



УДК 616-001-089:[615.468:547.396.172]:620.3.

РАНЕВЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ НАНОВОЛОКОН ХИТОЗАНА: ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

¹Меламед В.Д., ²Прокопчук Р.Н., ³Рыбаков А.А., ²Прищепенко Д.В.,
²Шашок Ж.С., ³Данишевский В.Н., ¹Астремская Г.В., ¹Жмайлик Р. Р.
¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
²УО «Белорусский государственный технологический университет»,
³ОАО «Завод горного воска», Республика Беларусь

Актуальность. Проблема лечения кожных ран и в настоящее время остается одной из наиболее актуальных в военно-полевой, гнойной хирургии и комбустиологии. Это связано не только с возрастающей частотой травм среди населения, но и сложностью в выборе лечебной тактики, отсутствием универсального средства и метода лечения ран. К настоящему моменту предложено большое число как отдельных средств и их сочетаний, так и целых методов и систем для лечения ран. Объясняется это тем, что представления о раневом процессе постоянно меняются вместе с развитием медицины и техники. Прогресс науки открывает новые возможности в лечении ран. Но, несмотря на это, традиционные способы продолжают существовать наравне с современными разработками, и, более того, во многом тормозят внедрение во врачебную практику последних достижений медицины. Чаще всего это обусловлено сложившимися стереотипами и отсутствием объективной и точной системы сравнения и оценки эффективности различных методов лечения кожных дефектов. Особое внимание обращает на себя постоянно наблюдающийся рост антибиотикорезистентности микроорганизмов и увеличение частоты гнойно-септических осложнений раневого процесса. При этом ассортимент и доступность отечественных перевязочных средств, многокомпонентно воздействующих на раневой процесс, остаются недостаточными.

Во многом благодаря развитию физики и химии возродилось перспективное направление – лечение ран кожного покрова посредством применения раневых покрытий. В последние годы появилось много образцов раневых покрытий, отличающихся по физическим свойствам, химическому составу, добавляемым в них лекарственным веществам. В отдельную группу можно выделить раневые покрытия на основе производных хитина, в частности, хитозана, который бывает растительного и животного происхождения. Уникальность хитозана заключается в его химической природе как катионного биodeградируемого полимера с собственной физиологической активностью. Физическая форма перевязочных средств из хитозана самая различная: волокнистая, в виде пленок, губчатой асимметричной мембраны.

В настоящее время новая отрасль науки – нанотехнология обеспечивает создание материалов и систем с рекордными количественными или принципиально новыми качественными характеристиками. Материалы, полученные с использованием нанотехнологий, могут найти и уже находят применение в различных областях научного знания, в том числе и в медицине. Поскольку вещество в виде наночастиц и нановолокон обладает свойствами, часто радикально отличными от их аналогов в виде макроскопических дисперсий или сплошных фаз, наноматериалы представляют собой уникальный класс веществ, на основе которых возможно создание новых фармакологически активных препаратов. Одним из перспективных направлений в этой области является технология Nanospider – электроформование из растворов полимеров нановолокон хитозана, позволяющая разрабатывать раневые покрытия нового поколения для лечения кожных ран различного происхождения.

До настоящего момента не сформулированы четкие критерии, характеризующие динамику заживления при применении раневых покрытий на основе нановолокон хитозана, которые позволили бы провести дифференцировку методов воздействия на раневой процесс и определить оптимальный подход для каждого конкретного случая. В связи с этим чрезвычайно актуальны доклинические исследования для поиска наиболее эффективного способа лечения ран посредством проведения как экспериментальной работы, так и исследований *in vitro*. Это позволит получить необходимую информацию о динамике раневого процесса кожной раны



при использовании раневых покрытий на основе нановолокон хитозана для дальнейшей клинической апробации.

Цель. Проведение доклинических исследований раневых покрытий на основе нановолокон природного биополимера хитозана растительного происхождения.

Материал и методы. Проведено исследование на 48 лабораторных крысах. Все этапы эксперимента (операции и перевязки) выполнены в условиях разработанной нами адекватной анестезии под эфирным наркозом по закрытому контуру с разрешения Этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет», а также в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). У экспериментальных животных в межлопаточной области моделировали стандартную полнослойную кожную рану, для формирования которой использовали разработанные нами специальные устройства (подтверждены 3 патентами на полезную модель), позволяющие стандартизировать раневые поверхности по заданной площади. Лечение ран в контрольной группе (24 крысы) осуществляли повязками с мазью «Левомеколь» (указанная мазь повсеместно используется для лечения ран в лечебных учреждениях страны). У 24 животных контрольной группы в процессе лечения на раны накладывали раневые покрытия на основе нановолокон природного биополимера хитозана, получаемого по технологии Nanospider. Лечебный слой был представлен хитозановыми нановолокнами с диаметром 60–200 нм и более и поверхностной плотностью от 0,5 до 1,2 г/м² (Chitosan; poly (D-glucosamine). Натуральный полисахарид (C₆H₁₁NO₄)_n. Производитель KitoZyme sa). В качестве подложки был использован материал нетканый СпанБел IV ТУ ВУ 400031289.031 – 2011, получаемый методом экструзии из полипропилена с последующим термоскреплением на каландре установки IV поколения. Производитель Республиканское унитарное предприятие «Светлогорское производственное объединение «Химволокно». Для стерилизации раневых покрытий, использовали метод газовой стерилизации окисью этиленоксида. Использовали газовый стерилизатор STERI-VAC с одноименным аэратором.

