УДК 616-001.17:616-77
DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501
Научная статья

Антибактериальное раневое покрытие на основе хитозана и повидона, полученное методом 3D-печати

К.П. Головко[1, 2], В.Е. Юдин[3], Д.В. Овчинников[1], И.А. Барсук[1], Е.М. Иванькова[1, 3], В.Н. Александров[1, 4], Ю.А. Нащекина[2, 5], Е.М. Гордина[6], С.А. Божкова[6]

[1] Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия;
[2] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;
[3] Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия;
[4] Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;
[5] Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;
[6] Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Целью настоящего исследования являлись разработка антимикробного раневого покрытия, изготовленного методом 3D-печати, на основе хитозана и поливинилпирролидона и последующее исследование его свойств *in vitro* и *in vivo* с целью улучшения исходов лечения глубоких ожогов.

Материалы и методы. Полученное покрытие состояло из 4 % гидрогеля среднемолекулярного хитозана с добавлением 1 % повидон-йода и дермальных фибробластов. После трансплантации область раны с покрытием защищалась наложением пленки «Фолидерм». Для формирования покрытия использовался экструзионный 3D-биопринтер, параметры печати которого были определены экспериментально. Полученные образцы первоначально детально изучены *in vitro*. Были выполнены сканирующая электронная микроскопия для оценки микроархитектуры покрытия и ее взаимодействия с дермальными фибробластами, колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток и анализа цитотоксичности, анализ антимикробной активности по отношению к эталонным штамам *Staphylococcus aureus*. Далее выполнен эксперимент по оценке свойств покрытия *in vivo*. Исследование проведено на 19 самцах крыс линии Wistar. В качестве наносимой травмы выбран глубокий термический контактный ожог (омертвление всех слоев кожи и подкожно-жировой ткани) площадью около 20 см^2. Животных разделили на три группы: опытную (с применением разработанного покрытия), сравнительную (с использованием традиционного и широко распространенного метода лечения мазью «Левомеколь») и контрольную (без лечения). Период наблюдения составил 38 сут.

Результаты исследования показали, что разработанное покрытие имеет высокую биосовместимость, атравматичность, эластичность и адгезию к ране. Использование хитозана позволило получить пористую структуру, причем поры образуют каналы, расположенные параллельно друг другу. Клетки в составе покрытия распластаны и хорошо распределены по поверхности матрицы (по стенкам пор). Добавление в состав полимера повидон-йода в концентрации 1 % позволило добиться высокой противомикробной активности без значимого влияния на активность включенных в состав клеток. Эксперимент с применением покрытия для лечения глубокого термического ожога показал, что разработанное покрытие оказывало положительное влияние на ход раневого процесса, заключающееся в более высокой скорости эпителизации и значительно меньшей частоте возникновения инфекционных осложнений на фоне других экспериментальных групп. При гистологическом исследовании опытная группа также превосходила контрольную и группу сравнения по качеству формируемой грануляционной ткани, числу новообразованных капилляров и выраженности местного воспалительного процесса.

Ключевые слова: повидон-йод; раневое покрытие; термический ожог; трехмерная биопечать; фибробласты; хитозан.

Как цитировать
Головко К.П., Юдин В.Е., Овчинников Д.В., Барсук И.А., Иванькова Е.М., Александров В.Н., Нащекина Ю.А., Гордина Е.М., Божкова С.А. Антибактериальное раневое покрытие на основе хитозана и повидона, полученное методом 3D-печати // Известия Российской военно-медицинской академии. 2024. Т. 43. № 1. С. 23–34. DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501

Рукопись получена: 05.02.2024 **Рукопись одобрена**: 21.02.2024 **Опубликована**: 29.03.2024

ЭКО • ВЕКТОР
Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2024

DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501
Research Article

Antibacterial wound coating based on chitosan and povidone, obtained by 3D printing

Konstantin P. Golovko[1, 2], Vladimir E. Yudin[3], Dmitriy V. Ovchinnikov[1], Il'ya A. Barsuk[1], Elena M. Ivan'kova[1, 3], Viktor N. Aleksandrov[1, 4], Yuliya A. Nashchekina[2, 5], Ekaterina M. Gordina[6], Svetlana A. Bozhkova[6]

[1] Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;
[2] Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;
[3] Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;
[4] Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;
[5] Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;
[6] Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

The objective of this study was to develop a method for forming an antimicrobial wound coating based on chitosan and polyvinylpyrrolidone using 3D printing technology.

The properties of the coating were then studied *in vitro* and *in vivo* to improve the treatment outcomes of deep burns. The resulting coating was a 4% hydrogel of medium molecular weight chitosan with the addition of 1% povidone iodine and dermal fibroblasts. After transplantation, the coating was covered with "Foliderm" film. The coating was formed using an extrusion 3D bioprinter, with printing parameters determined experimentally. The samples were first studied *in vitro*. Scanning electron microscopy was used to evaluate the coating's microarchitecture and its interaction with dermal fibroblasts. A colorimetric test was conducted to assess cell metabolic activity and cytotoxicity, and antimicrobial activity against reference strains of *Staphylococcus aureus* was analyzed. An experiment was conducted to evaluate the *in vivo* properties of the coating. Nineteen male Wistar rats were used in the study. An injury was inflicted that resulted in a deep thermal contact burn, affecting all layers of skin and subcutaneous fatty tissue, with an area of approximately 20 cm^2. The animals were divided into three groups: experimental (with the application of the developed coating), comparative (using the traditional and widespread method of treatment with Levomekol ointment) and control (without treatment).

The study lasted for 38 days and found that the developed coating is highly biocompatible, atraumatic, elastic, and adheres well to wounds. Chitosan was used to create a porous structure with channels running parallel to each other. The coating cells are evenly distributed on the surface of the matrix, specifically on the walls of the pores. The inclusion of 1% povidone iodine in the polymer resulted in high antimicrobial activity without significantly affecting the activity of the cells in the composition. The experiment on applying a coating for treating deep thermal burns demonstrated that the developed coating had a positive effect on the wound healing process. This effect was characterized by a higher rate of epithelization and a significantly lower incidence of infectious complications compared to other experimental groups. In the histological study, the experimental group outperformed the control and comparison groups in the quality of the formed granulation tissue, the number of newly formed capillaries, and the severity of the local inflammatory process.

Keywords: 3D bioprinting; chitosan; fibroblasts; povidone iodine; thermal burns; wound coating.

To cite this article
Golovko KP, Yudin VE, Ovchinnikov DV, Barsuk IA, Ivan'kova EM, Aleksandrov VN, Nashchekina YuA, Gordina EM, Bozhkova SA. Antibacterial wound coating based on chitosan and povidone, obtained by 3D printing. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2024;43(1):23–34. DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501

Received: 05.02.2024 **Accepted**: 21.02.2024 **Published**: 29.03.2024

ECO•VECTOR
The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 license
© Eco-Vector, 2024

DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501
研究文章

基于壳聚糖和聚维酮的3D打印抗菌创面涂层

Konstantin P. Golovko[1, 2], Vladimir E. Yudin[3], Dmitriy V. Ovchinnikov[1], Il'ya A. Barsuk[1], Elena M. Ivan'kova[1, 3], Viktor N. Aleksandrov[1, 4], Yuliya A. Nashchekina[2, 5], Ekaterina M. Gordina[6], Svetlana A. Bozhkova[6]

[1] Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;
[2] Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;
[3] Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;
[4] Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;
[5] Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;
[6] Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Saint Petersburg, Russia

