

Оригинальная статья / Original article

Перспективы применения антимикробных биodeградируемых раневых покрытий для лечения гнойных ран

С.Е. Гуменюк¹, <https://orcid.org/0000-0002-4197-2207>, gse@mail.ru
Д.И. Ушмаров¹, <https://orcid.org/0000-0002-3665-3906>, upo@ksma.ru
О.Ю. Шокель² , <https://orcid.org/0000-0003-4793-783X>, 1solga2108@mail.ru
Е.А. Айдинова¹, <https://orcid.org/0009-0007-0739-3563>, aydiniva96@gmail.com
Я.В. Белякова¹, <https://orcid.org/0009-0009-9783-4936>, byvvk@bk.ru

¹ Кубанский государственный медицинский университет; 350063, Россия, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4

² Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова; 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Резюме

Введение. В связи с ростом числа полиантибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов все большую актуальность в хирургии набирает вопрос совершенствования тактики местного лечения ран мягких тканей без использования антибактериальной терапии.

Цель. Изучить зависимость антисептического эффекта раневых покрытий на основе хитозана от степени их биodeградации и оценить перспективы применения подобных покрытий для лечения гнойных ран.

Материалы и методы. Объектом исследования стали раневые покрытия с инкорпорированным антисептиком полигексанидом (РН) на основе хитозана двух типов: нестабилизированного (Ch-H-PH) и стабилизированного путем сшивки с глутаровым альдегидом (Ch-H-GA-PH). Исследование спектра антимикробной активности проведено *in vitro* при помощи диско-диффузионного метода с использованием тест-культур *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Направленность биodeградации изучали путем проведения сканирующей электронной микроскопии.

Результаты и обсуждение. Стабилизированные образцы Ch-H-GA-PH в силу более длительных сроков биodeградации обладали пролонгированным антимикробным действием ($\max - 36-48$ ч; $p \leq 0,05$), в то время как образцы Ch-H-PH по причине высокой гидрофильности материала биodeградировали в ранние сроки и реализовывали весь антимикробный потенциал в срок до 24 ч ($\max - 12$ ч; $p \leq 0,05$). Полученные результаты коррелировали с данными, представленными в работах зарубежных исследователей по изучению свойств биополимерных материалов в качестве матриц-носителей для лекарственных средств, а также в области поиска путей преодоления полиантибиотикорезистентности в хирургической практике.

Выводы. Применение раневых покрытий антисептического типа действия на основе хитозана с различными параметрами биodeградации позволит осуществить программируемый подход к лечению гнойных ран мягких тканей персонифицированно в зависимости от конкретной клинической ситуации.

Ключевые слова: хитозан, раневое покрытие, биodeградация, антисептик, полигексанид, гнойная рана, лечение раны, хирургия

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта №МФИ-20.1/71.

Для цитирования: Гуменюк СЕ, Ушмаров ДИ, Шокель ОЮ, Айдинова ЕА, Белякова ЯВ. Перспективы применения антимикробных биodeградируемых раневых покрытий для лечения гнойных ран. *Амбулаторная хирургия*. 2024;21(2):111–119. <https://doi.org/10.21518/akh2024-027>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The prospects of application of antimicrobial biodegradable wound dressings for the treatment of purulent wounds

Sergey E. Gumenyuk¹, <https://orcid.org/0000-0002-4197-2207>, gse@mail.ru
Denis I. Ushmarov¹, <https://orcid.org/0000-0002-3665-3906>, upo@ksma.ru
Olga Yu. Shokel² , <https://orcid.org/0000-0003-4793-783X>, 1solga2108@mail.ru
Elena A. Aydinova¹, <https://orcid.org/0009-0007-0739-3563>, aydiniva96@gmail.com
Yana V. Belyakova¹, <https://orcid.org/0009-0009-9783-4936>, byvvk@bk.ru

¹ Kuban State Medical University; 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia

² Almazov National Medical Research Centre; 2, Akkuratov St., St Petersburg, 197341, Russia

Abstract

Introduction. Due to the growing number of polyantibiotic-resistant strains of microorganisms, the issue of improving the tactics of local treatment of soft tissue wounds without the use of antibiotic therapy is gaining more and more urgency in surgery.

Aim. To study the dependence of the antiseptic effect of chitosan-based wound dressings on the degree of their biodegradation and to evaluate the prospects for the use of such dressings for the treatment of purulent wounds.

Materials and methods. The object of the study was wound dressings with incorporated antiseptic polyhexanide (PH) based on chitosan of two types: unstabilized (Ch-H-PH) and stabilized by cross-linking with glutaric aldehyde (Ch-H-GA-PH). The antimicrobial activity spectrum was investigated in vitro by disk-diffusion method using test cultures of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The directionality of biodegradation was studied by scanning electron microscopy.

Results and discussion. Stabilized Ch-H-GA-PH samples had prolonged antimicrobial action due to longer biodegradation times (max – 36–48 h; $p \leq 0.05$), while Ch-H-PH samples due to high hydrophilicity of the material biodegraded early and realized the full antimicrobial potential within 24 hours (max – 12 h; $p \leq 0.05$). The obtained results correlated with the data provided in the foreign researchers' publications on the investigation of the properties of biopolymer materials used as matrix carriers for drugs, and in terms of addressing the search for strategies to combat poly-antibiotic resistance in surgical practice.

Conclusion. Application of wound dressings of antiseptic type of action on the basis of chitosan with different parameters of biodegradation will allow to realize a programmed approach to treatment of purulent wounds of soft tissues in a personalized way depending on a specific clinical situation.

