

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-104-116

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПОЛИМЕРНОГО ГОМОГЕННОГО МНОГОКОМПОНЕНТНОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО МИМЕТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Р.Р. Абсальямова<sup>1</sup>, Н.В. Перова<sup>1, 2</sup>, Е.В. Арзуманянц<sup>2</sup>, С.В. Курсаков<sup>2</sup>, А.П. Малкова<sup>2</sup>,  
А.С. Пономарева<sup>3</sup>, В.И. Севастьянов<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup> АО «БИОМИР сервис», Краснознаменск, Московская область, Российская Федерация

<sup>2</sup> АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва,  
Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии  
и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва,  
Российская Федерация

На сегодняшний день разработка адгезивных ранозаживляющих покрытий с регенераторными свойствами для восстановления целостности поврежденных кожных покровов и слизистых оболочек относится к одному из приоритетных направлений. **Цель:** разработать гомогенный биополимерный многокомпонентный коллагенсодержащий гидрогель с адгезивными свойствами (БМКГ<sub>адг</sub>) и оценить его безопасность и эффективность. **Материалы и методы.** Исследовали стерильные образцы БМКГ<sub>адг</sub>. Определяли содержание летучих органических соединений (ЛОС) на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). Измерение осмоляльности БМКГ<sub>адг</sub> проводили с использованием анализатора жидкости «Osmometer K-7400» (Knauer, Германия). Величину pH определяли pH-метром pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия). Биологическая безопасность включала оценку цитотоксичности, пирогенности, опосредованной материалом, общетоксического (острая и субхроническая токсичность), сенсибилизирующего и раздражающего действия согласно ГОСТ ISO 10993. Цитотоксичность образцов *in vitro* определяли на культуре фибробластов мыши линии NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™). Эффективность БМКГ<sub>адг</sub> исследовали на модели термического ожога крыс. Проводили гистологические исследования ткани сердца, легких, тимуса, печени, селезенки, почки, надпочечника, гонад и коры головного мозга. **Результаты.** Содержание ЛОС не превышало допустимых значений. Осмоляльность составила  $334 \pm 20$  мОсм/кг, pH –  $7,18 \pm 0,11$  ед. pH. *In vitro* доказано отсутствие цитотоксичности. Исследование острой токсичности показало отсутствие токсического действия на организм лабораторных животных. Результаты субхронической токсичности показали, что воздействие БМКГ<sub>адг</sub> не приводит к интоксикации и гибели лабораторных животных. Ни у одного животного не было выявлено реакции гиперчувствительности замедленного типа, что говорит об отсутствии сенсибилизирующего действия. При внутрикожном введении БМКГ<sub>адг</sub> и его аппликации на слизистые оболочки стенки защечного мешка хомячка, вагины и прямой кишки кролика ответная реакция отсутствовала, индекс раздражения равен 0. При внутривенном введении кроликам экстракта из образцов БМКГ<sub>адг</sub> индивидуальное повышение температуры у всех трех кроликов не превышало 0,1 °С. Биомиметик БМКГ<sub>адг</sub> не вызывает пирогенного ответа. **Заключение.** На модели термического ожога показано, что нанесение адгезивного миметика внеклеточного матрикса (ВКМ) на пораженные участки кожи сразу после формирования ожога и ежедневно до полного заживления ран на  $15,3 \pm 7,7\%$  ускоряет заживление раны после ожоговой травмы у опытной группы (34,9 сут) по сравнению с ранами животных контрольной группы (40,2 сут) с надежностью  $p < 0,01$ ; способствует формированию полноценного эпителиального пласта; ускоряет восстановление исходной гистоструктуры поврежденной кожи. Полученные положительные результаты позволяют перейти к проведению исследований эффективности БМКГ<sub>адг</sub> на экспериментальных моделях поврежденных слизистых оболочек.

*Ключевые слова:* миметик внеклеточного матрикса, биополимерный многокомпонентный коллагенсодержащий гидрогель с адгезивными свойствами, ранозаживляющее покрытие, биологическая безопасность, эффективность.

**Для корреспонденции:** Абсальямова Регина Рауфовна. Адрес: 123557, Москва, Большой Тишинский переулок, д. 43/20, стр. 2. Тел. (909) 973-08-17. E-mail: regina-imbiit@mail.ru

**Corresponding author:** Regina Absalyamova. Address: 43/20, building 2, Bolshoy Tishinskiy Pereulok, Moscow, 123557, Russian Federation.

Phone: (909) 973-08-17. E-mail: regina-imbiit@mail.ru

# BIOLOGICAL SAFETY AND THERAPEUTIC EFFICACY OF A BIOPOLYMER-BASED MULTICOMPONENT HYDROGEL MIMICKING THE EXTRACELLULAR MATRIX

R.R. Absalyamova<sup>1</sup>, N.V. Perova<sup>1, 2</sup>, E.V. Arzumanyants<sup>2</sup>, S.V. Kursakov<sup>2</sup>, A.P. Malkova<sup>2</sup>, A.S. Ponomareva<sup>3</sup>, V.I. Sevastianov<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup> Biomir Service, Krasnoznamensk, Moscow Oblast, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

**Background.** The development of adhesive wound dressings with regenerative properties for restoring the integrity of damaged skin and mucous membranes is currently a priority area in regenerative medicine and tissue engineering. **Objective:** to develop a homogeneous, multicomponent collagen-based biopolymer adhesive hydrogel (MCBAH) and to evaluate its safety and efficacy. **Materials and methods.** Sterile samples of MCBAH were analyzed. The content of volatile organic compounds (VOCs) was determined using a Chromatec-Crystal 5000 gas chromatograph (Chromatec SKB CJSC, Russia). Osmolarity was measured using the Osmometer K-7400 liquid analyzer (Knauer, Germany), and pH was determined with the pH-150MI pH meter (Izmeritel'naya Tekhnika LLC, Russia). Biological safety was assessed in accordance with GOST ISO 10993 and included evaluation of cytotoxicity, pyrogenicity, material-mediated effects, general toxicity (acute and subchronic), as well as sensitizing and irritant effects. *In vitro* cytotoxicity was assessed using cultures of NIH/3T3 fibroblasts (ATCC<sup>®</sup> CRL-1658<sup>™</sup>). The efficacy of MCBAH was evaluated in a rat thermal burn model. Histological examinations were performed on tissues from the heart, lungs, thymus, liver, spleen, kidneys, adrenal glands, gonads, and cerebral cortex. **Results.** VOCs concentrations did not exceed permissible limits. Osmolarity was  $334 \pm 20$  mOsm/kg, and pH was  $7.18 \pm 0.11$ . *In vitro* studies demonstrated the absence of cytotoxicity. Acute toxicity testing revealed no toxic effects in laboratory animals. Similarly, subchronic toxicity studies showed that exposure to MCBAH did not cause intoxication or mortality. No delayed-type hypersensitivity reactions were observed, indicating the absence of a sensitizing effect. Intradermal administration of MCBAH and its application to the mucous membranes of the hamster cheek pouch, rabbit vagina, and rabbit rectum produced no detectable response, with an irritation index of 0. Following intravenous administration of extracts from MCBAH samples to rabbits, increase in body temperature in all three animals did not exceed 0.1 °C, indicating that the biomimetic hydrogel does not induce a pyrogenic response. **Conclusion.** In a rat thermal burn model, application of an adhesive biomimetic hydrogel mimicking the extracellular matrix (ECM) immediately after burn induction and daily until complete wound closure significantly accelerated wound healing in the experimental group by  $15.3 \pm 7.7\%$  (34.9 days) compared with the control group (40.2 days,  $p < 0.01$ ). Treatment also promoted the formation of a fully developed epithelial layer and accelerated restoration of the original histological structure of the damaged skin. These findings support further investigation of the efficacy of this hydrogel in experimental models of damaged mucous membranes.

