

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ГИДРОФИЛЬНОЙ ОСНОВЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ ГЕКСЭТИДИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ РАН

Зотов Д.С.^{1,2}, Григорьян А.Ю.², Затолокина М.А.^{2,3}, Жилиева Л.В.², Панкрушева Т.А.²,
Чекмарева М.С.², Григорьев Н.Н.², Бондарев Г.А.²

¹ ОБУЗ «Курская областная многопрофильная клиническая больница», Курск, e-mail: zotov.dimon@mail.ru;

² ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», Курск, e-mail: gennadiy_bondarev@mail.ru;

³ Медицинский институт ФГБОУ ВО «ОГУ им. И.С. Тургенева», Орел, e-mail: marika1212@mail.ru

Одной из актуальных проблем в хирургии по-прежнему остаётся лечение гнойных ран. Несмотря на широкий спектр имеющихся препаратов и методов лечения, разработка новых и усовершенствование уже имеющихся методов является приоритетным направлением. Целью данной работы явилось выявление особенностей течения раневого процесса при использовании гидрофильных препаратов с гексэтидином. Исследования *in vitro* были проведены с целью определения спектра антимикробной активности разработанных комбинаций к наиболее патогенным штаммам микроорганизмов. В исследовании *in vivo* было использовано 108 экспериментальных животных (крысы породы Вистар), разделенных на 3 равные группы, у которых была сформирована модель гнойной раны, подвергшаяся дальнейшему лечению экспериментальными препаратами. Оценивали ряд планиметрических показателей (процент уменьшения площади раны, скорость ее заживления), микробную обсемененность, морфологическую картину ран. Разработанные комбинации с антисептиком показали высокую антимикробную активность, не уступающую по силе официальному препарату. Наибольшая активность разработанных препаратов пришлась на II фазу течения раневого процесса, о чем свидетельствовала высокая скорость заживления на 8-10-е сутки. При этом в группе с метилцеллюлозой микробная обсемененность на 8-е сутки была в 93 раза меньше, чем в группе с полиэтиленоксидом. Морфологическая картина подтвердила полученные результаты. Таким образом, разработанные комбинации оказали положительный эффект на течение гнойно-воспалительного процесса мягких тканей.

Ключевые слова: гнойная рана, гексэтидин, гидрофильная основа, полиэтиленоксид, метилцеллюлоза, лечение ран.

JUSTIFICATION OF THE CHOICE OF A HYDROPHILIC BASE FOR THE IMMOBILIZATION OF HEXETIDINE FOR THE TREATMENT OF PURULENT WOUNDS

Zotov D.S.^{1,2}, Grigoryan A.Yu.², Zatolokina M.A.^{2,3}, Zhilyaeva L.V.², Pankrusheva T.A.²,
Chekmareva M.S.², Grigoriev N.N.², Bondarev G.A.²

¹ RBHI «Kursk Regional Multidisciplinary Clinical Hospital», Kursk, e-mail: zotov.dimon@mail.ru;

² FSBEI HE «Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia», Kursk, e-mail: gennadiy_bondarev@mail.ru;

³ Medical Institute FSBEI HE «OSU of the I.S. Turgenev», Orel, e-mail: marika1212@mail.ru

One of the urgent problems in surgery is still the treatment of purulent wounds. Despite the wide range of available drugs and treatment methods, the development of new and improvement of existing methods is a priority. The purpose of this work was to identify the features of the course of the wound process when using hydrophilic preparations with hexetidine. *In vitro* studies were conducted to determine the spectrum of antimicrobial activity of the developed combinations to the most pathogenic strains of microorganisms. In the *in vivo* study, 108 experimental animals (Wistar rats) were used, divided into 3 equal groups, in which a model of a purulent wound was formed, which was further treated with experimental drugs. A number of planimetric indicators (the percentage of reduction in the area of the wound, the rate of its healing), microbial contamination, and the morphological picture of wounds were evaluated. The developed combinations with the antiseptic showed high antimicrobial activity, not inferior in strength to the official drug. The greatest activity of the developed drugs occurred in the II phase of the course of the wound process, as evidenced by the high rate of healing on 8-10 days. At the same time, in the group with methylcellulose, microbial contamination on day 8 was 93 times less than in the group with polyethylene oxide. The morphological picture confirmed the results obtained. Thus, the developed combinations had a positive effect on the course of the purulent-inflammatory process of soft tissues.

