

Гений ортопедии. 2023;29(1):64-70.

Genij Ortopedii. 2023;29(1):64-70.

Научная статья

УДК [616.71-089-022:615.454.1-33]:612.08

<https://doi.org/10.18019/1028-4427-2023-29-1-64-70>



***In vitro* исследование динамики элюции антибактериальных препаратов, импрегнированных в матрицы на основе полимерного гидрогеля**

Р.Э. Меликова¹, А.В. Цискарашвили^{1,2}, А.А. Артюхов³, Н.В. Соколова³

¹ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Москва, Россия

² Научно-производственный центр БИООРТОТЕХ, Инновационный центр СКОЛКОВО, Москва, Россия

³ Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Арчил Важаевич Цискарашвили, armed05@mail.ru

Аннотация

Цель. Изучить динамику и длительность элюции антибактериальных препаратов из образцов на основе полимерного гидрогеля и ПММА. **Материалы и методы.** Сравнимые образцы, импрегнированные ванкомицином, рифампицином и цефазолином в различных концентрациях, помещали в фосфатно-солевой буфер, инкубировали при 37 °С. На 1, 3, 7, 14, 21 и 28 сутки проводили полную замену среды. Концентрацию препаратов в растворе и их профили высвобождения определяли спектрофотометрическим методом. Для статистического описания данных 5 параллельных исследований использовали медиану и 95 % ДИ. **Результаты.** На протяжении всего периода исследования концентрации всех протестированных антибиотиков, элюированных из полимерного гидрогеля, превышали концентрации, высвобожденные из ПММА, в среднем в 7 раз на 1-е сутки, в 15 раз – на 2-е и 3-и сутки, в 6,6 раза – на 7-е сутки, в 3 раза и более – в последующие дни наблюдения. Заметно отличалась и скорость релиза антибиотиков из объема гидрогелей. **Обсуждение.** Для всех гидрогелевых образцов релиз препаратов составил более 70 % от его общего количества, в отличие от ПММА, элюция которого не превышала 10 %. Несмотря на то, что, как и в случае костного цемента, наблюдался бёрст-релиз, и до 80 % антибиотика высвободилось в первые 5 суток наблюдений, концентрация элюированного препарата из гидрогелей былакратно выше и превышала МПК в течение всего периода наблюдения. Высвобождение противомикробного агента из гидрогелей обусловлено диффузией частиц из всего объема матрицы, что является важным преимуществом по сравнению с ПММА, потенциал которого ограничен поверхностным истощением. **Заключение.** На данном этапе нами показана возможность создания потенциальных депо-систем на основе ненасыщенных производных ПВС с контролируемым релизом антибиотиков, которые превосходят по своим характеристикам ПММА. **Ключевые слова:** элюция антибиотиков, релиз антибиотиков, контролируемое высвобождение антибиотиков, полимерный биodeградируемый гидрогель, костный цемент, полиметилметакрилат (ПММА), ортопедическая инфекция, *in vitro* исследование

Для цитирования: Меликова Р.Э., Цискарашвили А.В., Артюхов А.А., Соколова Н.В. *In vitro* исследование динамики элюции антибактериальных препаратов, импрегнированных в матрицы на основе полимерного гидрогеля. *Гений ортопедии*. 2023;29(1):64-70. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-1-64-70. EDN QXVPBW.

Original article

***In vitro* study of the dynamics in elution of antibacterial drugs impregnated into matrices based on polymer hydrogel**

R.E. Melikova¹, A.V. Tsiskarashvili^{1,2}, A.A. Artyukhov³, N.V. Sokorova³

¹ National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics n.a. N.N. Priorov, Moscow, Russian Federation

² BIOORTHOTECH Research and Production Center, SKOLKOVO Innovation Center, Moscow, Russian Federation

³ Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Archil V. Tsiskarashvili, armed05@mail.ru

Abstract

The objective was to explore the dynamics and duration of antibiotic elution in samples based on polymer hydrogel and PMMA. **Material and methods** The samples impregnated with vancomycin, rifampicin and cefazolin at various concentrations were placed in phosphate-buffered saline and incubated at 37 °C. The medium was completely replaced at 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days. Spectrophotometry was used to measure concentration of drugs in solution and the release profiles. The median and 95 % CI were employed to statistically describe data obtained from 5 parallel studies. **Results** Concentrations of the antibiotics eluted from the polymer hydrogel were 7 times greater than those released from PMMA on day 1; 15 times greater on days 2 and 3; 6.6 times greater on day 7 and 3 times or more in the following days of observation. The rate of antibiotic release from hydrogel volumes also differed markedly. **Discussion** The drug release was more than 70% of the total amount for all hydrogel samples in contrast to PMMA with elution not exceeding 10 %. Despite the fact that a burst release was observed with 80 % of the antibiotic released in the first 5 days as seen in the case of bone cement, the concentration of the drug eluted from hydrogels was several times higher and exceeded the MIC throughout the observation period. The release of the antimicrobial agent from hydrogels was caused by diffusion of the particles from the entire volume of the matrix demonstrating an important advantage over PMMA with the potential being limited by surface depletion. **Conclusion** At this point, we have shown the possibility of creating potential depot systems based on unsaturated PVA derivatives with controlled release of antibiotics and characteristics being superior to PMMA.

Keywords: antibiotic elution, antibiotic release, controlled release of antibiotics, biodegradable polymeric hydrogel, bone cement, polymethyl methacrylate (PMMA), orthopaedic infection, *in vitro* study

For citation: Melikova RE, Tsiskarashvili AV, Artyukhov AA, Sokorova NV. *In vitro* study of the dynamics in elution of antibacterial drugs impregnated into matrices based on polymer hydrogel. *Genij Ortopedii*. 2023;29(1):64-70. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-1-64-70

ВВЕДЕНИЕ

Ортопедическая инфекция, к которой относятся хронический остеомиелит и перипротезная инфекция суставов (ППИ), является разрушительным осложнением.

