головки бедренной кости при помощи стоматологического бора формировали канал, в который после промывания раны раствором хлорексидина устанавливали бедренный компонент эндопротеза. После вправления головки в вертлужную впадину рану ушивали послойно. После оперативного вмешательства выполняли рентген-

контроль (рис. 3б). Системную антибактериальную терапию проводили всем лабораторным животным в первые трое суток путем внутримышечного введения раствора цефтриаксона (0.125 г).

Бедренные компоненты эндопротезов получали с использованием 3D-печати на принтере SLM Trumpf (Trumpf, Германия) из порошка титанового сплава Ti6Al4V ELI (Alloys International, США)



Рис. 2. Чашка Петри с колониями *S. aureus* на колумбийском агаре (кролик 3).

Fig. 2. Petri dish with *S. aureus* colonies on Colombian agar (rabbit 3).

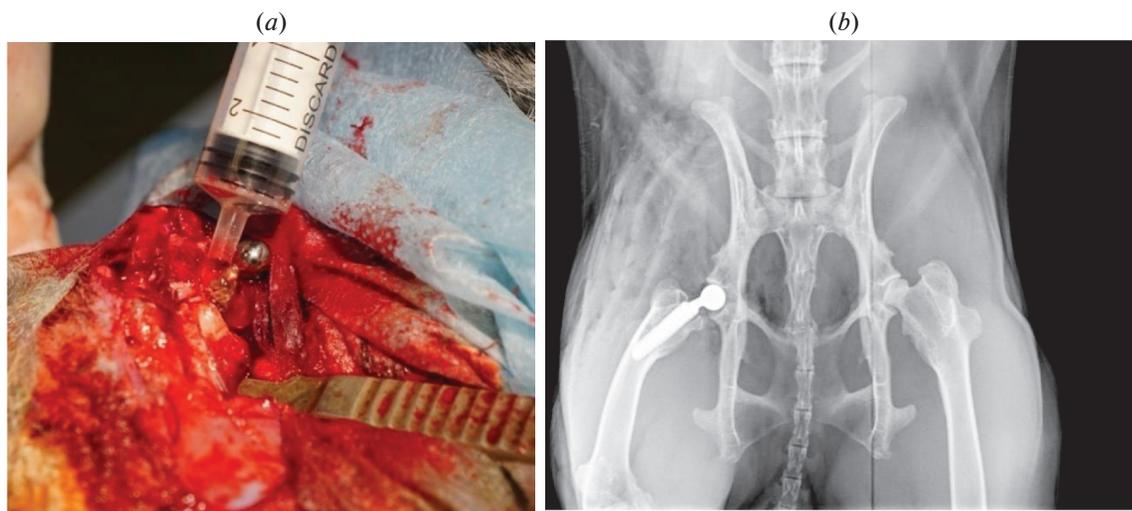


Рис. 3. Второй этап эксперимента – эндопротезирование тазобедренного сустава. Ирригация полости тазобедренного сустава гелем на основе ПВП с добавлением антибиотиков после выполненного эндопротезирования (а). Рентгенография после удаления спицы и эндопротезирования правого тазобедренного сустава (б).

Fig. 3. The second stage of the experiment is hip replacement. Irrigation of the hip joint cavity with polyvinylpyrrolidone-based gel with antibiotics after endoprosthesis (a). Radiogram after removal of the spoke and endoprosthesis of the right hip joint (b).

с химическим составом по стандарту ASTM F136 (<https://www.astm.org/f0136-13r21e01.html>).

Обработка эндопротеза и параартикулярных тканей антимикробным гелем

Кролики были разделены на 2 группы: опытную – с использованием экспериментального геля на этапе эндопротезирования тазобедренного сустава ($n = 3$) – и контрольную – без геля ($n = 3$). В опытной группе перед имплантацией гелем покрывали всю поверхность эндопротеза (рис. 3а), а также вводили его в костномозговой канал и в полость тазобедренного сустава перед ушиванием.

Животных выводили из опыта на 90 сут после операции путем внутривенного введения 1.0 г тиопентала натрия и забирали фрагменты тканей параартикулярно и из проксимального отдела бедренной кости для бактериологического и гистологического исследований.

Микробиологическое исследование

После удаления имплантаты (инфицированные спицы, эндопротезы) погружали в 10 мл физиологического раствора и обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин при 37°C. Посев соникационной жидкости выполняли на колумбийский агар, чашки Петри инкубировали 24 ч при 37°C. При наличии признаков бактериального роста культуру идентифицировали методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker (Bruker Daltonics, Германия) с использованием системы Flex-

Control и программного обеспечения MBT Compass 4.1, Score ≥ 2.0 .

Для определения бактериальной обсемененности полученные образцы тканевых биоптатов и бедренной кости взвешивали и гомогенизировали в 1 мл 0.9%-ного раствора NaCl. Гомогенаты титровали до разведения 10^7 и 100 мкл каждого разведения высевали в чашки на поверхность агара Мюллера–Хинтона (Oxoid, Великобритания) методом газона. Чашки с посевами инкубировали 24 ч при 37°C, подсчитывали число выросших колоний и оценивали обсемененность в расчете на 1 г образца. Идентификацию выросших колоний проводили с использованием технологии MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker (Bruker Daltonics) с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1, Score ≥ 2.0 .