简评

本研究旨在开发一种基于壳聚糖和聚乙烯吡咯烷酮的3D打印抗菌创面涂层，并并对其体外和体内特性进行后续研究，以改善深度烧伤的治疗效果。

材料与方法。所制备涂层由4%中分子量壳聚糖水凝胶、1%聚维酮碘和真皮成纤维细胞组成。移植后，使用Foliderm薄膜对涂层创面进行保护。涂层是用3D生物打印机制成，其打印参数通过实验确定。首先对获得的样品进行了详细的体外研究。通过扫描电子显微镜评估了涂层的微观结构及其与真皮成纤维细胞的相互作用，通过比色试验评估了细胞的代谢活性并对细胞毒性进行分析，对金黄色葡萄球菌参考株进行抗菌活性分析。接下来，我们进行了一项实验，以评估涂层在体内的特性。研究对象是19只雄性Wistar大鼠。选择面积约为20平方厘米的深度热接触烧伤（所有皮肤层和皮下脂肪组织坏死）作为致伤部位。动物被分为三组：实验组（使用开发的涂层）、对比组（使用传统且广泛使用的Levomecol软膏进行治疗）和对照组（未进行治疗）。观察期为38天。

研究结果表明，所研制的涂层具有很高的生物相容性、无创伤性、弹性和对伤口的粘附性。壳聚糖的使用使得多孔结构成为可能，孔隙形成相互平行的通道。涂层中的细胞分布在基质表面（沿孔壁）。在聚合物组合物中添加浓度为1%的聚维酮碘，可以获得较高的抗菌活性，而不会对组合物中包含的细胞的活性产生明显影响。应用该涂层治疗深度热烧伤的实验表明，所研制的涂层对伤口的愈合过程有积极的影响，与其他实验组相比，上皮化率更高，感染性并发症的发生率明显降低。在组织学检查中，实验组在肉芽组织形成的质量、新形成毛细血管的数量和局部炎症的严重程度方面也优于对照组和对比组。

关键词：聚维酮碘；伤口敷料；热烧伤；三维生物打印；成纤维细胞；壳聚糖。

To cite this article

Golovko KP, Yudin VE, Ovchinnikov DV, Barsuk IA, Ivan'kova EM, Aleksandrov VN, Nashchekina YuA, Gordina EM, Bozhkova SA. 基于壳聚糖和聚维酮的3D打印抗菌创面涂层. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2024;43(1):23–34. DOI: https://doi.org/10.17816/rmmar626501

收到: 05.02.2024 **接受**: 21.02.2024 **发布日期**: 29.03.2024

АКТУАЛЬНОСТЬ

Кожа — важный орган, который защищает все внутренние органы организма от внешних воздействий [1]. Под действием внешних факторов кожа может быть повреждена и ее защитные и барьерные функции будут нарушены. Для восстановления поврежденных участков кожи используют раневые покрытия, которые должны способствовать быстрой регенерации кожного покрова. Идеальное раневое покрытие должно обладать механической прочностью для удобства его переноса хирургами в область повреждения, гибкостью, эластичностью и хорошей адгезионной способностью для фиксации на поверхность раны, а также антибактериальными и регенеративными свойствами для предотвращения инфекционного зарождения и быстрого формирования нового эпителия [2]. На сегодняшний день в клинической практике представлено большое количество разновидностей раневых покрытий в виде пленок, волокон, гидрогелей и губок [3]. Гидрогели успешно используются во многих биомедицинских приложениях и действуют как заменитель внеклеточного матрикса, способствующего процессу заживления ран [4, 5]. Гидрогели, используемые в качестве раневого покрытия, должны быть неаллергенными и нетоксичными, сохранять влажную среду, способствовать эффективному кислородному обмену, защищать рану от микробных организмов и поглощать раневой экссудат. Хитозан представляет собой полукристаллический полисахарид, который обычно получают щелочным деацетилированием хитина и широко используется в качестве биомедицинского материала благодаря его отличительным свойствам, таким как биосовместимость, биоразлагаемость, нетоксичность, антимикробные и противогрибковые влияния [6]. Хитозан также способствует заживлению ран, поскольку имитирует гемостаз и ускоряет образование новых тканей [7, 8].

Для обработки ран различной этиологии в медицинской практике широкое распространение находит повидон, основным действующим компонентом которого является йод. Повидон-йод — это антисептический раствор, состоящий из комплекса повидона (поливинилпирролидона (ПВП)), йодистого водорода и элементарного йода, который подавляет рост и размножение микроорганизмов [9]. Свободный йод, медленно высвобождаемый из комплекса поливинилпирролидонового йода в растворе, вступает в реакцию с –SH и –OH группами аминокислот, убивая вирусы, грибы и бактерии путем йодирования липидов и окисления цитоплазматических и мембранных соединений [10]. ПВП — гидрофильный полимер, широко используемый в качестве носителя в фармацевтической и биомедицинской областях. На сегодняшний день разработано множество систем на основе ПВП для доставки различных активных компонентов как природного, так и синтетического происхождения [11–13].

С целью формирования раневых покрытий используют как классические методы получения матриц, такие как метод полива из раствора, метод выщелачивания, метод лиофильной сушки, так и современные методы аддитивных технологий, такие как электроспининг и 3D-печать [14, 15]. Конечно, классические методы привлекательнее своей простотой и доступностью по сравнению с электроспинингом и 3D-печатью. Однако с помощью классических методов формирования матриц сложно контролировать размер и распределение пор, а также общую архитектуру раневого покрытия. Способ получения методом 3D-печати раневых покрытий на основе хитозана с антибактериальными свойствами в последние годы все больше привлекает исследователей. Так, например, было доказано, что добавление пектина и лидокаина к хитозану позволяет получать методом 3D-печати биоразлагаемые термочувствительные раневые покрытия с хорошей эластичностью и способностью к набуханию и поглощению экссудата [16]. Эффективное раневое покрытие методом 3D-печати было получено на основе хитозана и альгината [17]. Морфологические исследования продемонстрировали пригодность и точность технологии 3D-печати растворов на основе хитозана и альгината для создания хорошо контролируемых гидрогелевых структур с механической стойкостью, подходящих для легкого обращения с такими матрицами.

Многочисленные исследования описывают использование ПВП в 3D-печати. Г. Колламаран с соавт. комбинировали ПВП с рамиприлом с целью дальнейшего формирования матриц с пролонгированным выходом лекарственного препарата [18]. Т. Оквуоаса с соавт. изготовили таблетки на основе ПВП с немедленным высвобождением одновременно двух лекарственных препаратов — дипирамидола и теофиллина [19]. В работе Ф. Дорес с соавт. ПВП использовали для печати таблеток, содержащих тиофиллин [20]. Таким образом, результаты анализа литературы свидетельствуют в пользу перспективности применения как хитозана, так и ПВП в качестве материала для формирования раневого покрытия с комплексными свойства. Оба данных полимера уже находят применение в медицинской практике, можно предположить, что формирование комплексного раневого покрытия позволит получить изделие, обладающее свойствами каждого из этих компонентов в отдельности.

Целью настоящего исследования являлась разработка способа формирования методом 3D-печати антимикробного раневого покрытия на основе хитозана и ПВП и последующее исследование его свойств *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приготовление раствора хитозана с повидон-йодом

Для приготовления 4 % раствора хитозан (Нерре, Германия) диспергировали в воде, перемешивая на лабораторной верхнеприводной мешалке со скоростью 1000 об./мин

на протяжении 30 мин при комнатной температуре. Далее добавляли раствор повидон-йода до 1 % и продолжали перемешивание в течение 5 мин. Затем добавляли уксусную кислоту (Реахим, Россия) до 2 % и продолжали перемешивание при тех же условиях еще 10 мин.