*Keywords:* extracellular matrix mimetic, biocompatible multicomponent collagen-containing adhesive hydrogel, wound-healing coating, biological safety, therapeutic efficacy.

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день разработка адгезивных ранозаживляющих покрытий с регенераторными свойствами для восстановления целостности поврежденных кожных покровов и слизистых оболочек относится к одному из приоритетных направлений при лечении заболеваний ротовой полости, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы различного генеза. Это связано как с многофакторностью внешних и внутренних факторов, приводящих к повреждениям слизистых оболочек, так и с многоэтапным и до конца не изученным механизмом их физиологической регенерации. В последние годы наметилась тенденция применения в травматологии

и ортопедии, урологии, нейрохирургии, офтальмологии и др. биополимерных гидрогелей, содержащих биологически активные компоненты ВКМ, так называемых миметиков ВКМ [1], которые помимо высокой степени биосовместимости являются эффективными биостимуляторами для регенерации поврежденных тканей.

Наиболее часто используемыми биополимерными гидрогелевыми миметиками ВКМ являются такие его компоненты, как коллаген, фибрин, эластин, гиалуроновая кислота и хондроитин-4-сульфат в виде несшитых или сшитых (структурированных) однокомпонентных, композитных и гибридных гидро-

гелей в различных формах (пленки, губки, нано-, микро- и макрокапсулы и другие) [2–4].

С учетом многофункциональности ВКМ можно предположить, что перспективным является создание многокомпонентного биополимерного гидрогеля, наличие в котором разного класса биоактивных компонентов позволит эффективно влиять на различные звенья регенеративного процесса: от адгезии, пролиферации и дифференцировки клеток до формирования полноценных тканевых структур.

К таким многокомпонентным гидрогелям относится Matrigel™ (Corning, США), полученный из экстрактов опухолей мышей Engelbreth–Holm–Swarm в виде смеси желатиновых белков [5]. Основные компоненты Matrigel™ включают примерно 60% ламинина, 30% коллагена и 8% энтактина. Он также содержит другие компоненты базальной мембраны, такие как факторы роста и остаточные матриксные металлопротеиназы. Matrigel™ широко используется многими исследователями в качестве биомиметика ВКМ при культивировании 2D- и 3D-клеточных структур как для оценки ангиогенеза и клеточной дифференцировки, так и для создания тканеинженерных структур. Хотя состав и биологические свойства многокомпонентного Matrigel™ достаточно хорошо изучены, но в связи с тем что он получен из экстракта опухолевых клеток, его применение в клинической практике маловероятно.

С точки зрения клинического применения наиболее привлекательными являются гидрогели, в состав которых входят биологически активные компоненты ВКМ тканей животных, например многокомпонентные коллагенсодержащие гидрогели, полученные в результате экстракции мягких тканей животных уксусной кислотой [1, 6]. В ряде случаев многокомпонентные миметики ВКМ представляют собой гетерогенные гидрогели, состоящие из коллагенсодержащего экстракта с диспергированными в нем эластичными микрочастицами коллагена, полученными ультрадиспергированием коллагенового раствора с последующей радиационной сшивкой. В качестве сырья для коллагенсодержащего экстракта в основном используются ткани здоровых цыплят в возрасте 5–8 дней, а коллаген I типа получают при щелочно-солевой обработке склер свиной [7].

Многокомпонентные коллагенсодержащие ВКМ-гидрогели относятся к классу  $\gamma$ -сшитых биополимерных имплантатов с широким молекулярно-массовым распределением и размером диффузионных пор 100–300 мкм, содержанием связанной воды не менее  $32,8 \pm 0,5$  мас.% и водопоглощением  $86,6 \pm 3,0$  мас.% [8]. Дифференциальная сканирующая калориметрия показала, что коллагенсодержащий экстракт представляет собой высоковязкий коллоидный раствор с фазовым переходом второго порядка и средней температурой плавления  $+45$  °C и энталь-

пией плавления 42,4 Дж/г. После  $\gamma$ -стерилизации (15 кГр), выполняющей функцию сшивающего агента, образуется коллагенсодержащий гидрогель с фазовым переходом первого порядка, характеризующимся температурой плавления  $+68$  °C и энтальпией плавления 416,7 Дж/г.

Результаты экспериментально-клинического применения биополимерных многокомпонентных коллагенсодержащих гидрогелей (БМКГ) продемонстрировали их способность стимулировать внутреннюю (собственную) регенерацию поврежденных мягких тканей [1, 9]. В частности, были получены положительные результаты интравагинального инъекционного субмукозного мультипунктурного введения гетерогенных БМКГ при локальной коллагенотерапии пациенток с гинитоуринарным менопаузальным синдромом [10]. Это дало основание предположить принципиальную возможность применения гидрогелевых миметиков ВКМ для восстановления морфофункциональных свойств поврежденных слизистых оболочек внутренних органов за счет своей способности поддерживать пролиферацию и дифференцировку мезенхимных стволовых клеток, мигрирующих в область повреждения. К основному недостатку используемого в работе [10] гетерогенного БМКГ относится отсутствие адгезивных свойств, что не дает возможности формировать из него устойчивое покрытие на поврежденной коже или слизистых оболочках и тем самым перейти от малоинвазивного инъекционного способа введения к неинвазивному. Наиболее эффективны адгезивные гидрогелевые миметики ВКМ могут быть при комплексном лечении и стимуляции физиологической регенерации обширных поверхностных ран различной этиологии (термические ожоги, последствия огнестрельных и минно-взрывных ранений, в т. ч. при кожной пластике, трофические язвы, пролежни) и слизистых оболочек (например, таких заболеваний желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы, как острый и хронический язвенный колит, цистит, уретрит, вагинит, эндометрит) [11, 12].

Это и стимулировало разработку гомогенного БМКГ с адгезивными свойствами (БМКГ<sub>адг</sub>) с последующей оценкой его безопасности и эффективности, что и явилось целью данной работы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были стерильные экспериментальные образцы сшитого гамма-облучением БМКГ<sub>адг</sub> в форме спрея (рис. 1). Конечный продукт БМКГ<sub>адг</sub> представляет собой слегка вязкий раствор без запаха, произведенный АО «БИОМИР сервис» (г. Краснознаменск, Московская область) из экстракта коллагенсодержащих тканей птиц методом уксуснокислого гидролиза (ТУ 9389-008-54969743-2016) с добавлением в экстракт гидроксиметилцеллюлозы



Рис. 1. Экспериментальный стерильный образец БМКГ<sub>адг</sub> в форме спрея

Fig. 1. Experimental sterile sample of the biopolymer hydrogel in spray form

и низкомолекулярного полиэтиленгликоля. Многокомпонентный гомогенный гидрогелевый миметик БМКГ<sub>адг</sub> содержит основные компоненты ВКМ: гликопротеины – частично гидролизованные коллагены I, II, III и IV типов (75–80%) – и протеогликаны, преимущественно высокомолекулярные и низкомолекулярные фракции гиалуроновой кислоты, и обладает хорошей адгезией к мягким тканям и слизистым оболочкам. Характеристические параметры БМКГ<sub>адг</sub>: концентрация (сухой остаток) –  $3,00 \pm 0,12$  мг/мл (0,3%), вязкость –  $9,57 \pm 0,10$  мПа·с, плотность –  $0,88 \pm 0,02$  г/см<sup>3</sup>, осмоляльность –  $334 \pm 20$  мОсм/кг, pH –  $7,18 \pm 0,11$  ед. pH.

## Методы

Для подтверждения безопасности БМКГ<sub>адг</sub> определяли такие санитарно-химические и физико-химические показатели, как содержание в гидрогеле летучих органических соединений (ЛОС) ацетальдегида, ацетона, изопропанола, метанола, н-пропанола, его осмоляльность и pH [13].

