

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

SANDRA KISELIOVIENĖ

**Celiuliozės hidrogelių, skirtų žaizdų tvarsčiams,
gavimas ir tyrimas**

Daktaro disertacijos santrauka
Fiziniai mokslai, chemija (03P)

2016, Kaunas

Tyrimai atlikti 2011–2015 metais Kauno technologijos universitete, Polimerų chemijos ir technologijos katedroje.

Mokslinis vadovas:

Prof. dr. Jolanta LIESIENĖ (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija, 03P)

Chemijos mokslo krypties disertacijos gynimo taryba:

Prof. habil. dr. Algirdas ŠAČKUS (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija, 03P) – **tarybos pirmininkas;**

Prof. dr. Saulius GRIGALEVIČIUS (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija – 03P);

Doc. dr. Jolita OSTRAUSKAITĖ (Kauno technologijos universitetas, fiziniai mokslai, chemija – 03P);

Dr. Aiva PLOTNIECE (Latvijos organinės sintezės institutas, Latvija, fiziniai mokslai, chemija – 03P).

Prof. dr. Skaidra VALIUKEVIČIENĖ (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B);

Anglų kalbos redaktorė:

Brigita BRASIENĖ (Leidykla „Technologija“).

Lietuvių kalbos redaktorė:

Ilona PETROVĖ (Leidykla „Technologija“).

Disertacija bus ginama viešajame Chemijos mokslo krypties tarybos posėdyje, kuris įvyks 2016 m. kovo 4 d. 10 val. Kauno technologijos universiteto centrinių rūmų Rektorato salėje.

Adresas: K. Donelaičio g. 73-402, 44249 Kaunas, Lietuva.

Tel. +370 37 300 042, faksas +370 37 324 144, el. p. doktorantura@ktu.lt

Disertacijos santrauka išsiųsta 2016 m. vasario 04 d.

Su disertacija galima susipažinti interneto svetainėje <http://ktu.edu> ir Kauno technologijos universiteto bibliotekoje (K. Donelaičio g. 20, Kaunas)

KAUNAS UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

SANDRA KISELIOVIENĖ

**Preparation and characterization of cellulose-based
hydrogels for wound dressings**

Summary of Doctoral Dissertation
Physical Sciences, Chemistry (03P)

2016, Kaunas

The research was carried out in 2011–2015 at Kaunas University of Technology, Department Polymer Chemistry and Technology.

Scientific supervisor:

Prof. Dr. Jolanta LIESIENĖ (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Chemistry – 03P)

English Language Editor:

Brigita BRASIENĖ (Publishing house „Technologija“)

Lithuanian Language Editor:

Ilona PETROVĖ (Publishing house „Technologija“)

Dissertation Defense Board of Chemical Science Field:

Prof. Dr. Habil. Algirdas ŠAČKUS (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Chemistry – 03P) – **chairman**;

Prof. Dr. Saulius GRIGALEVIČIUS (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Chemistry – 03P);

Doc. Dr. Jolita OSTRauskaitė (Kaunas University of Technology, Physical Sciences, Chemistry – 03P);

Dr. Aiva PLOTNIECE (Latvian Institute of Organic synthesis, Latvia, Physical Sciences, Chemistry – 03P).

Prof. Dr. Skaidra VALIUKEVIČIENĖ (Lithuanian University of health sciences, Biomedical Sciences, Medicine – 06B);

The official defense of the dissertation will be held at the open meeting of the Board of Chemical Science field at 10 a.m. on March 04, 2016 in the Rectorate Hall at the Central Building of Kaunas University of Technology.

Address: K. Donelaičio st. 73-402, LT-44249, Kaunas, Lithuania.

Phone (370) 37 300042, fax (370) 37 324144, e-mail doktorantura@ktu.lt

Summary of doctoral dissertation was sent on 04 February, 2016.

The Dissertation is available at <http://ktu.edu> and at the library of Kaunas University of Technology (K. Donelaičio st. 20, Kaunas).

1. ĮVADAS

Darbo aktualumas

Odos pažeidimai yra neišvengiami kiekvieno žmogaus gyvenime. Daugeliui iš mūsų teko naudotis pleistrais ar tvarščiais. Pastaruoju metu chemijos ir medžiagų mokslų srityse daug kuriama naujų tvarščių ar tobulinami senieji analogai. Sukurti naujų formų tvarščiai (kempinės, plėvelės ar hidrokoloidų pavidalo), kurie kartu yra ir naujos paskirties. Šiuolaikiniai tvarščiai privalo ne tik saugoti žaizdą nuo infekcijos, bet ir skatinti gijimą, drėkinti, absorbuoti išskyras, sudaryti reikiamą žaizdos terpės pH, stimuliuoti augimo faktorius, pernešti aktyviasias medžiagas į žaizdą, todėl juos kuriant svarbu atlikti įvairių cheminių tyrimų. Pastaruoju metu sukurta nemažai naujų produktų, kuriuos galima būtų pritaikyti žaizdoms gydyti, atsižvelgiant į jų tipą ir gijimo stadiją. Nauji tvarščiai kuriami, įvertinant ne tik skirtingus biologinius mechanizmus, skatinančius žaizdos gijimą, bet ir paciento pojūčius bei optimizuojant jų mechanines, absorbcines, antimikrobines ir kitas savybes.

Senieji tvarščiai buvo gaminami iš medvilnės (celiuliozės), kuri nevienodai sugeria skysčius. Pirminė jų funkcija – palaikyti sausą žaizdos aplinką, pašalinti skysčius ir apsaugoti žaizdą nuo bakterijų. Tačiau ne taip seniai pastebėta, kad drėgna aplinka yra daug palankesnė žaizdoms gyti. Tvarščiai turėtų sukurti tinkamiausią mikroklimatą, leidžiantį nevaržomai judėti epitelio ląstelėms ir dėl to lemiantį greitesnį gijimą. Drėgna žaizdos aplinka ir efektyvi deguonies cirkuliacija skatina ląstelių ir audinių atsinaujinimą. Kuriant tvarščius atsižvelgiama ir į žaizdų tipą, kurių yra gana nemažai, pavyzdžiui, lėtinės, nekrozinės, pūliuojančios ar epitelizuojančios.

Medžiagos žaizdoms tvarstyti gali būti skirstomos į pasyviasias, sąveikaujančias su oda ir biologiškai aktyvias. Sunkiai gyjančioms žaizdoms prižiūrėti plačiai naudojami gamtiniai polimerai: kolagenas, alginatai, chitozanas, celiuliozės dariniai ir kt. Dėl pralaidumo orui, vandens garams, bakterinio užterštumo prevencijos taip pat naudojami sintetiniai polimerai. Efektyvus žaizdos gijimas priklauso nuo daugelio faktorių: tipo, gydymo proceso, paciento sveikatos būklės (pvz., diabeto), aplinkos ir socialinių sąlygų, fizinių ir cheminių tvarščio savybių.

Celiuliozė – gamtinis, nealergizuojantis, netoksiškas, biologiškai suderinamas, aplinkai nekenksmingas polimeras – gana plačiai įvairiomis formomis naudojama žaizdų tvarščiams. Pirmiausia – marlei gaminti. Pastaruoju metu žaizdoms gydyti naudojamos įvairesnės celiuliozės formos: skaidulos, plėvelės, kempinės. Populiarėja polimeriniai hidrogeliai, todėl labiau domimasi ir celiuliozės bei jos darinių hidrogelių panaudojimu žaizdų tvarščiams.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Šio darbo tikslas – paruošti regeneruotos celiuliozės bei natrio alginato, pektino ir hidroksietilceliuliozės (HEC) įvairių kompozicijų hidrogelius, juos modifikuoti ir ištirti jų savybes, siekiant panaudoti žaizdų tvarsčiams.

Tikslui pasiekti keliami uždaviniai:

- ✓ paruošti keturių rūšių žaizdų tvarsčių medžiagas: 1) regeneruotos celiuliozės hidrogelio lakštus, 2) regeneruotos celiuliozės hidrogelius, veiktus virškintiniu anglies dvideginiu, 3) regeneruotos celiuliozės kempines, 4) kempines iš skirtingų vandenyje tirpių polimerų mišinio (pektino, natrio alginato ir hidroksietilceliuliozės);
- ✓ ištirti paruoštų mėginių morfologiją, mechanines, bioadheazines, skysčių įgerties savybes, vandens garų pralaidumą, skaidrumą, aktyumą, kraujo krešinimą;
- ✓ žaizdų tvarsčių medžiagoje imobilizuoti aktyviuosius junginius, ištirti jų išsiskyrimą ir antibakterinį aktyvumą;
- ✓ ištirti regeneruotos celiuliozės hidrogelio bei kempinių citotoksiškumą.

Mokslinio darbo naujumas ir praktinė vertė

Naudojant gamtinius, biosuderinamus, necitotoksiškus polimerus (regeneruotą celiuliozę, natrio alginatą, pektiną, hidroksietilceliuliozę), pagaminti hidrogeliai, iš kurių, taikant skirtingas džiovavimo technologijas, paruoštos keturios skirtingos žaizdų tvarsčių medžiagos.

Pirmą kartą regeneruotos celiuliozės hidrogelis, pagamintas iš acetilceliuliozės, buvo panaudotas žaizdų tvarsčių medžiagai gauti. Parodyta, kad pagaminto celiuliozės gelio struktūra gali būti lengvai modifikuojama, veikiami virškintinio CO₂ ar liofilizacijos.

Mechaninių savybių tyrimai parodė, kad paruošti mėginiai pakankamai apsaugo žaizdą nuo išorinio mechaninio poveikio, o po jo – išlaiko pradinę formą. Jie pasižymi ir kitais privalumais: maža adhezija odai, skaidrumu, kraujo krešimo funkcija.

Pagaminti baktericidiniai tvarsčiai, kurių antimikrobinis aktyvumas pasiektas, imobilizuojant juose sidabro nanodaleles ar antibiotiką neomiciną. Siekiant antioksidacinio poveikio žaizdai, imobilizuoti augalų ekstraktai ir iš jų išgauti fenoliniai junginiai.

Darbo pripažinimas

Darbo rezultatai paskelbti 4 publikacijose: 2 straipsniai žurnaluose „Cellulose Chemistry and Technology“ (priimtas publikuoti) ir „Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects“, esančiuose Thomson Reuters Web of Knowledge bazėje cituojamų leidinių sąrašė, ir 2 publikacijos tarptautinėse konferencijose.

Darbo sandara ir apimtis

Disertaciją sudaro įvadas, literatūros apžvalga, tyrimo metodikos, eksperimentų rezultatai ir jų aptarimas, išvados, literatūros šaltinių sąrašas (174), publikacijų disertacijos tema sąrašas.

Disertacijos apimtis – 114 p. Eksperimentų rezultatai pateikti 15 lentelių ir 57 paveiksluose.

