

*На правах рукописи*



**Антипина Людмила Сергеевна**

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
КОМПОЗИЦИОННЫХ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ  
ПОЛИМЕРНЫХ МЕМБРАН  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ РАН В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

3.1.9. Хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Томск – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

**Научный руководитель:**

заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН **Дамбаев Георгий Цыренович**

**Научный консультант:**

кандидат технических наук **Большасов Евгений Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

**Шевела Андрей Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий центром медицинских технологий федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации;

**Штофин Сергей Григорьевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.068.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте [www.ssmu.ru](http://www.ssmu.ru)

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2022 года

Ученый секретарь диссертационного совета

Петрова Ирина Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Лечение ран является актуальной проблемой для системы здравоохранения во всем мире. Согласно данным литературы, гнойно-воспалительные заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре общехирургической патологии, составляя около 35–45 % [Кузина М. И., Костюченко Б. М., 1990; Винник Ю. С. и др., 2013]. Пожилые люди и больные сахарным диабетом в большинстве случаев подвержены длительному и тяжелому течению гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей [Han G., Ceilley R., 2017]. Осложнения послеоперационных ран регистрируются в 33–38 % случаев. Раны мягких тканей являются основной проблемой среди осложнений послеоперационного периода в стационаре и составляют около 40 % всех госпитальных инфекций. Увеличение числа гнойных заболеваний ведет к учащению случаев генерализации инфекций.

К сожалению, традиционные методы с применением антибиотиков в профилактике и лечении инфекций мягких тканей не всегда оправдывают себя. Это объясняется высокими темпами изменения биологических свойств бактериальной клетки, приводящих к росту резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Кузина М. И., Костюченко Б. М., 1990]. Для создания адекватной концентрации препарата в очаге инфекции и преодоления резистентности к антибактериальным препаратам приходится прибегать к введению больших доз, что негативно влияет на организм больного в целом [Винник Ю. С. и др., 2013].

Несмотря на все усилия, направленные на ликвидацию гнойного очага и препятствование генерализации процесса, часто регистрируются случаи летальных исходов.

В настоящее время наметилась тенденция к эффективному заживлению гнойных ран, основанная на ликвидации инфекционного агента в очаге воспаления. С практической точки зрения приоритетным остается лечение ран повязками ввиду простоты и удобства их применения [Кузина М. И., Костюченко Б. М., 1990; Винник Ю. С. и др., 2013].

Нановолоконные полимерные материалы, изготовленные методом электроспиннинга, вызывают интерес как многофункциональный перевязочный материал, обеспечивающий контролируемое высвобождение антибактериального вещества в установленных терапевтических дозах, абсорбцию раневого экссудата, обеспечение газообмена в ране [Juncos Bombin, A. D., 2020; Бельбасов Е. Н., Бузник В. М., 2021; Afsharian Y. P., Rahimnejad M., 2021].

Электроспиннинг, или электропрядение, – универсальный способ получения тонких полимерных волокон в нано- и микрометровом диапазоне из полимерных растворов или расплавов в результате действия электростатических сил. Синтетические и природные полимеры могут выступать в качестве сырья для электроспиннинга. Синтетические полимеры, в отличие от природных, обеспечивают механические свойства, позволяющие

использовать их как надежный каркас нановолоконных материалов [Ning C., 2018; Wang A. et al, 2018]. Кроме того, они обладают биологически инертными и биосовместимыми характеристиками.

В связи с этим, изучение свойств нановолоконных полимерных мембран и лечение гнойных ран с их использованием является весьма актуальным и многообещающим направлением.

### **Степень разработанности темы исследования**

Несмотря на то что в настоящее время разработаны различные подходы к лечению гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей и используется значительный ассортимент перевязочных средств, представленных на рынке, вопрос лечения данной группы больных далек от окончательного решения. Проблемы длительности лечения и высокой частоты генерализации процесса на сегодняшний день не решены, ни одна из существующих методик лечения не лишена недостатков.

Основанием для выполнения настоящего исследования стали частота прогрессирования патологического процесса и неудовлетворенность результатами применяемых методов лечения данной категории пациентов.

**Цель исследования:** изучение и оценка результатов применения мембран из нового полимерного материала, обладающего сегнетоэлектрическими свойствами, для лечения гнойных ран в эксперименте.

### **Задачи исследования:**

1. Подбор нового перевязочного материала, обладающего эффективными свойствами для ускорения течения раневого процесса,
2. Изучить антибактериальную активность композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием поливинилпирролидона (ПВП): 0%, 5%, 10%, 20% и 40%,
3. Изучить в экспериментальном исследовании на основании результатов макроскопических и микроскопических данных взаимодействие мягких тканей с разработанными композиционными сегнетоэлектрическими полимерными мембранами с различным содержанием ПВП.
4. Исследовать эффективность лечения гнойных ран с использованием композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием ПВП за счет оценки скорости заживления ран.

### **Научная новизна**

На основании клинической картины заживления экспериментальной гнойной раны, данных морфологического, планиметрического и бактериологического исследований изучено влияние композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием ПВП, полученных методом электроспиннинга, на течение раневого процесса. Установлено, что исходные и отожденные полимерные перевязочные материалы с ПВП обладают повышенной сорбционной способностью, приводят к более быстрому очищению ран от гнойно-некротического отделяемого и снижению концентрации микроорганизмов в очаге. Впервые

в сравнительном аспекте изучено влияние исходных и отоженных композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с содержанием ПВП 0%, 5%, 10%, 20%, 40%.

Обнаружено, что наиболее эффективными являются исходные полимерные мембраны с ПВП 5%, которые позволяют сократить сроки заживления ран на 4 сут по сравнению с таковыми при лечении стандартными повязками.

Доказано, что лечение экспериментальных ран с использованием в качестве перевязочного материала полимерных мембран на основе электропрядения по своей эффективности не уступает таковому с использованием традиционных материалов, а полученные повязки могут быть рекомендованы для клинических испытаний.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Значимость работы определяется тем, что экспериментально исследованы композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны с различным содержанием ПВП (0%, 5%, 10%, 20% и 40%), полученные методом электроспиннинга, для лечения плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны; определены закономерности течения раневого процесса, а также изменения планиметрических характеристик раны, ее микрофлоры и антибактериальной активности мембраны. В дальнейшем данный перевязочный материал можно рассматривать для внедрения в клиническую практику с целью лечения пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.

### **Методология и методы исследования**

Методология диссертационного исследования включала в себя современные практические методы в сочетании с актуальными теоретическими представлениями о лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. Работа состояла из нескольких этапов. Первый этап заключался в изучении отечественных и зарубежных литературных источников, посвященных проблеме лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. На втором этапе проводилась оценка антибактериальной активности композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием ПВП (0%, 5%, 10%, 20% и 40%). На третьем этапе осуществлялось экспериментальное исследование на лабораторных животных, были проведены оценка и анализ течения раневого процесса при применении композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с разным процентным содержанием ПВП.

В работе использован принцип последовательного применения метода научного познания: анализ литературных источников для обоснования актуальности проблемы и уточнения задач исследования, сравнительно-сопоставительное изучение данных, полученных на экспериментальном этапе исследования. Для оценки результатов экспериментального исследования применялись клинические, лабораторные и инструментальные методы диагностики; выполнены анализ, обобщение и сравнение полученных данных.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны с различным содержанием ПВП (0%, 5%, 10%, 20% и 40%), полученные методом электроспиннинга, являются биологически инертным и биосовместимым материалом, обладающим хорошей антибактериальной активностью и сорбционными свойствами, применение которого не вызывает побочных реакций.

2. Композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны с содержанием ПВП 5% являются более эффективными в лечении экспериментальной плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны в сравнении с мембранами с содержанием ПВП 0%, 10%, 20% и 40% и марлевой повязкой.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность и обоснованность полученных в исследовании результатов определяются достаточным объемом выборок экспериментальных животных, адекватным выбором методов оценки результатов лечения экспериментальной гнойной раны и подтверждены методами статистической обработки данных.

Основные положения и результаты работы были доложены и обсуждены в тезисных работах в материалах международных конференций: Использование фторполимерных пьезоэлектрических композитов для регенерации гнойных ран // Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А.Г. Стромберга. Томск, 2020. С. 666–667; Современные подходы лечения гнойных ран в эксперименте // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сб. ст. по материалам LVII Междунар. науч.-практ. конференции. – 2022. – № 2(53). – С. 36–40.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 научные статьи, из которых 1 – в научных журналах, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в РФ, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 2 – в журналах, входящих в Scopus, а также 2 тезисные работы в сборниках материалов международных конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 95 страницах машинописного текста, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 34 рисунками. Библиографический указатель содержит 110 источников литературы, из них 7 отечественных и 103 иностранных авторов.

### **Личный вклад автора**

Автором лично выполнялось моделирование экспериментальной плоскостной полнослойной кожно-мышечной гнойной раны, сбор и изучение

материала, выбор методов исследований, статистический анализ и обработка данных, а также обобщение полученных результатов исследования.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было проведено на 50 аутбредных крысах-самках линии Wistar массой тела 250–300 г., которые были разделены на 10 групп – по 5 особей в каждой. Анестезиологическое обеспечение, оперативное вмешательство и ведение послеоперационного периода у всех животных были одинаковыми.

В асептических условиях под наркозом препаратом «Золетил 100» в дозе 15 мг/кг массы тела, животное укладывали и фиксировали на операционном столике в положении на животе. Для проведения исследований у всех крыс формировали плоскостную полнослойную кожно-мышечную гнойную рану по методике, разработанной в лаборатории экспериментальной хирургии и патофизиологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова (г. Москва) в модификации М. П. Толстых.

Для формирования раны у животных в межлопаточной области удаляли лоскут кожи прямоугольной формы размерами 20×20 мм вместе с подкожно-жировой клетчаткой, а края ран и подлежащие мышцы раздавливали зажимом Кохера. Полученную рану инфицировали микробной взвесью, содержащей  $10^6$  колониеобразующих единиц (КОЕ) *Staphylococcus aureus*, затем поверхность инфицированной раны на 72 ч укрывали полиэтиленовой пленкой для формирования очага острого воспаления.

После формирования экспериментальной гнойной плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны животным накладывали повязки (Таблица 1), смену которых осуществляли ежедневно.

Таблица 1 – Группы экспериментальных животных и тип применяемых повязок

Группа	Повязка
Контрольная	Марлевая повязка с водным раствором хлоргексидина
Основная №1	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 0%
Основная №2	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 5%
Основная №3	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 10%.
Основная №4	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 20%.
Основная №5	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 40%
Основная №6	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 0%
Основная №7	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 5%
Основная №8	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 10%

Основная №9	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 20%
-------------	--

Крыс выводили из эксперимента путем летальной передозировки эфира на двадцать пятые сутки после оперативного вмешательства.

### Методы исследования

Оценку течения раневого процесса в эксперименте при лечении с использованием композиционных сегнетоэлектрических мембран на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом и поливинилпирролидона проводили по результатам оценки локальных данных, определения скорости заживления раны, антибактериальной активности, микробиологического и гистологического исследований.

При обследовании проводилась оценка общего состояния животных, выраженности местного воспаления и фазы регенерации. При исследовании локального статуса оценивались признаки местной воспалительной реакции, характер и количество раневого экссудата, сроки очищения поверхности, сроки появления грануляций и эпителизации.

Одним из наиболее объективных методов оценки эффективности местного лечения ран является измерение планиметрических данных в динамике лечения. Измерение длины периметра производили при каждой перевязке в сроки 3, 5, 7 сут. Периметры высчитывали после фиксации раны с помощью цифрового фотоаппарата EOS 250D (Canon, Япония) в приложении Image J 1.38 (National Institutes of Health, США).

Антибактериальную активность мембран исследовали на образцах размером 3 × 3 см в чашке Петри в соответствии с ISO20743: 2013 «Textiles – Determination of antibacterial activity of textile products». На образцы наносили суспензию в объеме 0,2 мл, содержащую в 1 мл  $1 \cdot 10^5$  КОЕ золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Количество КОЕ, скорость роста бактерий и антибактериальную активность для каждого образца оценивали в момент начала проведения эксперимента (0 ч) и после 24 ч инкубирования.

Оценку эффективности мембран проводили, исходя из следующих условий:

при антибактериальной активности (А) менее 0,5 состояние оценивали, как отсутствие антибактериальной активности;

при  $0,5 \leq A < 1,0$  – антибактериальную активность характеризовали как незначительную;

при  $1 \leq A < 3$  – антибактериальную активность считали значительной;

при  $A \geq 3$  антибактериальную активность определяли как сильную.

Для проведения гистологических исследований процесса регенерации из зоны интереса изымали образцы тканей. В контрольные сроки (3-и, 7-е и 10-е сут) осуществляли забор тканей кожно-мышечной раны для гистологического исследования. Фрагменты мягких тканей забирали из центра гнойной раны, так как заживление происходило более активно от периферии к центру. Образцы заливали в парафин. Из полученных образцов готовили гистологические срезы толщиной 5–7 мкм по стандартной методике. Окраску гистологических



препаратов проводили гематоксилином и эозином. Исследования гистологических препаратов выполняли методом просвечивающей световой микроскопии (Axioscop 40, Carl Zeiss, Германия). Оценивали клеточный состав и динамику раневого процесса в гистологической картине.

Микробиологические исследования проводили после забора исследуемого экссудата из раны тампоном в контрольные сроки 3-и, 5-е, 7-е сут. Тампон с диагностируемым материалом засеивали на чашки Петри с 5%-м кровяным и 10%-м желточно-солевым агаром. Засеянные среды выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 2 сут либо 1 сут в термостате и дополнительно 1 сут при естественном освещении и комнатной температуре. Отбивка на скошенный агар осуществлялась для дальнейшего исследования не менее двух колоний, подозрительных на стафилококк. Для исследования отбиваются колонии, дающие положительную лецитовителлазную реакцию. При отсутствии на чашках Петри таких колоний дальнейшему исследованию подвергают пигментированные колонии, схожие по морфологии со стафилококком. При одновременном наличии на чашках колоний стафилококка, отличающихся по пигменту, следует отбивать не менее двух колоний различного вида; пробирки с посевом помещают в термостат при температуре 37 °С на 18–20 ч.

После суточной инкубации у выделенных штаммов проверяют морфологию, тинкториальные свойства (окраска по Граму) и наличие плазмокоагулирующей активности. Под микроскопом окрашенные по Граму стафилококки имеют вид фиолетово-синих кокков, располагающихся гроздьями («кружево»). Плазмокоагулирующая активность проверяется в реакции коагуляции плазмы.