Печать

Для формирования объемных матриц использовали метод экструзионной 3D-биопечати с помощью 3D-биопринтера Rokit Dr. Invivo 4D (Южная Корея). Посредством пневматического диспенсера из шприца (через сопло) обеспечивалась подача чернил на подвижный печатный столик со стеклом. Управление принтером осуществлялось при помощи сенсорного экрана, расположенного на верхней части внешней стороны устройства, предустановленное программное обеспечение — Android OS с приложением CreatorK версии 1.68. Предварительное 3D-моделирование выполнялось в программе Autodesk Fusion 360 версии 2.0.1772, слайсинг модели в программе NewCreatorK версии 1.57.80.

В ходе печати из шприца объемом 10 мл чернила подавали на подвижный печатный столик с расположенным на нем стеклом. В результате получали трехмерные матрицы, которые затем переводили в нерастворимую форму путем обработки 10 % раствором гидрокарбоната натрия в течение 10 мин, а в последующем промывали дистиллированной водой. Образцы помещали в камеру лиофилизатора (Labconco Free Zone Triad 2.5L, США) и замораживали в течение 4 ч при температуре –30 °C. При пониженном давлении и температуре +5 °C в течение 24 ч удаляли растворитель.

Тест на цитотоксичность

Для исследования цитотоксичности (МТТ-тест) использовали клеточную линию человека DF1 — фибробласты кожи человека (Институт цитологии, Санкт-Петербург). Клетки культивируются в CO_2-инкубаторе при 37 °C в увлажненной атмосфере, содержащей воздух и 5 % CO_2 в питательной среде DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagl's medium; Gibco), содержащей 1 % незаменимых аминокислот, 10 % (об/об) термически инактивированную фетальную бычью сыворотку (FBS; HyClone, США), 1 % L-глутамина, 50 Ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина.

Для эксперимента 5×10^3 клеток/100 мкл/лунку высевали в 96 луночных планшетах и культивировали в течение 24 ч для их прикрепления. Через сутки среду сливали и в лунки добавляли полную питательную среду после инкубирования с напечатанными образцами в течение 3 дней. По окончании инкубационного периода (3 сут) среду удаляли и вносили 50 мкл/лунку среды DMEM/F12 с тетразолиевым красителем (МТТ) (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид) (0,1 мг/мл). Клетки инкубировали в CO_2-инкубаторе в течение 2 ч при 37 °C. После удаления надосадочной жидкости образованные метаболически жизнеспособными клетками кристаллы формазана растворяли в диметилсульфоксиде (50 мкл/лунку) и переносили в чистые лунки, а затем измеряли их оптическую плотность при 570 нм на планшетном спектрофотометре. Для расчета использовался анализ полиномальной регрессии в программе Microsoft Excel.

Сканирующая электронная микроскопия

С целью исследования ультраструктуры образцов использовался сканирующий электронный микроскоп CarlZeissSupra 55 VP фирмы CarlZeiss (Германия). Изображение получали при помощи программно-аппаратного комплекса Microcapture 2.2.

Тест на антимикробную активность

Для определения антимикробной активности в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC292123 (MSSA) и *Staphylococcus aureus* ATCC43300 (MRSA) предварительно были определены минимальные ингибирующие концентрации повидон-йода в отношении тестируемых штаммов стафилококков. Данный показатель для обеих культур составил MIC менее 1 %. Каждый образец (в трех повторениях) помещали в отдельную стерильную пробирку, содержащую 3 мл бульона Мюллера–Хинтона (МХБ). Затем каждый образец погружали в МХБ. В качестве положительного контроля в МХБ вносили 50 мкл взвеси бактерий. Отрицательным контролем служил стерильный МХБ. Пробирки инкубировали 24 ч при температуре 37 °C. Для количественной оценки антибактериальной активности образцов, измеряли оптическую плотность МХБ с бактериями через сутки инкубации в присутствии образцов. Из каждой пробирки в лунки 96-луночного плоскодонного планшета вносили по 200 мкл (в 4 повторах). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 600 нм (Spectrostar Nano, Германия).

Также определение антибактериальной активности образцов выполняли чашечным методом. Для этого бактериальную взвесь с оптической плотностью 0,5 по McF ($1 \times 10 \times 8$ КОЕ/мл) ватным тампоном распределяли по поверхности агара Мюллера–Хинтона (МХА) в чашках Петри. Каждый тестируемый образец размером 1,5 × 1,5 см вносили стерильным пинцетом на готовый бактериальный газон. Чашки инкубировали при 37 °C и через 18 ч выполняли оценку антимикробного действия образцов. При наличии зоны задержки роста вокруг образца результат считали положительным.

Оценка свойств покрытия *in vivo*

Экспериментальный этап исследования выполнен на базе Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета с участием сотрудников отдела медико-биологических исследований научно-исследовательского центра и кафедры термических поражений Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. В рамках работы использованы образцы биоинженерных конструкций в виде сетки округлой формы диаметром 50 мм, толщиной 3 и размером ячейки 1 мм.

Таблица 1. Экспериментальные группы животных
Table 1. Experimental animal groups

№ группы	Наименование группы	Количество крыс, гол.
1	Некрэктомия, конструкция с фибробластами, пленка «Фолидерм»	6
2	Некрэктомия, лечение с использованием повязок с мазью «Левомеколь»	6
3	Контрольная группа без лечения	7

Конструкция напечатана методом экструзионной трехмерной биопечати из биочернил, представленных 4 % гидрогелем хитозана с добавлением 1 % повидон-йода и дермальных фибробластов крысы в количестве 1×10^6 клеток в 1 мл. После трансплантации на рану конструкция была накрыта пленкой «Фолидерм», представляющей собой трекинговую мембрану из лавсана толщиной 12 мкм, имеющую сквозные поры высокой плотности субмикронных размеров (≈0,4 мкм). Эта мембрана обеспечивает водный и газовый обмен одновременно с защитой раневой поверхности от внешнего инфицирования.

В качестве наносимой травмы нами выбран термический контактный ожог IIIБ степени тяжести площадью около 20 см^2. Данное повреждение с обозначенной площадью и глубиной поражения по своей тяжести является весьма значительным, а разница между влиянием различных видов лечения на динамику раневого процесса будет достаточно показательной.

В исследовании задействовали 19 самцов крыс линии Wistar массой 250 ± 8 г. Животные в случайном порядке были разделены на 3 группы (табл. 1).

Первая группа являлась опытной, для лечения нанесенной травмы применялось разработанное покрытие. Вторая группа была сравнительной, лечение животных проводилось традиционным и широко распространенным для таких повреждений методом — перевязками с мазью «Левомеколь». Третья группа — контрольная, после нанесения ожога какое-либо лечение не проводилось.

Все манипуляции проводили под инъекционным наркозом (интраперитонеальная инъекция) смесью препаратов «Золетил®100» (25 мг/кг) и «Рометар» (10 мг/кг) [21]. Крысы после введения в наркоз фиксировалась на операционном столе. Место для нанесения ожога предварительно выбивалось и депилировалось. Всем биообъектам нанесли контактный ожог IIIБ степени площадью 20 см^2 с использованием оборудования и модели нанесения ожоговой травмы, описанной в соответствующем патенте [22].