Измерение концентрации ацетальдегида, ацетона, изопропанола, метанола, н-пропанола проводили с использованием газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «ХРОМАТЭК», Россия). Измерение основано на извлечении ЛОС из пробы одноразовой газовой экстракцией при нагревании

в замкнутом объеме и последующем анализе равновесной паровой фазы на двух параллельных капиллярных колонках, включающем идентификацию веществ по их временам удерживания и количественное определение методом абсолютной градуировки с помощью пламенно-ионизационных детекторов (ПИД). Разделение компонентов проводили на капиллярных колонках TRB-WAX (длина – 60 м, внутренний диаметр – 0,53 мм, толщина слоя неподвижной фазы – 1,0 мкм, канал – ПИД-1) и TRB-624 (длина – 60 м; внутренний диаметр – 0,53 мм, толщина слоя – 3,0 мкм, канал – ПИД-2).

Измерение осмоляльности БМКГ<sub>адг</sub> выполняли криоскопическим методом с использованием анализатора жидкости «Osmometer K-7400» (Knauer, Германия). Величину pH определяли потенциометрическим методом с использованием pH-метр pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия). Вязкость определяли вибровискозиметром SV-10 (A&D Company, Япония), плотность – с использованием пикнометров.

Исследование безопасности биологическими методами, рекомендованными стандартом ГОСТ ISO 10993-1-2021 [14] для медицинских изделий (МИ), предназначенных для кратковременного контакта с тканями организма, включало оценку цитотоксичности, пирогенности, опосредованной материалом, общетоксического (острая и субхроническая токсичность), сенсибилизирующего и раздражающего действия.

Для отбора и распределения животных по группам применялся метод случайной выборки, с учетом массы тела. Животные находились на карантине в течение 10 суток, за их состоянием вели ежедневное наблюдение. Животных кормили комбинированными кормами ПК 121 (для крыс, мышей и хомяков) и ПК 122 (для морских свинок и кроликов). Корм давали без ограничения. Животных лишали корма на ночь перед взвешиванием, взятием крови и эвтаназией. Доступ к воде не ограничивали. Эвтаназию осуществляли методом ингаляции двуокси углерода (CO<sub>2</sub>) и методом декапитации с предварительной анестезией. Некропсию проводили сразу после гибели животных по полной патологоанатомической схеме. После эвтаназии и произведенных процедур трупы животных утилизированы в ООО «Экотехнологии».

Все манипуляции с лабораторными животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях ETS No. 123 (Strasbourg, 1986), и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. При планировании исследования была учтена концепция гуманного использования

лабораторных животных в экспериментах – Концепция трех R.

Работа была одобрена локальным этическим комитетом АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Россия (31 мая 2024 г., протокол заседания БЭК № 4/2024).

*Цитотоксичность* образцов *in vitro* определяли на культуре фибробластов мыши линии NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™) из коллекции ATCC (American Type Culture Collection) методом прямого контакта [15]. В качестве отрицательного контрольного образца для демонстрации фоновой реакции клеток использовали питательную среду DMEM (Dulbecco's modified Eagles medium) с высоким содержанием глюкозы 4,5 г/л (ПанЭко, Россия). В качестве положительного контрольного образца для демонстрации соответствующей реакции тест-системы применяли стандарт цинка одноэлементный водный 10 000 мкг/мл (Sigma-Aldrich, США). Все процедуры проводили в асептических условиях.

Качественная визуальная оценка цитотоксичности исследуемых образцов включала микроскопическое исследование для выявления изменений общей морфологии клеток, вакуолизацию, расщепление, лизис и целостность мембран с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Япония). Анализ результатов исследования проводили согласно оценочной шкале степени ответной реакции клеток после непосредственного контакта с образцами. Отрицательный контроль должен соответствовать степени реакции 0, положительный контроль – 4. Степень ответной реакции исследуемого образца должна соответствовать степени реакции 0.

Дополнительно для визуализации живых (зеленое свечение) и мертвых (красное свечение) клеток NIH/3T3 было проведено их окрашивание флуоресцентным витальным красителем LIVE/DEAD® Cell Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular probes® by Life technologies™, США) согласно протоколу, рекомендуемому производителем.

*Острую токсичность* исследовали на аутбредных мышках, по 10 животных каждого пола в опытной и контрольной группах, введением внутривенно 1,0 мл образцов БМКГ<sub>адг</sub> и физиологического раствора соответственно [16].

Через 72 часа после начала эксперимента животных выводили из эксперимента путем ингаляции двуокисью углерода (CO<sub>2</sub>) с дальнейшим обескровливанием и макроскопическим и морфометрическим исследованием органов.

Перечень органов, подлежащих макроскопическому исследованию: лимфатические узлы, аорта, сердце, гортань, трахея, легкие, тимус, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень с желчным пузырем, поджелудочная железа, селезенка, почки, надпочечники, мочевой пузырь,

семенники, яичники, матка, влагалище, подчелюстная слюнная железа с лимфатическими узлами, щитовидная железа, головной мозг.

Перечень органов, подлежащих взвешиванию: сердце, легкие, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники, гонады, головной мозг.

Для оценки *субхронической токсичности* [16] образцы БМКГ<sub>адг</sub> и физиологического раствора наносили на кожу половозрелым аутбредным крысам (самцам) опытной и контрольной групп (по 20 животных в каждой) в объеме 0,2 мл с последующим втиранием в кожу стеклянной палочкой. Процедуру проводили 1 раз в день на протяжении 28 суток.

На 29-е сутки эксперимента у животных забирали кровь для клинического (гематологический анализатор Mindray BC-2800-vet (Mindray, Китай) и биохимического (биохимический фотометр «Стат факс 4500+» (фирма Awareness Technology Inc., США) исследований и мочу (экспресс-анализатор LAURA Smart, «Erba Lachema s.r.o.», Чехия).

После плановой эвтаназии методом декапитации с предварительной анестезией забирали для получения окрашенных гематоксилин-эозином гистологических препаратов сердце, легкое, тимус, печень, селезенку, почку, надпочечник, гонады, головной мозг.

Для исследования *сенситизирующего воздействия* использовали максимизационный адьювантный тест на морских свинках-альбиносах (по 15 животных в опытной и контрольной группах) [17]. Кожную реакцию оценивали через 24 и 48 ч после нанесения разрешающей дозы БМКГ<sub>адг</sub> и физиологического раствора по балльной шкале Магнуссона–Клигмана.

*Раздражающее действие* БМКГ<sub>адг</sub> на кожу и слизистые оболочки оценивали соответствующими методами [18] при внутрикожном введении (кролики-альбиносы, 15 шт.) и при аппликации на слизистую ротовой полости (хомячки сирийские, 3 шт.), вагины и прямой кишки (кролики-альбиносы, самки, по 3 животных в опытной и контрольной группах для каждой слизистой оболочки). Отмечали состояние мест инъекции сразу после введения, а также через 24, 48 и 72 часа после инъекции. Оценивали степень тканевой реакции, включая эритему и отек для каждого места инъекции и каждого времени наблюдения.

При исследовании пирогенности, опосредованной материалом [19], животным (кролики породы Советская шиншилла) с исходной ректальной температурой (38,5–39,5) °С в краевую вену уха вводили стерильный экстракт из БМКГ<sub>адг</sub> приготовленный на 0,9% NaCl, в объеме 0,2 мл на 1 кг массы тела кролика. Температуру измеряли ректально дважды с интервалом 30 минут до введения и через каждые 30 минут после введения в течение 3 часов. За исходную величину принимают величину последнего результата измерения. Определяли максимальное изменение температуры тела ( $\Delta t$ ) каждого кролика по

сравнению с исходным значением, сумму индивидуальных максимальных повышений температуры для трех кроликов ( $\Sigma \Delta t$ ). Изделие считается апирогенным, если полученный результат меньше или равен  $1,2 \text{ }^\circ\text{C}$ , а индивидуальное повышение температуры ни у одного из трех кроликов не превышает  $0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ .

*Исследование эффективности* БМКГ<sub>адг</sub> на модели термического ожога проводили на 20 самках аутбредных крыс. Самки не были беременными или рожавшими (источник получения: Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА, Россия). Были сформированы 2 группы животных по 10 голов в группе: опытная группа (с применением БМКГ<sub>адг</sub>) и контрольная (без лечения).

#### Создание экспериментального термического ожога

Всех животных анестезировали внутримышечным введением препарата «Телазол». Затем на дорсальной стороне тела крыс удаляли шерсть. Для предотвращения перегрева органов крысам в месте формирования ожога подкожно вводили 10 мл воздуха. Термический ожог IIIA степени вызывали с помощью электрического паяльника с напаянной медной пластиной площадью  $3 \text{ см}^2$ . После нагрева медной пластины до  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  ее накладывали (прижатием собственной массы) на подготовленную область спины на 10 секунд. Температура пластины непосредственно в момент ожога контролировалась термодатчиком.

Всем опытным животным БМКГ<sub>адг</sub> наносили на пораженные участки сразу после формирования ожога и ежедневно до полного заживления ран в объеме  $0,2 \text{ мл}$ . Контрольные животные находились без лечения. Эффективность БМКГ<sub>адг</sub> оценивали в соответствии со следующими критериями: интенсивность и сроки местной воспалительной реакции; сроки отторжения ожогового струпа (сутки начала и окончания отторжения); сроки заживления ран; площадь ожоговых ран; скорость эпителизации ран; определение индекса ускорения (ИУ) заживления ран опытной группы относительно контрольной группы (%); выраженность морфологических изменений в области ран.

ИУ заживления ран опытных групп относительно контрольных (%) вычисляли по формуле:

$$\text{ИУ} = [(T_0 - T_k)/T_0 \times 100\%], \quad (1)$$

где  $T_k$  – среднее время (сутки) полного заживления ран в контрольной группе;  $T_0$  – среднее время (сутки) полного заживления ран в опытной группе.

Гистологическое окрашивание гематоксилин-эозином проводили стандартным способом с последующим исследованием на световом микроскопе Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия) морфологических изменений кожи в зоне

ожоговой раны, толщины эпидермиса и дермы, ширины дефекта.

#### Статистический анализ данных

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010. Вычисляли групповое среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартную ошибку среднего ( $m$ ). В случае нормального распределения выборки применяли параметрический тест  $t$ -критерия Стьюдента. При значительных отклонениях распределения признака от нормального закона применяли непараметрический метод  $U$ -критерия Манна–Уитни. Достоверным считали различие данных групп при  $p < 0,05$ .

Проверка приемлемости результатов параллельных определений и расчет результатов санитарно-химических испытаний выполнены с использованием программы внутрилабораторного контроля качества QControl.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

##### Санитарно-химические и физико-химические показатели

Хроматограммы образца БМКГ<sub>адг</sub> полученные на двух параллельных каналах ПИД-1 и ПИД-2, представлены на рис. 2.

Отсутствие на хроматограммах пиков со временем удерживания определяемых аналитов свидетельствует о том, что их содержание в образце не превышает предела обнаружения методики ( $0,05 \text{ мг/дм}^3$ ) и допустимых значений, установленных в ГОСТ Р 52770–2023 ( $0,10 \text{ мг/дм}^3$  для ацетона, изопропанола,  $n$ -пропанола,  $0,20 \text{ мг/дм}^3$  для ацетальдегида и метанола) [13].

Значения осмоляльности и pH составили  $334 \pm 20 \text{ мОсм/кг}$  и  $7,18 \pm 0,11 \text{ ед.}$  pH соответственно и находятся в диапазоне физиологических значений соответствующих параметров для биологических сред.

##### Результаты биологических испытаний *in vitro*

###### Цитотоксичность

В лунках с отрицательным контролем наблюдали отсутствие цитотоксического действия (степень реакции 0) – сформировавшийся субконфлюэнтный клеточный монослой, жизнеспособные клетки были морфологически однородны, преимущественно веретеновидной формы (рис. 3, а, б). Положительный контрольный образец продемонстрировал значительное цитотоксическое действие, что отвечает наибольшей степени реакции 4, которое выражалось в измененной морфологии фибробластов и отсутствии клеточного монослоя, при этом наблюдали не более 30% жизнеспособных клеток (рис. 3, в, г).

После контакта клеточной культуры с исследуемыми образцами (рис. 3, д, е). наблюдали сравнимое с отрицательным контролем (рис. 3, а, б) количество жизнеспособных распластанных фибробластов без изменения клеточной морфологии, что соответствует степени реакции 0 и свидетельствует об отсутствии цитотоксического действия исследуемых образцов на культуру фибробластов мыши линии NIH/3T3.

### Результаты экспериментов *in vivo*

Для оценки биологического действия многокомпонентного биополимерного коллагенсодержащего гидрогеля был проведен комплекс исследований на лабораторных животных:

- общетоксическое действие (острая и субхроническая токсичность);
- сенсibiliзирующее действие;
- раздражающее действие (внутрикожное, слизистые оболочки ротовой полости, вагины, прямой кишки);
- пирогенность, опосредованная материалом.

Проведенное исследование острой токсичности на аутбредных мышах показало, что внутрибрюшинное введение БМКГ<sub>алг</sub> не оказывает токсического действия на организм лабораторных животных. Масса тела мышей на протяжении эксперимента имела положительную динамику и значимо не отличалась между группами.

При макроскопическом исследовании отчетливо влияния БМКГ<sub>алг</sub> на состояние внутренних органов мышей не установлено, различий между контрольными и опытными группами не обнаружено.

При статистической обработке относительной массы внутренних органов было выявлено достоверное увеличение массы печени ( $p < 0,05$ ) как у самцов ( $5,37 \pm 0,17$  г), так и у самок ( $4,52 \pm 0,14$  г) опытной группы по сравнению с контрольными ( $4,57 \pm 0,15$  и  $3,82 \pm 0,12$  г соответственно), что не является критичным при оценке безопасности. По остальным показателям значимых различий между группами не обнаружено.

Проведенное исследование острой токсичности на аутбредных мышах показало, что внутрибрюшинное введение БМКГ<sub>алг</sub> не оказывает токсического действия на организм лабораторных животных.

В экспериментах по субхронической токсичности не было выявлено отрицательного влияния БМКГ<sub>алг</sub> на гемопоэз, активность ферментов, показателей углеводного, липидного и белкового обмена, а также на биохимические показатели мочи. Глюкоза, билирубин, уробилиноген, нитриты, кетоновые тела и лейкоциты в моче животных отсутствовали или находились ниже отметки первого значения, определяемого прибором как положительный. Статистически значимой разницы ( $p < 0,05$ ) по изучаемым показателям между контрольной и опытной группами в сыворотке крови и мочи животных не установлено.

При макроскопическом исследовании биологического действия БМКГ<sub>алг</sub> на состояние внутренних органов крыс не установлено, различий между контрольной и опытной группами не обнаружено. Статистической разницы ( $p < 0,05$ ) в относительной массе органов между контрольной и опытной группами не установлено.