С учетом результатов реакции коагуляции плазмы и лецитовителлазной активности в 70–75% случаев может быть подтверждена принадлежность выделенного штамма к виду *St. aureus* и выдан соответствующий ответ.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием статистического пакета Statistica 13 (США). Для проверки соответствия нормальному распределению использовали критерий Шапиро–Уилка. Для определения статистически значимых различий между связанными данными использовали критерий Фридмана с последующим применением апостериорного критерия Ньюмена–Кейсла. Для оценки статистической значимости различий между образцами различных повязок использовали критерий Краскела–Уолиса с последующим применением апостериорного критерия Данна. В виду высокой симметричности данных, полученные результаты представлены в таблицах как  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение,  $m$  – ошибка среднего. За статистически значимый принимали уровень  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Совместно с сотрудниками лаборатории плазменных материалов Национального исследовательского Томского политехнического университета

(г. Томск) были разработаны композиционные сегнетоэлектрические мембраны (Рисунок 1) для местного лечения гнойных ран.

Композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны были получены методом электроспиннинга из прядильных растворов с помощью установки NANON-01A (MECC Co., Fukudo, Япония).



Рисунок 1 – Композиционная сегнетоэлектрическая мембрана

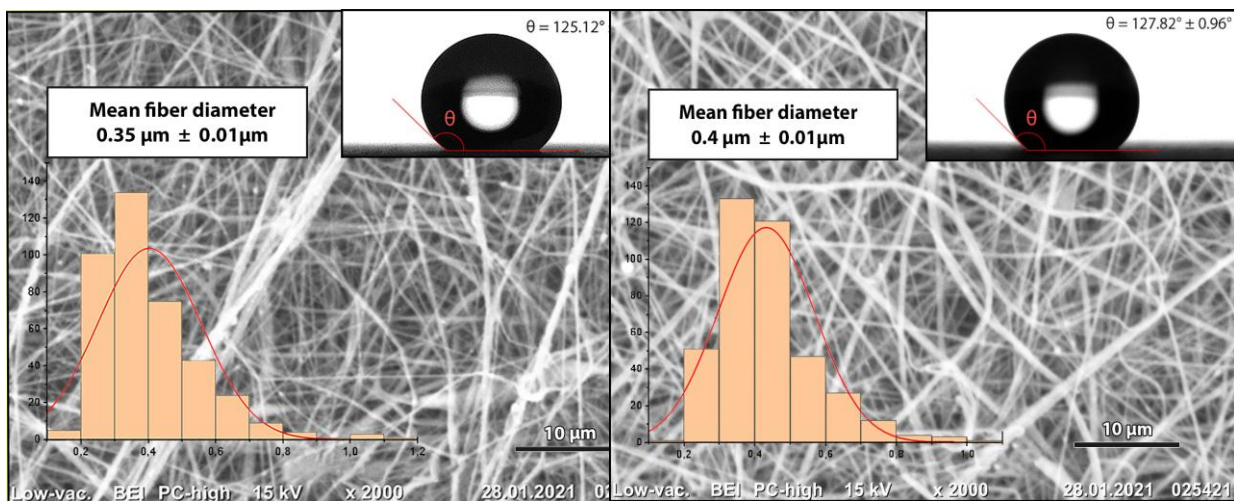
Общее время прядения составило примерно 37,5 ч. Исходным сырьем для прядильных растворов служили: полимер поливинилпирролидон К17 (ПВП К17), сополимер винилиденфторид с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТФЭ), наночастицы оксида цинка, ацетон и изопропиловый спирт. Во все растворы был добавлен диметилформаид во избежание кластеризации наночастиц оксида цинка и равномерного его распределения по всему объему прядильного раствора и, как следствие, равномерного распределения по всему объему нановолоконных мембран. Всего было приготовлено пять растворов с различным содержанием ПВП: 0%, 5%, 10%, 20% и 40%. После прядения часть образцов подвергали отжигу в электрической печи при температуре 105 °С для модификации их структуры – отожженные мембраны. При отжиге у мембран увеличивается количество электрически активных кристаллических фаз.

При увеличении концентрации ПВП отмечалось уменьшение значений показателей вязкости и проводимости прядильных растворов за счет образования комплексов между полимером, сополимером и растворителем.

Все мембраны представлены сформированными волокнами с нормальным распределением размеров по диаметру и развитой взаимосвязанной пористостью, что позволяет хорошо собирать раневой экссудат (Рисунки 2, 3).

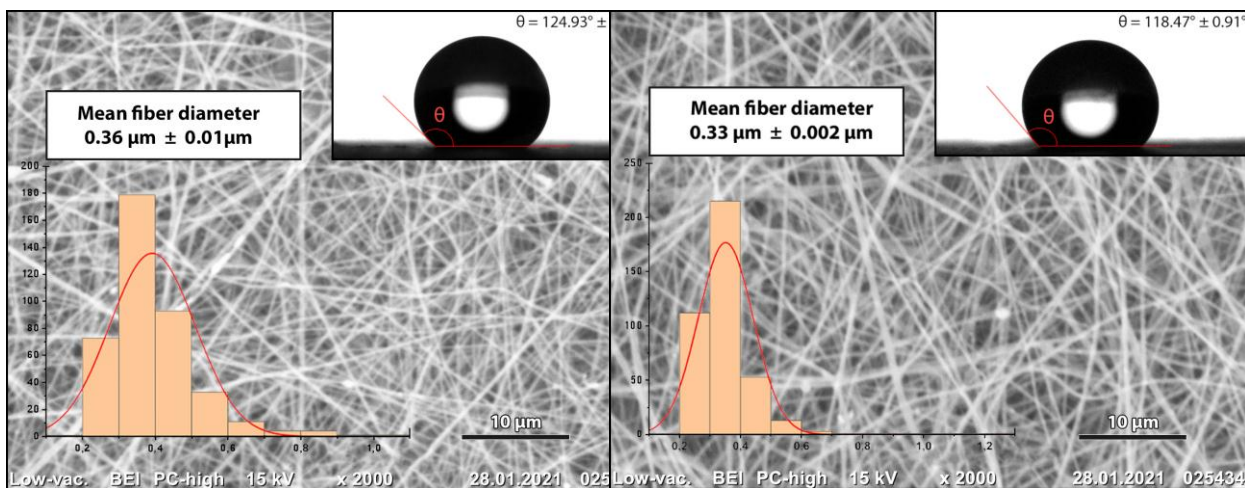
По данным сравнения отмечают тенденции уменьшения диаметра волокон мембран, уменьшения краевого угла смачивания и повышения гидрофильности за счет динамической вязкости и проводимости прядильных

растворов при увеличении содержания ПВП с 0% до 40 % в исходных образцах и отожженных.