2. METODINĖ DALIS

Naudotos medžiagos. Tyrimams naudota acetilceliuliozė (pakeitimo laipsnis 2,4), SIGMA-ALDRICH (JAV); natrio alginatas, SIGMA-ALDRICH (Vokietija); pektinas, išskirtas iš citrinų žievelės, galakturono rūgšties kiekis ≥ 74 % (sausai medžiagai), SIGMA-ALDRICH (Danija); hidroksietilceliuliozė (HEC), molekulinė masė $M_m \sim 1300000$ ir $M_m \sim 720000$, SIGMA-ALDRICH (Vokietija).

Metodai. Celiuliozės hidrogelio lakštai gauti, acetone regeneruojant celiuliozė iš acetilceliuliozės ir gautą tirpalą džiovinant kambario temperatūroje, išpilstyta į pasirinkto dydžio ir formos talpas. Gautas celiuliozės hidrogelis modifikuotas, veikiant virškritiniu anglies dioksidu virškritinių skysčių ekstrakcijos sistemoje *SFT-150 (Supercritical Fluid Technologies, JAV)*. Celiuliozės kempinės gautos, liofilizuojant celiuliozės hidrogelį, inkliuduodą 20 % etilo alkoholiu. Naudotas liofilizatorius *ALPHA 2–4 LSC* („Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH“, Vokietija). Akytos struktūros pektino, natrio alginato ir hidroksietilceliuliozės (HEC) vandeninių tirpalų, sumaišytų įvairiais santykiais, kempinės gautos liofilizacija ir susiūtos Ca^{2+} jonais.

Gautų mėginių morfologija tirta aukštos skiriamosios gebos skenuojančiu elektroniniu mikroskopu (SEM) *Quanta 200 FEG* (FEI, Olandija). Mikrokompiuterinė tomografija atlikta tomografu *μ CT40* („Scanco Medical AG“, Olandija) kompanijoje *b-cube* (Šveicarija).

Aktyvūs junginiai imobilizuoti ir jų išsiskyrimas tirtas difuzijos principu. Antibiotiko neomicino koncentracija nustatyta spektrofotometru *Varian Cary 50 UV-VIS* („Varian“, Australija), matuojant 320 nm bangos ilgio spindulių sugertį. Fenolinių junginių koncentracija nustatyta spektrofotometriškai, matuojant tirpalų šviesos sugertį, kai bangos ilgis – 765 nm. Sidabro koncentracija nustatyta atominės absorbcijos spektroskopu *AAS SpectraAA 20 Plus* („Varian Mulgrave Victoria“, Australija), matavimus atliekant 328,1 nm bangos ilgyje, prieš tai sudeginus mėginius oro ir acetileno liepsnoje.

Skysčių įgerties tyrimai atlikti, naudojant modelinius buferius, imituojančius žmogaus kūno skysčius.

Mechaninės savybės tirtos dinamometru *Zwick / Roell BDO-FB0.5TH* („Zwick GmbH & Co, Ulm“, Vokietija) (tempimo, gniuždymo tyrimai), tekstūros analizatoriumi *TA.TX Plus Texture Analyser* („Stable Micro Systems“, Jungtinė Karalystė) (kietumo, tampriosios deformacijos nustatymas). Celiuliozės

hidrogelių dinaminė ir termomechaninė analizė atlikta reometru *Modular Compact Rheometer MCR 302* („Anton Paar GmbH“, Austrija), keliant temperatūrą nuo 20 °C iki 40 °C 1 °C / min. greičiu ir naudojant pastovią 0,1 Hz dažnio mechaninę vibraciją.

Celiuliozės kempinių pralaidumas vandens garams nustatytas pagal ASTM metodo E96-90 procedūrą. Tyrimas atliktas uždaroje kameroje, kurioje buvo palaikoma 40 % drėgmė.

Celiuliozės hidrogelio lakštų bioadhezijos tyrimai atlikti reometru *Modular Compact Rheometer MCR 302* („Anton Paar GmbH“, Austrija). Imituojant žaizdos paviršių, naudota šviežio kiaušinio membrana, sudrėkinta 0,9 % natrio chlorido tirpalu.

Kraujo krešumo tyrimai atlikti spektrofotometru *Cary 50 UV-VIS* („Varian“, Australija). Ant tiriamo mėginio užlašinus atitinkamą kraujo kiekį ir praskiedus vandeniu, matuota tirpalų 540 nm bangos ilgio šviesos sugertis, nustatytas kempinės neabsorbuotas hemoglobino kiekis.

Skaidrumas / spalvotumas tirtas kolorimetru *MiniScan XE Plus colorimeter* (Hunter Associates Laboratory, Inc, Reston, VA, JAV), matavimams naudojant baltą foną. Skaidrumas / spalvotumas matuotas, remiantis CIE (pranc. *Commission Internationale l'Eclairage*) Lab trimate spalvų erdve. Spalvų koordinatės apdorotos *Universal Application Software V.4-10* programa.

Antibakterinis mėginių su imobilizuotu sidabru aktyvumas tirtas *Staphylococcus epidermidis RP62a* bakterijų atžvilgiu. *Staphylococcus epidermidis* bakterijos po 1 valandos kontakto su tiriamaisiais mėginiais sėjamos BHI sultinyje. Antibakterinis aktyvumas vertinamas po 24 valandų Miles'o ir Misra'o metodu.

Antibakterinis mėginių su imobilizuotu antibiotiku neomicinu aktyvumas tirtas gramneigiamoms *Escherichia coli* (DH5 α) ir gramteigiamoms *Bacillus subtilis* (ATCC 6051) bakterijoms. 15 \times 15 mm dydžio mėginiai buvo dedami ant LB agare pasėtų bakterijų kultūrų ir inkubuojami 37 °C temperatūroje 18 valandų. Antibakterinis aktyvumas vertinamas, matuojant inhibicijos zoną nuo mėginio iki skaidrios zonos kraštų.

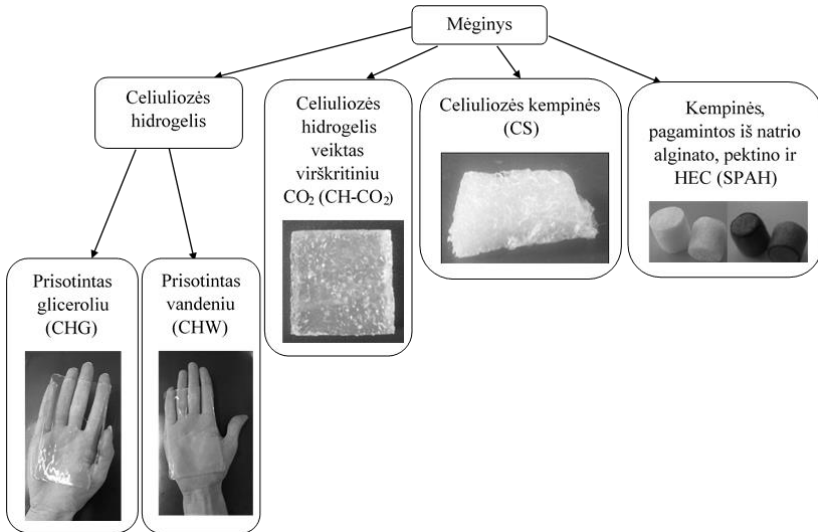
Celiuliozės kempinių citotolerantiškumo tyrimai atlikti, naudojant L-929 linijos žmogaus fibroblastus. Tyrimo trukmė – 8 dienos. Vertintas kaspazės-3 aktyvumas, matuojant mėginių fluorescenciją 496–520 nm bangų intervale prietaisu *Elisa reader* (Synergy HT, „Biotek“). Ląstelių DNR kiekis vertintas, pagal gamintojo instrukciją panaudojant „PicoGreen“ reagentą. Tyrimai atlikti Porto universitete, Portugalijoje.

Celiuliozės hidrogelių citotoksiškumo tyrimai atlikti bendradarbiaujant su Nacionaliniu Charkovo universitetu Ukrainoje. Tyrimo metu vertintas žiurkių hepatocitų gyvybingumas bei laktatdehidrogenazės aktyvumas (LDH) po sąveikos su tiriamaisiais mėginiais.

3. DARBO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Yra didelė žaizdų įvairovė, todėl reikia įvairių tvarščių. Tvarstis nudegimų žaizdoms gydyti turėtų būti patvarus ir lankstus, nelimpantis prie paviršiaus, pralaidus vandens garams, drėkinantis ir netrukdantis gyti. Lėtines žaizdose dažnai vyksta uždegiminiai procesai, lydimi audinių irimo, todėl jose būna per daug eksudato. Jis lėtina keratinocitų, fibroblastų, endotelio ląstelių proliferaciją, todėl svarbu jį sugerti. Gausiai kraujuojančioms žaizdoms svarbu sukelti kraujo krešėjimą, sugerti išskyras ir apsaugoti žaizdą nuo infekcijos. Apskritai visi tvarščiai turėtų apsaugoti žaizdą nuo išorinio fizinio poveikio, mikroorganizmų ir jų dauginimosi, turėtų būti suderinami su veikliaisiais junginiais, necitotoksiški, nealergizuojantys ir, pageidautina, pagaminti iš natūralių medžiagų. Kadangi skiriasi žaizdų dydis ir gylis, reikia įvairių tvarščių formų.

Žemiau pateikiama šiame darbe pagamintų bandinių schema su mėginių pavadinimais, jų trumpiniais ir iliustracijomis.



1 pav. Pagamintų mėginių schema su pavadinimais ir iliustracijomis

3.1. Celiuliozės hidrogeliai

Dėl didelio vandens kiekio hidrogeliai pasižymi lankstumu ir primena biologinius audinius. Kadangi jie labai porėti, lengvai prisotinami veikliaisiais junginiais. Šios ir daugelis kitų hidrogelių savybių pritaikomos gydant nudegimus. Hidrogeliai pasižymi smarkiai drėkinančiomis savybėmis, todėl tinkami įpjovimams, įdrėskimams, nubrozdinimams gydyti, padeda išvengti šašų susidarymo, kuris lėtina naujų audinių formavimąsi.

Celiuliozės hidrogeliai buvo gauti regeneruojant acetilceliuliozę. Gautų celiuliozės hidrogelio lakštų forma, dydis, storis yra lengvai kontroliuojami, išliejant regeneruotos celiuliozės tirpalą į pasirinktos formos indą.

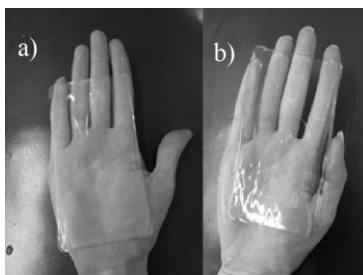
Pradinio pagaminto celiuliozės hidrogelio (CHW) skystąja faze tarnauja vanduo. Siekiant pagerinti mechanines ir adhezyines savybes, pradinis celiuliozės hidrogelis buvo prisotintas glicerolio (CHG). Vėsinantis ir drėkinantis efektas ypač svarbus gydant nudegimus. Medicinoje naudojami įvairūs drėkikliai, tarp jų ir glicerolis. Glicerolis yra necitotoksiškas, bespalvis, bekvapis, nesioksiduojantis ore, pasižymi bakteriostatinėmis ir antivirusinėmis savybėmis.

