

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАН-КОЛЛАГЕНОВОГО КОМПЛЕКСА С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© *Бежин А.И.¹, Липатов В.А.¹, Фрончек Э.В.², Григорьян А.Ю.¹, Наимзада М.Д.З.¹, Лазаренко Е.Д.¹, Медведева М.А.¹*

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² ООО «Эверс Груп Рус»

Россия, 125493, г. Москва, ул. Флотская, 5

Цель: изучить в эксперименте локальное воздействие хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса, а также его гепато- и нефротоксические эффекты.

Материалы и методы. Для исследования были использованы образцы перевязочного средства на основе высокомолекулярных полимеров, которые представляли собой высокопористую губку из хитозан-коллагенового полиэлектролитного комплекса с включением коллоидных (ультрадисперсных) частиц металлического (нульвалентного) серебра. Эксперимент был выполнен на белых крысах-самцах породы «Вистар». Оценка результатов проводилась на основании планиметрического, бактериологического, гистологического, биохимического и гематологического методов. Результаты обработаны статистически.

Результаты. Было выявлено, что к 15 суткам площадь ран уменьшилась на 96% от исходного размера, максимальная скорость заживления отмечалась на отрезке 1-5 сутки лечения, при гематологическом и биохимическом исследовании крови значимых изменений выявлено не было. При гистологическом исследовании микропрепаратов ран было отмечено, что к 15 суткам имел место разгар пролиферативной фазы воспаления, данные также подтверждены на основании морфометрического исследования и гидроксипролинового теста.

Заключение. Таким образом, применение хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра положительно влияло на течение раневого процесса путем сокращения микробной обсемененности раны, стимулирования регенерации тканей, при этом не оказывая пагубного воздействия на печень и почки.

Ключевые слова: лечение ран, хитозан-коллагеновый комплекс, наночастицы серебра, коллоидное серебро, раневое покрытие, раневой процесс.

Бежин Александр Иванович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0003-3776-9449. E-mail: abezin@yandex.ru

Липатов Вячеслав Александрович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий лабораторией экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-6121-7412. E-mail: drl@yandex.ru

Фрончек Эдуард Валентинович – канд. хим. наук, советник генерального директора, ООО «Эверс Груп Рус», г. Москва. E-mail: fronchek6@yandex.ru

Григорьян Арсен Юрьевич – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: arsgrigorian@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

Наимзада Мухаммад Давид Зияуддин – мл. науч. сотрудник лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-7894-6029. E-mail: david.kursk@gmail.com

Лазаренко Екатерина Дмитриевна – студентка, КГМУ, г. Курск. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Медведева Марина Алексеевна – студентка, КГМУ, г. Курск.

На протяжении многих веков проблема хирургического лечения ран не теряет своей актуальности. Это обусловлено широкой распространенностью ран различного происхождения, в том числе преднамеренных в ходе операции, развитием послеоперационных осложнений, являющихся в ряде случаев причиной неблагоприятного исхода [1, 4, 13]. По данным некоторых авторов, от всех хирургических заболеваний осложнения, связанные с нагноением послеоперационных ран, составляют 30-35% [5, 8, 9, 14].

Одной из современных проблем фармакотерапии является бесконтрольное применение антибактериальной профилактики нагноения ран. Зачастую антибактериальная терапия носит эмпирический характер, а подбор антибиотика с

учетом чувствительности запаздывает по ряду субъективных и объективных причин. Наиболее часто микробиологический пейзаж хирургических ран представлен стафилококками, стрептококками, представителями семейства Enterobacteriaceae, неферментирующими грамотрицательными бактериями, облигатными неспорообразующими анаэробными микроорганизмами. При этом в большинстве случаев возбудители малочувствительны или нечувствительны ко многим антибактериальным препаратам [7, 8, 11, 14].

Помимо фармакотерапевтических существуют и физические методы антибактериальной терапии, в частности, гипербарическая оксигенация, лазер-, магнитотерапия, управле-

мая абактериальная среда и т.д. [13] Недостаток методов заключается в отсутствии возможности амбулаторного применения многих из них, что снижает доступность для широкого спектра пациентов. В этой связи применение различных по своему составу и качеству перевязочных средств, в том числе с лекарственной антисептической основой, является весьма привлекательным, как в амбулаторных, так и в стационарных условиях. В настоящее время существует большое разнообразие перевязочного материала: «Коллост», «Autrauman», «Branolin», «Комбутек», «Облекол», «Коллахит ФА», «Метрукол» и др. [1, 2, 4, 5, 9, 10, 12]. Известно, что образующиеся на ране биопленки отвечают за стимуляцию и поддержание воспаления раны, наиболее эффективный способ удаления биопленок включает использование механических методов, при этом раневая повязка представляет собой важный компонент этой стратегии. Было показано, что волокна полиакрилата и хитозана эффективно влияют на структуру биопленки, разрушая ее матрицу, что помогает повысить эффективность противомикробных препаратов, таких как серебро. В свою очередь, добавление слишком большого количества активных химикатов в рану может быть очень вредным для раневого ложа [14, 15].