Keywords: chitosan, wound dressing, biodegradation, antiseptic, polyhexanide, purulent wound, wound treatment, surgery

Acknowledgment. The research is carried out with the financial support of the Kuban Science Foundation in the framework of the scientific project No. MFI-20.1/71.

For citation: Gumenyuk SE, Ushmarov DI, Shokel OYu, Aydinova EA, Belyakova YaV. The prospects of application of antimicrobial biodegradable wound dressings for the treatment of purulent wounds. *Ambulatornaya Khirurgiya*. 2024;21(2):111–119. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/akh2024-027>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время особую актуальность в хирургии имеет проблема поиска и подбора оптимальных стратегий лечения пациентов с гнойно-септической патологией мягких тканей [1–3]. Это может быть связано с неуклонным ростом числа пациентов с ранениями различного генеза [4], которые при отсутствии своевременной и качественно оказанной помощи могут осложняться с развитием тяжелого некупируемого инфекционного процесса, как местного, так и генерализованного [4, 5]. К сожалению, высокая частота возникновения подобных осложнений напрямую связана с отсутствием оптимального унифицированного подхода к лечению гнойных ран, а также с широким, нерациональным применением системной антибиотикотерапии [6–9], что приводит к прогрессивному увеличению числа штаммов микроорганизмов, обладающих множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам, и грибковой флоры [10].

Одним из направлений преодоления полиантибиотикорезистентности является совершенствование местных способов лечения ран без использования традиционных антибиотиков [11], в т. ч. путем применения полимерных раневых покрытий с инкорпорированными препаратами антисептического типа действия [12]. При этом для реализации наиболее оптимизированного подхода и ограничения полипрагматии необходимо создание целого ряда лекарственных

форм с различным спектром антимикробной активности и сроками реализации антимикробного эффекта. Это позволит, с одной стороны, предотвратить излишнее по длительности воздействие антисептика на зону репарации, тем самым нивелировать его тормозящее влияние на неогистогенез [13, 14], а с другой стороны, позволит пролонгировать сроки десорбции антисептика для длительно не заживающих ран [12, 15]. Управление сроками диффундирования антисептика в раневую среду стало бы возможным при его иммобилизации на полимерной биodeградируемой матрице [16–19]. При этом одновременно с резорбцией полимера в рану высвобождался бы препарат в заранее известной концентрации в программируемые сроки. Более того, при создании многослойных раневых покрытий, включающих слои с различными сроками биodeградации, возможно было бы добиться десорбции различных препаратов и/или различных концентраций этих препаратов в различные сроки соответственно фазности течения раневого процесса.

Исходя из этого, становится очевидно, что одним из важнейших свойств материалов для синтеза таких покрытий является их способность к биodeградации [20] в тканях организма. Однако излишне пролонгированная, равно как и чрезмерно ускоренная, биodeградация существенно ограничивает спектр применения той или иной лекарственной формы [21, 22]. Поэтому следует отметить, что для синтеза полифункциональных

раневых покрытий с широким спектром действия необходим рациональный подбор материалов, обладающих оптимальными для конкретной клинической ситуации сроками биодеградации.

Одним из перспективных биодеградируемых полимерных материалов в современной хирургии является природный полимер хитозан – деацетилированное производное хитина-N-ацетил-D-глюкозамина [12, 20, 23–25]. Раневые покрытия, созданные на его основе, не вызывают местных воспалительных реакций при имплантации в ткани, обладают хорошей сорбционной способностью, оказывают стимулирующее влияние на процессы репаративного гистогенеза и ремоделирования зоны повреждения [26], проявляют природную антимикробную активность при местном применении [27] и к тому же в зависимости от технологии биосинтеза и степени полимерной сшивки молекул хитозана [28] могут обладать широкой вариативностью сроков биодеградации.

Цель исследования – *in vitro* изучить зависимость длительности антисептического эффекта раневых покрытий на основе хитозана от степени их биодеградации и оценить перспективы применения подобных покрытий для лечения гнойных ран мягких тканей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Важнейшей задачей исследования явилась оценка возможности реализации пролонгированного антимикробного эффекта при имплантации раневого покрытия в мягкие ткани за счет повышения длительности биодеградации хитозана с возможностью контроля сроков десорбции иммобилизированных на хитозановой матрице препаратов. Это может быть реализовано за счет сохранения жесткостных характеристик хитозана при нахождении в раневой среде без существенного изменения его уникальной волокнисто-пористой ультраструктуры в программируемые сроки, варьируемые в зависимости от конкретной клинической задачи. С другой стороны, при высокой скорости биодеградации таких покрытий в ранние сроки могли бы быть достигнуты предельные рабочие концентрации препаратов в микробной среде, а также была бы реализована качественная и полная адгезия полимерного материала к стенкам раневой полости, что с большой вероятностью позволило бы предотвратить вторичную контаминацию и обеспечить адекватный влаго- и газообмен раны с окружающей средой.