Pastaruoju metu vis daugiau dėmesio skiriama tvarsčio skaidrumui. Jei tvarstis skaidrus, žaizda gali būti stebima išoriškai, netrikdant gijimo proceso papildomais žaizdų perrišimais. Ištyrus CHW ir CHG lakštų skaidrumą / spalvotumą, nustatyta, kad abu hidrogeliai yra skaidrūs. Palyginti su CHW hidrogeliu, CHG pasižymi intensyvesniu geltonos spalvos atspalviu, jo chromatiškumo indeksas C* yra didesnis (1 lent.).

1 lentelė. CHW ir CHG hidrogelių skaidrumo / spalvotumo tyrimo rezultatai

Mėginys	L* ± SN	a* ± SN	b* ± SN	C* ± SN	h° ± SN
CHW	88,61 ± 0,77	-1,19 ± 0,01	2,57 ± 0,20	2,84 ± 0,18	114,99 ± 1,63
CHG	79,54 ± 0,10	-0,43 ± 0,02	12,76 ± 0,07	12,76 ± 0,0	91,95 ± 0,09

Tyrimo metu nustatyto indekso L* vertė nurodo baltos ir juodos spalvų santykį, kuris kinta nuo 0 (gryna juoda spalva) iki 100 (gryna balta spalva). Spalvos tonas (h°), pagrindinis spalvotumo parametras, interpretuojamas taip: 0° – raudona, 90° – geltona. Indekso a* teigiama / neigiama vertės atitinka raudoną / žalią, o indekso b* – geltoną / mėlyną spalvas. Kuo spalva intensyvesnė, tuo parametro C* vertė didesnė. CHG parametro h° vertė patvirtina, kad hidrogeliai, prisotinti glicerolio, yra geltonesnės spalvos ir ji yra grynesnė, palyginti su CHW hidrogeliais. SN vertė parodo santykinį matavimų nuokrypį. 2 pav. iliustruoja pagamintų hidrogelių skaidrumą.



2 pav. CHW (a) ir CHG (b) hidrogelių skaidrumas

Tipiniai tvarsčiai, prisilietę prie žaizdos, tampa minkšti ir gali prilipti prie jos paviršiaus. Keičiant juos, pacientas jaučia skausmą, kartu pažeidžiami naujai

susidarę audiniai. Siekiant išsiaiškinti pagamintų hidrogelių sąveiką su oda, atlikti bioadhezijos tyrimai. Jų *in vitro* rezultatai pateikiami 2 lentelėje.

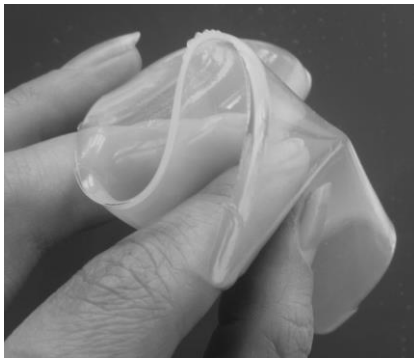
2 lentelė. Bioadhezijos matavimų rezultatai

Mėginys	$F_{\max}, N \pm SN$	TWA, mJ \pm SN	d, mm \pm SN
CHW	$1,6 \pm 0,39$	$0,35 \pm 0,10$	$2,8 \pm 0,27$
CHG	$0,7 \pm 0,10$	$0,2 \pm 0,01$	$1,5 \pm 0,02$

Lentelėje pateikiamas dydis F_{\max} atitinka didžiausią jėgą, reikalingą geliui pašalinti nuo imitacinės žaizdos terpės, dydis TWA parodo adhezijos darbą, o hidrogelio atstumas nuo kiaušinio membranos atitrūkimo momentu žymimas raide d.

Hidrogelio prisotinimas gliceroliu turi teigiamos įtakos bioadhezinėms savybėms, kadangi visi tirti adhezijos parametrai (didžiausia jėga, reikalinga hidrogeliui atplėšti nuo imitacinės terpės; adhezijos darbas, tiek hidrogelio atstumas nuo kiaušinio membranos atitrūkimo momentu) sumažėja apie 2 kartus, palyginti su tais pačiais CHW hidrogelio parametrais.

Tvarsčio elastingumas, atsparumas išoriniam mechaniniam poveikiui taip pat svarbūs, kad žaizda sėkmingai gytų. Tvarsčio elastingumas padeda išlaikyti jo paties formą, todėl rečiau reikia jį keisti. Taigi tai yra ekonomiškiau, kartu patogiau ir pačiam pacientui, kadangi sukeliama mažiau diskomforto. 3 pav. rodomas celiuliozės hidrogelio lakšto lankstumas.



3 pav. CHW hidrogelio lakšto lankstumas

3 lentelėje pateikiami CHW ir CHG hidrogelių mechaninių savybių tyrimo rezultatai, gauti tempimo tyrimu.

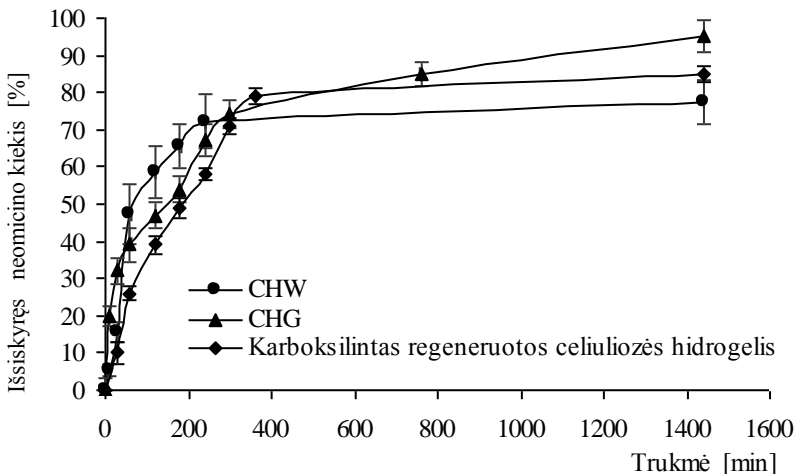
3 lentelė. CHW ir CHG bandinių tempimo tyrimo rezultatai

Mėginys	Tempiamasis stipris, MPa ± SN	Ištįsa trūkio momentu, % ± SN	Tamprumo modulis, MPa ± SN
CHW	2,73 ± 0,66	13,81 ± 0,58	5,76 ± 0,61
CHG	6,33 ± 0,98	16,00 ± 0,57	7,50 ± 0,55

Tyrimais nustatyta, kad CHG bandiniai, palyginti su CHW, pasižymi geresnėmis mechaninėmis savybėmis. CHG bandinių tempiamasis stipris net du kartus didesnis nei CHW. Bandinių, prisotintų gliceroliu, ištįsa trūkio momentu bei tamprumo modulis taip pat buvo gerokai didesni. Hidrogelių lakštai turi būti pakankamai tvirti ir elastingi, kita vertus, per didelės tamprumo modulio vertės rodytų, kad bandiniai yra per daug kieti ir gali sukelti pacientui nemalonių pojūčių. Oda – viskoelastinė medžiaga. Jos tempiamasis stipris priklauso nuo individo amžiaus, lyties, kūno vietos bei veikiančios jėgos ir mechaninio poveikio krypties ir vidutiniškai siekia 1,8 MPa. Taigi siekiant, kad tvarstis būtų patvarus ir galėtų apsaugoti žaizdą, jo tempiamasis stipris turėtų būti didesnis nei 1,8 MPa. Mechaninių savybių tyrimų rezultatai parodė, kad pagaminti hidrogelių lakštai, ypač prisotinti gliceroliu, yra atsparūs tempimui. Taigi toks hidrogelio lakštas gebėtų apsaugoti žaizdą nuo išorinio mechaninio poveikio, o ir su juo būtų lengva dirbti. Minkšta, guminė ir lanksti hidrogelių tekstūra yra panaši į žmogaus audinių, tai paspartintų gijimo procesus.

Dinaminės ir termomechaninės analizės metu mėginių savybės vertintos, remiantis tampros ir klamos moduliais. Keliant temperatūrą nuo 20 °C iki 40 °C, tyrimo pradžioje CHW hidrogelių tiek tampros, tiek klamos moduliai didėjo, tai rodo, jog keliant temperatūrą, bandiniai praranda savo elastiškumą ir tampa kietesni. O CHG hidrogeliai viso tyrimo metu išlaikė pastovias tampros bei klamos modulių reikšmes. CHG bandiniai, nepaisant kūno judesių ir pakilusios kūno ar aplinkos temperatūros, gebėtų išlaikyti savo formą, dėl to ne taip dažnai reikėtų keisti tvarstį.

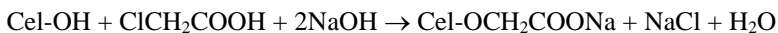
Hidrogeliuose difuzijos būdu imobilizuotas neomicinas. Aktyvusis komponentas aminoglikozidinis antibiotikas neomicinas pasirinktas dėl jo naudojimo gydant įvairias bakterines ligas. Absorbcijos tyrimai parodė, kad iš vandeninių neomicino tirpalų celiuliozės hidrogelis absorbuoja $231 \pm 4,6$ mg/g neomicino, skaičiuojant sausam hidrogeliui. Iš glicerolinių neomicino tirpalų celiuliozės hidrogelis sugėrė $190 \pm 6,8$ mg/g neomicino, skaičiuojant sausam geliui. Neomicino atsipalaidavimo kinetikos tirtos fosfatiniame buferyje (PBS), pH 7,4 37 °C temperatūroje (4 pav.).



4 pav. Bendras iš karboksilinto bei CHW ir CHG hidrogelių išsiskyres neomicino kiekis

Neomicino išsiskyrimo iš CHW bandinių pusiausvyra buvo pasiekta maždaug po 4 valandų, o išsiskyres neomicino kiekis siekė apie 72 %. Tyrimą tęsiant toliau, po 24 valandų jis tik nežymiai padidėjo ir siekė 77 %. Neomicino išsiskyrimas iš CHG bandinių po 4 valandų siekė 67 %, po 24 valandų – 95 %. Taigi CHG bandiniai pasižymi pailgintu neomicino išsiskyrimu, toks tvarstis galėtų būti naudojamas ilgiau nei 24 valandas. Be to, hidrogelyje likęs antibiotikas apsaugotų žaizdą nuo mikrobinio užteršimo.

Siekiant padidinti neomicino sorbciją, celiuliozės hidrogelis modifikuotas, alkilinant celiuliozę monochloracto rūgštimi pagal žemiau pateiktą schemą (įvesta 1,3 mmol/g karboksigrupių).