Гистологическое исследование

Для гистологического анализа исследуемый материал фиксировали в 10%-ном забуференном формалине (pH 7.4), декальцинировали в 5%-ном растворе СофтиДек (“ЭргоПродакшн”, Россия), обезвоживали в этаноле в возрастающих концентрациях с использованием установки проводки материала Microm STR-120 (Micron Technology, США) и заливали в парафин, применяя заливочную станцию Histostar (Thermo Fisher Scientific, Германия). Срезы толщиной 5–7 мкм получали с помощью санного микротомы HM/340 E (Thermo Fisher Scientific). Окраску проводили альциановым синим, гематоксилином и эозином (Г-Э) по протоколам производителя (“Био-Витрум”, Россия) с исполь-

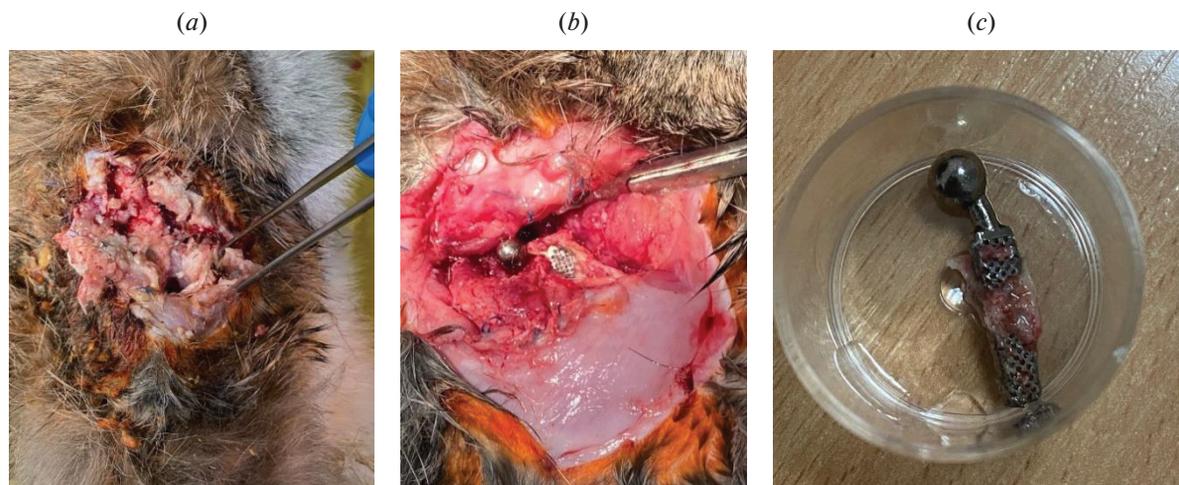


Рис. 4. Выведение кроликов из эксперимента. Параартикулярные ткани с патологическими грануляциями после удаления эндопротеза: контрольная группа (а); опытная группа (б). Оссеоинтеграция костной ткани вокруг ножки эндопротеза в опытной группе (с).

Fig. 4. Euthanasia of rabbits. Paraarticular tissues with pathological granulations after endoprosthesis removal: control group (a), experimental group (b). Osseointegration around the leg of the endoprosthesis stem in the experimental group (c).

зованием автоматического линейного стейнера Raffaello Advanced (DIAPATH, S.p.A., Италия). Микроскопическое исследование и фотодокументирование проводили с помощью светового цифрового регистратора Axio Scope.A1 с камерой Axio-Cam|Cс5 (Carl Zeiss, Германия). Подсчет клеточных популяций в составе инфильтрата в мягких тканях проводили в 10 полях зрения при увеличении в 400 раз. Результаты регистрировали в виде электронных таблиц MS Office Excel (2007).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных выполнена в программе STATISTICA 10.0. После проверки на нормальность и отклонения гипотезы о нормальном распределении для сравнения двух выборок на одноименных сроках использовали критерий Манна–Уитни (U -критерий). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все животные дожили до конца проведения эксперимента. В раннем послеоперационном периоде после санации очага инфекции на фоне проводимой антибактериальной терапии клинически отмечали отек оперированной конечности с тенденцией к уменьшению к 3–5 суткам без признаков повышения местной температуры тела, абсцедирования в области установки имплантата у всех животных опытной группы и двух контрольной. В одном случае в контрольной группе отмечено сохранение отека, формирование участков деструкции кожи и жидкостного компонента с

флуктуацией. Кролики контрольной группы были менее активны по сравнению с опытной.

На 90 сутки после одноэтапного эндопротезирования, при выведении животных из эксперимента, макроскопически регистрировали врастание ножки эндопротеза в костную ткань, причем вне зависимости от наличия признаков инфекционного процесса и принадлежности к группе. В связи с этим во всех случаях мы столкнулись с техническими трудностями при взятии образцов костной ткани для микробиологических и гистологических исследований (рис. 4с). Кроме того, стоит отметить, что у всех животных был выявлен вывих эндопротеза, что обусловлено анатомической особенностью вертлужной впадины (плоская) и высокой активностью животных.

В контрольной группе в одном случае было выявлено наличие серозно-гнояного слизистого налета на удаленном эндопротезе, а в параартикулярных тканях и прилежащих мышцах – многочисленные полости, заполненные жидкостным компонентом. В другом случае визуализировали патологические грануляции творожистой консистенции (рис. 4а), а также очаг деструкции костной ткани с рассасыванием кортикальной пластинки и образованием костных секвестров, то есть признаки, свидетельствующие о развитии хронического остеомиелита бедренной кости в области установки имплантата.