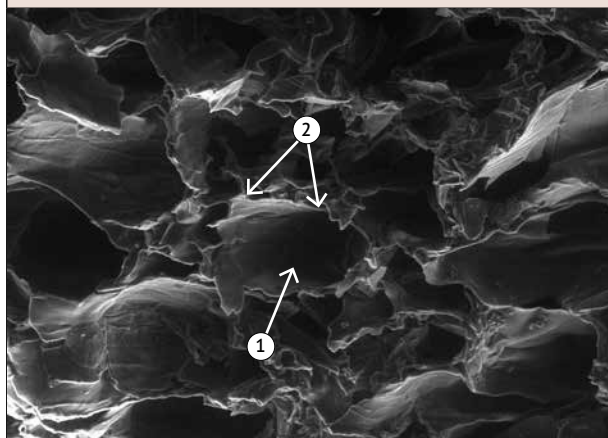
Основываясь на результатах ранее проведенных нами работ по изучению свойств полимерных раневых покрытий [12, 20, 29], для настоящего исследования были отобраны наиболее перспективные,

на наш взгляд, покрытия на основе хитозана двух различных типов: несшитого хитозана (ChitoClear 43000-HQG 10, Primex, Siglufjörður, Исландия), обозначенные как Chitosan-Hard (Ch-H), а также на основе сшитого с глутаровым альдегидом (GA) хитозана (Hubei Jinghong Chemical Co., Ltd., Китай), обозначенные как Chitosan-Hard-Glutaraldehyde (Ch-H-GA). На этапе биосинтеза в полимерную структуру изучаемых образцов был инкорпорирован наиболее перспективный по результатам предшествующих доклинических испытаний [12] антисептический препарат полигексанид (PH) в международной действующей концентрации 0,1% (1000 мкг/мл; Пронтосан, B. Braun, Швейцария), обозначенный как PH. Химический синтез образцов был проведен на базе НИЦ «Курчатовский институт» по технологическим параметрам, заданным кафедрой хирургических болезней ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, в результате чего были получены комбинированные раневые покрытия с антисептическим типом действия Ch-H-PH и Ch-H-GA-PH.

Выбор образцов был обусловлен особенностями течения раневого процесса при гнойно-септической патологии мягких тканей [11, 18, 24, 28]. Раневые покрытия представляли собой структуру волокнисто-пористого типа с достаточно выраженными прочностными характеристиками, благодаря чему при погружении в гнойную рану они сохраняли свою первоначальную форму и выполняли функцию дренажа за счет предотвращения спадания краев и стенок раневой полости. В результате становилось возможным «открытое» ведение гнойной раны при поддержании высокой аэрации раневой среды и оптимального для протекания процессов репаративного гистогенеза водного баланса без угрозы раннего образования струпа. В силу умеренной сорбционной активности образцов раневых покрытий в ране мог быть реализован пролонгированный устойчивый отток гнойного содержимого по направлению «изнутри – наружу» без чрезмерно частой смены раневого покрытия и без применения повторных агрессивных механических методов эвакуации гноя, что обеспечивало качественную и практически полностью атравматичную очистку раневой среды.

Подобный спектр реализуемых лечебных эффектов обеспечивался за счет особенностей ультраструктуры хитозана (рис. 1): хаотично направленные волокна материала толщиной 350–1000 нм, умеренная степень пористости, поры малого диаметра (20–45 мкм), сравнительно высокий показатель модуля упругости материала (до 0,749 Мпа). Проведение химической сшивки хитозана с GA позволило без изменений уникальной

Рисунок 1. Электронограмма (увеличение 500×): исходная ультраструктура раневого покрытия
Figure 1. Electronogram (magnification 500×): the initial ultrastructure of the wound dressing



1 – просвет поры; 2 – стенки поры, представленные полимерным волокном

пористо-волокнутой структуры Ch-H-PH получить стабилизированные образцы Ch-H-GA-PH [20], обладающие повышенным модулем упругости и химической устойчивостью, сниженной гидрофильностью волокон, интенсифицированной каркасностью материала, а следовательно, существенно более пролонгированным терапевтическим эффектом и более длительными сроками биодеградации.

Изучение сроков реализации антимикробного эффекта разрабатываемых раневых покрытий было проведено *in vitro* с использованием диско-диффузионного метода. Для этого предварительно на агаре в течение 18–20 ч при 36 °С были выращены тест-культуры *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 6538P и *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922. Из выращенных чистых культур готовили взвесь на забуференном физиологическом растворе с концентрацией 10^5 микробных клеток в 1 мл. Концентрацию микробной взвеси определяли при помощи денситометра Vitek (Китай). Затем полученную взвесь микроорганизмов засеивали газоном на среде АГВ, после чего инкубировали в течение 17–19 ч при температуре 37 °С. В асептических условиях исследуемые образцы раневых покрытий с инкорпорированным PH при помощи дерматомы нарезали на диски диаметром 10 мм и высотой 3 мм, которые размещали на засеянном АГВ. В качестве контроля были использованы стандартные диски фильтровальной бумаги с предварительно нанесенным 0,1-мл раствором полигексанида в международной концентрации. Оценку продолжительности антимикробного эффекта раневых покрытий проводили, измеряя зоны задержки роста

микробной культуры в четырех контрольных точках: через 12, 24, 36 и 48 ч эксперимента. Сплошной рост микроорганизмов и зоны задержки роста диаметром менее 10 мм оценивали как отсутствие антимикробного эффекта (0); зоны диаметром 10–15 мм оценивали как слабый антимикробный эффект (+); зоны диаметром 15–20 мм – как умеренный высокий (++); зоны диаметром свыше 20 мм – как очень высокий (+++). При проведении диско-диффузионного метода в каждой серии было выполнено по 10 наблюдений (n), диаметр зон задержки роста, демонстрирующий антимикробный эффект изучаемых образцов, представляли в виде среднего арифметического (m).

Визуализацию трансформации ультраструктуры образцов хитозана при биодеградации в АГВ осуществляли в этих же контрольных точках при помощи метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), которую проводили на микроскопе Hitachi SU8220 (Япония).