Лечение ППИ или хронического остеомиелита длинных костей различается в зависимости от их этиологии,

но общим является мультимодальность, подразумевающая тщательную хирургическую санацию, адекватное дренирование раны, местную и системную антибактериальную терапию [1, 2]. В качестве несущей депо-матрицы для местной доставки антибиотиков наиболее

широко в клинической практике используется костный цемент на основе полиметилметакрилата (ПММА) [3]. Однако ПММА, ввиду неполного высвобождения антибиотиков из объема матрицы [3, 4] (до 10 % от общего количества импрегнированного препарата) [5-7], связанного с его гидрофобной природой [1, 8, 9], не может считаться оптимальной системой доставки противомикробного агента. Так, различные исследования показали, что концентрации антибиотиков, высвобождаемых из костного цемента, превышают минимальные подавляющие концентрации (МПК) для большинства штаммов микроорганизмов только в первые несколько часов или дней после имплантации [2]. Таким образом, неконтролируемое высвобождение препарата из ПММА до настоящего времени остается одной из основных проблем в травматологии и ортопедии, которая не имеет единогласного решения [10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках исследовательской работы отделение последствий травм опорно-двигательной системы и костно-суставной инфекции ФГБУ НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова совместно с кафедрой биоматериалов РХТУ им. Д.И. Менделеева изготовило оптимальные локальные транспортные системы. Образцы производили из заранее приготовленного и очищенного материала на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта (ПВС) в виде водных растворов с концентрацией 8 г/100 мл. Модификация поливинилового спирта проводилась в соответствии с ранее разработанными методиками [11, 12].

Для получения образцов использовались растворы модифицированного ПВС, перекиси сульфат аммония (ПСА) (Aldrich, США) и соль Мора (СМ, сульфат аммония-железа (II)) (Химмед, Россия). К 5 мл раствора ПВС добавляли навеску антибактериального препарата в различных концентрациях, тщательно перемешивали до полного растворения агента. После чего полученный раствор переливали в трехкомпонентный шприц Plastipack BD объемом 20 мл с предварительно срезанным конус-наконечником. Последовательно добавляли 0,2 мл 8 % раствора соли Мора и 0,2 мл 10 % раствора ПСА, каждый раз тщательно перемешивая полученные растворы. По завершении процесса гелеобразования сформировывали цилиндры порядка 2 см и диаметром 19 мм.

Для получения образцов из ПММА использовали промышленно выпускаемый костный цемент (Synicem 1, Франция). К 5 г навески порошкообразного полимера добавляли различные концентрации антибиотиков, тщательно смешивали с целью лучшего распределения импрегнируемого препарата. Далее отверждение проводили согласно инструкции производителя (к навеске полиметилметакрилата добавляли жидкий мономер (2,5 мл)), перемешивали вручную в течение 30-50 с. После достижения пластичного состояния костного цемента с помощью шпателя его загружали в трехкомпонентный шприц Plastipack BD объемом 20 мл с предварительно срезанным конус-наконечником. Далее сформировывали образцы цилиндрической формы, равные по объему образцам на основе полимерного гидрогеля.

Идеальная депо-система должна обладать требуемыми фармакокинетическими свойствами, способными обеспечить в течение длительного периода времени элюцию антибиотиков, обеспечивающих их высокие концентрации, многократно превышающие МПК, чтобы стойко купировать инфекцию и предотвратить появление новых полирезистентных штаммов бактерий [4]. С этой целью проводятся многочисленные *in vitro* и *in vivo* исследования по поиску веществ в качестве добавки к костным цементам и по созданию новых локальных транспортных систем на основе биodeградируемых материалов [10].

Цель – изучить и сравнить скорость и длительность элюции антибактериальных препаратов из образцов на основе полимерного гидрогеля и костного цемента.

Для определения модуля сдвига гидрогелей применяли метод пенетрации сферического индентора. Измерение проводили следующим образом: шарик из нержавеющей стали радиусом 1,9 или 3,4 мм вдавливался в плоское верхнее основание образца, и после релаксации, занимающей, как правило, 10-15 с измерялась глубина вдавливания h (уравнение 1). Как правило, глубина вдавливания возрастала на протяжении нескольких первых секунд наблюдения, после чего становилась постоянной, что свидетельствовало о достижении равновесного значения деформации и измерении именно равновесного модуля упругости. При ступенчатом увеличении силы воздействия шарика на гель f , диапазон которой находился в интервале 0,0001-0,01 Н, определяли зависимость $h(f)$ (10-15 точек). Область деформаций h , в которой проводили измерения, не превышала $0,2R$.

Обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием решения контактной задачи теории упругости, согласно которой в рассматриваемом случае (гель значительно мягче, чем стальной шарик) соотношение между глубиной вдавливания шарика h и силой f должно иметь вид:

$$h = h_0 + bf^{2/3}, \quad (1)$$

где коэффициент b зависит от модуля сдвига G и радиуса шарика R , как $b = [3/(16GR^{1/2})]^{2/3}$.

Из значения наклона по формуле $G = 3/(16b^{3/2}R^{1/2})$ рассчитывали модуль сдвига. Как правило, разброс в значениях модуля для образцов из полимерного гидрогеля составлял в среднем $\pm 6\%$.

Для количественного определения биологически активных веществ в растворах использовался спектрофотометрический метод с получением зависимостей оптической плотности растворов от концентрации антибиотиков.