Neomicino absorbcijos tyrimai parodė, kad karboksilintas hidrogelis sugeria 309 ± 5.3 mg/g neomicino, skaičiuojant sausai medžiagai. Dėl elektrosstatinės celiuliozės karboksi- ir aminograpių, esančių neomicine, sąveikos sugeriamas didesnis neomicino kiekis, palyginti su nekarboksilintu hidrogeliu. Karboksilinti celiuliozės hidrogelį tikslinga ir siekiant suteikti silpnai rūgštinę terpę, kuri itin svarbi žaizdos brendimo stadijoje. Dėl tos pačios elektrosstatinės sąveikos neomicino išsiskyrimas iš karboksilinto celiuliozės hidrogelio vyksta lėčiausiai.

Neomicinas stipriai veikia gramneigiamas ir iš dalies – gramteigiamas bakterijas. Žinoma, kad glicerolis taip pat pasižymi bakteriostatinėmis savybėmis. Mėginių antibakterinės savybės iširtos, matuojant susidariusią

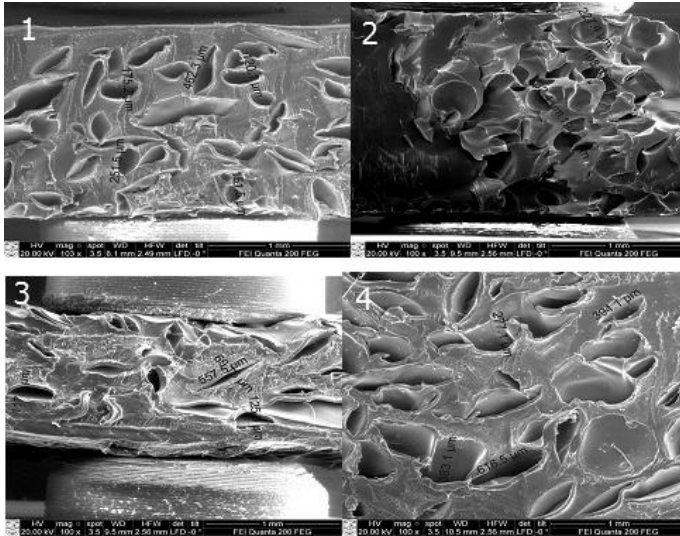
inhibicijos zoną aplink bandinį. CHW bandiniai be neomicino nepasižymėjo, o CHG bandiniai ir be neomicino pasižymėjo antibakteriniu poveikiu. Inhibicijos zona aplink gramneigiamas *Escherichia coli* bakterijas siekė 7 mm, o aplink granteigiamas bakterijas *Bacillus subtilis* – 4 mm. Geriausi rezultatai gauti CHG hidrogelių, inkliuduotų neomicinu: inhibicijos zona aplink *Escherichia coli* bakterijas siekė net 25 mm, o aplink *Bacillus subtilis* – 21 mm. CHW bandiniai su aktyviuoju komponentu neomicinu sudarė 20 mm inhibicijos zoną *Escherichia coli* bakterijų terpėje ir 21 mm – aplink *Bacillus subtilis* bakterijas.

Citotoksiškumo tyrimai žiurkių hepatocitams parodė, kad abu CHW ir CHG mėginiai yra necitotoksiški ir hepatocitų gyvybingumui įtakos neturėjo. Laktatdehidrogenazės tyrimai (LDH) patvirtino CHW ir CHG hidrogelių citotolerantiškumą. LDH aktyvumas stebimas kai yra pažeidžiama ląstelės membrana, tačiau tyrimo metu padidėjęs LDH aktyvumas nepastebėtas.

3.2. Celiuliozės hidrogeliai, veikti virškritiniu anglies dioksidu

Siekiant padidinti celiuliozės hidrogelio akytumą, jis buvo veiktas virškritiniu anglies dioksidu (CH-CO₂ mėginiai). Proceso sąlygų įtakai mėginio savybėms išsiaiškinti paruošti keturių rūšių mėginiai: 1) hidrogelis veiktas virškritiniu CO₂ 50 °C temperatūroje ir 4000 psi slėgiu; 2) hidrogelis veiktas virškritiniu CO₂ 80 °C temperatūroje ir 8000 psi slėgiu; 3) hidrogelis inkliuduotas 20 % etanolio ir veiktas virškritiniu CO₂ 50 °C temperatūroje ir 4000 psi slėgiu; 4) hidrogelis inkliuduotas 50 % etanolio ir veiktas superkritiniu CO₂ 50 °C temperatūroje ir 4000 psi slėgiu.

5 pav. pateikiamos CH-CO₂ mėginių nuotraukos. CHW hidrogelis pasižymi homogeniška struktūra, akučių nematyti, nes džiovinant susitraukia polimeras. O CH-CO₂ mėginiai net ir po džiovinimo pasižymi mikroakvata struktūra.



5 pav. Celiuliozės gelių, veiktų virškritiniu anglies dioksidu, SEM nuotraukos (didinimas $\times 100$)

Iš SEM nuotraukų (5 pav.) nustatyta, kad mėginius paveikus virškritiniu CO_2 , susidaro nevienodos formos ir parametrų akutės. Jų dydis svyruoja nuo 100 iki 600 μm .

Mechaninių savybių tyrimai parodė, kad hidrogelių veikimas virškritiniu anglies dioksidu turi teigiamos įtakos elastiškumui. Matyt, formuojantis akutėms, celiuliozės makromolekulės sutankėja, o tai ir lemia didesnį elastingumą. Geriausiu elastingumu pasižymėjo mėginiai Nr. 3 ir Nr. 1. Standartinio farmaceutinių plėvelių trūkimo tyrimu nustatyta, kad mėginys Nr. 1 iki trūkimo momento išsitempia net 2 kartus daugiau, palyginti su to paties storio celiuliozės hidrogeliu, nepaveiktu virškritinio CO_2 . Gniuždymo tyrimai parodė, kad atspariausias gniuždymui yra hidrogelis, neveiktas virškritiniu CO_2 . Visų keturių mėginių, veiktų virškritiniu CO_2 , Jungo modulio ir standžio vertės buvo gana panašios.

PECF (angl. *pseudo extracellular fluid*) buferio, imituojančio žaizdos eksudatus, įgerties tyrimai parodė, kad geriausiai skysčius sugeria išdžiovintas pradinis celiuliozės hidrogelis (apie 160 %). Virškritiniu CO_2 veiktas ir išdžiovintas hidrogelis Nr. 1 gali sugerti apie 150 % PECF buferio, skaičiuojant nuo pradinės bandinio masės. Prasčiausiai PECF buferį sugeria mėginys Nr. 2 (apie 90 %, skaičiuojant nuo pradinės hidrogelio masės).

Įvertinus mėginių morfologiją, mechanines savybes ir PECF buferio įgertį, tolesniems tyrimams naudotas mėginys Nr. 1. Šis hidrogelis buvo prisotintas vandens ir glicerolio (tūrių santykiu 1:1) mišiniu. Palyginti: tokiu pačiu mišiniu

buvo prisotintas ir celiuliozės hidrogelis, neveiktas virškintiniu CO₂. Bandinių kietumo ir tampriosios deformacijos tyrimais nustatyta, kad mėginių, veiktu virškintiniu CO₂, kietumas bei tamprioji deformacija sumažėja apie 3 kartus, palyginti su mėginiais, neveiktais virškintiniu CO₂. Inkludavimas vandens ir glicerolio mišiniu nežymiai padidina bandinių kietumą bei tampriąją deformaciją.

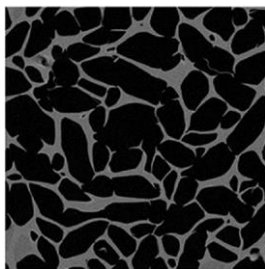
Perilla frutescens ir *Betula pendula* augalų sausųjų ekstraktų imobilizavimo ir išsiskyrimo tyrimu nustatytas šiuose ekstraktuose esančių fenolinių junginių kiekis. Nustatyta, kad imobilizavus didesnę fenolinių junginių kiekį, jie išsiskiria lėčiau ir išskiriama mažiau veikliosios medžiagos. *Perilla frutescens* atveju fenolinių junginių išsiskyrimo pusiausvyrą pasiekama po 6 valandų ir išskiriama ~90 % imobilizuotų fenolinių junginių, *Betula pendula* atveju – taip pat po 6 valandų ir ~50 %. Veikliųjų junginių išsiskyrimo kinetikos tyrimo metu pastebėta, kad fenoliniai junginiai iš mėginių, veiktu virškintiniu CO₂, išsiskiria lėčiau nei iš pradinio celiuliozės hidrogelio.

Tvarsčio medžiagos mikrostruktūra (akytumas, akučių dydis, forma, pasiskirstymas) turi reikšmingo poveikio sėkmingam žaizdų gijimui. Svarbu, kad per tvarstį lengvai vyktų dujų mainai – pasišalintų CO₂ ir patektų deguonis. Nuolatinis audinių aprūpinimas deguonimi yra itin svarbus gijimo procesų metu, kadangi didesnė deguonies koncentracija skatina audinių ląstelių atsinaujinimą. Vandens garų ir deguonies cirkuliacija svarbi gydant pragulas, kojų opas, nudegimus, nekrotines ir chirurgines žaizdas.

3.3. Celiuliozės kempinės

Trečio tipo mėginiai – celiuliozės kempinės – buvo paruošti iš CHW hidrogelio liofilizacijos būdu. Šių kempinių storis, ilgis bei plotis gali būti lengvai kontroliuojami, nes galima išlieti norimos formos ir pageidaujamo storio CHW hidrogelį. Kempinės tipo tvarsčiai gali būti naudojami kaip pirminiai ir antriniai gausiai pūliuojančioms žaizdoms gydyti. Jie puikiai sugeria destruktinius lėtinių žaizdų skysčių komponentus.

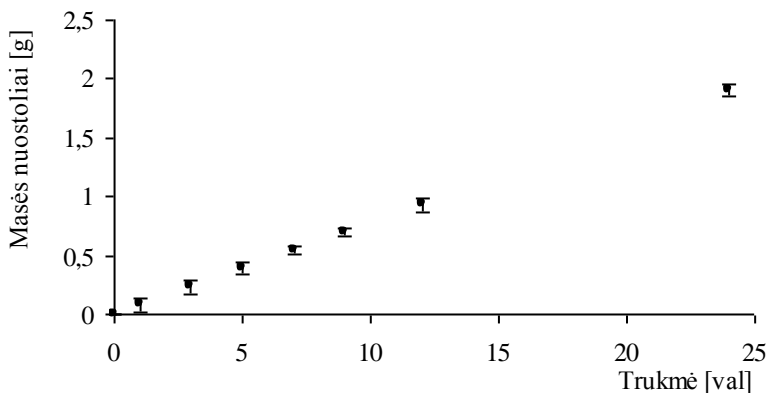
6 pav. pateikiama kompiuterinės tomografijos 2D nuotrauka.