Статистический анализ

Полученные данные проходили статистическую обработку с использованием программ STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010). Нормальность кумулятивного распределения в выборках определяли с помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Критерием уровня статистической значимости было значение, равное $p < 0,05$. В результате статистических расчетов была установлена нормальность распределения данных во всех группах. Для сравнения средних значений множественных групп проводили однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При обнаружении статистически значимых различий проводилось сравнение двух независимых выборок с нормальным распределением при помощи критерия Стьюдента с применением поправки Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование антисептического эффекта

Все помещенные в агар диски с антисептиком продемонстрировали хороший антимикробный эффект (табл.), при этом была подтверждена степень активности PH в отношении опытных тест-культур, установленная нами в ранее проведенных исследованиях [12]. Зоны задержки роста штаммов *S. aureus* во всех случаях превосходили по размеру зоны задержки роста *E. coli*, что свидетельствовало об умеренно выраженной избирательности действия антисептика и большей эффективности в отношении *S. aureus*.

Антимикробный эффект дисков Ch-H-PH развивался быстро, достигал максимума к 12 ч после помещения на АГВ и оценивался как очень высокий для

Таблица. Выраженность антимикробного эффекта по данным диско-диффузионного метода
Table. Expression of antimicrobial effect according to the disk-diffusion method

Исследуемые образцы	Зоны задержки роста, n = 12, m в мм									
	S. aureus ATCC 6538P				p-критерий	E. coli ATCC 25922				p-критерий
	12 ч	24 ч	36 ч	48 ч		12 ч	24 ч	36 ч	48 ч	
Ch-H-PH	+++ (m = 31)	+++ (m = 27)	+ (m = 14)	0 (m = 3)	$p_{12,24} = 0,03$ $p_{12,36} = 0,021$ $p_{12,48} = 0,001$ $p_{24,36} = 0,051$ $p_{24,48} = 0,043$ $p_{36,48} = 0,05$	+++ (m = 26)	++ (m = 18)	0 (m = 6)	0 (m = 1)	$p_{12,24} = 0,031$ $p_{12,36} = 0,05$ $p_{12,48} = 0,001$ $p_{24,36} = 0,0046$ $p_{24,48} = 0,029$ $p_{36,48} = 0,12$
Ch-H-GA-PH	++ (m = 20)	++ (m = 23)	+++ (m = 34)	+++ (m = 36)	$p_{12,24} = 0,028$ $p_{12,36} = 0,05$ $p_{12,48} = 0,034$ $p_{24,36} = 0,017$ $p_{24,48} = 0,001$ $p_{36,48} = 0,0053$	+ (m = 14)	++ (m = 17)	+++ (m = 27)	+++ (m = 32)	$p_{12,24} = 0,037$ $p_{12,36} = 0,013$ $p_{12,48} = 0,05$ $p_{24,36} = 0,046$ $p_{24,48} = 0,021$ $p_{36,48} = 0,085$
Фильтровальная бумага	+++ (m = 35)	+ (m = 14)	0 (m = 3)	0 (m = 3)	$p_{12,24} = 0,05$ $p_{12,36} = 0,001$ $p_{12,48} = 0,02$ $p_{24,36} = 0,127$ $p_{24,48} = 0,104$ $p_{36,48} = 0,02$	++ (m = 23)	+ (m = 12)	0 (m = 2)	0 (m = 1)	$p_{12,24} = 0,001$ $p_{12,36} = 0,005$ $p_{12,48} = 0,029$ $p_{24,36} = 0,042$ $p_{24,48} = 0,086$ $p_{36,48} = 0,059$

S. aureus и умеренно высокий для *E. coli* вплоть до 36 ч, когда бактерицидный эффект прогрессивно снижался до слабого, а затем к концу времени эксперимента совсем нивелировался.

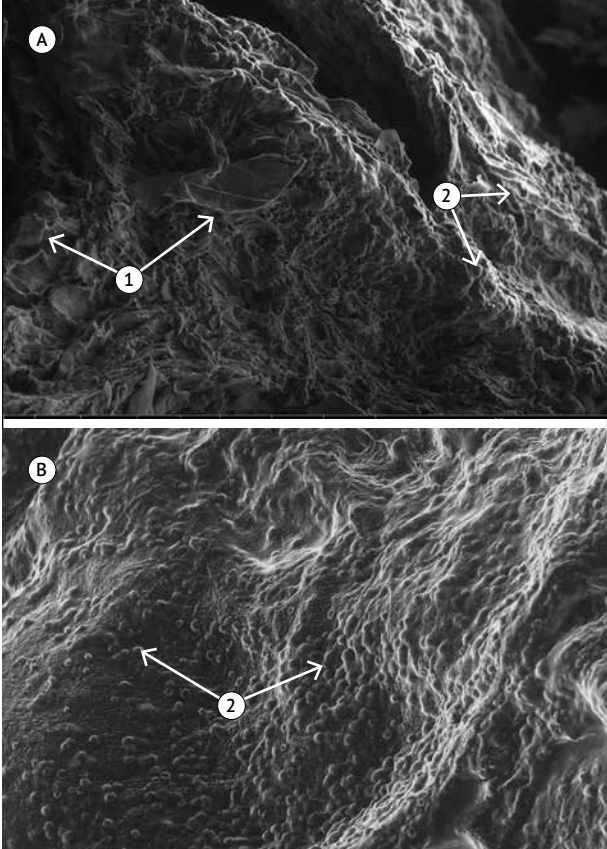
Образцы Ch-H-GA-PH, напротив, демонстрировали слабое и/или умеренно высокое антимикробное действие в первые 36 ч после помещения в микробную среду, которое затем возрастало до очень высокого стабильно вплоть до завершения эксперимента к 48 ч.

Антисептическое действие PH, нанесенного на диски фильтровальной бумаги, было очень высоким или умеренно высоким в первые 12 ч, после чего угасало до полного его отсутствия.