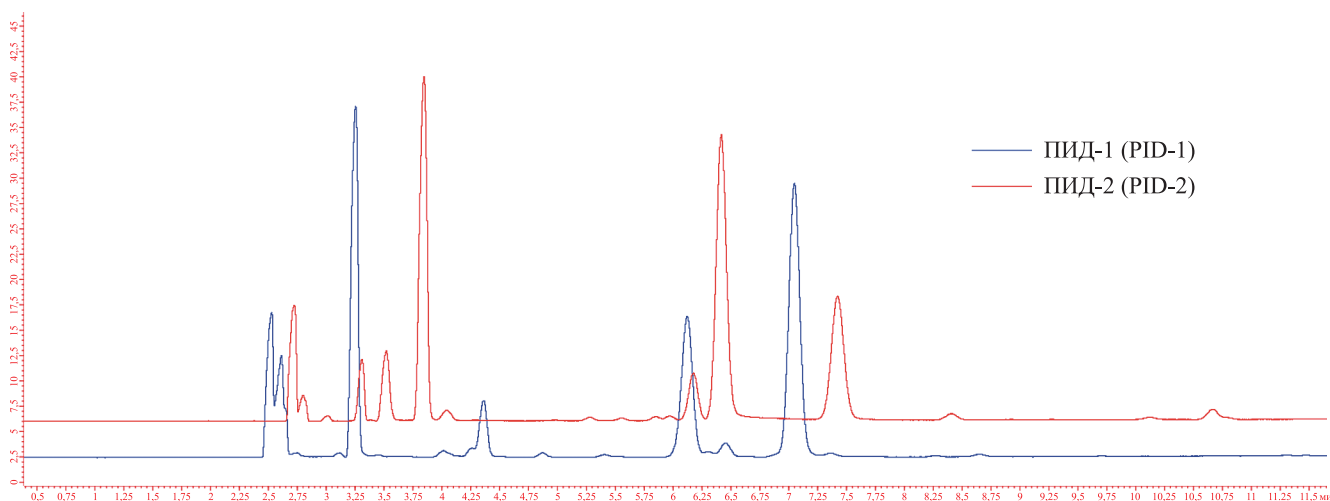


Рис. 2. Хроматограммы образца БМКГ<sub>алг</sub>, полученные на параллельных каналах ПИД-1 (капиллярная колонка TRB-WAX длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной слоя неподвижной фазы 1,0 мкм) и ПИД-2 (капиллярная колонка TRB-624 длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной слоя 3,0 мкм)

Fig. 2. Chromatograms of the hydrogel sample obtained from parallel channels of a gas chromatograph: PID-1 (TRB-WAX capillary column, 60 m length, 0.53 mm internal diameter, stationary phase thickness 1.0 μm) and PID-2 (TRB-624 capillary column, 60 m length, 0.53 mm internal diameter, stationary phase thickness 3.0 μm)

Гистологическая картина ткани сердца, легких, тимуса, печени, селезенки, почки, надпочечника, гипофиза и коры головного мозга идентична в группах кон-

трольных и опытных животных. БМКГ<sub>алд</sub> не вызывает изменения внутренних органов крыс, что наглядно видно при сравнительном гистологическом анализе

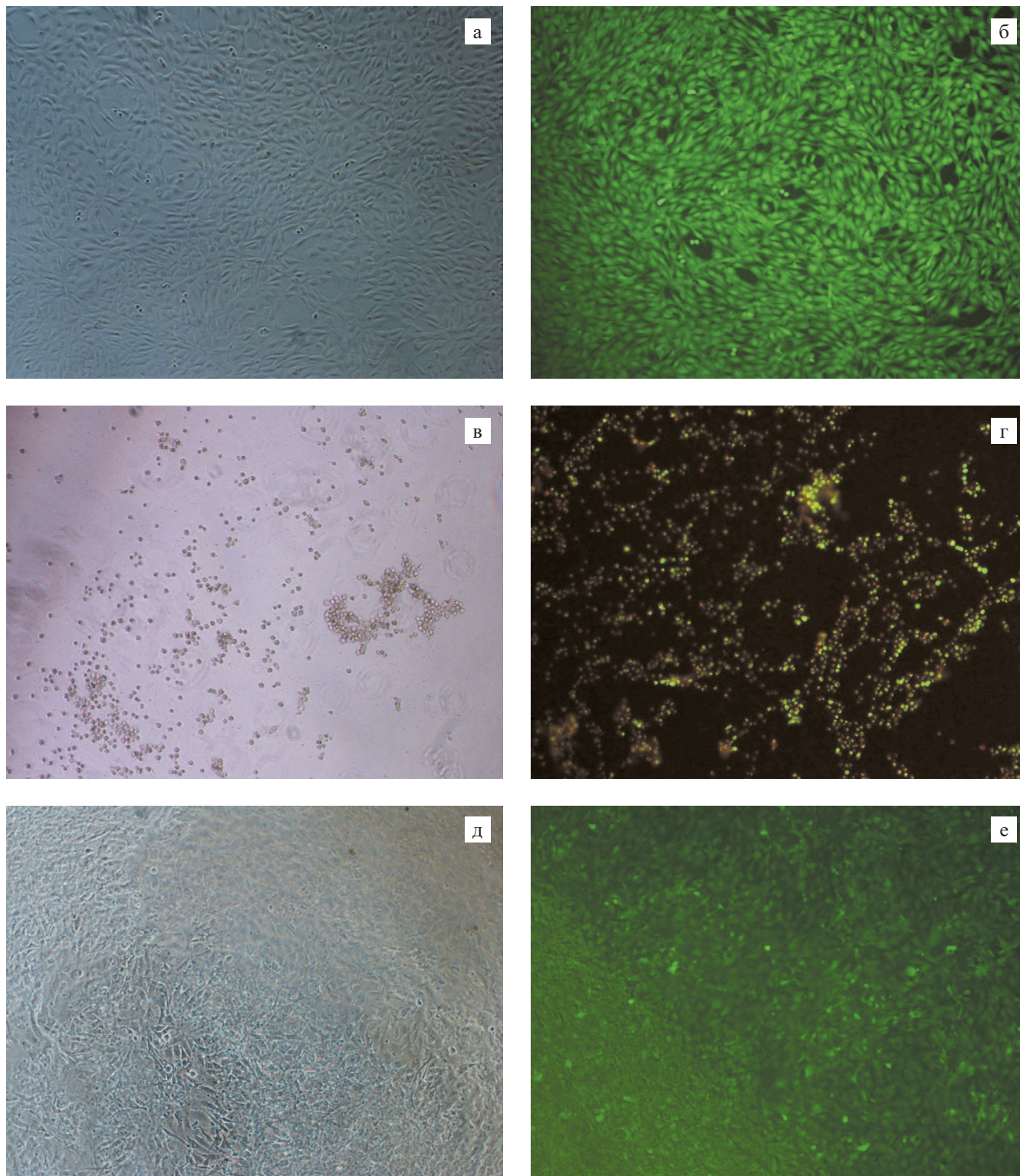


Рис. 3. Культура фибробластов мыши линии NIH/3T3 после контакта с отрицательным контрольным образцом –  $K^-$  (а, б), положительным контрольным образцом  $K^+$  (в, г) и исследуемым образцом БМКГ<sub>алд</sub> (д, е); а, в, д – фазово-контрастная микроскопия; б, г, е – флуоресцентное окрашивание Live/Dead<sup>®</sup> Viability/Cytotoxicity Kit.  $\times 100$

Fig. 3. Culture of NIH/3T3 fibroblasts after exposure to the negative control ( $K^-$ ) (a, б), the positive control ( $K^+$ ) (в, г), and the test sample of the hydrogel (д, е); а, в, д – phase-contrast microscopy; б, г, е – fluorescent staining using the Live/Dead<sup>®</sup> Viability/Cytotoxicity Kit. Magnification  $\times 100$

ткани печени крыс опытной (рис. 4, а) и контрольной (рис. 4, б) группы. У всех животных дольчатое строение печени хорошо выражено. Гепатоциты с крупными, хорошо окрашенными базофильными ядрами, границы отчетливые, цитоплазма зернистая, слабо оксифильная. Очаговых нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы нет. Цитоплазма большинства гепатоцитов содержит вакуоли различных размеров. Ядра содержат четкие ядрышки и достаточное количество хроматина.