Keywords: purulent wound, hexetidine, hydrophilic base, polyethylene oxide, methylcellulose, wound treatment.

Лечение гнойно-воспалительного процесса по сей день остается одной из важных и актуальных проблем в практическом здравоохранении. В структуре хирургической патологии гнойные раны составляют от 15 до 62% среди всех заболеваний [1; 2]. Связано это с появлением резистентности патогенных микроорганизмов к уже имеющимся препаратам ввиду их частого бесконтрольного применения [3; 4]. Хирургическая обработка ран и медикаментозная терапия являются взаимодополняющими методами, поэтому тактика ведения пациентов, основанная на применении местных перевязочных средств, до сих пор является практически безальтернативным методом лечения [5; 6].

Применение местных раневых покрытий (мазей, пленок, губок) не вызывает трудностей в использовании как в стационаре, так и на амбулаторном этапе лечения. Большинство препаратов, применяемых в местной терапии гнойных ран, имеет жировую основу, а значит, они гидрофобны и не способны смешиваться с экссудатом [7].

Таким образом, необходим поиск оптимальной основы для иммобилизации лекарственных препаратов для того, чтобы полученная комбинация могла обладать высокой сорбционной активностью и легко удаляться, не травмируя подлежащие ткани [8]. Такими основами могут послужить полиэтиленоксид и метилцеллюлоза, обладающие гидрофильными свойствами [7].

Цель работы – выявление особенностей течения раневого процесса при использовании гидрофильных препаратов с гексэтидином.

Материалы и методы исследования. С целью определения спектра антимикробной активности к таким микроорганизмам, как *Candida albicans* ATCC 885-653, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Bacillus Subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и *Proteus vulgaris*, до экспериментального исследования на животных, был проведен этап исследования *in vitro*.

Второй этап работы, выполненный *in vivo*, включал в себя экспериментальное исследование на 108 лабораторных крысах, находящихся в стандартных условиях вивария (эксперимент был выполнен на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины КГМУ). По методике П.И. Толстых [9], у каждого экспериментального животного была сформирована модель гнойной раны площадью 150 мм² (проведение эксперимента с лабораторными животными одобрено региональным этическим комитетом КГМУ, протокол № 7 от 30 ноября 2018 г.). Животные были распределены на 3 равные группы, по 36 крыс в каждой, в зависимости от проводимого лечения: 1) сравнения (ГС) – официальный препарат диоксометилтетрагидропиримидиновая мазь с хлорамфениколом («Левомеколь», АО «Нижфарм»); 2) первая – гексэтидин (Г) 0,5 г,

иммобилизованный на полиэтиленоксиде (ПЭОГ) 99,5 г; 3) вторая – Г 0,5 г, иммобилизованный на метилцеллюлозе (МЦГ) 2 г, вода очищенная 97,5 г. Состав экспериментальных мазей разработан коллективом авторов кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии им. профессора А.Д. Мясникова и кафедры фармацевтической технологии Курского государственного медицинского университета. В каждой группе проводились ежедневные перевязки с исследуемым составом в течение 14 дней.

Используя метод стандартных дисков на плотной питательной среде, оценили антимикробную активность. Планиметрическое исследование, позволяющее определить уменьшение площади раны, выраженное в процентах (ПУП), и скорость ее заживления (СЗ), было проведено по методике Л.Н. Поповой [9].

С целью изучения степени обсемененности раны, посредством подсчета выросших колоний, проводили посев суспензированного участка раны на питательную среду (в основе данной манипуляции лежал газонный метод посева).

Для морфологического исследования иссекали участок раневой поверхности размером 1,0 x 1,5 см, фиксировали в формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Далее изготавливали гистологические срезы толщиной 7-8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином (Г+Э), по методу Ван Гизона. Полученные микропрепараты изучали с использованием микроскопа Levenhuk С320. Все необходимые показатели фиксировали на шести сроках наблюдения (на 1, 3, 5, 8, 10, 15-е сутки эксперимента), основываясь на литературных данных.