Параметры нанесения ожога во всех группах были одинаковы. Третья группа крыс являлась контрольной и лечение в ней не проводилось. В 1-й и 2-й группах спустя 2 сут после нанесения травмы выполнялась некрэктомия поврежденных тканей до фасции с подшиванием краев раны к нижележащей мышечной ткани. После некрэктомии в первой (опытной) группе проводилась трансплантация биоинженерной конструкции с последующим наложением пленки «Фолидерм». Во второй группе накладывалась асептическая повязка с мазью «Левосин». В третьей (контрольной группе) некрэктомия не выполнялась. Перевязки в первых двух группах выполнялись через день с проведением оценки площади ран и веса животных [23]. Период проведения эксперимента составил 38 сут. Каждые 7 сут производилась панч-биопсия (диаметр 8 мм) из области раны для гистоморфологического исследования. Образец отбирался на всю глубину кожи до мышечного слоя.

Гистоморфологическое исследование

Оценка материала проводилась на гистологических срезах толщиной 5 мкм, выполненных на автоматическом ротационном микротоме в комплекте с системой переноса срезов STS HM 355S (Thermo Fisher Scientific, USA) и окрашенных гематоксилином и эозином по общепринятой методике. На препаратах оценивалось количество новообразованных капилляров в поле зрения и признаки воспаления.

Статистический анализ

Анализ полученных данных выполняли в программе GraphPad Prism 9.0 (США). Результаты оценивали методом одностороннего дисперсионного анализа ANOVA. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Структура раневого покрытия

В процессе разработки раневого покрытия было установлено, что оптимальными для наших задач будет использование биоинженерных конструкций в виде сетки, толщиной 3 мм и размером ячейки 2–3 мм. Конструкция напечатана методом экструзионной трехмерной биопечати из биочернил, представленных 4 % гидрогелем хитозана с добавлением 1 % повидон-йода и дермальных фибробластов крысы в количестве 1 × 106 клеток в 1 мл. Так же были подготовлены образцы без добавления повидон-йода для сравнения антибактериальных свойств. Полученные образцы представлены на рис. 1.

Исследования *in vitro*

Внешний вид фибробластов кожи человека, культивируемых в присутствии питательной среды после инкубирования с матрицами на основе хитозана и хитозана с повидон-йодом, представлен на рис. 2.

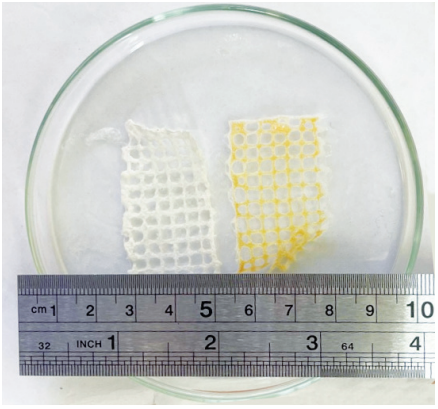


Рис. 1. Внешний вид матриц на основе хитозана (слева) и хитозана с повидон-йодом (справа)
Fig. 1. Appearance of matrices based on chitosan (left) and chitosan with povidone-iodine (right)

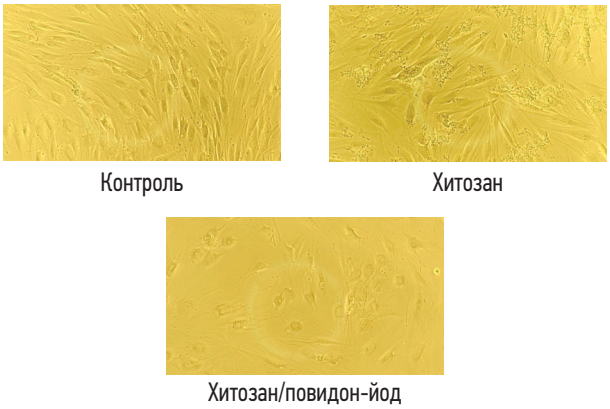


Рис. 2. Оптическая микроскопия фибробластов кожи человека
Fig. 2. Optical microscopy of human skin fibroblasts

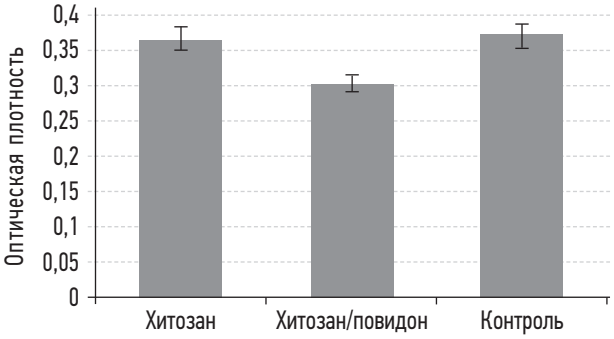
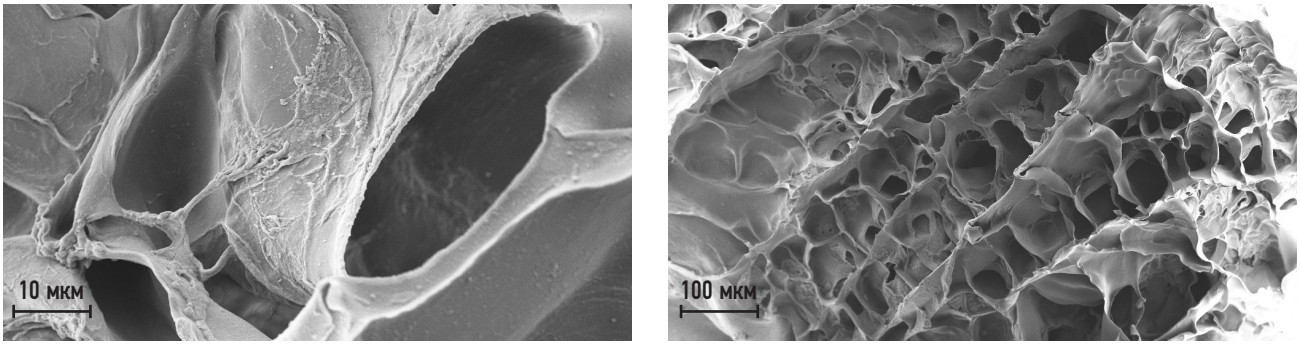


Рис. 3. МТТ тест фибробластов кожи человека
Fig. 3. MTT assay was performed on human skin fibroblasts



а *б*

Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия фибробластов кожи человека после 2 сут культивирования на матрице из хитозана с повидоном. Ув. ×5000 (*а*); ×500 (*б*)
Fig. 4. Scanning electron microscopy of human skin fibroblasts after 2 days of cultivation on a matrix of chitosan with povidone. Increased ×5000 (*а*); ×500 (*б*)

Отмечается, что морфология клеток в контрольном и опытных образцах (культивируемых в присутствии кондиционированной среды после инкубирования с образцами на основе хитозана и хитозана с повидон-йодом) была схожей. Они имели характерную для данного типа клеток вытянутую веретеновидную форму, что говорит об отсутствии цитотоксического воздействия образцов на клетки. Однако, в образцах со средой после инкубирования с хитозаном и повидон-йодом определялось меньшее количество клеток, по сравнению с контрольным образцом.

Для оценки жизнеспособности клеток использовали метод МТТ. Результаты представлены на рис. 3.

Полученные данные свидетельствуют, что добавление в состав покрытия повидона только незначительно уменьшает жизнеспособность клеток.