Результаты субхронической токсичности показали, что воздействие БМКГ<sub>адг</sub> не приводит к интоксикации и гибели лабораторных животных. Не установлено отрицательного действия БМКГ<sub>адг</sub> на поведение и массу тела крыс, показатели клинического и биохимического анализов, анализа мочи.

*Сенсибилизирующее и раздражающее действие*

Ни у одного животного не было выявлено реакции гиперчувствительности замедленного типа, что говорит об отсутствии сенсибилизирующего действия.

При внутрикожном введении БМКГ<sub>адг</sub> и его аппликации на слизистую оболочку стенки защечного мешка хомячка, вагины и прямой кишки кролика ответная реакция отсутствовала, индекс раздражения равен 0 [18].

В качестве примера на рис. 5 приведена микроскопия стенки защечного мешка хомячка, представляющая собой многослойный ороговевающий эпителий. Гистологическая картина идентична в группах контрольных и опытных. Стенка защечного мешка хомячка образована слизистой, соединительно-тканной и мышечной оболочками.

*Пирогенность*

Изделие считается апиrogenным, если полученный результат меньше или равен 1,2 °С, а индивидуальное повышение температуры ни у одного из трех кроликов не превышает 0,5 °С. При внутривенном введении кроликам экстракта из образцов БМКГ<sub>адг</sub> индивидуальное повышение температуры у всех трех кроликов не превышало 0,1. Биомиметик БМКГ<sub>адг</sub> не вызывает пирогенного ответа.

Таким образом, по результатам проведенного комплекса исследований установлено, что разработанный биополимерный гомогенный многокомпонентный гидрогель не проявляет токсичности и полностью соответствует требованиям, предъявляемым стандартами серии ГОСТ ISO 10993 к медицинским изделиям, предназначенным для кратковременного контакта с тканями организма.

**Результаты оценки эффективности БМКГ<sub>адг</sub> на экспериментальной модели ожоговой раны**

*Наблюдения за лабораторными животными*

У всех крыс образовался термический ожог III степени, характеризовавшийся поражением всей толщи кожи. День нанесения ожога считали 1-ми сутками эксперимента. Кожа на месте ожога была плотная, неподвижная, не чувствительная к болевым раздражителям, четко ограничивалась от окружающей здоровой ткани. Начиная с 3-го дня эксперимента у некоторых животных начиналось размягчение грубого толстого струпа, при надавливании из-под него выделялся серозный экссудат, далее наблюдали отторжение струпа.



Рис. 4. Гистологический срез печени крысы: а – контрольная группа; б – БМКГ<sub>адг</sub>. Окраска гематоксилином и эозином. 1 – центральная вена; 2 – гепатоциты с ядром. ×400. Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 4. Histological section of rat liver tissue: а – control group; б – MCBAH-treated group. H&E stain. 1 – central vein; 2 – hepatocytes with nuclei. Magnification ×400. Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

Отторжение струпа по срокам статистически достоверно не отличалось между опытной и контрольной группами. Полностью струп отторгся в опытной группе к 19-м суткам исследования на 90%, в контрольной – на 80%; на 20-е сутки исследования – на 100 и 80% соответственно. Крысы контрольной группы расчесывали раны, усугубляя процесс заживления ран после ожога. В группе с нанесением биомиметика расчесов не было.

Стадия эпителизации раны после отторжения струпа началась для обеих групп на 21-е сутки.

Визуально репаративные процессы (относительно уменьшения площади ожога) более заметно выражены у животных опытной группы. Полное заживление раны у этой группы с образованием тонкого нежного рубца наступало в среднем на 35-е сутки эксперимента (рис. 6).

При гистологическом исследовании у всех крыс зона термического поражения распространялась как на эпидермис, дерму, так и на подкожно-жировую клетчатку и подлежащие мышцы, что соответствует ожогу IIIA степени. При измерении морфометри-

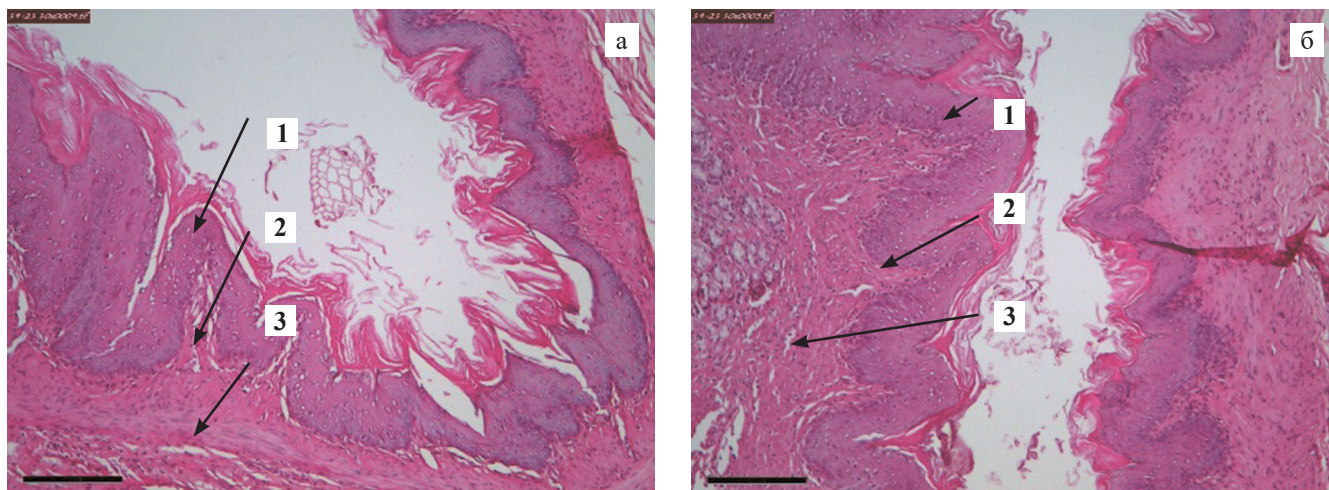


Рис. 5. Гистологический срез стенки защечного мешка хомяка: а – контрольной группы; б – БМКГ<sub>алд</sub>. 1 – слизистая оболочка, 2 – соединительно-тканная оболочка, 3 – мышечная оболочка. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ . Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 5. Histological section of the cheek pouch wall of a hamster: а – control group; б – МСВАН-treated group. 1 – mucous membrane; 2 – connective tissue layer; 3 – muscular layer. H&E stain. Magnification  $\times 100$ . Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

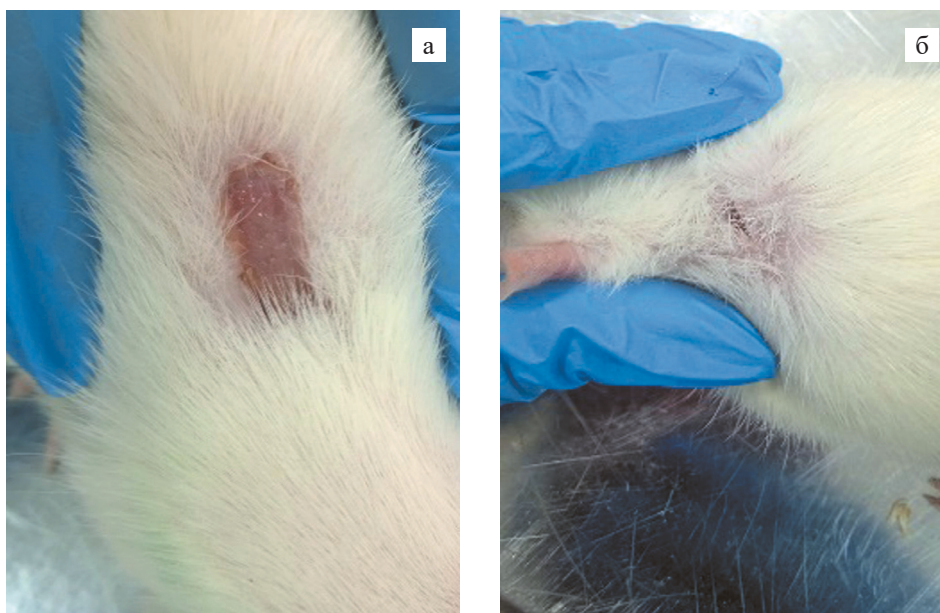


Рис. 6. Вид ран, срок 35-е сутки: а – контрольная группа, б – опытная группа

Fig. 6. Wound appearance at day 35 post-injury: а – control group; б – experimental group

ческих параметров, таких как общая толщина эпидермиса, общая толщина дермы и ширина раневого дефекта, выявлена статистическая разница между группами. Все исследуемые показатели опытной группы были значительно ниже морфометрических параметров контрольной группы.