Результаты были обработаны статистически с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 13: вычисляли медиану, 25 и 75 перцентили (Me (25;75)). Достоверность оценивали с использованием Kruskal-Wallis test с последующим сравнением средних рангов по группам. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенное на первом этапе изучение зон задержки роста (табл. 1) позволило сделать заключение о сопоставимости по спектру антимикробной активности разработанных экспериментальных комбинаций с официальным препаратом. Экспериментальные препараты включали в себя антисептик, при этом они проявили себя не хуже, чем официальный препарат, содержащий в своем составе антибиотик. Несмотря на то что в отношении некоторых патогенных штаммов их активность была достоверно меньше, в отношении золотистого стафилококка, как наиболее часто вызывающего гнойно-воспалительный процесс, МЦГ не уступила группе сравнения. При этом обе группы показали высокие результаты в отношении всех исследуемых микроорганизмов.

Таблица 1

Зона задержки роста в мм, n=6, Me (25; 75)

Патогенный микроорганизм	ГС	ПЭОГ	МЦГ
Candida albicans	9,5 (9; 10,8)	21 (20,3; 21,8) #	15,5 (15; 16)
Escherichia coli	23,5 (23; 23,8)	20,5 (19,3; 21)	15,5 (14,3; 16,8) #
Bacillus cereus	21 (21; 21,8)	19 (18,3; 19,8)	16,5 (15,3; 19,3) #
Bacillus Subtilis	20,5 (19,3; 21,8)	20 (19,3; 20,8)	18,5 (17,3; 19,8)
Staphylococcus aureus	21,5 (20,3; 22,8)	15 (15; 15,8) #	18,5 (18; 19)
Proteus vulgaris	23 (22,3; 23,8)	18,5 (18; 19) #	20,5 (19,3; 22,5)

Примечание: # – $p < 0,05$ при сравнении ГС с ПЭОГ и МЦГ. При сравнении групп ПЭОГ и МЦГ между собой статистически значимых различий не выявлено.

Результаты планиметрических исследований представлены на рисунках 1 и 2. Анализируя полученные данные, можно заключить, что в группе МЦГ наблюдались достоверные отличия от показателей группы сравнения на всех сроках лечения, более того, во второй фазе раневого процесса данная комбинация показала наибольшую активность. Комбинация ПЭОГ, в свою очередь, вызвала увеличение площади моделируемой раны к 3-м суткам, при этом к 15-м суткам не наблюдалось достоверных отличий от МЦГ, что говорит о высокой СЗ во вторую фазу. Максимальная СЗ разработанных нами комбинаций пришлась на 8-10-е сутки.