В опытной группе макроскопические признаки воспалительных изменений параартикулярных тканей отсутствовали (рис. 4б). В одном случае отмечалось образование рубцовой ткани. Макроскопически в параартикулярных мягких тканях,

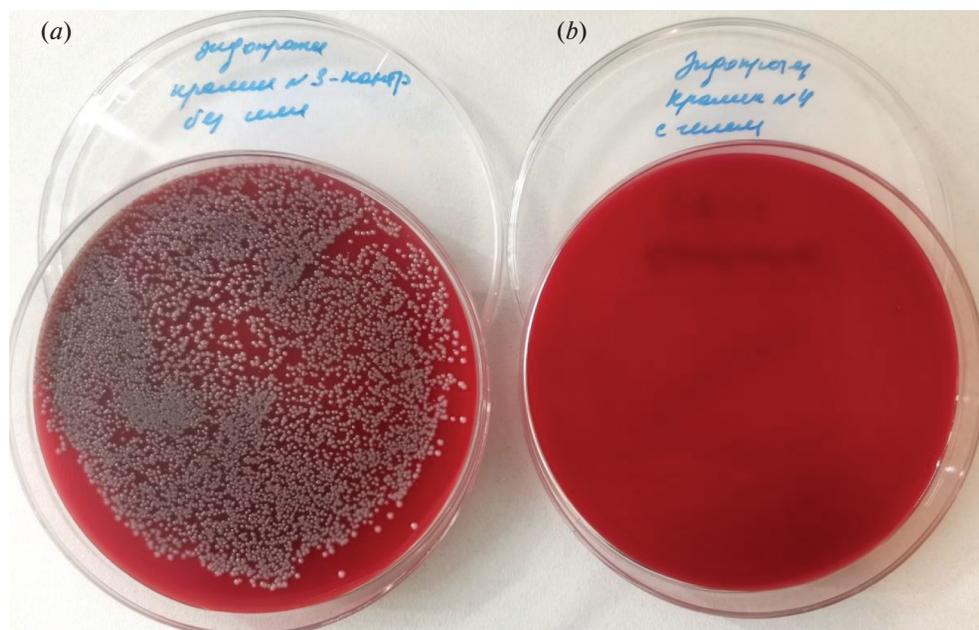


Рис. 5. Бактериологическое исследование удаленных имплантатов, 90 сутки эксперимента: колонии *S. aureus* в контрольной группе животных (а) и отсутствие бактерий в опытной группе (б).

Fig. 5. Microbiological analysis of the removed implants, 90 days of the experiment: colonies of *S. aureus* in the control group of animals (а), and absence of bacteria in the experimental group (б).

вокруг ножки эндопротеза и в костномозговом канале бедренной кости геля не обнаружено.

ков не обнаружены ни в одном из исследованных образцов (рис. 5).

Результаты микробиологического исследования

Микробиологическое исследование образцов мягких тканей и костей, а также удаленных бедренных компонентов выявило *S. aureus* во всех исследованных образцах одного из трех животных контрольной группы. Еще в одном случае зарегистрирован рост *S. aureus* только в тканевых биоптатах. В опытной группе клетки стафилокок-

Результаты гистологического исследования

На 90 сутки эксперимента у животных из группы контроля в межмышечных прослойках встречались очаговые разрастания соединительной ткани с небольшим количеством лимфоцитов, единичные четко очерченные скопления гранулоцитов. В одном случае это были микроабсцессы, в другом — скопления макрофагов, имеющих вид пенистых

Рис. 6. Морфологические изменения в параартикулярных тканях и костномозговом канале у кроликов экспериментальных групп. (а) — Гранулоцитарная инфильтрация в мягких тканях животных контрольной группы (×100; окрашивание гематоксилином-эозином, Г-Э). (б) — Выраженная гигантоклеточная реакция в мягких тканях животных опытной группы (×200, Г-Э). (с) — Макрофаги, содержащие гель в цитоплазме, окруженные свободно лежащим гелем, в мягких тканях животных опытной группы (×200, альциановый синий). (d) — Единичные гигантские многоядерные клетки; скопления макрофагов с гелем в цитоплазме, окруженные лимфоцитарной инфильтрацией (опытная группа, ×200, Г-Э). (e) — Разрастание соединительной ткани вокруг скоплений гигантских многоядерных клеток (опытная группа, ×100, окрашивание по Ван Гизону). (f) — Полное стихание воспаления в мягких тканях, очаговая лимфоцитарная инфильтрация в мягких тканях (опытная группа, ×100, Г-Э). (g) — Фрагмент эпифиза в опытной группе: полное стихание воспаления, формирующиеся нежные пучки соединительной ткани (×100, Г-Э). (h) — Инфильтрация костного мозга лейкоцитами у животных контрольной группы (×100, Г-Э).

Fig. 6. Morphological changes in paraarticular tissues and bone marrow canal in rabbits under study. (а) — Granulocytic infiltration in soft tissues of animals of the control group (×100, HE stain). (b) — A pronounced giant cell reaction in soft tissues of animals of the experimental group (×200, HE stain). (c) — Macrophages containing gel in cytoplasm surrounded by free-lying gel in soft tissues of animals of the experimental group (×200, alcyan blue). (d) — Single giant multinucleated cells; clusters of macrophages with gel in the cytoplasm surrounded by lymphocytic infiltration (experimental group; ×200, HE stain). (e) — Proliferation of connective tissue around clusters of giant multinucleated cells (experimental group; ×100, Van Gieson staining). (f) — Resolution of inflammation in soft tissues, focal lymphocytic infiltration in soft tissues (experimental group, ×100, HE stain). (g) — Fragment of epiphysis in the experimental group: complete subsidence of inflammation, forming delicate bundles of connective tissue (×100, HE stain). (h) — Infiltration of bone marrow with leukocytes in animals of the control group (×100, HE stain).