6 pav. Regeneruotos celiuliozės kempinių kompiuterinės tomografijos 2D nuotrauka

Kompiuterinės tomografijos tyrimu nustatyta, kad celiuliozės kempinių aktyumas siekia 75 %, vidutinis akučių skersmuo – 750 μm . Nustatytas savitasis paviršiaus plotas siekė 14,5 mm^{-1} , tai rodo, jog kempinė turėtų puikiai sugerti skysčius. Skysčių įgertis stebėta PECF buferyje, imituojančiame žaizdos eksudatus. PECF buferio įgerties tyrimu nustatyta, kad celiuliozės kempinės geba absorbuoti net 210 % skysčio, skaičiuojant nuo pradinio kempinės svorio.

Kaip minėta anksčiau, gijimo procese svarbu palaikyti drėgną žaizdos aplinką. Leidžiant žaizdai per daug išdžiūti, stabdomas gijimo procesas, kita vertus, per didelis drėkinimas gali didinti infekcijos atsiradimo tikimybę. Nustatyta, kad tinkamiausias vandens garų pralaidumas tvarščiuose turėtų būti 2000–2500 $\text{g/m}^2/\text{per}$ dieną. Atlikus celiuliozės kempinių vandens garų pralaidumo tyrimus, nustatytas 2656 ± 30 $\text{g/m}^2/\text{per}$ dieną vandens garų pralaidumas (7 pav.). Skaičiavimai atlikti, remiantis 7 pav. pateikiamais duomenimis.



7 pav. Vandens masės nuostoliai vandens garų pralaidumo tyrime

Gautos vandens garų pralaidumo vertės yra gana artimos optimalioms reikšmėms. Toks tvarstis palaikytų pakankamą žaizdos drėgmę ir skatintų ląstelių epitelio susidarymą.

Kaip minėta anksčiau, kempinės tipo tvarščiai dažnai naudojami lėtinėms žaizdoms gydyti, čia infekcijos tikimybė labai didelė. Lėtinių žaizdų atveju itin svarbu užkirsti kelią infekcijai atsirasti ar plisti, todėl dažnai naudojami įvairūs antimikrobiniai preparatai (antibiotikai, sidabro nanodalelės, joduotas povidonas ir kt.).

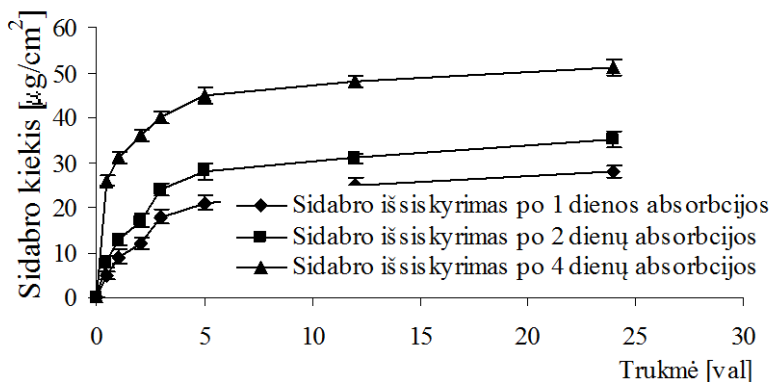
Norint suteikti antioksidacinių savybių, celiuliozės kempinėse buvo imobilizuoti fenoliniai junginiai, išskirti iš *Calendula officinalis* ir *Chamomilla recutita* augalų. Panaudojant *Calendula officinalis*, imobilizuotas fenolių kiekis siekė 2,6 mg/g sausai celiuliozės kempinei, o *Chamomilla recutita* atveju – 3,9

mg/g sausai celiuliozės kempinei. Fenolinių junginių išsiskyrimo tyrimai į PBS buferį (pH 7,4) parodė, kad išsiskyrusių fenolinių junginių pusiausvyra yra pasiekama jau po 1 valandos. Nusistovėjus pusiausvyrai, kempinės, prisotintos fenolinių *Chamomilla recutita* junginių, išskiria 68 % imobilizuotų fenolių, o kempinės, prisotintos fenolinių *Calendula officinalis* junginių, – tik 38 %. Nevienodas išskiriamų fenolių kiekis gali būti dėl skirtingos fenolių struktūros atskiruose augaluose, taip pat dėl skirtingo imobilizuoto fenolių kiekio.

Tokiomis pačiomis sąlygomis stebint antibiotiko neomicino imobilizaciją ir išskyrimą nustatyta, kad neomicino išskyrimo pusiausvyra pasiekama po 3 valandų, o išskirtas neomicino kiekis siekia 50 % pradinio imobilizuoto kiekio. Svarbu, kad ne visa imobilizuota veiklioji medžiaga yra išskiriama. Taip antibakterinis tvarsčio medžiagos poveikis išlieka ilgiau.

Siekiant išvengti bakterinės infekcijos, gana dažnai naudojamas sidabras. Jis pasižymi gana plačiu antimikrobinio veikimo spektru prieš įvairius mikroorganizmus, įskaitant *Pseudomonas aeruginosa* ir *Staphylococcus aureus*, kurie dažnai kolonizuojasi lėtinėse žaizdose.

Sidabro nanodalelės, stabilizuotos oleino rūgštyje, imobilizuotos į celiuliozės karkasus difuzijos būdu. Sidabro imobilizacijai pasirinktos viena, dvi ir keturios dienos. Po vienos eksperimento dienos absorbuota 42 mg/cm², po dviejų – 53 mg/cm², o po keturių – 93 mg/cm² sidabro. Jo išsiskyrimo grafikai pateikti 8 pav.



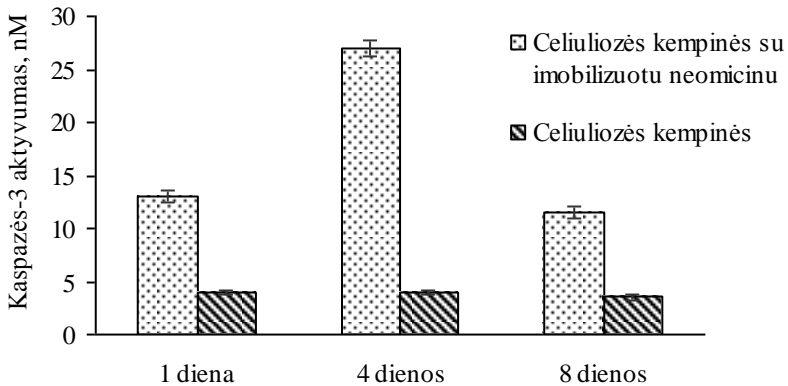
8 pav. Sidabro išsiskyrimo kinetika

Šie tyrimai rodo pailgintą sidabro išsiskyrimą, pusiausvyra nepasiekama net ir po 24 valandų. Iš sidabro išsiskyrimo tyrimų matyti, kad kuo didesnis absorbuotas jo kiekis, tuo daugiau išskiriama.

Kempinės su imobilizuotu sidabru net ir po vienos tyrimo dienos buvo antibakteriškai atsparios *Staphylococcus epidermidis* bakterijoms, o *S. epidermidis* bakterijų sumažėjo apie 99,8 % (arba ~3 log₁₀). Didėjant

imobilizuoto sidabro kiekiui, antibakterinis atsparumas taip pat didėjo. Kempinėse po dviejų sidabro imobilizacijos tyrimų dienų bakterijų skaičius sumažėjo 99,999 % ($5 \log_{10}$). Ląstelių skaičius buvo žemiau aptikimo ribos (100 CFU/ml). Atitinkamai po keturių sidabro imobilizavimo tyrimų dienų kempinės bakterijų skaičių sumažino 99,9999 % arba $6 \log_{10}$.

Citotoksiškumo tyrimai *in vitro* patvirtino pagamintų celiuliozės kempinių ir celiuliozės kempinių su imobilizuotu neomicinu citotolerantiškumą. Apoptozė (programuota ląstelių žūtis) vertinta, remiantis kaspazės-3 aktyvumu, eksperimentą atliekant 8 dienas (9 pav.).



9 pav. Kaspazės-3 aktyvumas po sąveikos su celiuliozės kempinėmis ir celiuliozės kempinėmis su imobilizuotu neomicinu

Celiuliozės kempinės visas 8 eksperimento dienas rodė tolygų ir žemą kaspazės-3 aktyvumą. Lyginant kaspazės aktyvumą kempinėse be neomicino ir su imobilizuotu neomicinu, galima teigti, kad neomicinas didina citotoksiškumą. Didžiausias kaspazės-3 aktyvumas stebėtas celiuliozės kempinėms su imobilizuotu neomicinu po 4 dienų eksperimento, o po 8 dienų kaspazės aktyvumas mažėja.

DNR koncentracijos nustatymas leidžia įvertinti, kaip ląstelės geba augti mėginyje. Šio tyrimo metu nustatyta, kad celiuliozės kempinės yra tinkama terpė ląstelėms išgyventi, kadangi visas 8 dienas ląstelių DNR koncentracija buvo labai artima. Celiuliozės kempinėse DNR koncentracija buvo daugiau nei 5 kartus didesnė, palyginti su celiuliozės kempinėmis su imobilizuotu neomicinu (jose DNR koncentracija pradeda mažėti po 4 dienų). Toks tvarstis galėtų būti naudojamas 4 dienas, nes vėliau ląstelės, esančios po tvarsčiu, nebeatsinaujintų.

Darbe pagamintos celiuliozės kempinės galėtų būti panaudojamos gausiai pūliuojančioms ir užkrėstoms žaizdoms gydyti.

3.4. Pektino, natrio alginato bei hidroksietilceliuliozės kempinės

Ketvirtoji žaizdų tvarsčių medžiagų grupė buvo gauta liofilizacijos būdu iš vandenyje tirpių pektino, natrio alginato bei hidroksietilceliuliozės (HEC) polimerų (SPAH mėginiai). Ieškant tinkamiausio varianto, polimerų tirpalai buvo maišomi įvairiais santykiais. Aktyviuoju komponentu pasirinktas joduotas povidonas. Jis yra antiseptikas, pasižymintis plačiu antimikrobinu spektru, įskaitant periodonto sukėlėjus, mikobakterijas, virusus. SPAH mėginiai paruošti cilindro formos, kad būtų pritaikomi gilioms žaizdoms gydyti, pavyzdžiui, po danties pašalinimo. Tam dažnai naudojamos kolageno kempinės, bet jos netinka, kai yra infekcijų, nes gali paskatinti bakterijų dauginimąsi.

Alginatas, kaip hemostatinė priemonė, plačiai naudojamas kraujuojančioms žaizdoms. Jis labai gerai sugeria skysčius, pasižymi gelizuojančiomis, kartu ir drėkinančiomis savybėmis. Alginato tipo tvarsčiai geba prisitaikyti prie žaizdos kontūrų. Keičiant tokių tvarstį, silpnai jaučiamas skausmas bei retai atsiranda traumų. Pektinas taip pat pasižymi gelizuojančiomis savybėmis. Jis sukuria rūgštinę terpę, kuri slopina bakterijų dauginimąsi ir gali būti panaikinti aktyviems junginiams imobilizuoti. Pagrindinis pektino trūkumas – prastos mechaninės savybės. Siekiant jas pagerinti, pasirinkta skirtingos molekulinės masės HEC.