Для оценки взаимодействия фибробластов с матрицей клетки культивировали на лиофилизированной матрице в течение 2 сут, далее фиксировали глутаровым альдегидом и анализировали с помощью сканирующей электронной микроскопии. На полученных снимках (рис. 4)

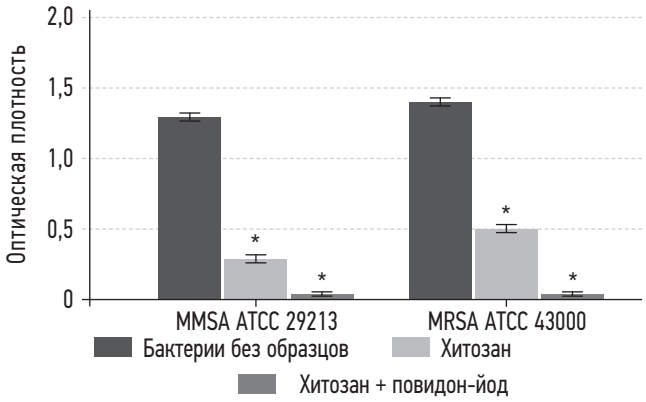


Рис. 5. Сравнение антибактериальной активности образцов в отношении контроля эталонных штаммов *S. aureus*. Измерение при длине волны 600 нм. * — $p < 0,05$

Fig. 5. Comparison of the antibacterial activity of samples in relation to control reference strains of *S. aureus*. Measurement at wavelength 600 nm. * — $p < 0.05$

Рис. 6. Пробирки через сутки инкубации MRSA в питательной среде. КК — контроль культуры бактерий (слева); 8 — питательная среда с MRSA и образцом из хитозана с повидон-йодом (справа)

Fig. 6. Test tubes after 24 hours of incubation of MRSA in a nutrient medium. QC—bacterial culture control (left); 8 — nutrient medium with MRSA and a sample of chitosan with vidon-iodine (right)

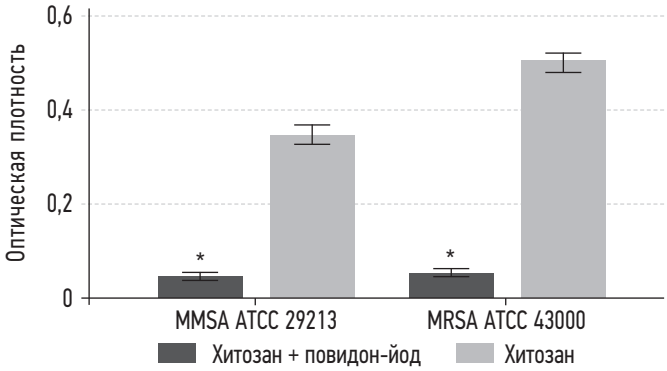


Рис. 7. Сравнение антибактериальной активности образцов из хитозана и с добавлением повидон-йода в отношении эталонных штаммов *S. aureus*.Измерение при длине волны 600 нм. * — $p < 0,05$

Fig. 7. Comparison of the antibacterial activity of samples from chitosan and with the addition of povidone-iodine against reference strains of *S. aureus*. Measurement at a wavelength of 600 nm. * — $p < 0.05$

визуализируется ультраструктурная картина исследуемой конструкции.

Следует отметить, что лиофилизованый материал на основе хитозана и повидона имеет пористую структуру, причем поры образуют каналы, расположенные параллельно друг другу. Диаметр пор варьируется от 20 до 90 мкм. Данная упорядоченная структура пор образуется вследствие самоорганизации раствора хитозана уже на стадии замораживания, при этом имеет место разделение фаз гомогенного раствора полимера [24, 25]. Также следует отметить, что клетки распластаны и хорошо распределены по поверхности матрицы (по стенкам пор). Результаты ультраструктурного анализа свидетельствуют о хорошей адгезии клеток на поверхности пор матриц на основе хитозана.

При оценке результатов антибактериальной активности было установлено, что средние значения оптической плотности инкубационных растворов с образцами были статистически значимо меньше, чем положительный контроль без внесения образцов (рис. 5). Явное проявление антибактериальных свойств визуализировалось даже не вооруженным взглядом (рис. 6).

Кроме того, установлено, что статистически значимо более активными были образцы с добавлением повидон-йода, чем образцы, состоящие лишь из хитозана (рис. 7).

При дополнительном сравнении антибактериальной активности чашечным методом, образцы, импрегнированные повидон-йодом, демонстрировали наличие антибактериальных свойств, в то время как образцы, состоящие только из хитозана, не обладали достаточной активностью для подавления роста стафилококков на плотной питательной среде (рис. 8).

Полученные результаты показали, что образцы на основе хитозана, импрегнированные повидон-йодом, характеризуются антибактериальным действием против эталонных штаммов стафилококков. При этом выявлены значимые различия в выраженности антибактериального действия между образцами на основе хитозана и импрегнированными повидон-йодом. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что внесение

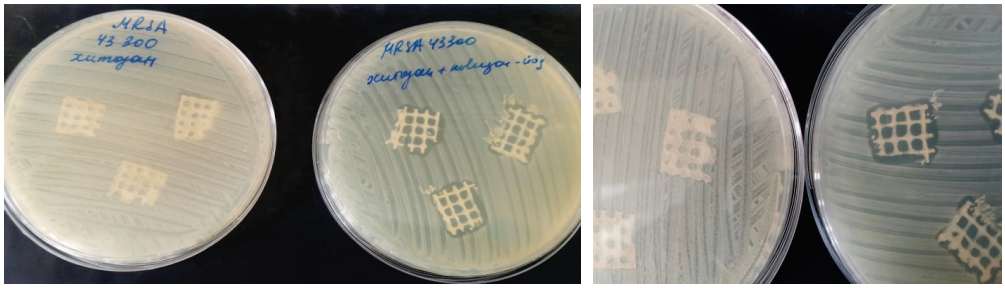


Рис. 8. Зона подавления роста MRSA вокруг образцов с повидон-йодом
Fig. 8. Zone of MRSA growth inhibition around povidone-iodine specimens

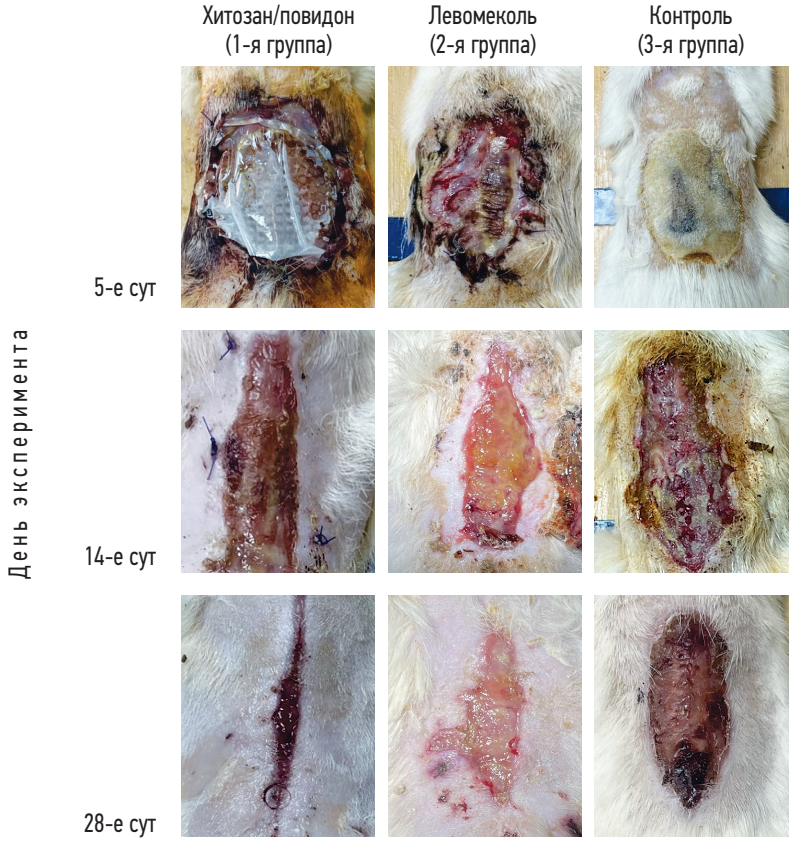


Рис. 9. Динамика раневого процесса в исследуемых группах
Fig. 9. Dynamics of the wound process in the study groups

дополнительного компонента повидон-йода потенцирует антибактериальное действие образцов на основе хитозана. Важным фактом оказалась чувствительность к действию образцов метициллин-резистентных штаммов. По-видимому, восприимчивость к тестируемым образцам не зависит от антибиотикопрофиля *S. aureus*, однако необходимы дальнейшие исследования на клинических изолятах данного вида, а также на представителях других токсономических групп, включая грамотрицательные патогены.