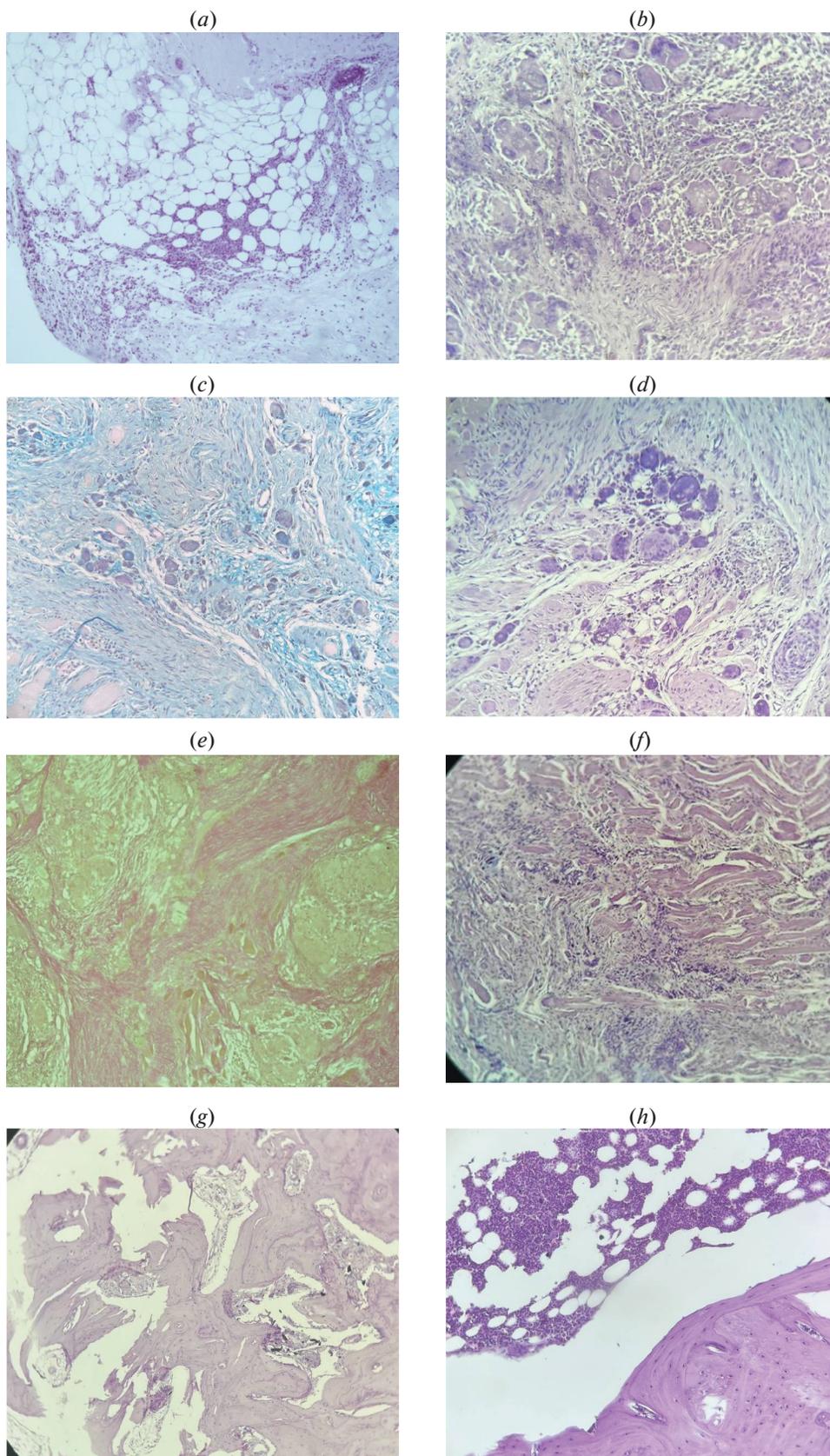


Таблица 1. Клеточный состав инфильтрата в мягких тканях животных
Table 1. The composition of cellular infiltrate in soft tissues of experimental animals

Клеточная популяция	Число клеток		U-критерий	p-value
	опытная группа	контрольная группа		
Многоядерные клетки	0 (0; 4)	0 (0; 0)	150.5	0.004
Лимфоциты	24 (25; 84)	27 (21; 43)	199.0	0.065
Нейтрофилы	0 (0; 1)	5 (0; 23)	162.0	0.009
Макрофаги	4 (3; 6)	4 (2; 8)	285.0	0.927

*Примечание: Результаты измерения представлены как медианное значение: Me (25; 75), – рассчитанное для животных каждой группы ($n = 3$) в эксперименте, длившемся 90 сут.

*Note: The results are presented as a median value, Me (25; 75), calculated for animals of each group ($n = 3$) in the 90-day experiment.