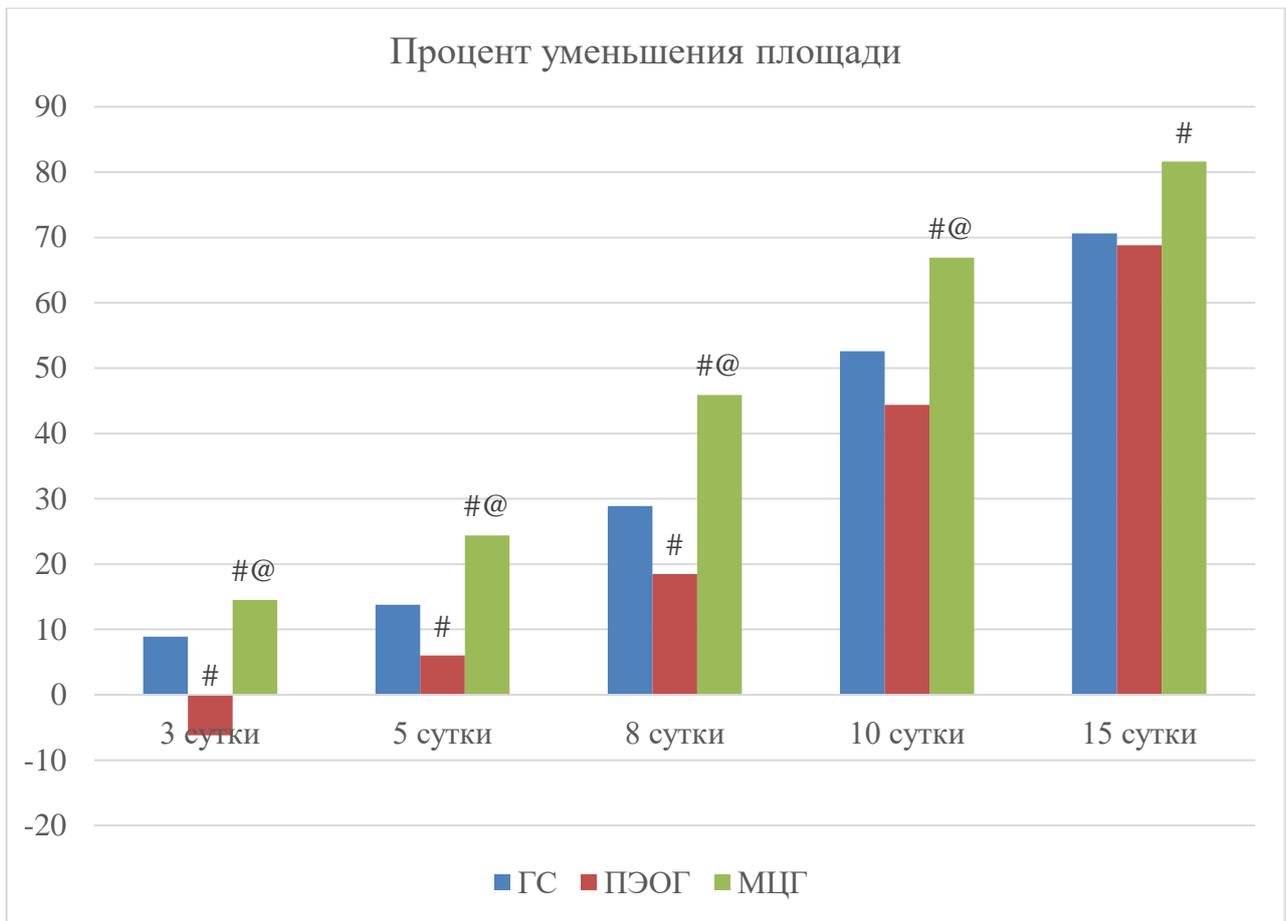


Рис. 1. Процент уменьшения площади раны

Примечание: # – $p < 0,05$ при сравнении ГС с ПЭОГ и МЦГ;