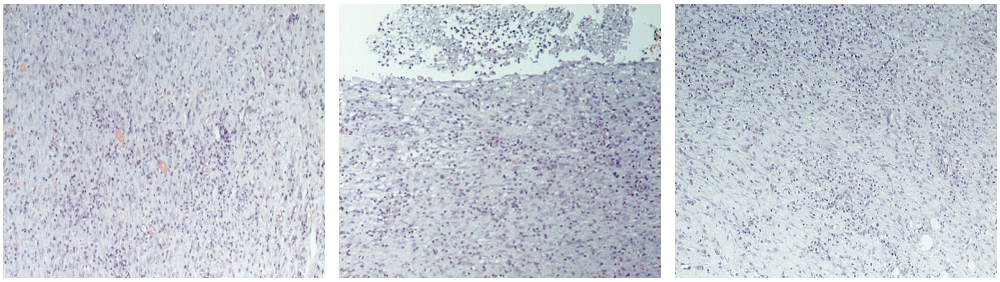
Исследования *in vivo*

Проведенные испытания биоинженерной конструкции в эксперименте *in vivo* показали положительное влияние на ход раневого процесса (рис. 9), заключающееся в более высокой скорости эпителизации и значительно меньшей частоте возникновения инфекционных осложнений, на фоне других экспериментальных групп.

При гистологическом исследовании опытная группа также превосходила контрольную и группу сравнения по качеству формируемой грануляционной ткани, числу новообразованных капилляров и выраженности местного воспалительного процесса (рис. 10).

Подробная характеристика каждой группы

В группе № 1 спустя 3 сут после некрэктомии и трансплантации биоинженерной конструкции с пленкой «Фолидерм» образовался тонкий эластичный струп, который отошел через 17 сут с момента нанесения травмы. Нагноения струпа в данной группе животных не отмечено. После отторжения струпа было установлено, что он не препятствовал эпителизации, а очистившаяся рана сокращалась



Хитозан/повидон (1-я группа) Левомеколь (2-я группа) Контроль (3-я группа)

Рис. 10. Морфологические препараты из области ран, отобранные на 21-е сут эксперимента (окраска гематоксилин-эозин, ув. ×100)
Fig. 10. Morphological preparations from the wound area, taken on the 21st day of the experiment (hematoxylin-eosin staining, ×100 magnification)

в размерах в среднем со скоростью 2,7 ± 0,2 %/сут. Ложе раны было представлено свежей грануляционной тканью, края которой к 38-м сут эксперимента полностью сомкнулись с образованием тонкого нормотрофического рубца. Количество капилляров в биоптате грануляционной ткани из раневого ложа на 21-е сут эксперимента равнялось 29 ± 4 в поле зрения.

В группе № 2 через 3 сут после некрэктомии также образовался струп, однако в сравнении со 1-й группой животных он был более грубым. Отторжение струпа произошло на 24-е сут с момента нанесения травмы. В 80 % случаев отмечено нагноение струпа. Ложе раны было покрыто грануляционной тканью с налетом фибрина, последняя была значительно грубее и толще в сравнении с грануляционной тканью у животных в 1-й группе. Средняя скорость сокращения раны составила 1,8 ± 0,3 %/сут. К 38-м сут средняя площадь ран составила 3,6 ± 0,8 см^2. Количество капилляров в биоптате грануляционной ткани из раневого ложа на 21-е сут эксперимента равнялось 16 ± 2 в поле зрения.

В 3-й группе отторжение струпа произошло на 33-и сут с момента нанесения травмы, струп был грубым, в 100 % случаев отмечалось его нагноение. После отхождения струпа рана была представлена грануляционной тканью с признаками фиброза толщиной до 3 мм. Средняя скорость сокращения раны составила 0,3 ± 0,04 %/сут. Количество капилляров в биоптате грануляционной ткани из раневого ложа на 21-е сут эксперимента равнялось 11 ± 2 в поле зрения.

ВЫВОДЫ

Использование природного биополимера хитозана в виде 4 % гидрогеля для создания конструкции и формирования конечного изделия в виде сетки позволило обеспечить конструкции такие свойства, как высокая биосовместимость, атравматичность, эластичность и адгезия к ране.

Добавление в состав полимера повидон-йода в концентрации 1 % позволило добиться высокой противомикробной активности биоинженерной конструкции, значимо не повлияв на жизнеспособность включенных в состав конструкции клеток. Также присутствие в составе повидон-йода обеспечивало снижение потенциала нейтрофильно-макрофагального клеточного звена в области раны, что проявлялось в меньшей выраженности воспалительной реакции при отторжении струпа и созревании грануляционной ткани.

Использование технологии трехмерной печати для изготовления биоинженерной конструкции обеспечивает поддержание асептических условий при создании конструкции, необходимой влажности, pH и температуры. При этом достигаются высокая скорость изготовления и повторяемость, кроме того, данная технология позволяет создавать конструкции любых форм, размеров и сложной пространственной архитектуры.

Подход, использованный для печати биоинженерный конструкции, обеспечил сохранение включенных в состав клеток и их дальнейшую высокую жизнеспособность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. К.П. Головко — разработка концепции и дизайна; В.Е. Юдин — организация работы по созданию биоинженерной конструкции; Д.В. Овчинников — проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации; И.А. Барсук — выполнение экспериментальной части работы с животными; Е.М. Иванькова — выполнение сканирующей электронной микроскопии; В.Н. Александров — обзор литературы; Ю.А. Нащекина — культуральная работа и проведение исследования по цитотоксичности; Е.М. Гордина, С.А. Божкова — разработка методики и проведение исследования на антимикробную активность покрытия.

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ. Выписка из протокола № 259 от 25 января 2022 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fan L., Yang H., Yang J., Hu J. Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 146. P. 427–434. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.03.002

2. Jayakumar R., Prabaharan M., Kumar P.S., et. al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications // Biotechnol. Adv. 2011. Vol. 29, N. 3. P. 322–337. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005

3. Rath G., Hussain T., Chauhan G., et. al. Development and characterization of cefazolin-loaded zinc oxide nanoparticles composite gelatin nanofiber mats for postoperative surgical wounds // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 2016. Vol. 58. P. 242–253. doi: 10.1016/j.msec.2015.08.050

4. Khorasani M.T., Joorabloo A., Adeli H., et. al. Design and optimization of process parameters of polyvinyl (alcohol)/chitosan/nano zinc oxide hydrogels as wound healing materials // Carbohydr. Polym. 2019. Vol. 207. P. 542–554. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.12.021

5. Supare V., Wadher K., Umekar M. Experimental design: Approaches and applications in development of pharmaceutical drug delivery system // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2021. Vol. 11, N. 4-S. P. 154–161. doi: 10.22270/jddt.v11i4-S.4908

6. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering // European Polymer Journal. 2013. Vol. 49, N. 4. P. 780–792. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009

7. Ahmed S., Ikram S. Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing // Achievements in the Life Sciences. 2016. Vol. 10, N. 1. P. 27–37. doi: 10.1016/j.als.2016.04.001

8. Cardoso A.M., de Oliveira E.G., Coradini K., et al. Chitosan hydrogels containing nanoencapsulated phenytoin for cutaneous use: Skin permeation/penetration and efficacy in wound healing // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 2019. Vol. 96. P. 205–217. doi: 10.1016/j.msec.2018.11.013

9. Морозов А.М., Беляк М.А. О возможности применения повидон-йода в хирургической практике // Амбулаторная хирургия. 2021. Т. 18, № 2. С. 68–76. doi: 10.21518/1995-1477-2021-18-2-68-76

10. Каторкин С.Е., Быстров С.А., Безбородов А.И., и др. Применение раствора повидон-йода при операциях на прямой кишке // РМЖ. Медицинское обозрение. 2018. № 2 (2). С. 52–55.