клеток, диффузно-очаговые скопления гранулоцитов, которые также находили в подкожно-жировой клетчатке вокруг некротизированных фрагментов костной ткани (рис. 6а) Встречались мелкие фрагменты тканевого детрита. В костномозговом канале адипоциты были инфильтрированы нейтрофильными гранулоцитами и лимфоцитами с примесью макрофагов. Со стороны эпифиза между костными балками формировались нежные прослойки соединительной ткани без воспалительной инфильтрации. Таким образом, на 90 сутки у животных контрольной группы в мягких тканях и костномозговом канале регистрировали картину стихающего гнойного воспаления с тенденцией к хронизации (рис. 6h).

В опытной группе морфологическая картина была полиморфной, что, по-видимому, связано с различной эффективностью удаления геля из тканей: В первом случае в мягких тканях вокруг бедренной кости обнаружены скопления гигантских многоядерных клеток. Их ядра, количество которых доходило до 30, а в среднем составляло 10, были ориентированы либо хаотично в цитоплазме, либо собраны в виде кольца. В цитоплазме этих гигантских многоядерных клеток встречались пузырьки, заполненные полупрозрачными слоистыми массами (рис. 6b), а между ними – разрастания соединительной ткани, выявляемые при окраске по Ван Гизону (рис. 6e), большое количество лимфоцитов и макрофагов со скоплениями плотных базофильных масс в цитоплазме. При окраске альциановым синим в гигантских многоядерных клетках и макрофагах детектировали коричневатое-розоватое содержимое вакуолей (рис. 6с).

Во втором случае выявлены морфологические признаки элиминации геля из мягких тканей: количество многоядерных гигантских клеток значительно меньше в сравнении с первым случаем, в них различимы единичные светлые вакуоли, однако присутствуют многочисленные макрофаги, цитоплазма которых базофильна (рис. 6d). Обнаружены очаги со скоплениями округлых полупрозрачных масс, представляющих собой полудегрированный гель, который окружают многоядерные ги-

гантские клетки с явлениями дегенерации: уменьшенный размер и размытые контуры. Обнаружены плазмциты и увеличенное количество лимфоцитов, появление фибробластов и пучков соединительной ткани. Таким образом, создается впечатление, что после неполноценного фагоцитоза геля в мягких тканях гигантскими многоядерными клетками и их гибели гель поступает обратно в ткани, куда для его фагоцитоза рекрутируются новые макрофаги.

В третьем случае у животного опытной группы воспалительная реакция практически отсутствовала: в цитоплазме в подкожно-жировой клетчатке выявлена группа гигантских многоядерных клеток с мелкими прозрачными вакуолями, небольшое количество лимфоцитов, слабо выраженный фиброз (рис. 6f). Во всех случаях воспаление в костномозговом канале было купировано, со стороны эпифиза между костными балками визуализировали формирующиеся нежные прослойки соединительной ткани без воспалительной инфильтрации (рис. 6g).

При сравнительном анализе состава клеточного инфильтрата в мягких тканях выявлено, что количество гигантских многоядерных клеток было значительно больше в опытной группе, а нейтрофильных гранулоцитов – как показателей активности инфекционного процесса – значительно больше в контрольной группе (табл. 1).

В настоящее время локальная антибактериальная терапия считается неотъемлемой частью комплексного лечения перипротезной инфекции. Колонизация имплантата бактериями в ряде случаев происходит непосредственно во время операции, а клинические проявления послеоперационной инфекции могут развиваться через недели, месяцы или даже годы – в зависимости от относительного баланса между патогенным потенциалом микроорганизма и иммунным статусом пациента. В связи с этим в последние десятилетия активно идет разработка технологий покрытия имплантата – для предотвращения бактериальной адгезии и образования биопленки, причем без

ущерба в отношении биосовместимости. Такие покрытия классифицируют в соответствии с их механизмом действия: 1) пассивная обработка/модификация поверхности имплантата (например, диоксид титана или полимерные покрытия), 2) активная обработка/модификация поверхности фармакологически активными бактерицидными агентами (антибиотики, антисептики, ионы металлов или другие органические и неорганические соединения), 3) локальные носители или покрытия (их наносят на имплантат во время операции, непосредственно перед установкой), которые обеспечивают высокую локальную концентрацию антибактериальных средств [24].

Однако в настоящее время большинство разработок находится в процессе доклинических испытаний, а те методы, которые используют в клинической практике, имеют ряд недостатков. Так, использование имплантатов с серебряным покрытием ограничено потенциальной токсичностью ионов серебра, а также высокой стоимостью технологии [25, 26]. Технология покрытия блокируемых интрамедуллярных гвоздей основана на матрице из полимолочной кислоты, обогащенной гентамицином. Ее клиническое использование ограничено, во-первых, отсутствием клинических испытаний; во-вторых, узкой применимостью — только для большеберцовой кости (не защищает даже винты и отверстия для фиксации) и для одного конкретного дизайна гвоздей; в-третьих, неэффективностью в отношении гентамицинрезистентных бактерий [27, 28].

Альтернативным перспективным направлением в локальной антибактериальной терапии могут быть гидрогели и матрицы, обладающие такими свойствами, как биодоступность и длительность выделения лекарственного препарата. Так, С. Higuera-Rueda с соавт. [29] на модели новозеландских белых кроликов (New Zealand white rabbits, $n = 21$) провели артротомию коленного сустава и установили инфицированный *S. aureus* титановый имплантат коленного сустава. Через две недели кроликам провели фиктивную операцию ($n = 6$), санацию с сохранением имплантата ($n = 6$) и санацию с введением геля PhotothermAA ($n = 9$). Используя технологию сканирующей электронной микроскопии, авторы продемонстрировали, что использование геля PhotothermAA препятствовало формированию микробной биопленки на поверхности имплантата, а также по сравнению с контрольной группой снижало обсемененность мягких тканей (по результатам бактериологического анализа) и некроз (по данным гистологического исследования).