Цель работы: изучить в эксперименте локальное воздействие хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса, а также его гепато- и нефротоксические эффекты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент был проведен на 60 белых крысах-самцах породы «Вистар» массой 180-200 г. В качестве материала для экспериментального исследования были использованы образцы биологически активного перевязочного средства на основе природных, способных к биодegradации, высокомолекулярных полимеров хитозана и коллагена.

Образцы представляли собой высокопористую губку размером (2x2x0,4) см из хитозан-коллагенового полиэлектролитного комплекса состава хитозан: коллаген 2:1 по массе с включением коллоидных (ультрадисперсных) частиц металлического (нульвалентного) серебра.

Все животные были разделены на 2 группы по 30 особей: контрольная – лечение не проводилось, опытная – лечение проводилось исследуемым раневым покрытием. Манипуляции с экспериментальными животными проводились в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых

для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N123.

Моделирование раны производилось следующим образом: в стерильных условиях под ингаляционным наркозом, на предварительно выбритом участке спины крысы иссекался кожно-подкожный лоскут размером 16x16 мм (площадь раны составляла 250 ± 4 мм²). Лечение в контрольной группе не проводилось, а в опытной группе сразу после моделирования на рану накладывали хитозан-коллагеновое раневое покрытие с наночастицами серебра и фиксировали пластырной повязкой.

Планиметрический метод исследования. Для математической объективизации оценки темпов заживления раны по изменению ее площади использовали метод Л.Н. Поповой, также определяли процент уменьшения площади ран (ПУП) от исходного размера и скорость заживления ран (СЗ).

Гистологическое изучение препаратов ран и органов (печень и почки) производили после выведения подопытного животного из эксперимента. Изготавливали срезы кожи и внутренних органов толщиной 5-7 мкм и после окраски гематоксилин-эозином или по Ван-Гизон заключали в среду Биомант под покровное стекло. Световая микроскопия осуществлялась на микроскопе Leica CME (консультанты профессор А.В. Иванов, доцент В.Т. Дудка).

Помимо описательной гистологии раневых срезов было выполнено *морфометрическое исследование*, заключающееся в следующем: на срезах гистологических препаратов кожи при увеличении x400, на выбранном участке в пределах раневого дефекта под лейкоцитарно-фибринозным струпом производили подсчет следующих клеток: фибробластов, гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов, полученные результаты выражали в процентах.

Биохимические исследования производились автоматическим биохимическим анализатором «ACCENT 200» производства компании PZ CORMAY S.A. Определяли уровень креатинина, мочевины, АЛТ и АСТ.

Гематологические исследования производились автоматическим гематологическим анализатором «RT-7600S» версия для ветеринарии производства компании RAYTO LIFE AND ANALYTICAL SCIENCES CO Ltd. Определяли следующие показатели: лейкоциты, лимфоциты, гранулоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, тромбоциты.

Для определения концентрации гидроксипролина в образцах раневых препаратов использовали колориметрический метод определения продуктов реакции окисленного гидроксипролина и реактива Эрлиха. Для приготовления

ния стандартов использовали кристаллический гидроксипролин производства Sigma (США).

Результаты обработаны статистически с помощью пакета Microsoft Excel 2010 и Statistica v. 6.0. Количественные признаки представляли в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me(25;75)). При сравнении между собой показателей опытной и контрольной групп применяли U критерий Манна-Уитни. Критический уровень статистической значимости принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке планиметрических показателей (табл. 1 и 2) было отмечено следующее: с течением времени происходило уменьшение пло-

щади ран и увеличение ПУП ран. К 15 суткам в опытной группе площадь ран уменьшилась на 96% от исходного размера, а в контрольной группе – лишь на 72,8% (различия были статистически достоверны на всех сроках наблюдения). Максимальная СЗ ран в опытной группе отмечалась на отрезке 1-5 сутки лечения, что в 1,7 раза быстрее, чем в контрольной (различия статистически значимы).

Исследуемые биохимические показатели крови варьировали с течением времени (на 5, 10 и 15 сутки): некоторое снижение креатинина и мочевины отмечалось к 15 суткам в опытной группе, однако показатели находились в пределах референтных значений (табл. 3). При гистологическом описании на всех сроках исследования в опытной группе было отмечено, что в паренхиме печени и почек патологичес-

Таблица 1
Table 1

Динамика площади (мм²) и процент уменьшения площади ран (%), Me (25; 75)

Dynamics of the area (mm²) and the wound area reduction percentage (%), Me (25; 75)

Показатель Indicator	Исследуемая группа Study group	5 сутки (n=30) 5 th day	10 сутки (n=20) 10 th day	15 сутки (n=10) 15 th day
Площадь ран Wound area	Опытная Trial group	151 (130;173)*	54.5 (39;80)*	10 (9;14)*
	Контрольная Control group	196 (191; 201)	119 (113; 124)	69 (61; 74)
Процент уменьшения площади ран Wound area reduction percentage	Опытная Trial group	39.6 (30.8; 48) [#]	78.2 (68.1; 84.5) [#]	96 (94.4; 96.4) [#]
	Контрольная Control group	22.4 (20; 23.8)	52.8 (50.6; 54.7)	72.8 (69.8; 76.5)