Изучение динамики выделения введенных антибактериальных препаратов из объема сравниваемых образцов проводили в статических условиях. Для этого цилиндрические образцы объемом 5 см^3 , содержащие антибиотик, помещали в 10-кратный избыток фосфатного буферного раствора и инкубировали при 37°C . Концентрации антибиотиков в растворе определяли при

помощи спектрофотометрии. Измеряли интенсивность поглощения при характерной длине волны по предварительно построенным для каждого препарата зависимостям интенсивности поглощения от концентрации. Замену физиологического раствора осуществляли через 1 час и на 1, 3, 7, 14, 21 и 28 сутки. Подобный дизайн эксперимента был выбран нами на основании изучения публикаций по данной тематике для возможности сопоставления полученных нами данных с результатами других авторов [1, 13]. Параллельно изучалось не менее 5 образцов каждого состава. Полученные данные ус-

реднялись. Для статистической обработки полученных экспериментальных данных – медианы (Me) и доверительного интервала (95 % ДИ) – использовали статистические функции программы Microsoft Excel.

Импregnацию противомикробных агентов для насыщения сравниваемых образцов несущих матриц производили рифампицином, цефазолином и ванкомицином. Выбор данных антибиотиков основан на их широкой доступности, распространенности применения в клинической практике и различных физико-химических свойствах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поскольку формирование образцов, как в случае полимерных гидрогелей, так и в случае костного цемента, происходило в результате свободно-радикальной полимеризации, вводимые на стадии формирования образца антибиотики могли влиять на данный процесс как вследствие передачи и обрыва кинетической и материальной цепи, так и вследствие взаимодействия с компонентами используемых окислительно-восстановительных иницирующих систем. В силу этого, на первом этапе работы проводилась оценка максимально возможной концентрации антибиотика в формируемых образцах.

Полученные данные выборочно приведены в таблице 1. Как можно видеть, в зависимости от вида максимальная концентрация антибиотика, при которой удавалось получить гидрогелевые полимерные системы с достаточными механическими свойствами (модуль упругости, близкий к модулю мягких тканей), изменялась от 60 до 80 мг/см³.

Аналогичные предварительные эксперименты проводились и для костного цемента. Здесь критерием являлся факт получения монолитного блока отвержденного цемента.

По истечении первых суток исследования концентрация антибиотиков, высвобожденных из большинства образцов на основе ПММА, независимо от типа лекарственного препарата и его загрузки в объем материала, не превышала 400 мг/л. В дальнейшем происходило заметное снижение количества выделяемого препарата. Так, в течение 2-х суток наблюдения скорость изменения концентрации препарата в случае ванкомицина была примерно в 6 раз, рифампицина – в 8,5 раз и цефазолина – в 7 раз ниже по сравнению с первыми сутками (табл. 2 и рис. 1, а; рис. 2, а; рис. 3 а). В дальнейшем снижение скорости выделения препарата происходило более плавно, однако спу-

стя 14 суток регистрируемые концентрации препаратов в элюате, как правило, были ниже МПК. В случае образцов на божденных препаратах на 1 сутки достигали 3000 мг/л и более (табл. 3). Снижение скорости выделения было не столь выраженным по сравнению с ПММА. Так, на 3-и сутки скорость элюции в среднем снизилась в случае ванкомицина в 2 раза, рифампицина и цефазолина – в 3,3 раза (рис. 1, б; рис. 2, б; рис. 3, б). В силу этого в течение всего периода наблюдения регистрировались концентрации препарата выше МПК.

Данные 5 параллельных исследований для образцов костного цемента представлены в виде средних значений (Me) и 95 % ДИ в таблице 2, для полимерного гидрогеля – в таблице 3.

Таблица 1

Влияние концентрации вводимого в композицию антибиотика на процесс формирования образцов

Антибиотик	Концентрация, мг/см ³	Гидрогель	Костный цемент
		Модуль упругости, кПа	Сшивка
Цефазолин	20	27,6 ± 1,5	да
	40	23,6 ± 2,6	да
	60	18,4 ± 1,8	да
	80	10,2 ± 2,7	да
	100	-	нет
Ванкомицин	20	28,3 ± 1,9	да
	40	25,6 ± 1,7	да
	60	22,4 ± 2,3	да
	80	15,3 ± 2,8	да
	100	7,3 ± 1,9	да
Рифампицин	20	23,2 ± 1,6	да
	40	20,2 ± 2,3	да
	60	18,6 ± 2,1	да
	80	9,7 ± 1,4	нет
	100	-	нет

Таблица 2

Концентрации антибиотиков, элюированных из образцов на основе ПММА в контрольные дни исследования. Данные представлены в виде Me (95 % ДИ)

Время, дни	Концентрация препарата, мг/л, Me (95 % ДИ)								
	Ванкомицин			Цефазолин			Рифампицин		
	40 мг/см ³	60 мг/см ³	80 мг/см ³	20 мг/см ³	40 мг/см ³	60 мг/см ³	20 мг/см ³	40 мг/см ³	60 мг/см ³
1	264 (255; 273)	373 (361; 385)	433 (414; 452)	111 (106; 116)	212 (202; 222)	294 (276; 312)	160 (158; 162)	282 (265; 299)	372 (342; 402)
3	79,6 (75,6; 83,6)	102,6 (95,2; 110)	129,4 (122,5; 136,3)	29 (28,5; 29,5)	52,4 (51,8; 53)	71 (66,8; 75,2)	29 (28,5; 29,5)	43,2 (40,5; 45,9)	67,4 (31,4; 103,4)
7	64,4 (63,3; 65,5)	84,6 (79,9; 89,3)	107,6 (99,8; 115,4)	26 (25; 27)	46,2 (44; 48,4)	61 (58,9; 63,1)	26 (24,9; 27,1)	38,6 (36,9; 40,3)	55,4 (53,1; 57,7)
14	44,2 (42; 46,4)	57 (53,8; 60,2)	74,2 (68; 80,4)	18,3 (18; 18,6)	30,2 (28,6; 31,8)	48,8 (46,8; 50,8)	23,5 (22,3; 24,7)	35,9 (34,3; 37,5)	50,2 (49; 51,4)
21	27,2 (25; 29,4)	34,6 (32,5; 36,7)	45 (42,7; 47,3)	10,8 (9,9; 11,7)	18,6 (17,7; 19,5)	27,1 (26; 28,2)	18,4 (17,5; 19,3)	26,6 (26; 27,2)	40,4 (38,8; 42)
28	18,8 (16,6; 21)	22,4 (20,7; 24,1)	31,6 (30,5; 32,7)	7,5 (7,2; 7,8)	13,4 (12,9; 13,9)	17,6 (17; 18,2)	12,8 (12,3; 13,3)	19,4 (18,8; 20)	26,7 (25,2; 28,2)