Alginato, pektino ir HEC tirpalų sumaišymo santykiai, gaminant kempines, pateikti 4 lentelėje bei 5 lentelėje.

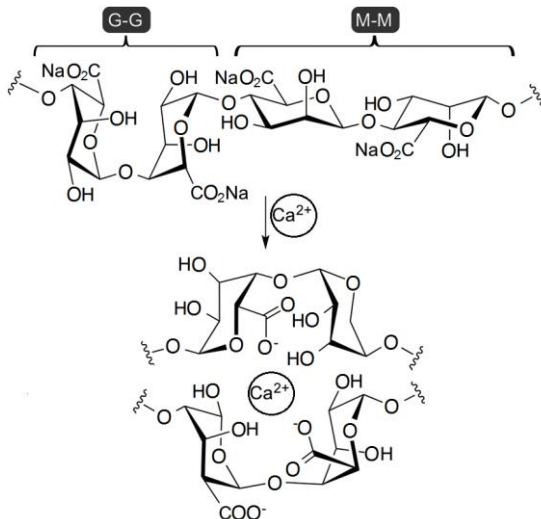
4 lentelė. Mėginiai su HEC, kurios Mm ~1300000

Mėginio numeris	Natrio alginato 2 %, tūrio santykis mišinyje	Pektino 2 %, tūrio santykis mišinyje	HEC (Mm 1300000) 1 %, tūrio santykis mišinyje	Joduotas povidonas
1	1	2	2	-
2	2	1	2	-
3	2	2	1	-
4	1	2	2	+
5	2	1	2	+
6	2	2	1	+

5 lentelė. Mėginiai su HEC, kurios Mm ~720000

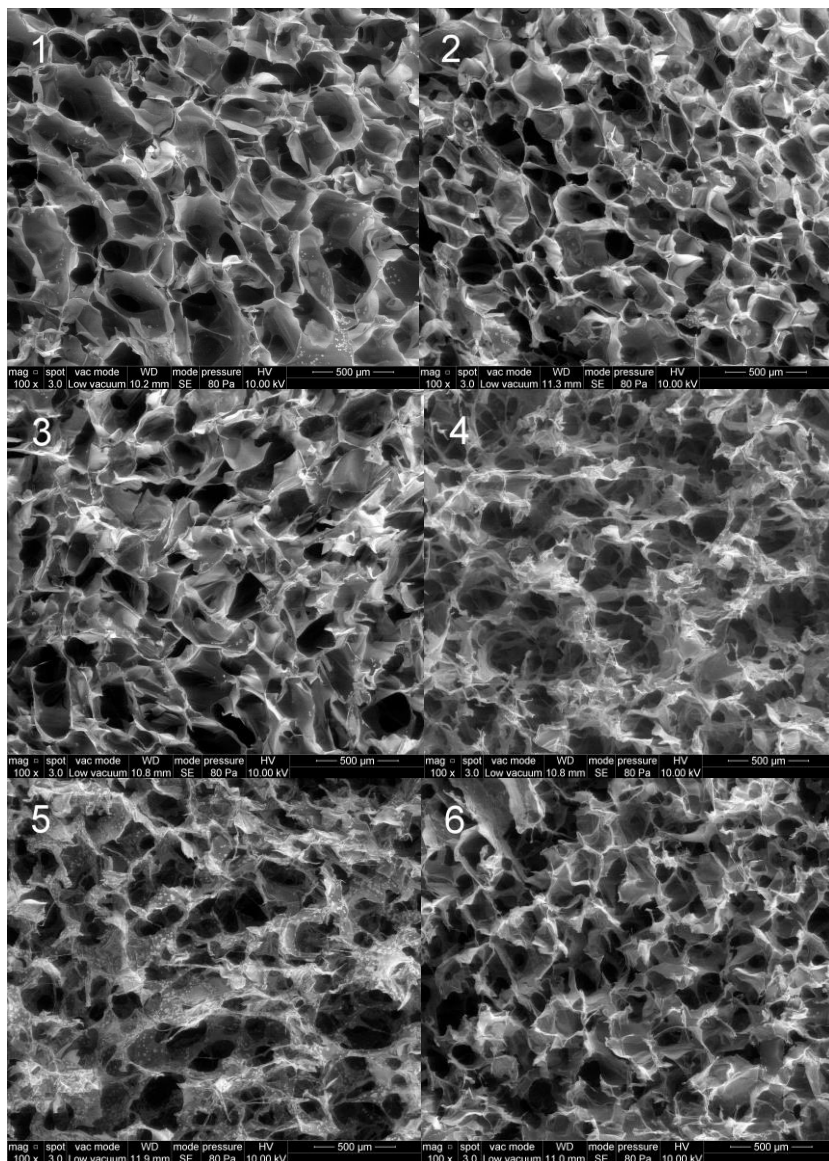
Mėginio numeris	Natrio alginato 2 %, tūrio santykis mišinyje	Pektino 2 %, tūrio santykis mišinyje	HEC (Mm 720000) 1 %, tūrio santykis mišinyje	Joduotas povidonas
7	1	2	2	-
8	2	1	2	-
9	2	2	1	-
10	1	2	2	+
11	2	1	2	+
12	2	2	1	+

Siekiant gauti netirpias kempines, pagal 10 pav. pateiktą schemą kempinės sujungtos į tinklą. Alginatui sąveikaujant su kalcio jonais, kalcio jonai polimere pakeičia natrio jonus. Kalcio jonai sujungia į tinklą alginatą, kadangi jie, kitaip nei vienvalenčiai jonai (pvz., natrij), geba sudaryti du ryšius.



10 pav. Natrio alginato sujungimas į tinklą kalcio jonais

11 pav. pateiktos 1–6 kempinių SEM nuotraukos. Kaip matyti iš nuotraukų, visi mėginiai pasižymi porėta struktūra. Mėginiai Nr. 1, 2, 3 pasižymi ovalios formos poromis ir panašiu jų dydžiu. Pridėjus aktyviojo komponento – joduoto povidono (atitinkamai mėginiai Nr. 4, 5, 6), kempinių porų dydis sumažėja, jos įgyja plokštesnę formą. Panašūs rezultatai gaunami ir su mėginiais Nr. 7–12. Pastebėta, kad joduoto povido įtaka morfologijai mažiausiai pasireiškia, sumaišius polimerus alginatą, pektiną ir HEC santykiu 2:2:1, šių mėginių akučių forma ir dydis pasikeičia mažiausiai, pridėjus aktyviojo komponento.



11 pav. 1–6 mėginių SEM nuotraukos

Kempinių akytumas – svarbus rodiklis deguonies, dujų ir vandens garų mainams tarp žaizdos paviršiaus ir išorinės aplinkos. Atlikus akytumo tyrimus, nustatyta, kad mėginių akytumas svyruoja tarp 90–70 %, išskyrus mėginį Nr. 4

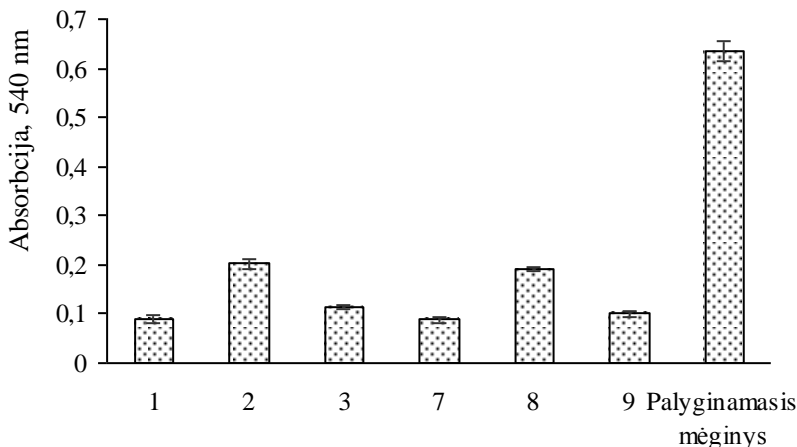
ir 10, kurių aktyvumas siekia apie 55 %. Sumažėjusiam aktyvumui įtakos turi pridėtas aktyvusis komponentas ir polimerų santykis mišinyje – mažesnis alginato santykis lemia mažesnį aktyvumą.

Viena iš svarbiausių kempinės formos tvarsčių savybė – sugerti žaizdos eksudatus. PBS buferio įgerties tyrimai parodė, kad, maišant polimerus natrio alginatą, pektiną ir HEC santykiu 2:2:1 su aktyviuoju komponentu ir be jo, gaunamos kempinės, kurių PBS įgerties vertės yra gana artimos. Sumaišius polimerus aukščiau minėtu santykiu, PBS buferio įgertis siekė apie 400 %, palyginti su pradiniu kempinės svoriu. Pridėtas joduotas povidonas, maišant polimerus kitais santykiais, turėjo daugiau įtakos PBS buferio įgerčiai ir ją gerokai sumažino. Mėginiai, paruošti naudojant didesnės molekulinės masės HEC, geriau sugeria skysčius.

Atlikus kempinių gniuždymo tyrimus, nustatyta, kad atspariausi gniuždymui buvo mėginiai Nr. 4 ir 10, kurių Jungo modulis atitinkamai siekė 198 kPa ir 171 kPa. Tokius rezultatus tikriausiai lėmė mažesnis šių mėginių aktyvumas. Mėginių, pagamintų iš polimerų natrio alginato, pektino ir HEC, sumaišytų santykiu 1:2:2, Jungo modulis didėja, pridėjus joduoto povidono, kitais atvejais pridėtas joduotas povidonas Jungo modulį sumažina, bet nežymiai. Lyginant mėginius, pagamintus su skirtingos molekulinės masės HEC, nustatyta, kad didesnė HEC molekulinė masė lemia didesnes Jungo modulio vertes, taigi tokios kempinės yra atsparesnės išoriniam poveikiui.

Tampriosios deformacijos tyrimai parodė, kad mėginiai Nr. 5 ir 11, t. y. turintys mažiau pektino ir imobilizuoto joduotojo povidono, pasižymi geriausiomis elastiškumo savybėmis – pašalinus veikusią jėgą, geriausiai geba sugrįžti į pradinę formą. Tyrimo metu nustatyta, kad prasčiausiu elastingumu pasižymėjo mėginiai Nr. 7 ir 9. Joduoto povidono imobilizavimas pagerina mėginių elastingumą maždaug 4–7 %, palyginti tuos pačius mėginius be aktyviosios medžiagos. Tampriosios deformacijos reikšmės mėginiams su joduotu povidonu svyruoja tarp 15–18 %.

Siekiant išsiaiškinti, ar pagamintos kempinės galėtų stabdyti kraujavimą, atliktas kraujo krešumo tyrimas. Jo rezultatai pavaizduoti 12 paveiksle. Tyrimo metu naudotas palyginamasis mėginys, t. y. mėginys be kempinės. Kuo mažesnę absorbciją, tuo geresniu kraujo krešumu pasižymi kempinė. Visų mėginių gebėjimas krešinti kraują buvo daugiau nei 3 kartus didesnis, palyginti su lyginamuoju bandiniu.