Животным осуществляли перевязки через день, выводили из эксперимента на 3-и, 7-е и 14-е сутки (по 8 крыс) посредством передозировки эфиром. В последующем в указанные выше сроки использовали гистологические (изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и морфометрия проводились с помощью исследовательского микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия) (при увеличениях 25 – 900 крат) с цифровой видеокамерой «DFC320» (Leica, Германия) и программы компьютерного анализа изображения ImageWarp (Bit Flow, США), микробиологические (in vitro), лабораторные (исследование мазков-отпечатков, общего анализа крови и С-реактивного белка как маркера воспаления) и токсикологические методы исследований, проведенные на базе Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены».

Результаты и обсуждение. Анализ результатов планиметрических исследований выявил достоверно статистически значимое ускорение заживления экспериментальных кожных ран у крыс, при лечении которых использовали раневые покрытия с нанесенным слоем нановолокон хитозана.

При гистологических исследованиях было доказано, что хирургическим путем у лабораторных крыс была представлена модель полнослойной кожной раны (у всех исследованных животных произошла полная гибель всех оболочек кожи - эпидермиса, дермы и гиподермы, а также частично и подлежащих мышц). В последующем в динамике отмечено ускорение регенерации кожных ран у животных опытной группы. У них пласт новообразованного эпителия был выражен лучше, чем у контрольных животных: он был заметно длиннее и толще (до 3 – 5 слоев клеток). При этом эпителиальные клетки выглядели более дифференцированными (иногда в их поверхностных слоях выявлялись зерна кератогиалина, характерные для 3-го, зернистого слоя эпидермиса).

Микробиологические методики in vitro свидетельствовали о наличии антимикробного эффекта опытных раневых покрытий и установлен их видо-специфический характер. В большинстве случаев под полосками, по сравнению с контролем, отличалось не только количество КОЕ (колониеобразующие единицы), но и размер колоний. Последнее



свидетельствует о том, что антибактериальное действие хитозана заключается не только в подавлении роста бактерий, а в замедлении его, что и сказывалось на уменьшении диаметра колоний. Таким образом, основной механизм антимикробного действия раневых покрытий с нановолокнами хитозана – бактериостатический.

При интерпретации гематологических показателей отмечено преобладание в крови животных опытной серии лимфоцитарной инфильтрации. Лейкоцитарный индекс эндогенной интоксикации свидетельствовал о повышенной микробной активности у крыс контрольной группы. Показатели С-реактивного белка в опытной серии нормализовались на 14 сутки, в то время как в серии «контроль» оставались высокими во время всего эксперимента.

При исследовании динамики мазков-отпечатков в обеих сериях наблюдалась последовательная смена этапов раневого процесса, однако в опытной серии имело место снижение обсемененности в сравнительном аспекте и появление на 10-е сутки полибластов, которые являлись благоприятным прогностическим признаком.

Проведенные токсикологические исследования не выявили кожно-раздражающих и кожно-резорбтивных свойств раневых покрытий с нановолокнами хитозана растительного происхождения, водные вытяжки из изделий не оказывали цитотоксическое действие в эксперименте *in vitro*, не проявили гемолитическое действие в тесте на гемосовместимость и не вызывали сенсibilизации. В эксперименте с нанесением повязок на скарифицированные раны не выявлены токсические эффекты: отклонений в показателях крови, сыворотки крови и показателях мочи и диуреза не было. Не отмечались признаки раздражения и воспаления как скарифицированных раневых поверхностей, так и кожи.

Выводы. Раневые покрытия на основе нановолокон природного биополимера хитозана впервые разработаны в Республике Беларусь на ОАО «Завод горного воска» по технологии NANOSPIDER. Доклинические исследования доказали, что они обладают выраженными регенераторными и антимикробными свойствами без добавления лекарственных средств. Лечебный эффект обусловлен тем, что диаметр нановолокон хитозана - в диапазоне нанометров – обеспечивает значительную площадь соприкосновения с раневой поверхностью. Полученные результаты доклинических исследований и дальнейшая разработка раневых покрытий на основе нановолокон хитозана позволят создать импортозамещающую продукцию для использования в клинической практике с целью эффективного лечения ран в различных отраслях медицины – хирургии, комбустиологии, травматологии, оториноларингологии, гинекологии, пластической хирургии, стоматологии, а также как средство для оказания первой медицинской помощи как на догоспитальном этапе, так и в быту.