Исследование направленности биodeградации
Проведение СЭМ позволило определить направленность трансформации ультраструктуры хитозана в различные сроки его нахождения во влажной микробной среде.

У несшитых образцов Ch-H-PH уже через 12 ч нахождения на АГВ были отмечены ранние признаки деструкции: при контакте с микробной средой происходило ослизнение материала по периферии и его частичная трансформация в структуру гидрогеля, сопровождающаяся умеренной деформацией сечения пор в структуре и сглаживанием шероховатой поверхности волокон. К 24 ч экспериментального времени размер каркасной части хитозанового диска регрессировал с 10 до 3,1 мм, при этом в центральной части было сохранено каркасное «ядро» (рис. 2А), а периферическая часть представляла собой слабодифференцируемый на агаре гидроколлоидный гель, при микроскопии имеющий на поверхности множество структур мицеллярного типа (рис. 2В). Тем не менее ультраструктура

Рисунок 2. Электронограмма (увеличение 500х): трансформация ультраструктуры несшитого раневого покрытия Ch-H-PH через 24 ч
Figure 2. Electronogram (magnification 500х): ultrastructure transformation of non-crosslinked Ch-H-PH wound dressing after 24 hours



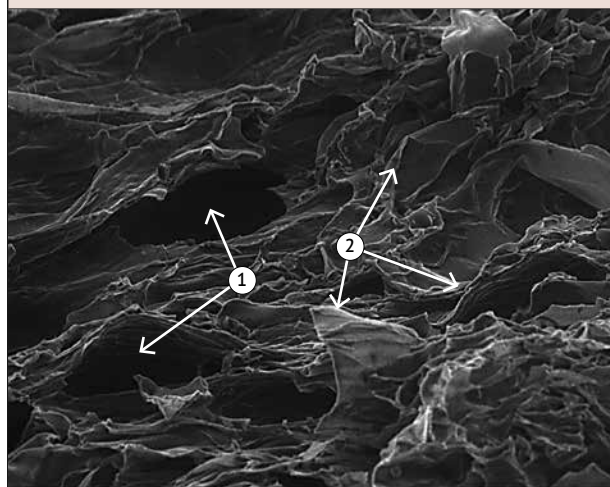
А – центрально расположенное каркасное «ядро»; В – гидрогелевая текстура с мицеллами; 1 – полимерное волокно; 2 – мицеллы

«ядра» отличалась от первоначальной существенным уменьшением диаметра пор до 10–15 мкм при увеличении толщины стенок поры, что может быть обусловлено высокой гидрофильностью несшитого полимерного материала. При исследовании через 36 ч в области наложения диска Ch-H-PH визуализировались единичные, хаотично расположенные участки гелеподобной структуры, что свидетельствовало о полной деструкции диска несшитого хитозана в третьей контрольной точке.

Образцы Ch-H-GA-PH в силу стабилизации материала и снижения его гидрофильности через 12 и 24 ч, по данным СЭМ, практически не изменяли первоначальную конфигурацию, при этом степень набухания волокна оставалась минимальной, что обеспечивало длительное поддержание стартового диаметра пор в структуре и пролонгацию лекарственного действия Ch-H-GA-PH. В ультраструктуре сшитых образцов при проведенной через 36 ч СЭМ также не наблюдалось существенных изменений конфигурации полимерного волокна, однако было отмечено сглаживание рельефа поверхности хитозана и хаотичное изменение направленности ориентации пор в его структуре (рис. 3). К 48 ч экспериментального времени было обнаружено некоторое набухание материала, сужение просвета пор и появление на поверхности структур мицеллоподобного типа, что свидетельствовало о прогрессировании трансформации каркасной структуры в гидрогелевую, что, в свою очередь, индуцировало биорезорбцию материала по направлению от периферии к центру.

Рисунок 3. Электронограмма (увеличение 500×): трансформация ультраструктуры раневого покрытия Ch-H-GA-PH через 36 ч

Figure 3. Electronogram (magnification 500×): ultrastructure transformation of Ch-H-GA-PH wound dressing after 36 hours



1 – сохранный просвет пор; 2 – выраженный рельеф полимерного волокна

Стоит отметить, что представленные данные по срокам и направленности биодеградации обладают корреляционной связью с данными, полученными при проведении исследований *in vivo* при имплантации покрытий в естественную раневую среду [12, 20, 29].

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые образцы раневых покрытий в эксперименте продемонстрировали валидные различия по срокам реализации антимикробного действия и направленности биодеградации [26–29], особенностям модификации ультраструктуры в различные сроки нахождения в микробной среде, а также различия в ориентации вектора лечебного воздействия на рану. Полученные результаты коррелировали с данными, представленными в работах зарубежных исследователей по изучению свойств биополимерных материалов в качестве матриц-носителей для лекарственных средств [17, 23, 29–31], а также в области поиска путей преодоления полиантибиотикорезистентности в хирургической практике [9, 12, 16–18, 24, 32].

Немодифицированный хитозан Ch-H-PH обладал наиболее короткими сроками биодеструкции и в силу высокой гидрофильности волокон при контакте с влажной микробной средой сравнительно быстро трансформировал свою структуру до гидрогелевой. Подобная трансформация являлась индуктором диффузии антисептического препарата из хитозанового депо в агар и обеспечивала реализацию антимикробного эффекта на ранних сроках после введения образца в микробную среду. Благодаря сокращению сроков биодеградации, запрограммированная в опытном образце хитозана дозировка антисептика высвобождалась практически одномоментно, создавая тем самым в бактериальной среде предельно высокие концентрации антисептика на короткий срок.