Таблица 3

Концентрации антибиотиков, элюированных из образцов на основе полимерных гидрогелей в контрольные дни исследования. Данные представлены в виде Ме (95 % ДИ)

Время, дни	Концентрация препарата, мг/л, Ме (95 % ДИ)								
	Ванкомицин			Цефазолин			Рифампицин		
	40 мг/см ³	60 мг/см ³	80 мг/см ³	20 мг/см ³	40 мг/см ³	60 мг/см ³	20 мг/см ³	40 мг/см ³	60 мг/см ³
1	1613 (1556;1670)	2491 (2391;2591)	3235 (3010;3460)	933 (868; 998)	1742 (1618;1866)	2224 (1954;2494)	936 (852; 1020)	1642 (1588;1696)	2354 (2227;2481)
3	1024 (962; 1086)	1501 (1435;1567)	2001 (1942;2060)	407 (388; 426)	833 (755; 911)	1060 (974; 1146)	408 (386; 430)	826 (783; 869)	1090 (1047;1133)
7	124 (115; 135)	176 (168; 185)	224 (214; 234)	184 (177; 191)	402 (388; 416)	634 (593; 675)	180 (164; 196)	395 (377; 413)	622 (586; 658)
14	61 (57; 65)	101 (97; 105)	132 (129; 135)	86 (80; 92)	142 (135; 149)	218 (204; 232)	88 (86; 90)	135 (130; 140)	224 (219; 229)
21	42 (40; 44)	63 (57; 69)	78 (75; 81)	68 (64; 72)	94 (91; 97)	127 (122; 132)	66 (64; 68)	89 (86; 92)	129 (126; 132)
28	32 (30; 34)	45 (42; 48)	54 (51; 57)	44 (41; 47)	66 (62; 70)	77 (75; 79)	43 (41; 45)	64 (62; 66)	78 (72; 84)

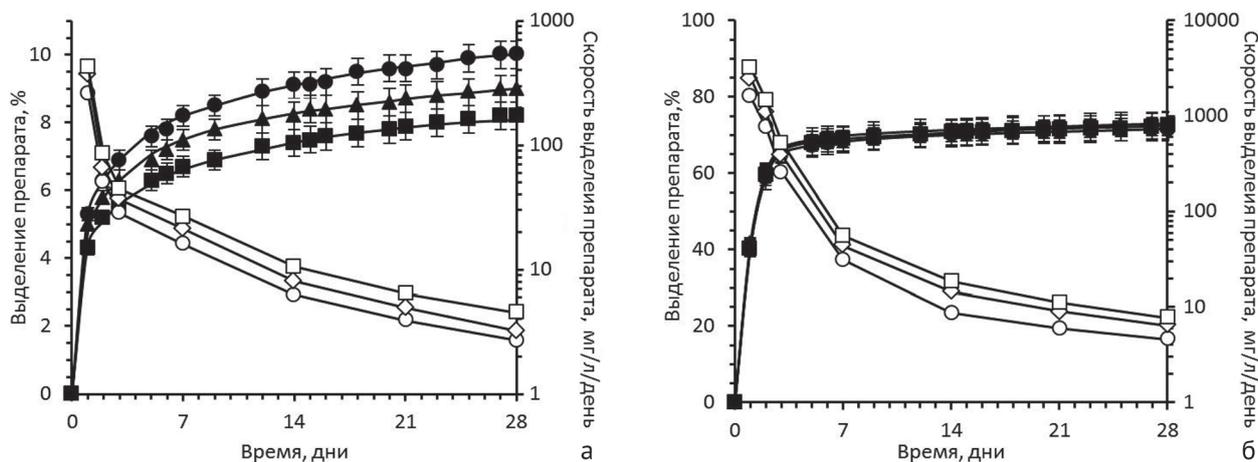


Рис. 1. Ванкомицин. Образцы на основе ПММА (А) и полимерного гидрогеля (Б). Количество выделенного препарата (●, ▲, ■) и динамика его выделения (○, ◇, □) при различной исходной концентрации препарата в образцах. Исходная концентрация препарата: (●, ○) – 40, (▲, ◇) – 60, (■, □) – 80 мг/см³