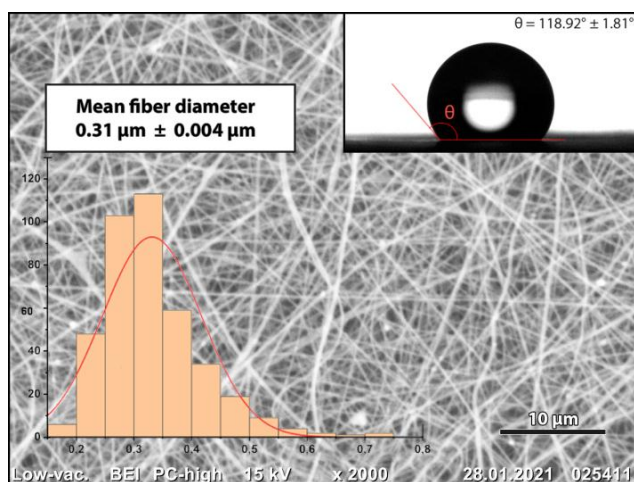
а

б



в

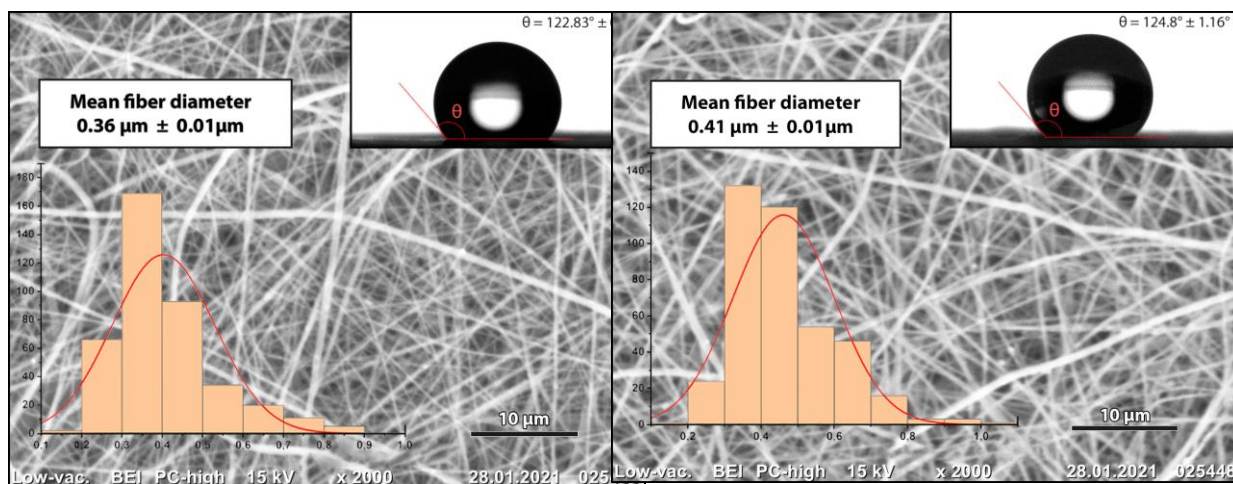
г



д

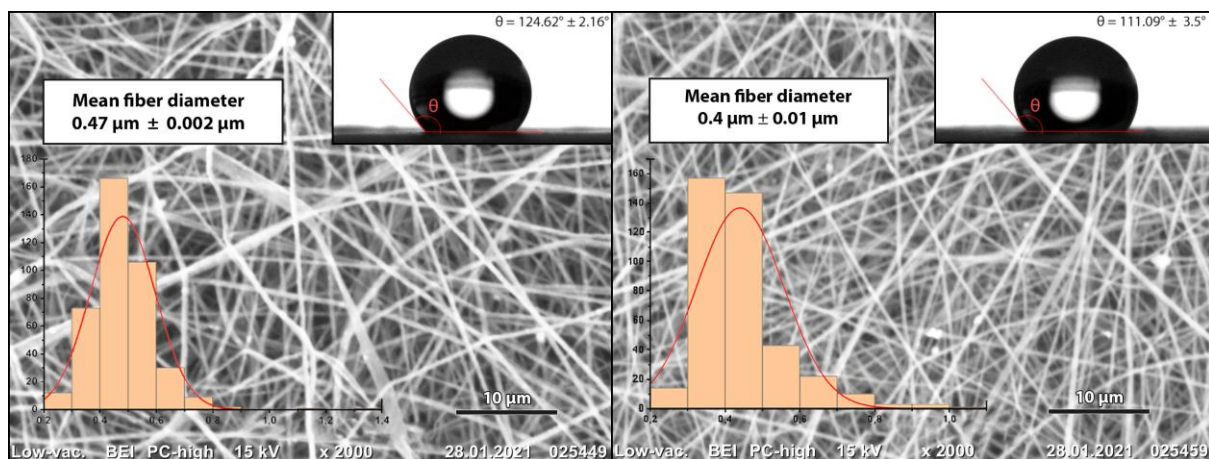


Рисунок 2 – Структура, гистограмма распределения диаметров волокон и краевой угол смачивания для исходных мембран с содержанием ПВП 0% (а); 5% (б); 10% (в); 20% (г); 40% (д) при 2000-кратном увеличении



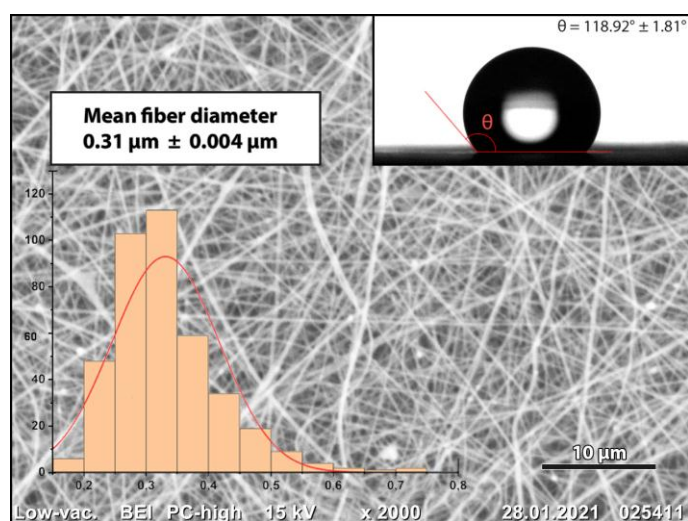
а

б



в

г



д

Рисунок 3 – Структура, гистограмма распределения диаметров волокон и краевой угол смачивания для отожженных мембран с содержанием ПВП 0% (а); 5% (б); 10% (в); 20% (г); 40% (д) при 2000-кратном увеличении

**Антибактериальная активность.** Антибактериальная активность композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с антибактериальным агентом контролируется за счет изменения содержания полимера ПВП и сополимера ВДФ-ТФЭ, при этом содержание антибактериального агента – ZnO остается неизменным.

Антибактериальная активность сформированных мембран была исследована на штамме *Staphylococcus aureus*.

При увеличении содержания ПВП и при неизменном содержании ZnO антибактериальная активность мембран повышается (Таблица 2). Данный факт свидетельствует о том, что увеличение содержания ПВП приводит к улучшению транспортных свойств сформированных мембран антибактериального агента в зону контаминации.

Таблица 2 – Оценка антибактериальной активности исходных мембран

Образец	Время инкубации, ч	Количество микроорганизмов, КОЕ/мл	Уровень (скорость) роста на контрольном образце	Уровень (скорость) роста на образцах с добавлением ПВП	Антибактериальная активность
ПВП 0%	0	$(1,10 \pm 0,36) \cdot 10^4$	3,271	2,722	0,549
	24	$(2,20 \pm 1,06) \cdot 10^7$			
ПВП 5%	0	$(1,93 \pm 0,40) \cdot 10^4$		2,653	0,618
	24	$(8,57 \pm 0,51) \cdot 10^6$			
ПВП 10%	0	$(1,80 \pm 0,35) \cdot 10^4$		2,402	0,869
	24	$(4,5 \pm 0,50) \cdot 10^6$			
ПВП 20%	0	$(1,50 \pm 0,50) \cdot 10^4$		2,589	0,682
	24	$(5,67 \pm 1,15) \cdot 10^6$			
ПВП 40%	0	$(1,63 \pm 0,32) \cdot 10^4$		1,685	1,586
	24	$(7,83 \pm 0,76) \cdot 10^5$			

Термическая обработка приводит к ухудшению антибактериальных свойств мембран с концентрацией ПВП 0% и 5% (Таблица 3), но улучшает их

у мембран с содержанием ПВП 10%, 20% и 40%. Следовательно, выбранный нами метод модификации – отжиг экспериментальных повязок – способствует улучшению их антибактериальных свойств, и это мы связываем именно с дополнительным улучшением транспортных свойств мембран в отношении антибактериального агента ZnO. Наибольшей антибактериальной активностью (значительной) обладают мембраны при содержании ПВП, равном 40%.