Стабилизированные образцы Ch-H-GA-PH, обладающие повышенной прочностью структуры и сниженной гидрофильностью материала, значительно дольше сохраняли свою первоначальную структуру, ступенчато, от периферии к центру трансформируясь в гидроколлоидный гель лишь после 36 ч нахождения в агаре. Это позволило образцам реализовывать отсроченный пролонгированный антимикробный эффект: сразу после введения в бактериальную среду антисептик диффундировался в ограниченной концентрации, а при начальных этапах преобразования структуры хитозана в среде длительно и равномерно поддерживалась достаточная рабочая концентрация PH.

Также следует отметить, что PH проявлял одинаково выраженную антимикробную активность и при

иммобилизации в хитозановую матрицу, и в группе контроля, что свидетельствует о химической совместимости хитозана с РН и его перспективности для использования в качестве депо-носителя для антисептических препаратов. Однако при введении РН на диски фильтровальной бумаги не было отмечено пролонгации антисептического действия. Подобный механизм реализации антимикробного эффекта в контрольной группе, по-видимому, связан с одномоментным ненаправленным диффундированием антисептика и чрезмерно высокой скоростью испарения действующего вещества с поверхности фильтровальной бумаги.

При этом выявленная избирательность действия РН в отношении *S. aureus* была обусловлена особым механизмом антимикробного действия РН, заключающимся в его неспецифическом сродстве к бактериальным кислым фосфолипидам, составляющим бо́льший удельный вес в структуре клеточной стенки *S. aureus*, что приводило к повышению проницаемости клеточных мембран и реализации эффективного бактерицидного действия РН.

Иммобилизация антисептика на хитозановой матрице позволила бы во всех случаях предотвратить испарение препарата и, как следствие, неконтролируемые изменения дозировки действующего вещества после имплантации. При постепенной деструкции полимерного материала антисептик высвобождался бы в раневую среду в заранее запрограммированных концентрациях с возможностью их варьирования путем индивидуального подбора оптимальных по массе, объему и форме раневых покрытий для определенной клинической ситуации. Благодаря отличиям в функциональных характеристиках хитозана различных типов становится возможным создание многослойных композитов: различия в скорости и направленности биодеградации немодифицированных Ch-H-PH и стабилизированных образцов Ch-H-GA-PH при их комбинации на этапе химического синтеза позволили бы создать многослойное раневое покрытие, слои которого резорбировались бы в различные сроки, обеспечивая десорбцию в раневую среду требуемых на разных стадиях раневого процесса препаратов. Слои на основе немодифицированного хитозана со степенью полимеризации выполняли бы функцию матрицы-носителя лекарственных средств, необходимых для десорбции в раневую среду в ранние сроки на начальных стадиях раневого процесса, например, агрессивных антисептических препаратов, гемостатических препаратов, осмотически активных веществ. Слои на основе стабилизированного хитозана, напротив, могут быть использованы для иммобилизации в них стимуляторов репаративного

гистогенеза, а также наименее цитотоксичных антисептиков с целью санации раневой среды. При этом благодаря длительным срокам биодеградации такого хитозана возможно было бы добиться не только их программируемой десорбции на финальных стадиях раневого процесса, но и обеспечения каркасности композитной биополимерной конструкции. Такие жесткостные слои позволяют композитному покрытию выполнять функцию дренажа, что особенно важно при лечении инфицированных и глубоких ран. Кроме того, основываясь на результатах доклинических испытаний *in vivo*, было установлено, что у всех образцов соответственно стадийности раневого процесса наблюдалась полная или практически полная биодеградация, что позволило бы при имплантации в рану в декретированные сроки обеспечить нормальное завершение фазы пролиферации и качественное протекание фазы ремоделирования раневого процесса. При этом важным аспектом является то, что такое покрытие должно было бы быть имплантировано в рану одномоментно, без необходимости дальнейших смен материала, а следовательно, могли бы быть созданы оптимальные атраumaticкие условия для регенерации раневого дефекта.

Выводы

Благодаря различиям в ультраструктуре разрабатываемых образцов использование того или иного покрытия антисептического типа действия в конкретной клинической ситуации позволило бы добиться различных терапевтических результатов. Так, применение несшитого хитозана Ch-H-PH, обладающего более выраженной ранней комплаентностью структуры, будет перспективно с целью создания в раневой среде максимальных концентраций лекарственного вещества на ранних стадиях раневого процесса. Сшитые образцы Ch-H-GA-PH в силу высокой устойчивости структуры и механической прочности, напротив, будут оказывать программируемое по длительности пролонгированное лекарственное действие для обширных и глубоких повреждений мягких тканей при одновременном выполнении хорошей дренажной функции в ране. Кроме того, при сочетании хитозана различного типа в одном покрытии станет возможным создание композитных раневых покрытий комплексного типа действия, внедрение в клиническую практику которых позволит существенно оптимизировать лечебный процесс и осуществить персонализированный подход к лечению гнойно-септической хирургической патологии мягких тканей.