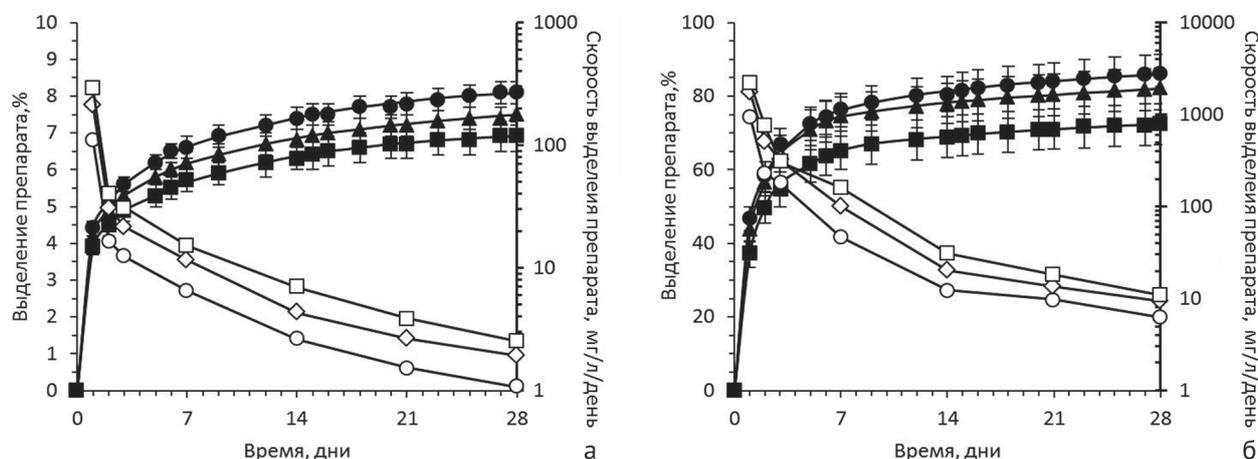


Рис. 2. Цефазолин. Образцы на основе ПММА (а) и полимерного гидрогеля (б). Количество выделенного препарата (●, ▲, ■) и динамика его выделения (○, ◇, □) при различной исходной концентрации препарата в образцах. Исходная концентрация препарата: (●, ○) – 20, (▲, ◇) – 40, (■, □) – 60 мг/см³

Общее количество препарата, выделившегося из объема образцов в период наблюдения, в случае ПММА составило для ванкомицина 8,2-10 %, рифампицина – 8,1-10,8 %, цефазолина – 6,9-8,1 % (рис. 1, а; рис. 2, а; рис. 3, а) от массы введенного на стадии формирования. Причем, до 80 % от этой небольшой высвобожденной доли пришлось на 4-5 сутки. Из гидрогелевых образцов выделилось до 73 % препарата в случае ванкомицина и до порядка

86 % – в случае рифампицина и цефазолина. Выделение большей части (до 90 %) произошло в первую неделю исследования.

На примере ванкомицина (рис. 4) продемонстрировано соотношение скоростей релиза препарата из полимерного гидрогеля и костного цемента при его различных концентрациях в зависимости от продолжительности инкубирования. Аналогичный вид это соотношение имело и для других препаратов.

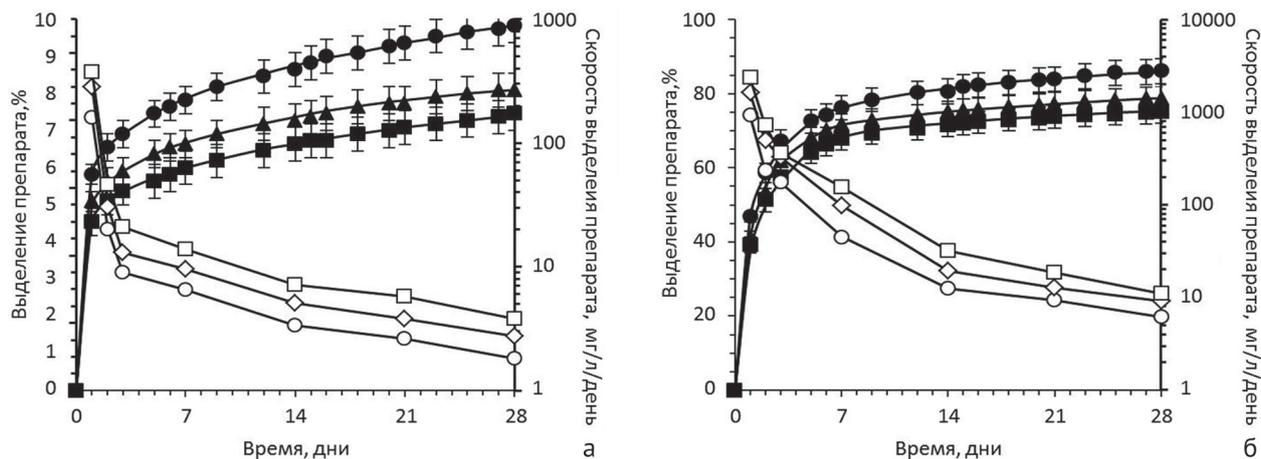


Рис. 3. Рифампицин. Образцы на основе ПММА (а) и полимерного гидрогеля (б). Количество выделенного препарата (●, ▲, ■) и динамика его выделения (○, ◇, □) при различной исходной концентрации препарата в образцах. Исходная концентрация препарата: (●, ○) – 20, (▲, ◇) – 40, (■, □) – 60 мг/см³

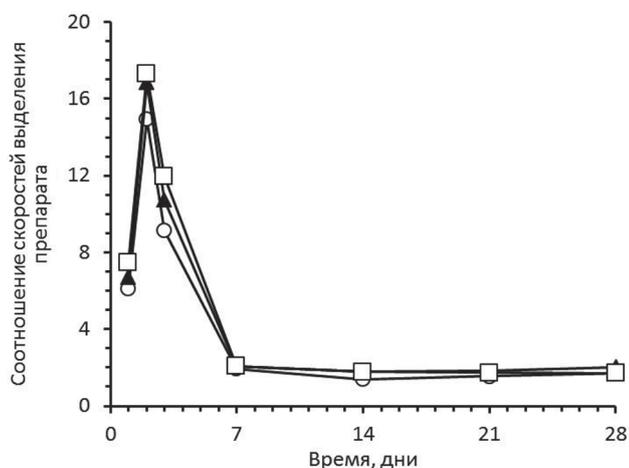


Рис. 4. Ванкомицин. Соотношение скоростей выделения включенного препарата из образцов на основе полимерного гидрогеля и ПММА при различной исходной концентрации препарата в образцах. Исходная концентрация препарата: (○) – 40, (▲) – 60, (□) – 80 мг/см³

ОБСУЖДЕНИЕ

В целом можно констатировать, что объемы препарата, которые могут быть введены в оба типа материалов, сопоставимы, хотя в случае костного цемента для изученных модельных лекарственных препаратов эти значения несколько выше. При этом данные, полученные для ПММА, соотносятся с данными ряда работ, посвященных элюционным характеристикам костных цементов, импрегнированных антибиотиком [4, 13, 14]. В них было продемонстрировано, что максимально допустимая концентрация импрегнированного противомикробного агента для большинства используемых веществ, как правило, не превышает 5 % от массы образца костного цемента.