11. Franco P., De Marco I. The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review // Polymers (Basel). 2020. Vol. 12, N. 5. P. 1114. doi: 10.3390/polym12051114

12. De Lima G.G., de Lima D.W., de Oliveira M.J., et. al. Synthesis and in vivo behaviour of PVP/CMC/Agar hydrogel membranes impregnated with silver nanoparticles for wound healing applications // ACS Appl. Bio Mater. 2018. Vol. 1, N. 6. P. 1842–1852. doi: 10.1021/acsabm.8b00369

13. Ramalingam V., Varunkumar K., Ravikumar V., Rajaram R. Target delivery of doxorubicin tethered with PVP stabilized gold nanoparticles for effective treatment of lung cancer // Sci. Rep. 2018. Vol. 8, N. 1. P. 3815. doi: 10.1038/s41598-018-22172-5

14. Zhao P., Gu H., Mi H., et al. Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review // Frontiers of Mechanical Engineering. 2017. Vol. 13, N. 1. P. 107–119. doi: 10.1007/s11465-018-0496-8

15. Eltom A., Zhong G., Muhammad A. Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review // Advances in Materials Science and Engineering. 2019. Vol. 2019, N. 4. P. 1–13. doi: 10.1155/2019/3429527

16. Long J., Etxeberria A.E., Nand A.V., et. al. A 3D printed chitosan-pectin hydrogel wound dressing for lidocaine hydrochloride delivery // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 2019. Vol. 104. P. 109873. doi: 10.1016/j.msec.2019.109873

17. Bergonzi C., Bianchera A., Remaggi G., et. al. 3D Printed Chitosan/Alginate Hydrogels for the Controlled Release of Silver Sulfadiazine in Wound Healing Applications: Design, Characterization and Antimicrobial Activity // Micromachines (Basel). 2023. Vol. 14, N. 1. P. 137. doi: 10.3390/mi14010137

18. Kollamaram G., Croker D.M., Walker G.M., et al. Low temperature fused deposition modeling (FDM) 3D printing of thermolabile drugs // International Journal of Pharmaceutics. 2018. Vol. 545. N. 1. P. 144–152. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.04.055

19. Okwuosa T.C., Stefaniak D., Arafat B., et al. A Lower Temperature FDM 3D Printing for the Manufacture of Patient-Specific Immediate Release Tablets // Pharm. Res. 2016. Vol. 33, N. 11. P. 2704–2712. doi: 10.1007/s11095-016-1995-0

20. Dores F., Kuźmińska M., Soares C., et al. Temperature and solvent facilitated extrusion based 3D printing for pharmaceuticals // Eur. J. Pharm. Sci. 2020. Vol. 152. P. 105430. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105430

21. Рационализаторское предложение № 15307/2 от 07.02.2022. Глушаков Р.И., Кокорина А.А., Пюрвеев С.С. Способ инъекционного наркоза крыс и кроликов для проведения длительных операций в научных целях.

22. Патент РФ на изобретение № 2023101459/ 27.04.2023. Бюл. № 12. Барсук И.А., Головко К.П., Александров В.Н. Способ моделирования термических ожоговых ран различной степени тяжести у лабораторных животных.

23. Шарафутдинова И.Р., Мустафина З.З., Габитова А.Я., и др. Инновационные технологии в мониторинге скорости заживления ран // Международный студенческий научный вестник. 2018. № 4-1. С. 177–179. EDN: UPBTCG

24. Ivan'kova E.M., Dobrovolskaya I.P., Popryadukhin P.V., et al. In-situ cryo-SEM investigation of porous structure formation of chitosan sponges // Polymer Testing. 2016. Vol. 52. P. 41–45. doi: 10.1016/j.polymertesting.2016.03.018

25. Добровольская И.П., Юдин В.Е., Попрядухин П.В., Иванькова Е.М. Полимерные матрицы для тканевой инженерии. Монография. Санкт-Петербург: Издательско-полиграфическая ассоциация университетов России, 2016. 223 с.

REFERENCES

1. Fan L, Yang H, Yang J, Hu J. Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings. *Carbohydr Polym*. 2016;146:427–434. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.03.002

2. Jayakumar R, Prabaharan M, Kumar PS, et. al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv*. 2011;29(3):322–337. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005

3. Rath G, Hussain T, Chauhan G, et. al. Development and characterization of cefazolin-loaded zinc oxide nanoparticles composite gelatin nanofiber mats for postoperative surgical wounds. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016;58:242–253. doi: 10.1016/j.msec.2015.08.050

4. Khorasani MT, Joorabloo A, Adeli H, et. al. Design and optimization of process parameters of polyvinyl (alcohol)/chitosan/nano zinc oxide hydrogels as wound healing materials. *Carbohydr Polym*. 2019;207:542–554. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.12.021

5. Supare V, Wadher K, Umekar M. Experimental design: Approaches and applications in development of pharmaceutical drug delivery system. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021;11(4-S): 154–161. doi: 10.22270/jddt.v11i4-S.4908

6. Croisier F, Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal.* 2013;49(4):780–792. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009

7. Ahmed S, Ikram S. Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing. *Achievements in the Life Sciences*. 2016;10(1):27–37. doi: 10.1016/j.als.2016.04.001

8. Cardoso AM, de Oliveira EG, Coradini K, et al. Chitosan hydrogels containing nanoencapsulated phenytoin for cutaneous use: Skin permeation/penetration and efficacy in wound healing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;96:205–217. doi: 10.1016/j.msec.2018.11.013

9. Morozov AM, Belyak MA. On the possibility of using povidone-iodine in surgical practice. *Ambulatory Surgery.* 2021;18(2):68–76. (In Russ.) doi: 10.21518/1995-1477-2021-18-2-68-76

10. Katorkin SE, Bystrov SA, Bezborodov AI, et al. Primenenie rastvora povidon-joda pri operaciyah na pryamoj kishke. *RMJ. Medical Review.* 2018;(2(2)):52–55. (In Russ.)