Один из наиболее изучаемых полимеров для разработки гидрогелей — ПВП. Это нетоксичный, разлагаемый природный гидрофильный полимерный материал с отличной биосовместимостью и

высокой вязкоупругостью. Его широко используют в качестве основы для носителя лекарственных средств [30]. ПВП используют в качестве добавки в биоматериалы на основе коллагена, благодаря его отличной абсорбции и растворимости в воде, пленкообразующим свойствам, когезионной и комплексообразующей способностям и отсутствию генотоксичности [31]. М. Curlin и др. [32] показали, что введение крысам производных ПВП вместе с наночастицами серебра не вызывало негативных явлений. А. Цискарашвили и др. [21] в исследовании на животных моделях продемонстрировали, что использование гидрогеля на основе поливинилового спирта и антибиотиков не влияет на остеорепаративные процессы и позволяет купировать инфекционный воспалительный процесс без развития токсических эффектов в костной ткани.

Ранее А. Оганнисян с соавт. [14] исследовали образцы экспериментальных гелей на основе ПВП с разными вязкоупругими свойствами, в том числе с предварительной термообработкой, как и в нашем исследовании. Гели вводили крысам внутримышечно и выявили отсутствие воспалительной реакции в окружающих гель тканях. Кроме того, на протяжении всего эксперимента сохранялась характерная гистоархитектоника во всех паренхиматозных органах, что позволило авторам сделать заключение об отсутствии у тестируемых образцов гелей на основе ПВП токсического действия на мягкие ткани и организм в целом — вне зависимости от способа изготовления. О. Легонькова с соавт. [13] наносили гидрогель на основе ПВП между мышцами тазовой конечности крыс. В результате проведенного исследования была доказана интактность и отсутствие общетоксического действия гидрогеля на основе ПВП с антибиотиками в условиях *in vivo*. Авторами установлено пролонгированное действие гидрогеля, который обеспечивал высвобождение антибиотика в течение 4 мес, что позволило рассматривать его в качестве депо лекарственных средств. Эта гипотеза получила подтверждение в дальнейших исследованиях этой группы ученых. Так, С. Божкова с соавт. [23] показали, что обработка экспериментальными антимикробными гелями на основе ПВП инфицированных спиц перед их имплантацией в костномозговой канал предотвращала развитие острого остеомиелита у всех лабораторных животных.

В проведенном нами исследовании продемонстрировано купирование острого воспаления в мягких тканях и в костномозговом канале у животных основной группы — при сохранении его признаков в контрольной группе. Эти данные были подтверждены микробиологическим исследованием, результаты которого показали отсутствие *S. aureus* во всех опытных образцах. На основании полученных данных несомненно перспективность дальнейших исследований экспериментального антимикроб-

ного геля на основе ПВП для лечения ИАИ. Выявленная нами высокая эффективность купирования инфекции, несмотря на выполненное в ходе санации очага остеомиелита эндопротезирование и короткий курс антибактериальной терапии (3 сут), может быть обусловлена длительной антимикробной активностью экспериментального антимикробного геля. Аналогичные данные опубликовали Duygu Sütėkin & Güven [33]. Авторы утверждают, что при использовании ПВП как адьюванта существенно повышается биодоступность лекарственных средств и также, за счет способности ПВП к комплексообразованию, достигается их пролонгирующее действие. По-видимому, лучевая и/или термическая обработка водного раствора ПВП с гентамицином и фосфомицином приводит к сшивке молекул лекарственных препаратов с полимером, снижая тем самым скорость выведения активных веществ.

Особенностью морфологических изменений в зоне воздействия геля на основе ПВП была выраженная гигантоклеточная реакция в мягких тканях у 2 животных. Ранее, при исследовании этого геля на крысах, подобных изменений не регистрировали [13, 14]. Однако фагоцитоз гидрогеля макрофагами с формированием гигантоклеточной реакции описан ранее А. Цискарашвили с соавт. [21] при введении депо-систем на основе полимерного гидрогеля, насыщенных 300 мг цефазолина, в остеомиелитические дефекты кроликам. Авторы отмечали наличие в костномозговом канале гигантских многоядерных клеток, резорбирующих гель, на 15, 30 и 45 сутки на фоне затухающего хронического воспаления без признаков материал-ассоциированной резорбции костной ткани. В проведенном нами исследовании через 90 сут от начала эксперимента гигантские многоядерные клетки в костномозговом канале не были обнаружены.