Таблица 3 – Оценка антибактериальной активности отожженных мембран

Образец	Время инкубации, ч	Количество микроорганизмов, КОЕ/мл	Уровень (скорость) роста на контрольном образце	Уровень (скорость) роста на образцах с добавлением ПВП	Антибактериальная активность
ПВП 0%	0	$(1,67 \pm 0,36) \cdot 10^4$	3,071	2,741	0,33
	24	$(2,00 \pm 0,50) \cdot 10^7$			
ПВП 5%	0	$(1,40 \pm 0,10) \cdot 10^4$		2,817	0,254
	24	$(9,17 \pm 0,29) \cdot 10^6$			
ПВП 10%	0	$(1,43 \pm 0,40) \cdot 10^4$		2,041	1,030
	24	$(1,53 \pm 0,06) \cdot 10^6$			
ПВП 20%	0	$(1,60 \pm 0,17) \cdot 10^4$		1,092	1,979
	24	$(1,97 \pm 0,06) \cdot 10^5$			
ПВП 40%	0	$(1,67 \pm 0,29) \cdot 10^4$		0,475	2,596
	24	$(5,00 \pm 1,00) \cdot 10^4$			

Таким образом, у исходных образцов с более низким содержанием ПВП антибактериальная активность оценивалась как незначительная. У отожженных образцов мембран с содержанием ПВП 5% антибактериальная активность отсутствовала, а с содержанием ПВП 10%, 20% и 40% она оценивалась как значительная.

#### **Макроскопическая оценка течения раневого процесса и сроки клинических проявлений фаз раневого процесса**

Экспериментальное исследование проводили в 10 группах (контрольная группа и 9 основных групп с исходными мембранами с содержанием ПВП 0%, 5%, 10%, 20%, 40% и отожженными мембранами с таким же содержанием ПВП).

При макроскопическом исследовании экспериментальных плоскостных полнослойных кожно-мышечных гнойных ран в контрольной и основных группах оценивали травмирование мягких тканей у экспериментальных

животных при смене повязок, а также характер раневого экссудата и определяли сроки формирования грануляционной ткани.

В течение всего периода наблюдения в контрольные точки перевязок (3-и, 7-е и 10-е сут) при взаимодействии между перевязочным материалом и раной отмечалось травмирование мягких тканей.

Во всех случаях на 3-и сут снятие материала сопровождалось кровотечением из сформированной грануляционной ткани (Рисунок 4).



Рисунок 4 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 2 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 5%) на 3-и сут

При использовании отоженных мембран механическое повреждение тканей во время снятия материала было более выраженным в сравнении с таковым у животных контрольной группы на 3-и сут.

При удалении марлевой повязки отмечалось выделение геморрагического отделяемого на 10-е сут лечения экспериментальной гнойной раны (Рисунок 5). При использовании исходных мембран кровотечения на 10-е сут не отмечалось, повязки удалялись без механического воздействия на мягкие ткани, отделяемое носило серозный характер.



Рисунок 5 – Вид экспериментальной раны у животного контрольной группы (лечение плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны марлевой повязкой с водным раствором хлоргексидина) на 10-е сут лечения

На поверхности снимаемых повязок (марли и мембран) экссудат имел вид рыхлой пленки, что свидетельствует о хорошем его контакте с повязками во всех исследуемых группах. Удаление экссудата вместе с повязками свидетельствует о хорошей гидрофильной способности материалов, однако при локальном исследовании экспериментальных ран материалы из отожженных мембран показали худший результат по сравнению с исходными. На 10-е сут отмечалось гнойное отделяемое в небольшом количестве, однако процесс регенерации не страдал (сформированы вялые грануляции).

На 10-е сут наблюдалось появление грануляционной ткани с хорошей васкуляризацией у крыс, в лечении которых применялись исходные мембраны, что свидетельствовало о переходе от фазы воспаления к фазе регенерации раневого процесса. По периферии раны отмечался процесс эпителизации (Рисунок 6).





Рисунок 6 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 2 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 5%) на 10-е сут лечения

При применении исходных образцов с содержанием ПВП 5%, 10% и 40% прослеживался более плавный переход из фазы воспаления в фазу формирования грануляционной ткани, а также наблюдалось меньшее травмирование тканей при смене перевязочного материала, нежели у отоженных образцов.

Средние сроки полного заживления ран в «лучших» группах составили: в основной 2 – ( $20,67 \pm 0,58$ ) сут, в основной 3 – ( $23,33 \pm 0,58$ ) сут, основной 4 – ( $24,00 \pm 0,24$ ) сут, в основной 7 – ( $22,33 \pm 0,59$ ) сут. В контрольной группе крыс эти сроки были статистически значимо больше ( $25,00 \pm 1,00$ ) сут значений этих показателей в основных группах ( $p < 0,05$ ). Полное заживление наблюдалось только на ( $25 \pm 1$ ) сут лечения (Рисунок 7).

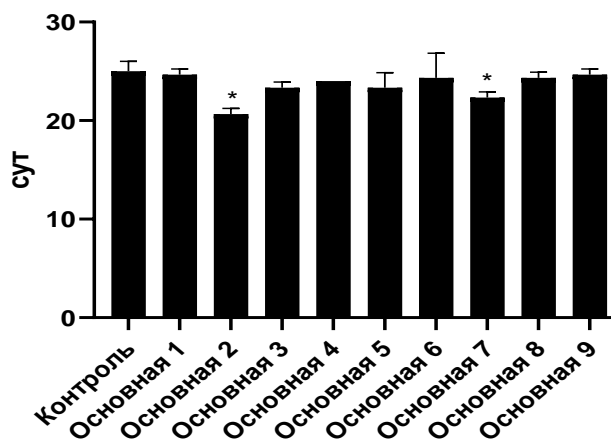


Рисунок 7 – Сроки полного заживления ран: \* –  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой; # –  $p < 0,05$  при сравнении с лучшим результатом (основная группа 2)

### Гистологическая оценка течения раневого процесса

У животных контрольной и основных групп на 3-и сут эксперимента при исследовании наблюдалась сопоставимая гистологическая картина. Первая фаза раневого процесса характеризовалась фибринозно-гнойным воспалением, инфильтрацией ткани, присутствием масс фибрина и гнойных телец. Наличие формирующейся соединительной ткани может свидетельствовать о переходе ко второй фазе раневого процесса (Рисунок 8).