11. Franco P, De Marco I. The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review. *Polymers (Basel).* 2020;12(5):1114. doi: 10.3390/polym12051114

12. De Lima GG, de Lima DW, de Oliveira MJ, et. al. Synthesis and in vivo behaviour of PVP/CMC/Agar hydrogel membranes impregnated with silver nanoparticles for wound healing applications. *ACS Appl Bio Mater.* 2018;1(6):1842–1852. doi: 10.1021/acsabm.8b00369

13. Ramalingam V, Varunkumar K, Ravikumar V, Rajaram R. Target delivery of doxorubicin tethered with PVP stabilized gold nanoparticles for effective treatment of lung cancer. *Sci Rep.* 2018;8(1):3815. doi: 10.1038/s41598-018-22172-5

14. Zhao P, Gu H, Mi H, et al. Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. *Frontiers of Mechanical Engineering*. 2017;13(1):107–119. doi: 10.1007/s11465-018-0496-8

15. Eltom A, Zhong G, Muhammad A. Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering.* 2019;2019(4):1–13. doi: 10.1155/2019/3429527

16. Long J, Etxeberria AE, Nand AV, et. al. A 3D printed chitosan-pectin hydrogel wound dressing for lidocaine hydrochloride delivery. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;104:109873. doi: 10.1016/j.msec.2019.109873

17. Bergonzi C, Bianchera A, Remaggi G, et. al. 3D Printed Chitosan/Alginate Hydrogels for the Controlled Release of Silver Sulfadiazine in Wound Healing Applications: Design, Characterization and Antimicrobial Activity. *Micromachines (Basel).* 2023;14(1):137. doi: 10.3390/mi14010137

18. Kollamaram G, Croker DM, Walker GM, et al. Low temperature fused deposition modeling (FDM) 3D printing of thermolabile drugs. *International Journal of Pharmaceutics.* 2018;545(1):144–152. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.04.055

19. Okwuosa TC, Stefaniak D, Arafat B, et al. A Lower Temperature FDM 3D Printing for the Manufacture of Patient-Specific Immediate Release Tablets. *Pharm Res.* 2016;33(11):2704–2712. doi: 10.1007/s11095-016-1995-0

20. Dores F, Kuźmińska M, Soares C, et al. Temperature and solvent facilitated extrusion based 3D printing for pharmaceuticals. *Eur J Pharm Sci.* 2020;152:105430. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105430

21. Ratsionalizatorskoe predlozheniye № 15307/2 ot 07.02.2022. Glushakov RI, Kokorina AA, Pyurveev SS. *Sposob in''ektsionnogo narkoza krys i krolikov dlya provedeniya dlitel'nykh operaciy v nauchnykh tselyakh.* (In Russ.)

22. Patent RUS № 2023101459/ 27.04.2023. Byul. № 12. Barsuk IA, Golovko KP, Aleksandrov VN. *Sposob modelirovaniya termicheskikh ozhogovykh ran razlichnoy stepeni tyazhesti u laboratornykh zhivotnykh.* (In Russ.)

23. Sharafutdinova IR, Mustafina ZZ, Gabitova AYa, et al. Iinnovative technologies in monitoring of rate of the adhesion of ras. European Student Scientific Journal. 2018;(4-1):177–179. (In Russ.) EDN: UPBTCG

24. Ivan'kova EM, Dobrovolskaya IP, Popryadukhin PV, et al. In-situ cryo-SEM investigation of porous structure formation of chitosan sponges. *Polymer Testing.* 2016;52:41–45. doi: 10.1016/j.polymertesting.2016.03.018

25. Dobrovolskaya IP, Yudin VE, Popryadukhin PV, Ivan'kova EM. *Polymer matrices for tissue engineering. Monograph.* Saint Petersburg: Izdatel'sko-poligraficheskaya assotsiatsiya universitetov Rossii Publ.; 2016. 223 p.

ОБ АВТОРАХ

Константин Петрович Головко, докт. мед. наук, доцент; ORCID: 0000-0002-1584-1748; eLibrary SPIN: 2299-6153; Scopus Author ID: 23993767500; Researcher ID: C-6865-2017

Владимир Евгеньевич Юдин, докт. физ.-мат. наук, профессор; ORCID: 0000-0002-5517-4767; eLibrary SPIN: 4996-7540, Scopus Author ID: 7103377720; Researcher ID: E-9878-2014; e-mail: yudin@hq.macro.ru

Дмитрий Валерьевич Овчинников, канд. мед. наук, доцент; ORCID: 0000-0001-8408-5301; eLibrary SPIN: 5437-3457; Scopus Author ID: 36185599800; Researcher ID: AGK-7796-2022

AUTHORS' INFO

Konstantin P. Golovko, MD, Dr. Sci. (Medicine), Associate Professor; ORCID: 0000-0002-1584-1748; eLibrary SPIN: 2299-6153; Scopus Author ID: 23993767500; Researcher ID: C-6865-2017

Vladimir E. Yudin, Dr. Sci. (Physical and Mathematical), Professor; ORCID: 0000-0002-5517-4767; eLibrary SPIN: 4996-7540; Scopus Author ID: 7103377720; Researcher ID: E-9878-2014; e-mail: yudin@hq.macro.ru

Dmitriy V. Ovchinnikov, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor; ORCID: 0000-0001-8408-5301; eLibrary SPIN: 5437-3457; Scopus Author ID: 36185599800; Researcher ID: AGK-7796-2022

ОБ АВТОРАХ

***Илья Александрович Барсук;** адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: 0000-0002-3728-9966; eLibrary SPIN: 3490-3129; Scopus Author ID: 57222383431; Researcher ID: GWM-9783-2022

Елена Михайловна Иванькова, канд. физ.-мат. наук; ORCID: 0000-0002-4823-0695; eLibrary SPIN: 7066-7361; Scopus Author ID: 58556536600; Researcher ID: I-4717-2018; e-mail: ivelen@mail.ru

Виктор Николаевич Александров, докт. мед. наук, профессор; ORCID: 0009-0001-9229-5293; eLibrary SPIN: 6904-1603; Scopus Author ID: 55266351900; e-mail: vnaleks9@yandex.ru

Юлия Александровна Нащекина, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-4371-7445; eLibrary SPIN: 1138-8088; Scopus Author ID: 56285797600; Researcher ID: AAN-3393–2020; e-mail: nashchekina.yu@mail.ru

Екатерина Михайловна Гордина, канд. мед. наук; ORCID: 0000-0003-2326-7413; eLibrary SPIN: 9647-8565; Scopus Author ID: 57045942000; Researcher ID: ABC-4794-2021: e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Светлана Анатольевна Божкова, докт. мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0002-2083-2424; eLibrary SPIN: 3086-3694; Scopus Author ID: 55531713700; Researcher ID: L-4594-2014; e-mail: info@rniito.ru

AUTHORS' INFO

***Il'ya A. Barsuk;** address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: 0000-0002-3728-9966; eLibrary SPIN: 3490-3129; Scopus Author ID: 57222383431; Researcher ID: GWM-9783-2022

Elena M. Ivan'kova, Cand. Sci. (Physical and Mathematical); ORCID: 0000-0002-4823-0695; eLibrary SPIN: 7066-7361; Scopus Author ID: 58556536600; Researcher ID: I-4717-2018; e-mail: ivelen@mail.ru

Viktor N. Alexandrov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor; ORCID: 0009-0001-9229-5293; eLibrary SPIN: 6904-1603; Scopus Author ID: 55266351900; e-mail: vnaleks9@yandex.ru

Yuliya A. Nashchekina, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-4371-7445; eLibrary SPIN: 1138-8088; Scopus Author ID: 56285797600; Researcher ID: AAN-3393-2020; e-mail: nashchekina.yu@mail.ru

Ekaterina M. Gordina, MD, Cand. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0003-2326-7413; eLibrary SPIN: 9647-8565; Scopus Author ID: 57045942000; Researcher ID: ABC-4794-2021: e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Svetlana A. Bozhkova, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor; ORCID: 0000-0002-2083-2424; eLibrary SPIN: 3086-3694; Scopus Author ID: 55531713700; Researcher ID: L-4594-2014; e-mail: info@rniito.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author