На рис. 7 представлены структурные изменения ожоговой раны крыс контрольной (а, б) и опытной (в) групп.

Для контрольной группы (рис. 7, а) толщина эпителиального пласта значительно увеличена, роговой слой и зернистый слой представляют собой сплошную дистрофическую массу. Эпидермис утолщен в основном за счет шиповатого слоя. Клетки базального слоя местами отсутствовали. Отмечается неравномерность толщины эпидермиса с очаговой

гиперпролиферацией с наличием акантотических разрастаний. В зоне дефекта (рис. 7, б) наблюдается струп, эпидермис отсутствует. Дерма представляет собой грубую волокнистую фиброзную ткань с видоизмененными фибробластами. В толще ткани наблюдались извилистые короткие утолщенные коллагеновые волокна. Волосяные фолликулы и потовые железы в зоне дефекта отсутствовали. Гиподерма отечна, представлена грануляционной тканью. Кровеносные сосуды полнокровны. Мышечная ткань в препаратах отсутствует.

Зона ожога опытной группы (рис. 7, в) полностью покрыта эпидермисом. Дерма представлена волокнистой фиброзной тканью многочисленными фибробластами. Тонкие коллагеновые волокна компактно располагаются преимущественно параллель-

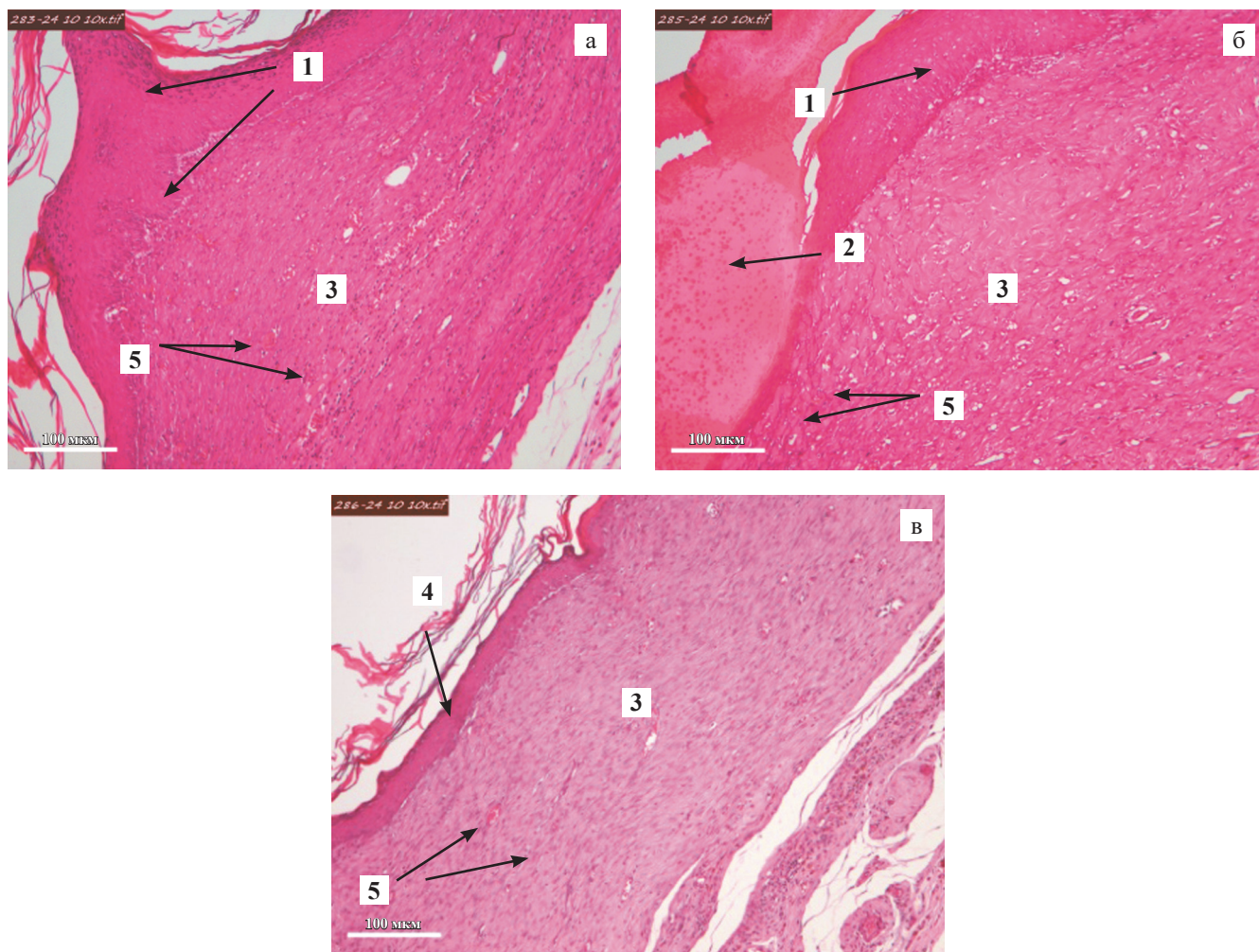


Рис. 7. Структурные изменения ожоговой раны: а, б – контрольная группа; в – опытная группа. 1 – неравномерность толщины эпидермиса с очаговой гиперпролиферацией эпидермиса с наличием акантотических разрастаний; 2 – струп, эпидермис отсутствует; 3 – дерма; 4 – эпидермис; 5 – кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. ×100. Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 7. Structural changes in burn wounds: а, б – control group; в – experimental group treated with MCBAN. 1 – uneven epidermal thickness with focal epidermal hyperproliferation and acanthotic growths; 2 – scab, epidermis absent; 3 – dermis; 4 – epidermis; 5 – blood vessels. H&E stain. Magnification ×100. Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

Таблица  
Данные по вычислению ИУ заживления ран  
Wound healing assessment

№	Продолжительность полного заживления раны (сутки)		
	T <sub>к</sub> Контроль	T <sub>о</sub> БМКГ <sub>адг</sub>	ИУ, %
1	33	33	0
2	34	33	3
3	40	33	21
4	41	34	21
5	41	34	21
6	41	34	21
7	41	35	17
8	42	36	17
9	42	37	14
10	47	40	18
n	10	10	10
Средние значения T <sub>к</sub> и T <sub>о</sub>	40,2	34,9	15,3

но эпидермису. Сосуды полнокровны. Придатки кожи и мышечная ткань в препаратах не определялись.

Значения продолжительности полного заживления раны для контрольной T<sub>к</sub> и опытной T<sub>о</sub> группы, а также ИУ заживления ран для каждой группы животных, вычисленный по формуле (1), приведены в таблице. Проверка распределения полученных значений продолжительности полного заживления раны показала, что их распределение значений не подчиняется нормальному распределению.