@ – $p < 0,05$ при сравнении ПЭОГ и МЦГ

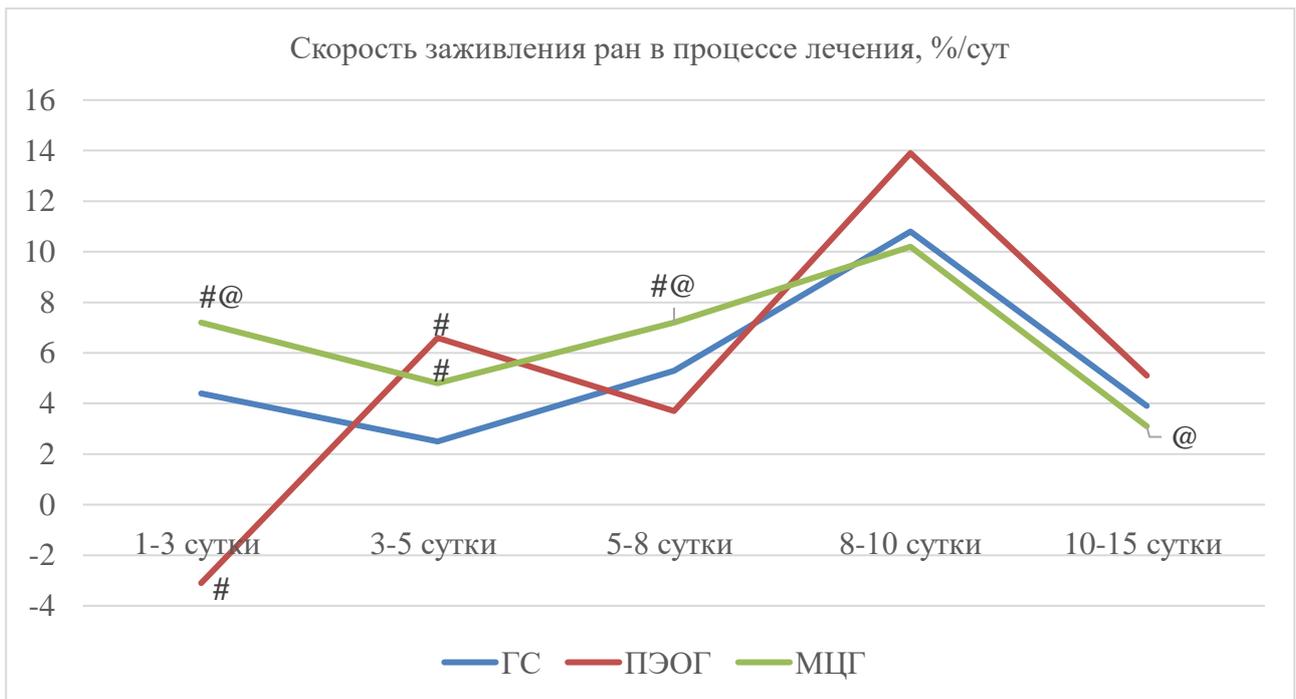


Рис. 2. Скорость заживления ран в процессе лечения, %/сут.

Примечание: # – $p < 0,05$ при сравнении ГС с ПЭОГ и МЦГ;

@ – $p < 0,05$ при сравнении ПЭОГ и МЦГ

Из таблицы 2 следует, что обсемененность ран на первые сутки у всех экспериментальных животных составила около $6,2 \times 10^7$ КОЕ/г, в последующем во всех группах в процессе лечения происходило снижение обсемененности ран. В группе ПЭОГ не наблюдалось достоверных отличий от группы сравнения до 15 суток, где показатель обсемененность в разработанной комбинации был в 9,2 раза больше по сравнению с официальным препаратом. При сравнении ПЭОГ и МЦГ на 3, 5 и 8-е сутки обсеменённость раны была достоверно меньше в МЦГ в 69, 63 и 93 раза соответственно, чем в ПЭОГ.

Таблица 2

Динамика микробной обсемененности ран КОЕ/г, $n=6$, Me (25; 75)

Срок наблюдения	ГС	ПЭОГ	МЦГ
Первые сутки	6,2 (6; 6,5) $\times 10^7$	6,4 (6,1; 6,5) $\times 10^7$	6,4 (6,2; 6,6) $\times 10^7$
Третьи сутки	2,1 (1,9; 2,2) $\times 10^7$	4,9 (4,7; 5,1) $\times 10^6$	1,2 (1,1; 1,2) $\times 10^7$
Пятые сутки	2,1 (1,9; 2,1) $\times 10^6$	2,9 (2,6; 3,1) $\times 10^6$	4,2 (4,1; 4,2) $\times 10^4$ @
Восьмые сутки	1,8 (1,6; 1,8) $\times 10^5$	2,6 (2,5; 2,7) $\times 10^6$	4,1 (3,9; 4,2) $\times 10^4$ @
Десятые сутки	4,5 (4,3; 4,7) $\times 10^4$	2,6 (2,2; 2,9) $\times 10^6$	2,8 (2,6; 3) $\times 10^4$ @
Пятнадцатые сутки	2,5 (2,4; 2,6) $\times 10^3$	2,3 (2,1; 2,4) $\times 10^4$ #	1,1 (1; 1,2) $\times 10^3$

Примечание: # – $p < 0,05$ при сравнении ГС с ПЭОГ и МЦГ; @ – $p < 0,05$ при сравнении ПЭОГ и МЦГ.