Поступила / Received 19.08.2024
Поступила после рецензирования / Revised 02.09.2024
Принята в печать / Accepted 09.09.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Wang W, Meng Q, Li Q, Liu J, Zhou M, Jin Z, Zhao K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *Int J Mol Sci.* 2020;21(2):487. <https://doi.org/10.3390/ijms21020487>.
2. Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Shafi ME, Zaberemawi NM, Arif M, Batiha GE et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *Int J Biol Macromol.* 2020;164:2726–2744. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>.
3. Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, Sletta H, Ostafe V. Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action. *Int J Mol Sci.* 2019;20(23):5889. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>.
4. Wang X, Song R, Johnson M, A S, Shen P, Zhang N et al. Chitosan-Based Hydrogels for Infected Wound Treatment. *Macromol Biosci.* 2023;23(9):e2300094. <https://doi.org/10.1002/mabi.202300094>.
5. Khan F, Pham D. TN, Oloketuyi SF, Manivasagan P, Oh J, Kim YM. Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020;185:110627. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110627>.
6. Peng W, Li D, Dai K, Wang Y, Song P, Li H et al. Recent progress of collagen, chitosan, alginate and other hydrogels in skin repair and wound dressing applications. *Int J Biol Macromol.* 2022;208:400–408. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.002>.
7. Kou SG, Peters L, Mucalo M. Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. *Carbohydr Polym.* 2022;282:119132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119132>.
8. Liu R, Gong Z. Effect of chitosan-based gel dressing on wound infection, synechia, and granulations after endoscopic sinus surgery of nasal polyps: A meta-analysis. *Int Wound J.* 2022;19(8):2146–2153. <https://doi.org/10.1111/iwj.13820>.
9. Tsai HC, Sheng C, Chang LS, Wen ZH, Ho CY, Chen CM. Chitosan-microencapsulated rhEGF in promoting wound healing. *J Wound Care.* 2021;30:10–20. <https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.Sup9a.IX>.
10. Gheorghita D, Moldovan H, Robu A, Bița AI, Grosu E, Antoniac A et al. Chitosan-Based Biomaterials for Hemostatic Applications: A Review of Recent Advances. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):10540. <https://doi.org/10.3390/ijms241310540>.
11. Li A, Ma B, Hua S, Ping R, Ding L, Tian B, Zhang X. Chitosan-based injectable hydrogel with multifunction for wound healing: A critical review. *Carbohydr Polym.* 2023;333:333–354. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.121952>.
12. Гуменюк СЕ, Качанова ОА, Ушмаров ДИ, Гуменюк АС, Шокель ОЮ, Исянова ДР и др. Комплексная оценка эффективности раневых покрытий на основе хитозана в комбинации с различными антисептиками. *Инновационная медицина Кубани.* 2024;9(2):78–86. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-78-86>.
Gumenyuk SE, Kachanova OA, Ushmarov DI, Gumenyuk AS, Shokel OYu, Isyanova DR et al. Comprehensive assessment of the efficacy of chitosan-based wound dressings in combination with various antiseptics. *Innovative Medicine of Kuban.* 2024;9(2):78–86. (In Russ.) <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2024-9-2-78-86>.
13. Liu F, Wang L, Zhai X, Ji S, Ye J, Zhu Z et al. A multi-functional double cross-linked chitosan hydrogel with tunable mechanical and antibacterial properties for skin wound dressing. *Carbohydr Polym.* 2023;322:121344. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121344>.
14. Russo C, Piccioni M, Lorenzini M, L, Catalano C, Ambrogi V, Pagiotti R, Pietrella D. Bud-Poplar-Extract-Embedded Chitosan Films as Multifunctional Wound Healing Dressing. *Molecules Molecules.* 2022;27(22):7757. <https://doi.org/10.3390/molecules27227757>.
15. Yi Z, Luo X, Zhao L. Research Advances in Chitosan Oligosaccharides: From Multiple Biological Activities to Clinical Applications. *Curr Med Chem.* 2020;27(30):5037–5055. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190712180147>.
16. Wang CH, Cherng JH, Liu CC, Fang TJ, Hong ZJ, Chang SJ et al. Procoagulant and Antimicrobial Effects of Chitosan in Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):7067. <https://doi.org/10.3390/ijms22137067>.
17. Deng P, Yao L, Tang Z, Zhou J. Chitosan-based hydrogels with injectable, self-healing and antibacterial properties for wound healing. *Carbohydr Polym.* 2022;276:118718. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118718>.
18. Xu G, Xu N, Ren T, Chen C, Li J, Ding L et al. Multifunctional chitosan/silver/tannic acid cryogels for hemostasis and wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2022;208:760–771. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.174>.
19. Zhao WY, Fang QQ, Wang XF, Wang XW, Zhang T, Shi BH et al. Chitosan-calcium alginate dressing promotes wound healing: A preliminary study. *Wound Repair Regen.* 2020;28(3):326–337. <https://doi.org/10.1111/wrr.12789>.
20. Ушмаров ДИ, Гуменюк СЕ, Гуменюк АС, Гайворонская ТВ, Караблина СЯ, Поморцев АВ и др. Сравнительная оценка многофункциональных раневых покрытий на основе хитозана: многоэтапное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2021;28(3):78–96. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-3-78-96>.
Ushmarov DI, Gumenyuk SE, Gumenyuk AS, Gayvoronskaya TV, Karablina SYa, Pomortsev AV et al. Comparative evaluation of chitosan-based multifunctional wound dressings: a multistage randomised controlled experimental trial. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2021;28(3):78–96. (In Russ.) <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-3-78-96>.
21. Zhao Y, Liu X, Peng X, Zheng Y, Cheng Z, Sun S et al. A poloxamer/hyaluronic acid/chitosan-based thermosensitive hydrogel that releases dihydromyricetin to promote wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2022;216:475–486. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.210>.
22. Liu J, Shen H. Clinical efficacy of chitosan-based hydrocolloid dressing in the treatment of chronic refractory wounds. *Int Wound J.* 2022;19(8):2012–2018. <https://doi.org/10.1111/iwj.13801>.
23. Pandian M, Kumar VA, Jayakumar R. Antiseptic chitosan bandage for preventing topical skin infections. *Int J Biol Macromol.* 2021;193(B):1653–1658. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.002>.
24. Petrov L, Stoilova O, Pramatarov G, Kanzova H, Tsvetanova E, Andreeva M et al. Effect of Chitosan-Diosgenin Combination on Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2023;24(5):5049. <https://doi.org/10.3390/ijms24055049>.
25. Vaz LM, Branco R, Morais PV, Guiomar AJ. Sterilized Polyhexanide-Releasing Chitosan Membranes with Potential for Use in Antimicrobial Wound Dressings. *Membranes.* 2023;13(11):877. <https://doi.org/10.3390/membranes13110877>.
26. Zhang Z, Weng B, Hu Z, Si Z, Li L, Yang Z, Cheng Y. Chitosan-iodine complexes: Preparation, characterization, and antibacterial activity. *Int J Biol Macromol.* 2024;260(2):129598. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129598>.
27. Zhang L, Zhang Z, Li C, Hu Z, Liang Y, Yang Z et al. Preparation and characterization of amphiphilic chitosan/iodine composite film as antimicrobial material. *Int J Biol Macromol.* 2022;222:2426–2438. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.028>.
28. Cao Y, Yin J, Shi Y, Cheng J, Fang Y, Huang C et al. Starch and chitosan-based antibacterial dressing for infected wound treatment via self-activated NO release strategy. *Int J Biol Macromol.* 2022;220:1177–1187. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.152>.
29. Гуменюк СЕ, Ушмаров ДИ, Шокель ОЮ, Гуменюк АС, Матосян МА, Шевченко ЕА и др. Применение раневых покрытий на основе хитозана при местном лечении ранений паренхиматозных органов: доклиническое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2023;30(6):41–55. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2023-30-6-41-55>.