При использовании непараметрического метода анализа Манна–Уитни для установления статистической достоверности различий средних значений времени полного заживления раны в исследуемых группах было установлено, что применение миметика БМКГ<sub>адг</sub> ускорило заживление ран после ожоговой травмы на  $15,3 \pm 7,7\%$  (34,9 сут, n = 10) по сравнению с заживлением раны не леченных животных (40,2 сут, n = 10) при p < 0,01.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Объектом проведенного исследования был стерильный экспериментальный образец БМКГ<sub>адг</sub> в форме спрея, предназначенный для лечения обширных поверхностных ран различной этиологии. По результатам проведенного комплекса исследований установлено, что разработанный биополимерный гомогенный многокомпонентный гидрогель не проявляет токсичности и полностью соответствует требованиям, предъявляемым стандартами серии ГОСТ ISO 10993 к медицинским изделиям, предназначенным для кратковременного контакта с тканями организма. На экспериментальной модели термического ожога показано, что нанесение адгезивного

миметика ВКМ на пораженные участки кожи сразу после формирования ожога и ежедневно до полного заживления ран:

- на  $15,3 \pm 7,7\%$  ускоряет заживление раны после ожоговой травмы у опытной группы (34,9 сут) по сравнению с ранами животных контрольной группы (40,2 сут) с надежностью p < 0,01;
- способствует формированию полноценного эпителиального пласта;
- ускоряет восстановление исходной гистоструктуры поврежденной кожи.

Полученные положительные результаты позволяют перейти к проведению исследований эффективности БМКГ<sub>адг</sub> на экспериментальных моделях поврежденных слизистых оболочек.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sevastianov VI, Perova NV. Part I. Extracellular Matrix Biomimetics. Chapter I. Multicomponent Hydrogel Biomimetics of Extracellular Matrix. In: Biomimetics of Extracellular Matrices for Cell and Tissue Engineered Medical Products / Eds. Sevastianov VI and Basok YuB – Newcastle upon Tyne, UK: Cambridge Scholars Publishing, 2023; 339.
2. Farhat W, Hasan A, Lucia L, Becquart F, Ayoub A, Kobeissy F. Hydrogels for Advanced Stem Cell Therapies: A Biomimetic Materials Approach for Enhancing Natural Tissue Function. *IEEE Rev Biomed Eng.* 2019; 12: 333–351. doi: 10.1109/RBME.2018.2824335. PMID: 29993840.
3. Jones CL, Penney BT, Theodossiou SK. Engineering Cell–ECM–Material Interactions for Musculoskeletal Regeneration. *Bioengineering (Basel)*. 2023; 10 (4): 453. doi: 10.3390/bioengineering10040453. PMID: 37106640.
4. Hao D, Lopez J.-M, Chen J, Iavorovschi AM, Lelivelt NM, Wang A. Engineering Extracellular Microenvironment for Tissue Regeneration. *Bioengineering (Basel)*. 2022; 9 (5): 202. doi: 10.3390/bioengineering9050202. PMID: 35621480.
5. Hughes CS, Postovit LM, Lajoie GA. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics*. 2010; 10 (9): 1886–1890. doi: 10.1002/pmic.200900758. PMID: 20162561.
6. Севастьянов В.И. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (3): 93–108. Sevastianov VI. Technologies of tissue engineering and regenerative medicine. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2014; 16 (3): 93–108. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.
7. Севастьянов В.И., Перова Н.В. Способ получения композиции биополимерного микрогетерогенного

- коллагенсодержащего гидрогеля. Патент на изобретение RU 2832796 C1, 09.01.2025. *Sevastyanov VI, Perova NV*. Method of producing composition of biopolymer microheterogeneous collagen containing hydrogel. Patent na izobretenie RU 2832796 C1, 09.01.2025.
8. *Урьяш ВФ, Севастьянов ВИ, Кокурина НЮ, Порунова ЮА, Перова НВ, Фаминская ЛА*. Теплоемкость, физические переходы коллагена и растворимость воды в нем. *Журнал общей химии*. 2006; 76 (9): 1421–1425. *Ur'yash VF, Sevast'yanov VI, Kokurina NYu, Porunova YuV, Perova NV, Faminskaya LA*. Heat Capacity and Physical Transitions in Collagen and Solubility of Water in It. *Russian Journal of General Chemistry*. 2006; 76 (9): 1363–1367. [In Russ, English abstract]. doi: 10.1134/S1070363206090039.
  9. *Севастьянов ВИ, Перова НВ*. Биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ – инъекционный биодеградируемый имплантат для заместительной и регенеративной медицины. *Практическая медицина*. 2014; 8 (84): 110–1116. *Perova NV, Sevastianov VI*. Biopolymer heterogenic hydrogel Sphero®gel – an injection biodegradable implant for substitutive and regenerative medicine. *Prakticheskaya meditsina*. 2014; 8 (84): 111–116. [In Russ, English abstract].
  10. *Балан ВЕ, Краснопольская КВ, Оразов МР, Токтар ЛР, Тихомирова ЕВ*. Коллагенотерапия пациенток с генитоуринарным менопаузальным синдромом – новая возможность в арсенале врача. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2020; 20 (4): 65–75. *Balan VE, Krasnopolskaya KV, Orazov MR, Toktar LR, Tikhomirova EV*. Collagenotherapy for patients with genitourinary menopausal syndrome is a new opportunity in the doctor's arsenal. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2020; 20 (4): 65–75. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17116/rosakush20202004165.
  11. *Wang M, Shi J, Yu C, Zhang X, Xu G, Xu Z, Ma Y*. Emerging strategy towards mucosal healing in inflammatory bowel disease: what the future holds? *Front Immunol*. 2023; 14: 1298186. doi: 10.3389/fimmu.2023.1298186. PMID: 38155971.
  12. *Кульчавеня ЕВ*. Новый подход к пониманию патогенеза и к лечению инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы. *Урология*. 2020; (5): 99–105. *Kulchavenya E.V*. A new approach to understanding the pathogenesis and treatment of infectious and inflammatory diseases of the urogenital tract. *Urologiya*. 2020; (5): 99–105. [In Russ, English abstract]. doi: 10.18565/urology.2020.5.99-105.
  13. ГОСТ Р 52770-2023 Изделия медицинские. Система оценки биологического действия. Общие требования безопасности. М.: Российский институт стандартизации, 2024. GOST R 52770-2023 Medical devices. Biological impact evaluation system. General requirements for safety. М.: Russian Institute of Standardization, 2024. [In Russ.].
  14. ГОСТ ISO 10993-1-2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска. М.: Российский институт стандартизации, 2021. GOST ISO 10993-1-2021 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 1. Evaluation and testing within a risk management process. М.: Russian Institute of Standardization, 2021. [In Russ.].
  15. ГОСТ ISO 10993-5-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность методами *in vitro*. М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-5-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5. Cytotoxicity studies by *in vitro* methods. М.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
  16. ГОСТ ISO 10993-11-2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследования общетоксического действия. М.: Российский институт стандартизации, 2021. GOST ISO 10993-11-2021 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 11. Tests for systemic toxicity. М.: Russian Institute of Standardization, 2021. [In Russ.].
  17. ГОСТ ISO 10993-10-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследования сенсibiliзирующего действия. М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-10-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 10. Sensitization tests. М.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
  18. ГОСТ ISO 10993-23-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 23. Исследования раздражающего действия. М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-23-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 23. Tests for irritation. М.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
  19. Фармакопея Евразийского экономического союза, 2.1.6.2. Пирогенность. М.: Евразийская экономическая комиссия, 2020. Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union, 2.1.6.2. Pyrogenicity. М.: Eurasian Economic Commission, 2020. [In Russ.].

*Статья поступила в редакцию 11.09.2025 г.  
The article was submitted to the journal on 11.09.2025*