При анализе микрофотографий срезов гнойной раны (рис. 3) было выявлено, что в группе сравнения в области рубцовой, вновь образованной ткани преобладает волокнистый компонент, при этом волокна тонкие и недостаточно зрелые. При сравнении ПЭОГ и МЦГ, во второй группе почти вся рана покрыта эпидермисом, а также визуализируются новообразованные капилляры, в отличие от группы ПЭОГ, в которой поверх эпидермиса располагаются лейкоциты в стадии распада и не наблюдается процесс неоваскулогенеза.

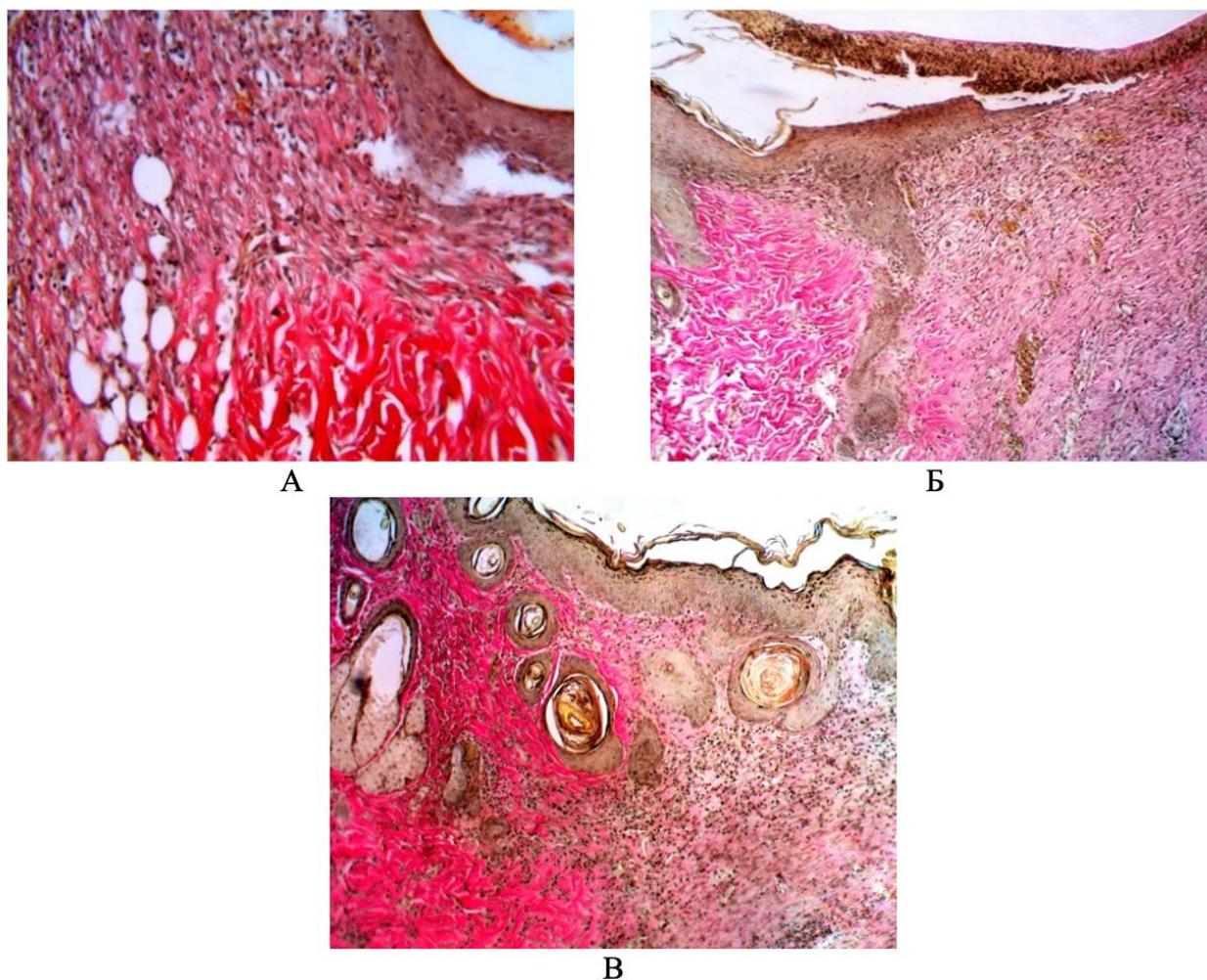


Рис. 3. Микрофотография среза кожи в области раневого дефекта на 10-е сутки эксперимента у животных: А – группы сравнения, Б – ПЭОГ, В – МЦГ.