Как можно видеть (см. табл. 2 и рис. 1-3), для всех использованных антибиотиков при их включении в образцы на основе ПММА, несмотря на их различные физико-химические свойства (молекулярная масса, растворимость в воде и др.), наблюдалась сходная картина. Имела место достаточно низкая доля релиза включенного препарата, не превышающая 10 %, то есть, имело место выделение препарата лишь из поверхностных слоев образца (порядка 2-3 мм) (см. рис. 1, а; рис. 2, а; рис. 3, а). Причем, элюция основной части (до 80 %) от этой небольшой доли выделенного препарата зафиксирована в течение первых нескольких дней. По про-

шествии 3-4 суток исследования скорость выделения антибиотика из костного цемента снижается на порядок и более, в силу чего для большинства использованных концентраций к 14 суткам наблюдения содержание элюированного препарата в растворе становится ниже МПК (см. табл. 2, рис. 1, а; рис. 2, а; рис. 3, а). Полученные нами результаты сопоставимы с данными других научных работ, изучавших высвобождение других видов антибиотиков из ПММА [5, 8, 9, 14-19]. К примеру, Moojen et al. наблюдали релиз субтерапевтических концентраций гентамицина и тобрамицина из спейсеров на основе ПММА уже через 1 неделю после имплантации [17]. Потенциал элюции различных групп антибактериальных препаратов из костного цемента, независимо от их физико-химических свойств, согласно изученным литературным источникам, колебался от 0,05 до 9,7 % [1, 4, 7, 8, 15, 20-22], а, по некоторым данным, достигал 17 % [5, 23].

Все протестированные антибиотики продемонстрировали двухфазное поведение элюции из ПММА, что является общей чертой для всех костных цементов [6, 7, 9, 10, 24], заключающейся во взрывном высвобождении [1, 19, 22, 25] (< 96 ч) [2] (бёрст-релиз) за счет элюции преимущественно поверхностно-связанных частиц препарата [15] (50-100 мкм от поверхно-

сти) [26, 27] с последующим кратковременным в 2-5 раз более медленным высвобождением противомикробного агента, которое обусловлено их затрудненной диффузией из объема матрицы [16, 21]. Известно, что релиз концентраций ниже МПК чреват появлением резистентных штаммов микроорганизмов [17, 21] и их способностью, ввиду гидрофобности цемента [25], обсеменять поверхность ПММА [6, 18, 26, 28] и формировать микробные биопленки [2, 24], что приводит к неоднократным рецидивам ортопедической инфекции [5, 10, 29] и, следовательно, неудовлетворительным исходам лечения. Увеличение же навески препарата, импрегнируемого в состав костного цемента, незначительно повышает релиз антибактериального препарата [24], поскольку способствует появлению в основном приповерхностных участков, что и объясняет биодоступность незначительного количества лекарственного агента при его многократной загрузке в объем ПММА [15].

Скорость релиза из ПММА как ванкомицина, характеризующегося сравнительно большой молекулярной массой [6, 10, 15], так и цефазолина [30] и рифампицина, имеющих низкую молекулярную массу, в нашем исследовании практически не отличалась. Аналогичные результаты описаны другими авторами при сравнении скоростей элюции ванкомицина из костного цемента с другими низкомолекулярными антибиотиками, в частности тобрамицином и гентамицином [15, 25, 31].

У гидрофильных полимерных гидрогелей наблюдалась несколько иная картина. Как видно из демонстрируемых зависимостей (см. табл. 3, рис. 1, б; рис. 2, б; рис. 3, б), для всех образцов этого типа имел место релиз на порядок большего количества импрегнированного препарата, достигающий 70 % и более. В силу этого, несмотря на то, что, как и в случае костного цемента, наблюдался бёрст-релиз, и большая часть препарата высвобождалась в первые 5-7 суток наблюдений, концентрация элюированного антибиотика из гидрогелей

былакратно выше и превышала МПК в течение всего периода наблюдения (табл. 3). Высвобождение такого объема противомикробного агента из гидрофильных гидрогелей обусловлено диффузией частиц из всего объема матрицы, что является важным преимуществом по сравнению с костным цементом, который обладает минимальным потенциалом релиза препарата из внутреннего объема материала [15, 25].

Также заметно отличалась и скорость элюции антибиотиков. Например, для ванкомицина в случае гидрогелей скорость выделения в первые сутки наблюдения была примерно в 7, вторые – в 17, третьи – в 12, и последующие дни в 2 раза выше по сравнению с образцами на основе костного цемента (рис. 4). Аналогичная картина наблюдалась и для других рассмотренных антибиотиков.

Как показано на рис. 1 и 2, динамика высвобождения цефазолина, молекула которого намного меньше, явным образом отличается от динамики выделения ванкомицина. При том, что модули упругости, и, следовательно, частота сшивки полимерной сетки для всех образцов отличаются незначительно (табл. 1). Из чего можно заключить, что растворимость и молекулярная масса препарата, импрегнированного в полимерный гидрогель, и динамика его десорбции взаимосвязаны в отличие от костного цемента. Так, J. Slane et al. сообщили о высвобождении всего 1,08 мг тобрамицина, молекулярная масса которогократно меньше цефазолина, из объема ПММА [25].