- Gumenyuk SE, Ushmarov DI, Shokel O Yu, Gumenyuk AS, Matosyan MA, Shevchenko EA et al. Application of chitosan-based wound dressings in local treatment of parenchymal organ wounds: a preclinical experimental study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2023;30(6):41–55. (In Russ.) <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2023-30-6-41-55>.
30. Li D, Liu P, Hao F, Lv Y, Xiong W, Yan C et al. Preparation and application of silver/chitosan-sepiolite materials with antimicrobial activities and low cytotoxicity. *Int J Biol Macromol*. 2022;210:337–349. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.015>.
 31. Stanescu PO, Radu IC, Leu Alexa R, Hudita A, Tanasa E, Ghitman J et al. Novel chitosan and bacterial cellulose biocomposites tailored with polymeric nanoparticles for modern wound dressing development. *Drug Deliv*. 2021;28(1):1932–1950. <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1977423>.
 32. Notario-Pérez F, Martín-Illana A, Cazorla-Luna R, Ruiz-Caro R, Veiga MD. Applications of Chitosan in Surgical and Post-Surgical Materials. *Mar Drugs*. 2022;20(6):396. <https://doi.org/10.3390/md20060396>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров

Концепция и дизайн исследования – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров

Написание текста – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров, О.Ю. Шокель, Я.В. Белякова

Сбор и обработка материала – О.Ю. Шокель, Е.А. Айдинова, Я.В. Белякова

Обзор литературы – Е.А. Айдинова, А.В. Белякова

Анализ материала – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров, О.Ю. Шокель

Статистическая обработка – О.Ю. Шокель, Е.А. Айдинова

Редактирование – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров, О.Ю. Шокель

Утверждение окончательного варианта статьи – С.Е. Гуменюк, Д.И. Ушмаров, О.Ю. Шокель, Е.А. Айдинова, А.В. Белякова

Contribution of authors:

Concept of the article – Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov

Study concept and design – Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov

Text development – Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov, Olga Yu. Shokel, Yana V. Belyakova

Collection and processing of material – Olga Yu. Shokel, Elena A. Aydinova, Yana V. Belyakova

Literature review – Elena A. Aydinova, Yana V. Belyakova

Material analysis – Olga Yu. Shokel, Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov

Statistical processing – Olga Yu. Shokel, Elena A. Aydinova

Editing – Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov, Olga Yu. Shokel

Approval of the final version of the article – Sergey E. Gumenyuk, Denis I. Ushmarov, Olga Yu. Shokel, Elena A. Aydinova, Yana V. Belyakova

Информация об авторах:

Гуменюк Сергей Евгеньевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней, Кубанский государственный медицинский университет; 350063, Россия, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4; gse@mail.ru

Ушмаров Денис Игоревич, ассистент кафедры хирургических болезней, Кубанский государственный медицинский университет; 350063, Россия, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4; upo@ksma.ru

Шокель Ольга Юрьевна, ординатор кафедры акушерства и гинекологии, Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова; 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2; 1solga2108@mail.ru

Айдинова Елена Александровна, студент лечебного факультета, Кубанский государственный медицинский университет; 350063, Россия, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4; aydiniva96@gmail.com

Белякова Яна Вячеславовна, студент лечебного факультета, Кубанский государственный медицинский университет; 350063, Россия, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4; byvvk@bk.ru

Information about the authors:

Sergey E. Gumenyuk, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Surgical Diseases, Kuban State Medical University; 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia; gse@mail.ru

Denis I. Ushmarov, Research Assistant, Department of Surgical Diseases, Kuban State Medical University; 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia; upo@ksma.ru

Olga Yu. Shokel, Resident at the Department of Obstetrics and Gynecology, Almazov National Medical Research Centre; 2, Akkuratov St., St Petersburg, 197341, Russia; 1solga2108@mail.ru

Elena A. Aydinova, Student, Faculty of General Medicine, Kuban State Medical University; 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia; aydiniva96@gmail.com

Yana V. Belyakova, Student, Faculty of General Medicine, Kuban State Medical University; 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russia; byvvk@bk.ru