Таким образом, применение экспериментального антимикробного полимерного гидрогеля позволило предупредить развитие хронического инфекционного процесса, несмотря на эндопротезирование, выполненное в ходе санации очага остеомиелита, и короткий курс антибактериальной терапии. Наличие выраженной гигантоклеточной реакции в мягких тканях, направленной на биодеградацию геля, требует дальнейшего изучения на более поздних сроках.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Божкова С.А., Тихилов Р.М., Артюх В.А. Перипротезная инфекция суставов как социально-экономическая проблема современной ортопедии. *Вестник Российской академии медицинских наук*, 2023, 78(6), 601–608. <https://doi.org/10.15690/vramn8370>
2. Voigt J., Mosier M., Darouiche R. Antibiotics and antiseptics for preventing infection in people receiving revision total hip and knee prostheses: a systematic review of randomized controlled trials. *BMC Infect. Dis.*, 2016, 16(1), 749. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-2063-4>
3. Lüdemann M., Munoz P., Wagner M., Malzahn U., Horas K., Heuschmann P., Rudert M. The effect of antiseptics in the prophylaxis of infection in orthopaedic surgery. *Z. Orthop. Unfall.*, 2018, 156(5), 567–573. <https://doi.org/10.1055/a-0608-5292>
4. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*, 2022, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
5. Masters E.A., Ricciardi B.F., Bentley K.L.M., Moriarty T.F., Schwarz E.M., Muthukrishnan G. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2022, 20(7), 385–400. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00686-0>
6. Qu H., Knabe C., Burke M., Radin S., Garino J., Schaer Th., Ducheyne P. Bactericidal micron-thin sol-gel films prevent pin tract and periprosthetic infection. *Mil. Med.*, 2014, 179(8 Suppl.), 29–33. <https://doi.org/10.7205/MILMED-D-13-00494>
7. Гордина Е.М., Божкова С.А. Бактериальные биопленки в ортопедии: проблема и возможные перспективы профилактики. *Российский медицинский журн.*, 2021, 8, 29–32.
8. Божкова С.А., Новокшионова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*, 2015, 21(3), 92–107. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2015-0-3-92-107>
9. Plate J.F., Zuskov A., Seyler T.M. Use of adjunct anti-septic agents in periprosthetic joint infections. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.*, 2021, 29(23), e1151–e1158. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-21-00154>
10. Mensah L.M., Love B.J. A meta-analysis of bone cement mediated antibiotic release: overkill, but a viable approach to eradicate osteomyelitis and other infections tied to open procedures. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 2021, 123, 111999. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111999>
11. Zeng J.C., Zeng Y.R., Li J., Feng W.J., Chen J.L., Ye P.C. Advances on treatment of periprosthetic infection and antibiotic delivery system after total hip arthroplasty. *Zhongguo Gu Shang*, 2020, 33(11), 1022–1026. <https://doi.org/10.12200/j.issn.1003-0034.2020.11.007>
12. 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. Свойства поливинилпирролидоновых гелей после стерилизующих воздействий. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 2019, 22(11), 19–24. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-03>
13. Легонькова О.А., Оганнисян А.С., Стаффорд В.В., Ахмедов Б.Г., Божкова С.А., Терехова Р.П. Экспери-