Исходя из полученных нами результатов, которые представлены в виде графиков для каждой группы антибиотиков в составе полимерного гидрогеля, можно сделать вывод, что взаимодействие между гидрогелевой матрицей и молекулами иммобилизуемых в ней веществ позволит посредством ее модификации создать системы с требуемым профилем выделения включаемого препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на данном этапе нами показана принципиальная возможность создания систем на основе ненасыщенных производных ПВС с контролируемым

релизом антибиотиков, которые потенциально превосходят по своим характеристикам используемые в настоящее время депо-системы на основе костного цемента.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lee SH, Tai CL, Chen SY, Chang CH, Chang YH, Hsieh PH. Elution and Mechanical Strength of Vancomycin-Loaded Bone Cement: In Vitro Study of the Influence of Brand Combination. *PLoS One*. 2016 Nov 17;11(11):e0166545. doi: 10.1371/journal.pone.0166545
2. van Vugt TAG, Arts JJ, Geurts JAP. Antibiotic-Loaded Polymethylmethacrylate Beads and Spacers in Treatment of Orthopedic Infections and the Role of Biofilm Formation. *Front Microbiol*. 2019 Jul 25;10:1626. doi: 10.3389/fmicb.2019.01626
3. Ferreira M, Rzhepishevskaya O, Grenho L, Malheiros D, Gonçalves L, Almeida AJ, Jordão L, Ribeiro IA, Ramstedt M, Gomes P, Bettencourt A. Levofloxacin-loaded bone cement delivery system: Highly effective against intracellular bacteria and Staphylococcus aureus biofilms. *Int J Pharm*. 2017 Oct 30;532(1):241-248. doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.08.089
4. Anagnostakos K, Meyer C. Antibiotic Elution from Hip and Knee Acrylic Bone Cement Spacers: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4657874. doi: 10.1155/2017/4657874
5. Bistolfi A, Massazza G, Verné E, Massè A, Deledda D, Ferraris S, Miola M, Galetto F, Crova M. Antibiotic-loaded cement in orthopedic surgery: a review. *ISRN Orthop*. 2011 Aug 7;2011:290851. doi: 10.5402/2011/290851
6. Luo S, Jiang T, Long L, Yang Y, Yang X, Luo L, Li J, Chen Z, Zou C, Luo S. A dual PMMA/calcium sulfate carrier of vancomycin is more effective than PMMA-vancomycin at inhibiting Staphylococcus aureus growth in vitro. *FEBS Open Bio*. 2020 Apr;10(4):552-560. doi: 10.1002/2211-5463.12809
7. Shen SC, Letchmanan K, Chow PS, Tan RBH. Antibiotic elution and mechanical property of TiO₂ nanotubes functionalized PMMA-based bone cements. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019 Mar;91:91-98. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.11.020
8. Bishop AR, Kim S, Squire MW, Rose WE, Ploeg HL. Vancomycin elution, activity and impact on mechanical properties when added to orthopedic bone cement. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018 Nov;87:80-86. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.06.033
9. Al Thaher Y, Yang L, Jones SA, Pemi S, Prokopovich P. LbL-assembled gentamicin delivery system for PMMA bone cements to prolong antimicrobial activity. *PLoS One*. 2018 Dec 13;13(12):e0207753. doi: 10.1371/journal.pone.0207753
10. Wall V, Nguyen TH, Nguyen N, Tran PA. Controlling Antibiotic Release from Polymethylmethacrylate Bone Cement. *Biomedicines*. 2021 Jan 1;9(1):26. doi: 10.3390/biomedicines9010026