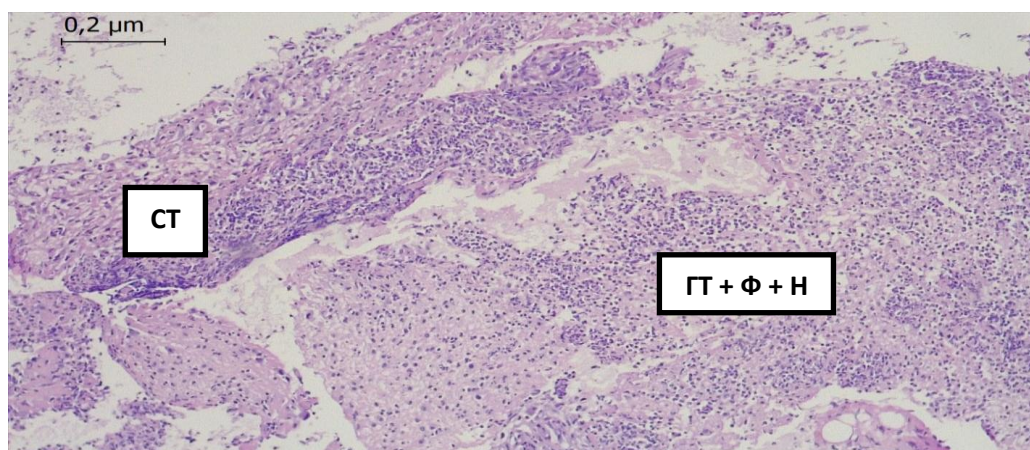


Рисунок 8 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 2, 3-и сут исследования: СТ – соединительная ткань; ГТ – гнойные тельца; Ф – фибрин; Н – нейтрофилы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$

На 10-е сут у животных всех групп признаки воспаления стихали. В основных группах 1–5 (исходные полимерные мембраны) отмечалась фаза регенерации. Формировалась молодая соединительная ткань, фиброзная ткань с большим количеством фибробластов, с переходом в васкуляризованную грануляционную ткань (Рисунки 9–11). Определяется фрагмент жировой клетчатки с наличием рыхлой грануляционной ткани, инфильтрированной лимфоплазмочитарными клетками. По периферии отмечается картина фибринозно-гнойного воспаления в виде нитей и масс фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец.

В этот период эксперимента у крыс контрольной группы в травмированной ткани наблюдались массы фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец, окружающие рыхлую соединительную ткань с наличием капилляров, немногочисленных лимфоцитов и плазмочитов (Рисунок 9).

У животных основной группы 2 отмечались небольшие фрагменты фиброзной клеточной ткани с незначительной инфильтрацией нейтрофилами по периферии и большим количеством капилляров и фибробластоподобных клеток (Рисунок 10).



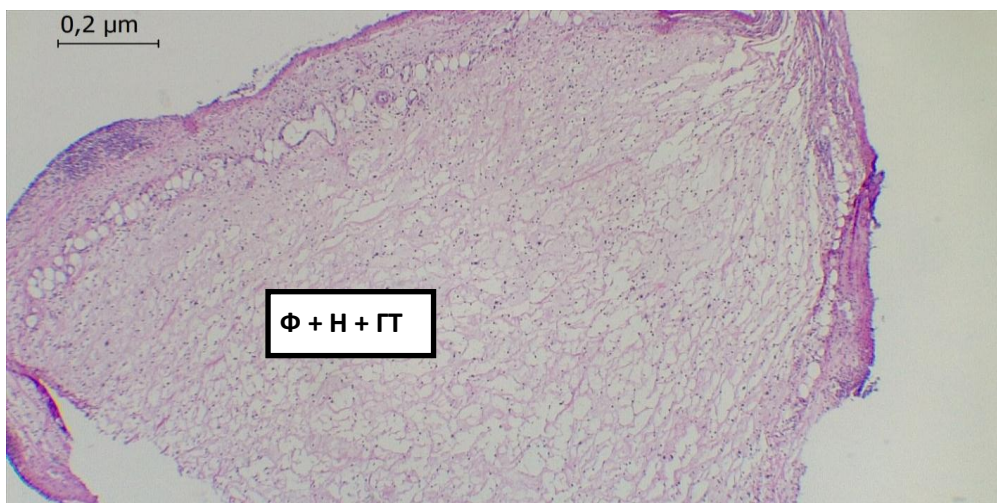


Рисунок 9 – Микропрепарат мягких тканей животного контрольной группы на 10-е сут исследования: Ф – фибрин; Н – нейтрофилы; ГТ – гнойные тельца. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 400$

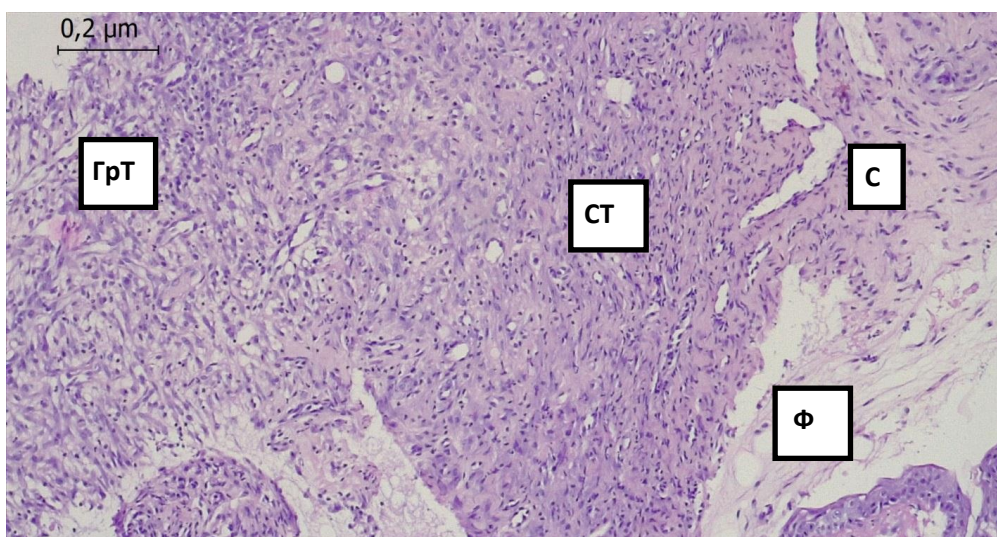


Рисунок 10 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 2на 10-е сут эксперимента: ГрТ – грануляционная ткань; СТ – соединительная ткань; С – сосуды; Ф – фибрин. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$

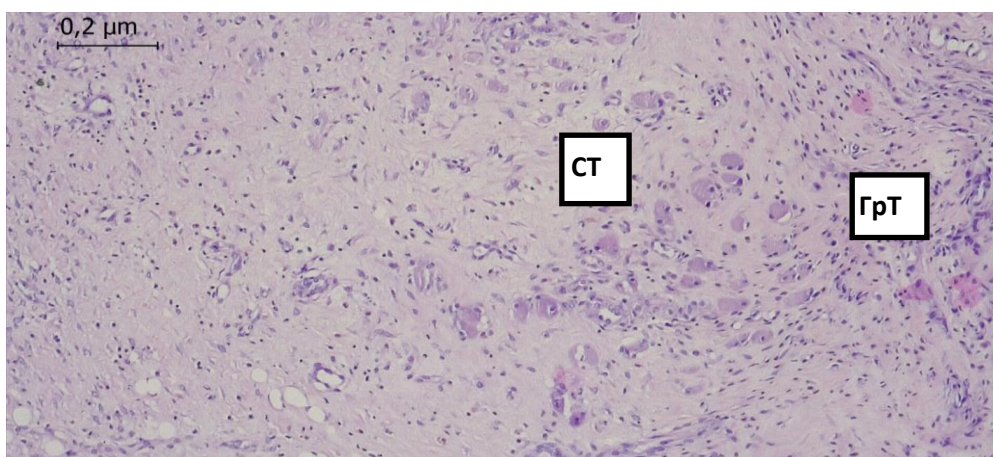


Рисунок 11 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 5 на 10-е сут исследования: СТ – соединительная ткань, ГрТ – грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$

В контрольной группе и основных группах 6–9 сохраняются элементы воспаления. Мягкие ткани с массами фибрина с нейтрофильной инфильтрацией, по периферии примесь гнойных телец.