- ментальное исследование возможности применения полимерного геля как локального депо антимикробных препаратов. *Политравма*, 2022, 3, 67–73. <https://doi.org/10.24412/1819-1495-2022-3-67-73>
14. Оганнисян А.С., Стаффорд В.В., Легонькова О.А., Ахмедов Б.Г., Божкова С.А. Гистологические исследования ответной реакции организма животных на применение антимикробного геля локального воздействия. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 2021, 24(10), 36–41. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-10-00>
 15. Peng N., Zhang X., Xu H., Liu Y. Polymeric hydrogels with antimicrobial activity—a review of their progress. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*, 2019, 23(5), 17810–17823. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2019.23.003973>
 16. Mishra B., Upadhyay M., Reddy Adena S.K., Vasant B.G., Muthu M.S. Hydrogels: an introduction to a controlled drug delivery device, synthesis and application in drug delivery and tissue engineering. *Austin J. Biomed. Eng.*, 2017, 4(1), 1037.
 17. Чызу А., Томczykowa М., Плоска-Бржезинска М.Е. Hydrogels as potential nano-, micro- and macro-scale systems for controlled drug delivery. *Materials*, 2020, 13(1), 188. <https://doi.org/10.3390/ma13010188>
 18. Franco P., De Marco I. The use of poly (N-vinyl pyrrolidone) in the delivery of drugs: a review. *Polymers*, 2020, 12(5), 1114. <https://doi.org/10.3390/polym12051114>
 19. Teodorescu M., Bercea M., Morariu S. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: perspectives and challenges. *Biotechnol. Adv.*, 2019, 37(1), 109–131. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.008>
 20. Kurakula M., Koteswara Rao G.S.N. Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): as excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2020, (60), 102046. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046>
 21. Цискарашвили А.В., Меликова Р.Э., Волков А.В., Зайцева О.С., Пхакадзе Т.Я., Артюхов А.А., Соколова Н.В. *In vivo* эффективность полимерных гидрогелей, импрегнированных антибактериальным препаратом, при хроническом остеомиелите. *Генеральный ортопедии*, 2023, 29(5), 535–545. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2023-29-5-535-545>
 22. Легонькова О.А., Божкова С.А., Терехова Р.П., Ахмедов Б.А., Оганнисян А.С., Гордина Е.М., Винокурова Т.И., Чилилов А.М. Способ получения антимикробного геля. Патент RU2746709, бюллетень № 11, опубл. 19.04.2021.
 23. Божкова С.А., Конев В.А., Гордина Е.М., Нетьльско Г.И., Анисимова Л.О., Ахмедов Б.Г., Легонькова О.А., Оганнисян А.С. Оригинальные полимерные гели как средство предупреждения имплантат-ассоциированного остеомиелита в эксперименте. *Сибирское медицинское обозрение*, 2023, 3, 34–42. <https://doi.org/10.20333/25000136-2023-3-34-42>
 24. Романо К.Л., Божкова С.А., Артюх В., Романо Д., Цучия Х., Драго Л. Применение имплантатов с антибактериальным покрытием в ортопедии и травматологии: современное состояние проблемы. *Травматология и ортопедия России*, 2019, 25(4), 64–74. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2019-25-4-64-74>
 25. Mijndonckx K., Leys N., Mahillon J., Silver S., Van Houdt R. Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. *Biometals*, 2013, 26(4), 609–621. <https://doi.org/10.1007/s10534-013-9645-z>
 26. Trentinaglia M.T., Van Der Straeten C., Morelli I., Logoluso N., Drago L., Romanò C.L. Economic evaluation of antibacterial coatings on healthcare costs in first year following total joint arthroplasty. *J. Arthroplasty*, 2018, 33(6), 1656–1662. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2018.01.057>
 27. Metsemakers W.J., Reul M., Nijs S. The use of gentamicin-coated nails in complex open tibia fracture and revision cases: a retrospective analysis of a single centre case series and review of the literature. *Injury*, 2015, 46(12), 2433–2437. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2015.09.028>
 28. Schmidmaier G., Kerstan M., Schwabe P., Südkamp N., Raschke M. Clinical experiences in the use of a gentamicin-coated titanium nail in tibia fractures. *Injury*, 2017, 48(10), 2235–2241. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.07.008>
 29. Higuera-Rueda C.A., Piuzzi N.S., Milbrandt N.B., Tsai Y.H., Klika A.K., Samia A.C.S, Visperas A. The mark coventry award: PhotothermAA gel combined with debridement, antibiotics, and implant retention significantly decreases implant biofilm burden and soft-tissue infection in a rabbit model of knee periprosthetic joint infection. *J. Arthroplasty*, 2024, S0883-5403(24)00139-6. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2024.02.044>
 30. Chen J., Li X., Liu Q., Wu Y., Shu L., He Z., Ye. C, Ma M. Fabrication of multilayered electrospun poly(lactic-co-glycolic acid)/polyvinyl pyrrolidone + poly(ethylene oxide) scaffolds and biocompatibility evaluation. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2021, 109(8), 1468–1478. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37137>
 31. Tabasum S., Noreen A., Kanwal A., Zuber M., Anjum M.N., Zia K.M. Glycoproteins functionalized natural and synthetic polymers for prospective biomedical applications: a review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2017, 98, 748–776. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.078>
 32. Ćurlin M., Barbir R., Dabelić S., Ljubojević M., Goessler W., Micek V., Žuntar I., Pavić M., Božičević L., Pavičić I., Vinković Vrček I. Sex affects the response of Wistar rats to polyvinyl pyrrolidone (PVP)-coated silver nanoparticles in an oral 28 days repeated dose toxicity study. *Part. Fibre Toxicol.*, 2021, 18(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12989-021-00425-y>
 33. Duygu Sütekin S., Güven O. Application of radiation for the synthesis of poly(N-vinyl pyrrolidone) nanogels with controlled sizes from aqueous solutions. *Appl. Radiat. Isot.*, 2019, 145, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2018.12.028>

Antimicrobial Polymer Gel for Hip Joint Endoprosthetics: Efficacy in a Rabbit Model of Implant-Associated Infection

S. A. Bozhkova^a, V. N. Liventsov^{a, #}, Y. S. Korneva^{a, b, c}, O. A. Legon'kova^d, E. M. Gordina^a,
G. I. Netylko^a, M. Sh. Gadzhimagomedov^a, and B. G. Akhmedov^d

^aVreden National Medical Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, 195427 Russia

^bNorth-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, 191015 Russia

^cSmolensk State Medical University, Smolensk, 214018 Russia

^dNational Medical Research Center of Surgery named after A.V. Vishnevsky, Moscow, 117997 Russia

[#]e-mail: vnliventsov@yandex.ru

Abstract—The results of application of the original antimicrobial polymer hydrogel based on polyvinylpyrrolidone as a local depot of antibacterial drugs for the prevention of chronicization of the infectious process during hip joint prosthetics in implant-associated infection in rabbits are presented. At the first stage, intramedullary osteomyelitis of the animals' femur was modeled by implantation of the infected spoke. On the 14th day, a second surgical intervention with sanitation of the focus of infection, removal of the spoke and unipolar hip arthroplasty was performed. All rabbits were divided into 2 groups: experimental, with application of experimental gel at the stage of endoprosthesis ($n = 3$), and control, without gel ($n = 3$). After withdrawal from the experiment on the 90th day, a morphologic study with evaluation of changes in soft tissues and medullary canal, as well as microbiologic analysis of samples of soft tissues, bone structures, and the removed endoprosthesis stem were carried out. In the control group, *Staphylococcus aureus* contamination was detected in two out of three animals, while in the experimental group, the bacteria were not detected in any of the samples tested. A comparative analysis of the cellular infiltrate in soft tissues revealed that the amount of multinucleated giant cells was significantly higher in the experimental group, and the amount of neutrophilic granulocytes, as indicators of the activity of the infectious process, were significantly higher in the control group. Thus, the use of experimental antimicrobial polymeric hydrogel allowed us to prevent the development of chronic infectious process, despite the endoprosthesis was performed during the sanitation of the osteomyelitis focus and a short course of antibacterial therapy. The presence of a pronounced giant cell reaction in soft tissues requires further investigation, and at a later time after surgical intervention.

Keywords: endoprosthesis, antimicrobial gel, implant-associated infection, periprosthetic infection