11. Моргачёва А.А., Артюхов А.А., Панов А.В., Гордиенко М.Г., Штильман М.И., Межуев Я.О. Синтез поливинилового спирта с метакрилатными группами и гидрогелей на его основе. *Журнал прикладной химии*. 2015;88(4):617-621.
12. Моргачёва А.А., Артюхов А.А., Флегонтов П.А., Жаворонок Е.С., Штильман М.И., Панов А.В., Межуев Я.О. Новые метакрилатсодержащие производные гидроксиэтилкрахмала. *Журнал общей химии*. 2016;86(4):885-889. doi: 10.1134/S1070363216040204
13. Перецманас Е.О., Артюхов А.А., Штильман М.И., Есин И.В., Зубиков В.С., Герасимов И.А. Исследование элюционных характеристик противотуберкулезных препаратов, загруженных в образцы костного цемента. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2021;99(4):30-35. doi: 10.21292/2075-1230-2021-99-4-30-35
14. Gálvez-López R, Peña-Monje A, Antelo-Lorenzo R, Guardia-Olmedo J, Moliz J, Hernández-Quero J, Parra-Ruiz J. Elution kinetics, antimicrobial activity, and mechanical properties of 11 different antibiotic loaded acrylic bone cement. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014 Jan;78(1):70-74. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.09.014
15. Mensah LM, Love BJ. 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 Apr;123:111999. doi: 10.1016/j.msec.2021.111999
16. Gandomkarezadeh M, Mahboubi A, Moghimi HR. Release behavior, mechanical properties, and antibacterial activity of ciprofloxacin-loaded acrylic bone cement: a mechanistic study. *Drug Dev Ind Pharm*. 2020 Aug;46(8):1209-1218. doi: 10.1080/03639045.2020.1788058
17. Cyphert EL, Learn GD, Hurley SK, Lu CY, von Recum HA. An Additive to PMMA Bone Cement Enables Postimplantation Drug Refilling, Broadens Range of Compatible Antibiotics, and Prolongs Antimicrobial Therapy. *Adv Healthc Mater*. 2018 Nov;7(21):e1800812. doi: 10.1002/adhm.201800812
18. Swearingen MC, Granger JF, Sullivan A, Stoodley P. Elution of antibiotics from poly(methyl methacrylate) bone cement after extended implantation does not necessarily clear the infection despite susceptibility of the clinical isolates. *Pathog Dis*. 2016 Feb;74(1):ftv103. doi: 10.1093/femspd/ftv103
19. Funk GA, Menuey EM, Ensminger WP, Kilway KV, McIlff TE. Elution of rifampin and vancomycin from a weight-bearing silorane-based bone cement. *Bone Joint Res*. 2021 Apr;10(4):277-284. doi: 10.1302/2046-3758.104.BJR-2020-0430.R1
20. Li T, Fu L, Wang J, Shi Z. High dose of vancomycin plus gentamicin incorporated acrylic bone cement decreased the elution of vancomycin. *Infect Drug Resist*. 2019 Jul 18;12:2191-2199. doi: 10.2147/IDR.S203740
21. Neut D, Dijkstra RJ, Thompson JI, van der Mei HC, Busscher HJ. Antibacterial efficacy of a new gentamicin-coating for cementless prostheses compared to gentamicin-loaded bone cement. *J Orthop Res*. 2011 Nov;29(11):1654-1661. doi: 10.1002/jor.21433
22. Kim S, Bishop AR, Squire MW, Rose WE, Ploeg HL. Mechanical, elution, and antibacterial properties of simplex bone cement loaded with vancomycin. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 Mar;103:105588. doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.105588
23. Chen IC, Su CY, Nien WH, Huang TT, Huang CH, Lu YC, Chen YJ, Huang GC, Fang HW. Influence of Antibiotic-Loaded Acrylic Bone Cement Composition on Drug Release Behavior and Mechanism. *Polymers (Basel)*. 2021 Jul 8;13(14):2240. doi: 10.3390/polym13142240
24. Balato G, Roscetto E, Vollaro A, Galasso O, Gasparini G, Ascione T, Catania MR, Mariconda M. Bacterial biofilm formation is variably inhibited by different formulations of antibiotic-loaded bone cement in vitro. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2019 Jun;27(6):1943-1952. doi: 10.1007/s00167-018-5250-x
25. Slane J, Gietman B, Squire M. Antibiotic elution from acrylic bone cement loaded with high doses of tobramycin and vancomycin. *J Orthop Res*. 2018 Apr;36(4):1078-1085. doi: 10.1002/jor.23722
26. Dusan DH, Diamond SM, Knecht CS, Farrar NR, Peters CW, Howlin RP, Swearingen MC, Calhoun JH, Plaut RD, Nocera TM, Granger JF, Stoodley P. Effects of loading concentration, blood and synovial fluid on antibiotic release and anti-biofilm activity of bone cement beads. *J Control Release*. 2017 Feb 28;248:24-32. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.01.005
27. Schwarz EM, McLaren AC, Sulco TP, et al. Hospital for Special Surgery 2019 Biofilm Symposium Workgroup. Adjuvant antibiotic-loaded bone cement: Concerns with current use and research to make it work. *J Orthop Res*. 2021 Feb;39(2):227-239. doi: 10.1002/jor.24616
28. Божкова С.А., Новокшонова А.А., Конев В.А. Современные возможности локальной антибиотикотерапии перипротезной инфекции и остеомиелита (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2015;21(3):92-107. doi: 10.21823/2311-2905-2015-0-3-92-107
29. Cunha MT, Murça MA, Nigro S, Klautau GB, Salles MJC. In vitro antibacterial activity of bioactive glass S53P4 on multiresistant pathogens causing osteomyelitis and prosthetic joint infection. *BMC Infect Dis*. 2018 Apr 3;18(1):157. doi: 10.1186/s12879-018-3069-x
30. Paz E, Sanz-Ruiz P, Abenojar J, Vaquero-Martín J, Forriol F, Del Real JC. Evaluation of Elution and Mechanical Properties of High-Dose Antibiotic-Loaded Bone Cement: Comparative "In Vitro" Study of the Influence of Vancomycin and Cefazolin. *J Arthroplasty*. 2015 Aug;30(8):1423-1429. doi: 10.1016/j.arth.2015.02.040
31. Gasparini G, De Gori M, Calonego G, Della Bora T, Caroleo B, Galasso O. Drug elution from high-dose antibiotic-loaded acrylic cement: a comparative, in vitro study. *Orthopedics*. 2014 Nov;37(11):e999-1005. doi: 10.3928/01477447-20141023-57

Статья поступила в редакцию 22.07.2022; одобрена после рецензирования 11.08.2022; принята к публикации 16.12.2022.

The article was submitted 22.07.2022; approved after reviewing 11.08.2022; accepted for publication 16.12.2022.

Информация об авторах:

1. Регина Энверпашаевна Меликова – regina-melikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5283-7078>;
2. Арчил Важаевич Цискарашвили – кандидат медицинских наук, armed05@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1721-282X>;
3. Александр Анатольевич Артюхов – доктор химических наук, профессор, artiukhov.a.a@muctr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4005-1737>;
4. Наталья Вячеславовна Соколова – кандидат химических наук, maxr87@mail.ru.

Information about the authors:

1. Regina E. Melikova – M.D., regina-melikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5283-7078>;
2. Archil V. Tsiskarashvili – Candidate of Medical Sciences, armed05@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1721-282X>;
3. Alexander A. Artyukhov – Doctor of Chemistry Sciences, Professor, artiukhov.a.a@muctr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4005-1737>;
4. Natalia V. Sokorova – Candidate of Chemistry Sciences, maxr87@mail.ru.

Конфликт интересов. Не заявлен.

Источник финансирования. Авторы не получали финансирования на проведение данной работы.