12 pav. Kraujo krešumo tyrimo rezultatai, rodantys neabsorbuoto kraujo kiekį

Prasčiausiu kraujo krešumu pasižymėjo mėginiai su mažesniu pektino kiekiu, t. y. mėginiai Nr. 2 ir 8. Visų kitų mėginių krešumas buvo gana panašus – hemoglobino absorbcija siekė tik apie 0,1. Lyginant su palyginamuoju mėginiu, galima daryti išvadą, kad kempinės pasižymi optimaliausiomis kraujo krešumo ir absorbcinėmis savybėmis.

Jodo išsiskyrimo kinetikos tyrimai parodė, kad mėginiuose su didesnės molekulinės masės HEC, greičiausiai jodas išskiriamas iš mėginio Nr. 5, kuriame polimerų (natrio alginato, pektino, HEC) santykis yra 2:1:2. Kai šis santykis yra 2:2:1, joduotas povidonas išskiriamas lėčiausiai (mėginys Nr. 6). Mėginio Nr. 4 jodo išsiskyrimo pusiausvyra pasiekama per 9, Nr. 5 – per 7, o Nr. 6 – net per 34 valandas. Mėginiuose su mažesnės molekulinės masės HEC situacija yra panaši, kaip ir su didesnės, tik jodo išsiskyrimo pusiausvyra pasiekama greičiau: iš mėginio Nr. 10 – per 9 valandas, Nr. 11 – per 5, o Nr. 12 – per 27 valandas. Taigi jodo išsiskyrimo greitis priklauso nuo HEC molekulinės masės. Didesnės molekulinės masės polimero brinkimas trunka ilgiau, todėl ir jodas išskiriamas lėčiau. Polimerų santykis mišinyje taip pat turi įtakos jodo išsiskyrimui. Siekiant pailginti aktyviosios medžiagos išsiskyrimą, reikėtų naudoti kempines, paruoštas sumaišius polimerus natrio alginatą, pektiną ir HEC santykiu 2:2:1. Šio tyrimo metu nustatyta, kad jodo išsiskyrimo iš kempinių greitis gali būti reguliuojamas.

IŠVADOS

1. Iš regeneruotos celiuliozės hidrogelio sukurtos trys naujos žaizdų tvarsčių medžiagos skirtingoms žaizdoms gydyti.

1.1. Pagaminti skaidrūs celiuliozės hidrogelio lakštai, kuriuose skystą fazę sudaro vanduo ar vandens ir glicerolio tirpalas. Nustatyta, kad gauti hidrogelio lakštai pasižymi maža bioadhezija ir dideliu drėgmės kiekiu, todėl gali būti pritaikomi nudegimams, įbrėžimams, įpjovimams, nubrozdinimams gydyti. Regeneruotos celiuliozės lakštų prisotinimas gliceroliu pagerina jų mechanines savybes. Hidrogelis, kuriame skystą fazę sudaro glicerolis, pasižymi daugiau nei du kartus didesniu tempiamuoju stipriu (6,33 MPa), palyginti su pradiniu celiuliozės hidrogeliu (2,73 MPa). Po hidrogelio prisotavimo gliceroliu gerokai padidėja ir ištįsa trūkio momentu bei Jungo modulis. Dinaminė ir termomechaninė analizė parodė, kad celiuliozės hidrogelis su gliceroliu, nepaisant didėjančios temperatūros, geba išlaikyti savo formą.

1.2. Regeneruotos celiuliozės hidrogelį veikiant virškritiniu anglies dioksidu pagaminti makroporėtos struktūros hidrogeliai (100–600 μm), kurie užtikrina efektyvią garų ir deguonies cirkuliaciją, svarbią gydant pragulas, kojų opas, nudegimus ir chirurgines žaizdas.

1.3. Liofilizacijos būdu pagamintos regeneruotos celiuliozės kempinės, kurios pasižymi gera imitacinio žaizdų skysčių įgertimi (210 %) ir galėtų būti naudojamos nekrotinėms ir gausiu išskyrų kiekiu pasižyminčioms žaizdoms gydyti. Regeneruotos celiuliozės kempinių vandens garų pralaidumas siekia $2656 \pm 30 \text{ g/m}^2/\text{per dieną}$ ir yra arti idealių reikalavimų – $2000\text{--}2500 \text{ g/m}^2/\text{per dieną}$.

2. Liofilizacijos būdu pagamintos kempinės iš vandenyje tirpių polimerų (pektino, natrio alginato ir hidroksietilceliuliozės) mišinio. Gautos kempinės pasižymi didele fosfatinio buferio įgertimi (~300-450 %) ir kraują krešinančiomis funkcijomis, todėl gali būti pritaikomos gausiai eksuduojančioms ir kraujuojančioms žaizdoms gydyti. Vertinant pagamintų kempinių morfologiją, mechaninių bei fizikinių savybių pritaikymą žaizdų tvarsčiams, nustatyta, kad jų mechaninės savybės, akytumas, skysčių įgertis, kraujo krešumo funkcijos gali būti reguliuojamos, keičiant polimerų santykį.

3. Pagamintoje žaizdų tvarsčių medžiagoje imobilizuoti veiklieji junginiai ir ištirtas jų išsiskyrimas.

3.1. Antibiotiko neomicino išsiskyrimas iš regeneruotos celiuliozės hidrogelių lakštų užtrunka ilgiau nei 24 valandas. Karboksilintas hidrogelis aktyvųjį komponentą išskiria lėčiau dėl joninio celiuliozės karboksi- ir amino grupių, esančių neomicine, ryšio. Hidrogelio lakštai su imobilizuotu neomicinu pasižymėjo antibakteriniu aktyvumu prieš *Escherichia coli* ir *Bacillus subtilis* bakterijas.

- 3.2. *Perilla frutescens* ir *Betula pendula* ekstraktų imobilizavimo į celiuliozės hidrogelius, veiktus virškritiniu anglies dioksidu, tyrimas parodė, kad fenolinių junginių išsiskyrimo pusiausvyrą pasiekama po 6 valandų, po to dalis fenolinių junginių lieka hidrogelyje. *Perilla frutescens* atveju nusistovėjus pusiausvyrai išskiriama ~90 % imobilizuotų fenolinių junginių. *Betula pendula* atveju išskiriama ~50 % imobilizuotų fenolinių junginių.
- 3.3. Sidabro nanodalelės į celiuliozės kempines imobilizuotos difuzijos būdu ir jau po vienos dienos pasižymėjo antibakteriniu atsparumu *Staphylococcus epidermidis* bakterijoms (bakterijų sumažėjo apie 99,8 %, arba ~3 log₁₀). Imobilizuoti fenoliniai junginiai, išskirti iš *Calendula officinalis* ir *Chamomilla recutita* augalų, parodė, kad *Chamomilla recutita* atveju išskiriama 68 % imobilizuotų fenolių, o kempinės, prisotintos fenolinių junginių iš *Calendula officinalis*, išskiria tik 38 % fenolių. Neiškirtas aktyviojo komponento kiekis lemia ilgesnį antioksidacinį tvarsčio poveikį.
- 3.4. Joduoto povidono išsiskyrimas iš kempinių, pagamintų iš pektino, natrio alginato ir hidroksietilceliuliozės mišinio, gali būti kontroliuojamas, keičiant šių polimerų santykį.
4. *In vitro* tyrimai su žmogaus fibroblastais patvirtino, kad regeneruotos celiuliozės kempinės pasižymi citotolerantiškumu. Citotoksiškumo tyrimai *in vitro* su žiurkių hepatocitais patvirtino, kad celiuliozės hidrogeliai ir celiuliozės hidrogelis su gliceroliu taip pat pasižymi citotolerantiškumu.

MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

STRIPS NIAI

Thomson Reuters Web of Knowledge pagrindinio sąrašo leidiniuose

1. Sandra Kiselišvienė; Odeta Baniukaitienė; Volodymyr Harkavenko; Nataliya Babenko; Jolanta Liesienė. Cellulose hydrogels sheets for wound dressing // Cellulose Chemistry and Technology. 2015. [Thomson Reuters Web of Knowledge] [Impact factor: 0.833] (accepted).
2. Sandra Gustaite; Jurgita Kazlauske, Jamshed Bobokalonov; Stefano Perni; Victoria Dutschk; Jolanta Liesienė, Polina Prokopovich. Characterization of cellulose based sponges for wound dressing // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. ISSN:0927–7757. 2015, p. 336–342. [Thomson Reuters Web of Knowledge] [Impact factor: 2.752].

Konferencijų pranešimų medžiagoje

1. Gustaitė, Sandra; Grybauskaitė, Gintarė; Liesienė, Jolanta; Prokopovich, Polina. Nanosilver loaded cellulose-based gel for antibacterial wound treatment // Chemistry and chemical technology: Proceedings of the

international conference, 25 April, 2014, Kaunas University of Technology. Kaunas. ISSN 2351–5643. 2014, p. 260–263.

2. Gustaitė, Sandra; Kazlauskė, Jurgita; Liesienė, Jolanta; Nasiri Boroumand, M.; Dutschk, V. Cellulose-based hydrogels for wound dressing // Baltic polymer symposium 2013: Trakai, Lithuania, September 18–21, 2013: programme and abstracts. Vilnius University, Kaunas University of Technology. Vilnius. ISBN 9786094592270. p. 133.

KITOS MOKSLINĖS PUBLIKACIJOS

Thomson Reuters Web of Knowledge pagrindinio sąrašo leidiniuose

1. Jolita Baranauskienė; Jurgita Kazlauskė; Sandra Gustaitė; Bernd Niemeyer; Jolanta Liesienė. Comparative study of macroporous silica-and cellulose-based sorbents for lectin affinity chromatography // Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies. ISSN 1082–6076. 2014, p. 1847–1861. [Thomson Reuters Web of Knowledge] [Impact factor: 0.606].

Kituose Thomson Reuters Web of Knowledge duomenų bazėse referuojamuose leidiniuose [Proceedings ir kt.]

1. Gustaitė Sandra; Survilaitė Indrė; Liesienė Jolanta. Comparison of adsorbents based on silica coated with different PVA derivatives // Polymer chemistry and technology: Proceedings of scientific conference Chemistry and Chemical Technology, Kaunas University of Technology, 25 April, 2012, Kaunas University of Technology. Kaunas: Technologija. ISSN 2029–2457. 2012, p. 88–92.

Konferencijų pranešimų medžiagoje

1. Gustaitė, Sandra; Survilaitė, Indrė; Liesienė, Jolanta. Coating of macroporous silica with poly(vinyl alcohol) derivatives // EUPOC 2012: Porous Polymer-Based Systems: from Design to Application, Europolymer Conference 3–7 June, 2012, Gargnano, Italy: booklet of abstracts. Gargnano: European Polymer Federation, 2012. p. 83.
2. Kazlauskė, Jurgita; Gustaitė, Sandra; Liesienė, Jolanta. Comparison of different adsorbents for binding of bile acids // Baltic Polymer Symposium 2012: Liepāja, Latvia, September 19–22: program and abstracts. Riga: Riga Technical University, 2012. p. 25.