Определяется жировая ткань с наличием тонких фиброзных прослоек и единичных капилляров, а также массы фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец (Рисунок 12).

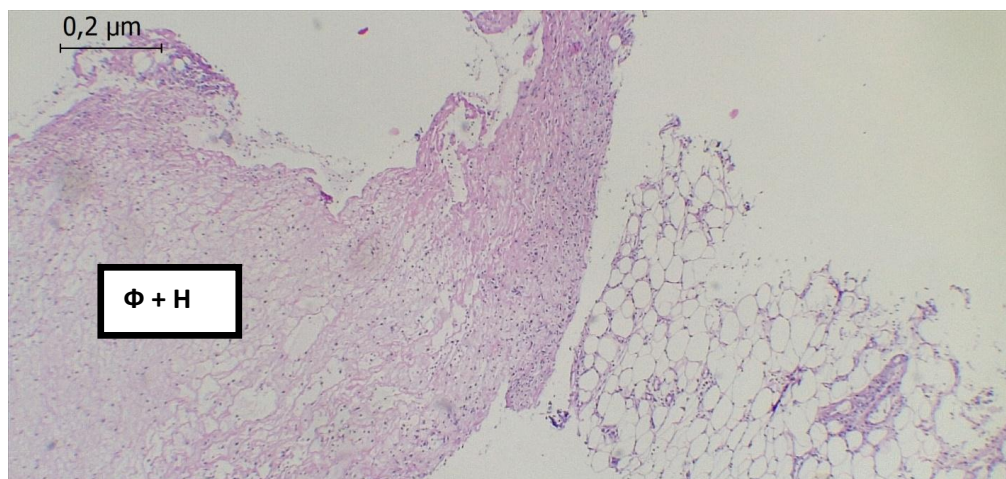


Рисунок 12 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 7 на 10-е сут. Ф – фибрин, Н – нейтрофилы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 40$

Сравнивая гистологические картины во всех группах, мы обнаружили, что наилучший результат достигался при применении для лечения исходных полимерных повязок: отмечался более быстрый переход от воспаления к регенерации. В контрольной и основных группах 6–9 процесс воспаления носил вялотекущий характер, сохранились элементы гнойного воспаления даже на 10-е сут эксперимента. Реакция тканей созданной плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны в процессе эксперимента являлась общепатологической на гнойное воспаление и проведенное оперативное вмешательство.

### **Результаты бактериологических исследований раневой поверхности гнойных ран**

Через 72 ч после создания модели гнойной раны (нанесения травмы и инфицирования) степень микробной обсемененности составляла  $10^6$  КОЕ на 1 мл раневого отделяемого.

На 3-и сут лечения в раневой поверхности у крыс контрольной группы микробная обсемененность соответствовала  $10^5$  КОЕ/мл. В то же время у животных, леченных исследуемыми материалами, раневые поверхности имели микробную обсемененность, не превышающую в большинстве случаев  $10^5$  КОЕ/мл (Рисунки 13, 14).



К 7-м сут лечения в контрольной группе животных число КОЕ микроорганизмов в одном миллилитре раневого отделяемого снизилось до  $10^4$  и статистически значимо отличалась от показателей 1-х сут наблюдений ( $p < 0,05$ ). Бактериологические исследования раневой поверхности у крыс основных групп выявили снижение числа микробных тел до  $10^3$  КОЕ/мл, а в группах 2 и 7 (исходные и отоженные полимерные мембраны с содержанием ПВП 5%) имело место статистически значимое снижение до критического уровня –  $10^2$  КОЕ/мл ( $p < 0,05$ ) (Рисунки 13, 14).

На 10-е сут лечения у животных контрольной группы и основных групп 6 и 9 микробная обсемененность имела устойчивую тенденцию к снижению. Было отмечено появление ассоциированной инфекции *E. coli* в  $10^2$  КОЕ/мл. К этому сроку исследования в основных группах 2, 5 и 7 число микробных тел составляло  $10^2$  КОЕ/мл и статистически значимо отличалось от значений показателей в контрольной группе ( $p < 0,05$ ) (Рисунки 13, 14).

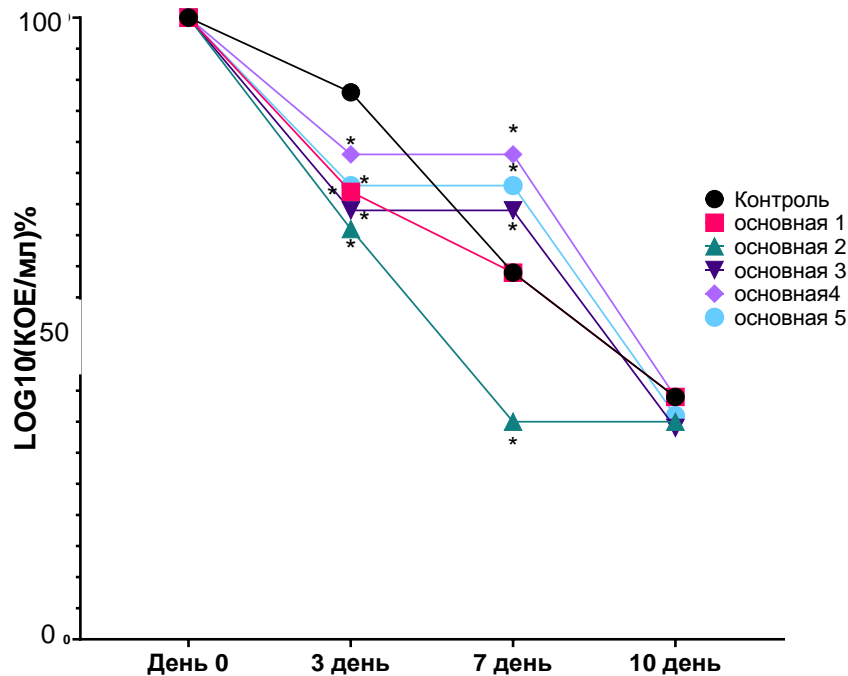


Рисунок 13 – Оценка изменения степени микробной обсемененности,  $\text{Log}_{10}$  (КОЕ/мл) в процентах от первоначальной степени микробной обсемененности колониеобразующих единиц, в контрольной и основных группах 1–5