Окрашено Г+Э, по методу Ван Гизона. Ув. X200

Заключение

Исходя из полученных данных в ходе экспериментального исследования *in vitro*, можно утверждать, что разработанные нами комбинации с антисептиком гексэтидином обладают широким спектром антибактериальной и противогрибковой активности в отношении наиболее распространенных патогенных микроорганизмов, не уступающие по своей силе официальному препарату, содержащему в своем составе антибиотик.

Однако в эксперименте *in vivo* гексэтидин, иммобилизованный на метилцеллюлозе, при планиметрическом исследовании показал наиболее стабильные результаты на всех наблюдаемых сроках по сравнению со второй группой (ПЭОГ), в которой наблюдалось увеличение площади ран в первую фазу течения раневого процесса. При этом к 15-м суткам не наблюдалось достоверных различий между экспериментальными группами. Комбинацию МЦГ можно рекомендовать для лечения при гнойных ранах как в первой, так и во второй фазе.

Данные морфологического исследования подтверждают эффективность лечения гнойной раны при использовании гексэтидина, иммобилизованного на метилцеллюлозе, о чём говорит раннее появление грануляций, эпителизация раневой поверхности, а также ускорение процесса неоваскулогенеза, в отличие от ПЭОГ и группы сравнения.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют рекомендовать комбинации с гексэтидином для дальнейшего изучения в доклинических и клинических исследованиях в аспекте улучшения результатов местного лечения гнойных ран.

Список литературы

1. Каторкин С.Е., Быстров С.А., Лисин О.Е., Розанова А.А., Безбородов А.И. Оценка эффективности применения современных перевязочных материалов в комплексном лечении гнойных ран // *Амбулаторная хирургия*. 2019. № 1 (2). С. 146-152.
2. Glass G.E., Sheil F., Ruston J.C., Butler P.E. Necrotising soft tissue infection in a UK metropolitan population. *Ann R Coll Surg Engl*. 2015. No. 1 (97). P. 46-51.
3. Краснолуцкая В.Н., Сесорова Д.В. Современные подходы к лечению гнойных ран // *Центральный научный вестник*. 2017. № 5 (2). С. 10-12.
4. Yan D., Liu S., Zhao X., Bian H., Yao X., Xing J., et al. Recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor in deep second-degree burn wound healing. *Medicine (Baltimore)*. 2017. V. 96-22. P. 6881.
5. Архипов Д.В., Андреев А.А., Атякшин Д.А., Глухов А.А., Остроушко А.П. Струйная кислородо-сорбционная обработка в местном лечении гнойных ран мягких тканей // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2020. № 13(1). С. 41-45.
6. Курлаев П.П., Гриценко В.А., Белозерцева Ю.П. Предикторы неблагоприятного течения раневого процесса в послеоперационном периоде у больных с гнойно-некротическими осложнениями нейропатической и нейроишемической форм синдрома диабетической стопы // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020. № 4. С. 4-10. DOI: 10.21626/vestnik/2020-4/01.
7. Ерофеева Л.Н., Панкрушева Т.А., Чекмарева М.С., Маравина И.Н., Автина Т.В., Автина Н.В. Исследования кафедры фармацевтической технологии по разработке полимерных лекарственных пленок // *Медицинская наука и образование Урала*. 2017. № 18 (4). С. 179-183.
8. Быстров С.А., Безбородов А.И., Каторкин С.Е. Лечение гнойных ран с применением раневых покрытий на пенной основе с технологией гидрофайбер // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2017. № 7. С. 49-53.

9. Суковатых Б.С., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Григорьян А.Ю., Иванов А.В., Жилева Л.В., Кобзарева Е.В., Андрюхина Е.Г., Дубонос А.А. Оценка экспериментальной и клинической эффективности иммобилизованной формы хлоргексидина в лечении гнойных ран // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2016. № 1 (175). С. 42-47.