CURRICULUM VITAE

Vardas, pavardė:	Sandra Kiseliovienė
Gimimo data:	1986 m. kovo 12 d., Jonava
El. paštas:	sandra.kiselioviene@gmail.com
Išsilavinimas: 2011 birželis	Kauno technologijos universitetas, Chemijos fakultetas, taikomosios chemijos magistrė
Darbo patirtis: 2011 rugsėjis – iki dabar:	Doktorantūros studijos Kauno technologijos universitete, Chemijos fakultete, Polimerų chemijos ir technologijos katedroje.
2011 balandis – iki dabar:	Chemikė-analitikė UAB „Aconitum“, Kaunas
Stażuotės: 2013-09-30 – 2013-10-25	Kardifo universitetas, Farmacijos ir farmacijos mokslų bei inžinerijos mokykla, Jungtinė Karalystė
2012-04-10 – 2012-04-13	Vasaros mokykla „School on Surface Analytical Techniques“, Vokietija, Regensburgas
2010-09-01 – 2010-10-31	IAESTE stažuotė. Budapešto technologijos ir ekonomikos universitetas, Cheminės technologijos ir biotechnologijos fakultetas, Vengrija
2008-11-17 – 2008-11-23	Makromolekulinės chemijos institutas „Petru Poni“, Rumunija

PADEKA

Nuoširdžiai dėkoju savo darbo vadovei prof. dr. Jolantai Liesienei už vadovavimą ir visapusišką paramą. Dėkoju kolegėms iš Polimerų chemijos ir technologijos katedros už palaikymą ir pagalbą: Odetai Baniukaitienei, Julei Kiverienei, Alisai Palavenienei. Esu dėkinga savo šeimai ir draugams už šiltą paramą ir supratingumą.

REZUME

Relevance of the topic

Skin lesions are inevitable processes, and many have used bandages or patches. Historically, the dressing of wounds was carried out through the use of cloth. Recently, in chemistry and material sciences, a new generation of wound dressings has been extensively developed. Dressings made of new forms such as

sponges, films and hydrocolloids have been developed together with new functions. Modern bandages not only protect the wound from infection, but as well promote the healing process, irrigate the wound, absorb the wound secretions, achieve the desired pH of the wound medium, stimulate the necessary growth factors and carry active compounds into the wound. Therefore, it is very important to perform a variety of chemical investigations. In recent years, a number of new products adapted for different types of wound healing and the wound healing stages have been discovered. The new generation of bandages has developed taking into account the different biological mechanisms that promote the healing of the wound, as well as comfortable feeling for patient, good mechanical, fluid absorption and anti-microbial properties are being developed.

In the past, the bandages were made of the cotton fabric (cellulose) with a different degree of wound exudate absorbency. The primary function of these bandages was to keep the wound dry, let the exudate evaporate and protect the wound against the harmful bacteria. However, only several decades ago, it has been observed that faster and more successful wound healing is achieved in the wet environment. Wound dressing should create an optimal environment that allows unrestricted movement of epithelial cells in order to achieve a faster wound healing process. The optimal conditions for wound healing are a moist environment around the wound and an effective oxygen circulation, which promotes cell and tissue regeneration. The type of wound has a significant influence on the wound development process, as the variety of wounds is distinguished, for example, chronic, necrotic, sloughy and epithelializing.

Modern materials that are used to cover the wound can be divided into inert, interacting with skin and biologically active substances. Natural polymers (collagen, alginates, chitosan, cellulose derivatives, etc.) are widely used for the non-healing wounds. Moreover, the synthetic polymers due to their air, water vapour permeability, prevention of bacteria entry into wounds are used. Efficient wound healing depends on many factors, including the type of wound, the treatment process, the patient health status (e.g. diabetes), environmental and social conditions, physico-chemical properties of the bandages.

Cellulose as a natural, non-irritant, nontoxic, biocompatible, environmentally friendly material is widely used as a wound healing material. As a wound dressing, cellulose is used in various forms. In the early years, firstly, cellulose was used as gauzes. Nowadays, more improved cellulose forms for wound healing are investigated, for example, cellulose fibers, cellulose films, sponges. As a hydrogel form is becoming more and more popular, cellulose hydrogels are becoming a field of interest as well.

Aim and tasks of the study

The aim of this work was to prepare hydrogels from the regenerated cellulose, hydrogels from various compositions of sodium alginate, pectin,

hydroxyethylcellulose, modify them and investigate their properties considering the possibility to use them as the wound dressings.

In order to achieve the aim set out above, the following tasks had to be carried out:

- ✓to prepare four kinds of wound dressing materials, such as (i) regenerated cellulose-based hydrogel sheets, (ii) regenerated cellulose-based hydrogel treated with supercritical CO₂, (iii) regenerated cellulose-based sponges, (iv) sponges of different compositions made from water soluble polymers (pectin, sodium alginate, hydroxyethylcellulose);
- ✓to investigate their properties: morphology, mechanical, bioadhesion, liquid absorption properties, water vapour permeability, transparency, porosity, blood clotting;
- ✓to incorporate active compounds into wound dressing materials, investigate their release and anti-bacterial properties;
- ✓to investigate the cytotoxicity of regenerated cellulose hydrogel sheets and sponges.

Scientific novelty and practical value of the work

Using natural, biocompatible, non-cytotoxic polymers, such as regenerated cellulose, sodium alginate, pectin, hydroxyethylcellulose, hydrogels were prepared, from which four different wound dressing materials were produced by using different drying techniques.

For the first time, the regenerated cellulose hydrogel was used for the preparation of wound dressing material. It has been shown that the structure and the properties of regenerated cellulose could be easily modified by the lyophilisation or treating with supercritical CO₂.

The analysis of mechanical properties has shown that the prepared samples for wound dressings would be appropriate to protect the wound from the external mechanical impact and withstand their original shape. Other additional advantages, such as low bioadhesion, transparency, blood clotting ability were disclosed during the research.

Bactericidal wound dressings with antimicrobial activity that was prepared by immobilizing silver nanoparticles or antibiotic neomycin were produced. In order to get an antioxidant effect on wound, plant extracts or extracted phenolic compounds from plants were immobilized.

Approbation of the research results

The results of the research were presented in 4 publications. Among them, 2 articles were published in the journals included in the list of Thomson Reuters Web of Knowledge: “Cellulose Chemistry and Technology” (accepted), “Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects”. Moreover, the results were reported in 2 scientific international conferences.

Structure and contents of the dissertation

The dissertation consists of an introduction including research objectives, literature overview, experimental part, results and discussion, conclusions, list of references (174) and the list of publications on the dissertation topic. The material of the dissertation is presented in 114 pages, including 15 tables and 57 figures.

CONCLUSIONS

1. Three new wound dressing materials for different wound treatment were created from the regenerated cellulose.

1.1 Transparent cellulose hydrogel sheets were prepared, where liquid phase is water or water-glycerol solution. These hydrogel sheets possess low bioadhesion and a high moisture content; thus, they are promising wound dressings for burn wounds, cuts, scratches and abrasions. It has been found that the saturation of hydrogel sheets with glycerol has a positive impact for the mechanical properties. Cellulose hydrogels loaded with glycerol have more than twice higher tensile strength (6.33 MPa) comparing with the same hydrogel (2.73 MPa). Moreover, the elongation at break and the Young's modulus increases significantly after loading the hydrogel with glycerol. The dynamic-termomechanical analysis showed that cellulose hydrogels loaded with glycerol, despite an increasing temperature and motion, could retain their shape.

1.2. It has been shown that treating the cellulose hydrogel with supercritical carbon dioxide, a macro porous structure is obtained (pore size 100-600 μm) by improving the vapour and oxygen transmission, which is very important for pressure sores, leg ulcers, burns, necrotic and surgical wounds.

1.3. Cellulose-based sponges prepared from the regenerated cellulose hydrogel by a lyophilization process showed a high liquid absorption capacity (210%) and the ability to be loaded with antibacterial agents; consequently, these sponges could be applied for necrotic, abundantly exuding wounds. Water vapour transmission rate of regenerated cellulose sponges was $2656 \pm 30 \text{ g/m}^2/\text{day}$ and almost met an ideally requirements which are 2000-2500 $\text{g/m}^2/\text{day}$.

2. Sponges from water soluble polymers, such as pectin, sodium alginate and hydroxyethylcellulose, were prepared by a lyophilization process. These sponges possess a high liquid absorption capacity ($\sim 300\text{-}450\%$) and good blood clotting ability; thus, these sponges could be applied as wound dressings for exuding and bleeding wounds. Mechanical properties, porosity, liquid absorption and blood clotting of the sponges made from pectin, sodium alginate and

hydroxyethylcellulose can be regulated by changing ratios of the constituting polymers.

3. Active compounds were immobilized into the wound dressing material by the diffusion method, and the release of active compounds was analysed.

3.1. The release of antibiotic neomycin from cellulose hydrogel sheets takes more than 24 hours. Carboxylated cellulose hydrogel releases the active compound slower due to the ionic bonding between the carboxy groups in cellulose hydrogel and amino groups which are in neomycin. Hydrogel sheets loaded with neomycin showed good antimicrobial resistance against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

3.2. Immobilization of *Perilla frutescens* and *Betula pendula* extracts into cellulose hydrogels treated with supercritical carbon dioxide showed that the equilibrium of total phenols release is reached after 6 hrs, after which, a part of the material remains in a hydrogel. In a case of *Perilla frutescens*, 90% of immobilized phenolic compounds are released, while in a case of *Betula pendula*, 50% of immobilized phenolic compounds are released.

3.3. Silver nanoparticles were incorporated into cellulose sponges by diffusion method and even cellulose sponges after one-day silver incorporation experiment showed good antibacterial resistance to the *Staphylococcus epidermidis* culture, where bacterial amount reduction was 99.8% (or $\sim 3 \log_{10}$). The release studies of immobilized phenolic compounds from *Chamomilla recutita* showed that after the equilibrium, 68% of phenolic compounds are released. In a case of *Calendula officinalis*, after the equilibrium, only 38% of phenolic compounds are released. Not completely released active compound, results in longer antioxidant effect of the wound dressing material.

3.4. The release of povidone-iodine from sponges made of pectin, sodium alginate and hydroxyethylcellulose could be controlled by changing the ratio of these polymers.

4. *In vitro* studies with human fibroblast confirmed that cellulose sponges are non cytotoxic. The cytotoxicity test *in vitro* with rat hepatocytes confirmed that the cellulose hydrogel, and the cellulose hydrogel loaded with glycerol were non-cytotoxic as well.

UDK 544.77.03 + 615.46](043.3).

SL344. 2016-01-21, 2 leidyb. apsk. 1. Tiražas 50 egz. Užsakymas 16.

Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, 51424 Kaunas