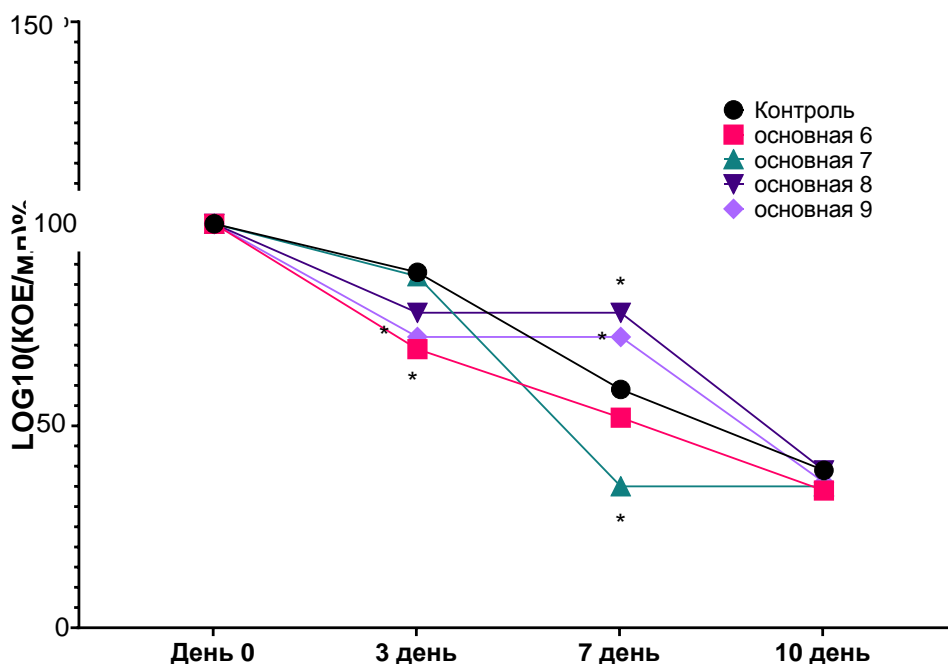


Рисунок 14 – Оценка изменения степени микробной обсемененности,  $\text{Log}_{10}$  (КОЕ/мл) в процентах от первоначальной степени микробной обсемененности колониеобразующих единиц, в контрольной и основных группах 6–9

## ВЫВОДЫ

1. Для лечения гнойных ран был разработан новый материал, представляющий собой композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны с содержанием поливинилпирролидона: 0%, 5%, 10%, 20% и 40%, изготовленные методом электропрядения. Мембраны сформированы волокнами различного диаметра, который уменьшается в зависимости от повышения содержания поливинилпирролидона в составе мембран.

2. Оценка антибактериальной активности исходных и отожженных мембран показала, что при увеличении содержания поливинилпирролидона и неизменном содержании оксида цинка, антибактериальная активность мембран увеличивается. При высоких содержаниях поливинилпирролидона активность расценивалась как незначительная и значительная. У исходных мембран с содержанием поливинилпирролидона 5% антибактериальная активность составила 0,618, а поливинилпирролидона 40% – 1,586. У отожженных мембран с содержанием поливинилпирролидона 5% значение этого показателя составило 0,254, а 20% – 1,979. Полученные результаты свидетельствуют о усилении антибактериальных свойств мембран вследствие повышения содержания поливинилпирролидона.

3. При оценке сроков клинических проявлений раневого процесса у исходной полимерной повязки с содержанием поливинилпирролидона 5% показатели заживления раны имели значительную положительную динамику: очищение раны –  $(7,33 \pm 0,58)$  сут, появление грануляций –  $(6,67 \pm 0,58)$  сут, начало эпителизации –  $(6,67 \pm 0,58)$  сут. Сроки полного заживления составили  $(20,67 \pm 0,58)$  сут. Материал положительно влияет на очищение гнойной раны

за счет гидрофильных свойств, а также на процесс регенерации: отмечается более быстрый переход от воспаления к регенерации, фаза регенерации проявляется формированием соединительной и фиброзной ткани с достаточной васкуляризацией при гистологической оценке клеточного состава.

4. Скорость заживления ран при лечении композиционными сегнетоэлектрическими полимерными мембранами (исходными и отожженными с содержанием поливинилпирролидона 5%) выше, чем в контрольной группе. Длина периметра раны у животных контрольной группы на 10-е сут составила в среднем  $(35,3 \pm 1,0)$  мм, а уменьшение составило  $(51,0 \pm 2,3)$  %. Исходные (группа 2) и отожженные (группа 7) полимерные мембраны имели лучший лечебный эффект при содержании в их составе поливинилпирролидона, равном 5%: длина периметра раны составила на 10-е сут в среднем  $(23,3 \pm 2,0)$  и  $(23,97 \pm 4,0)$  мм соответственно. Относительное уменьшение длины периметра у исходной мембраны с содержанием поливинилпирролидона 5% составило  $(73,0 \pm 2,1)$  %, у отожженной –  $(64,0 \pm 2,3)$  %

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных с длительно существующими сложными гнойно-воспалительными мягко-ткаными заболеваниями, сохраняющимися на фоне длительного безуспешного лечения, для заживления необходимо применять комбинированные методы лечения с применением антибактериальных препаратов и перевязочных материалов.

2. Композиционные сегнетоэлектрические исходные полимерные мембраны с содержанием поливинилпирролидона 5% рекомендуются для применения как оптимальный вариант для лечения гнойных ран.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Composite Ferroelectric Membranes Based on Vinylidene Fluoride-Tetrafluoroethylene Copolymer and Polyvinylpyrrolidone for Wound Healing. Tamara S. Tverdokhlebova, **Ludmila S. Antipina**, Valeriya L. Kudryavtseva, Ksenia S. Stankevich, Ilya M. Kolesnik, Evgenia A. Senokosova, Elena A. Velikanova, Larisa V. Antonova, Dmitry V. Vasilchenko, Georgiy T. Dambaev, Evgenii V. Plotnikov, Vyacheslav M. Bouznic and Evgeny N. Bolbasov. // Membranes. – 2021. – Vol. 11, No. 1. – P. 1–16.

2. Antibacterial Ferroelectric Hybrid Membranes Fabricated via Electrospinning for Wound Healing. Ivan V. Lukiev, **Ludmila S. Antipina**, Semen I. Goreninskii, Tamara S. Tverdokhlebova, Dmitry V. Vasilchenko, Anna L. Nemoikina, Daria A. Goncharova, Valery A. Svetlichnyi, Georgiy T. Dambaev, Vyacheslav M. Bouznic and Evgeny N. Bolbasov // Membranes. – 2021. Vol. 11, No. 1. – P. 1–16.

3. Применение композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран для лечения гнойных ран в эксперименте / **Л. С. Антипина**, Т. С. Твердохлебова, Г. Ц. Дамбаев, Е. Н. Больбасов, Д. В. Васильченко, М. М. Соловьев, Н. Э. Куртсеитов // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2022. – Т. 25, №2. – С. 7–14.

4. Использование фторполимерных пьезоэлектрических композитов для регенерации гнойных ран / Т. С. Твердохлебова, **Л. С. Мамонтова** // Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А. Г. Стормберга. – Томск, 2020. – С. 666–667.

5. Современные подходы лечения гнойных ран в эксперименте / **Л. С. Антипина**, Т. С. Твердохлебова, Г. Ц. Дамбаев, Е. Н. Больбасов, Д. В. Васильченко, М. М. Соловьев // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: Сборник статей по материалам LVII Международной научно-практической конференции. – Москва, 2022. – С. 36–40.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВДФ-ТФЭ – винилиденфторид с тетрафторэтиленом

ГТ – гнойные тельца

КОЕ – колониеобразующие единицы

Н – нейтрофилы

ПВП – поливинилпирролидон

С – сосуды

СТ – соединительная ткань

Ф – фибрин

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №20-03-00171 «Исследование особенностей кристаллизации сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом в композиционных сегнетоэлектрических мембранах для приложений реконструктивно-восстановительной хирургии».*