Примечание: площадь ран: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$); процент уменьшения площади ран: символом # отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: the area of wounds: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$); wound area reduction percentage: # symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

Таблица 2
Table 2

Скорость заживления ран (%/сутки), Me (25; 75)

Wound healing rate (% / day), Me (25; 75)

Показатель Indicator	Исследуемая группа Study group	1-5 сутки (n=30) 1-5 day	5-10 сутки (n=20) 5-10 day	10-15 сутки (n=10) 10-15 day
Скорость заживления ран Wound healing rate	Опытная Experienced group	9.9 (7.7; 12)*	7.3 (5.5; 10.2)*	4.5 (2.5; 5.7)
	Контрольная Control group	5.7 (5.2; 6)	6.1 (5.6; 6.4)	4 (3.6; 4.4)

Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

Биохимические показатели крови, Ме (25; 75), n=10
Blood biochemical parameters, Me (25; 75), n=10

Показатель Indicator	Единицы измерения Units of measure	Референтные значения Reference values	Исследуемая группа Study group	Сутки Day		
				5	10	15
Креатинин Creatinine	мкмоль/л μmol/l	29.3-75.4	Опытная Trial group	39.4 (37.3; 41.1)*	33.6 (32; 35.1)	30.4 (27.6; 35)
			Контрольная Control group	28.8 (25.1; 32.1)	31.8 (29.3; 32.5)	31.9 (30.1; 32.9)
Мочевина Urea	ммоль/л mmol/l	4.8-10.6	Опытная Trial group	5.4 (5.1; 5.8)*	5.8 (5.4; 7.1)	4.8 (3.6; 5)*
			Контрольная Control group	4 (3.7; 4.2)	5.6 (5.2; 6)	5.5 (5.4; 6)
АЛТ ALT	Ед/л IU/L	40-115	Опытная Trial group	57.3 (53.2; 65)*	53.5 (45.7; 56.8)	78.8 (71.8; 84.1)
			Контрольная Control group	65.2 (62; 70.8)	63.6 (50.7; 65.1)	72.2 (70.6; 77.1)
АСТ AST	Ед/л IU/L	72-196	Опытная Trial group	92.4 (78.3; 102.3)	103.5 (94.1; 110.2)*	99.2 (95; 102.1)*
			Контрольная Control group	84.3 (84; 88.6)	87.8 (86.5; 92.2)	89.1 (81.8; 91.3)

Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп ($p < 0,05$).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups ($p < 0.05$).

ских изменений не отмечалось. Структура почечных телец и отделов нефронов сохранялась интактной. Балочная структура паренхимы печени не изменялась. Таким образом, можно говорить об отсутствии пагубного воздействия исследуемого раневого покрытия на состояние гепатоцитов и нефронов при ежедневном применении в течение 15 суток.

Результаты гематологического исследования представлены в таблице 4, следует отметить, что к 10 суткам наблюдения в опытной группе происходило увеличение лимфоцитов выше референтных значений, уровень лейкоцитов снижался от 5 к 15 суткам, а уровень гранулоцитов был ниже референтных значений на протяжении всего исследования. Со стороны показателей красной крови отмечалось некоторое снижение гемоглобина и гематокрита на 10 сутки наблюдения.

В контрольной группе на 5 сутки отмечался лейкоцитоз с лимфоцитозом (отличия от опытной группы статистически значимы), различия по данным показателям нивелировались к 10 суткам наблюдения.

Изменения, происходившие по остальным показателям, и различия между опытной и контрольной группами можно трактовать как ответ

на стресс, связанный с ежедневными перевязками в опытной группе.

При гистологическом исследовании было отмечено, что к 5 суткам у всех животных опытной группы кратер раны был полностью заполнен грануляционной тканью, имеющей признаки незрелости: отсутствие выраженной послойной организации, относительно большую толщину поверхностного слоя грануляций, отек глубоких слоев грануляционной ткани (рис. 1А). Фактически, поверхностный слой, представляющий собой фибриновый выпот и имбибированный лейкоцитами, составлял от 0,25 до 0,5 (в некоторых местах) и даже более, толщины слоя грануляционной ткани. Регенерирующий эпидермис покрывал стенки края раневого кратера. Краевой эпителиальный вал у большей части животных был расщеплен и деформирован. Волокнистый каркас грануляций состоит из незрелых коллагеновых волокон, пространственная ориентация которых соответствует организации слоя горизонтальных фибробластов (рис. 1В). Таким образом, происходило становление процессов, соответствующих фазе экссудации. В контрольной серии на 5 сутки наблюдения отмечались признаки экссудативной фазы воспаления. Воспалительный инфильтрат

Таблица 4
Table 4

Результаты гематологического исследования, Ме (25; 75), n=8

The results of hematological research, Me (25; 75), n=8

Показатель Indicator	Единицы измерения Units of measure	Референтные значения Reference values	Исследуемая группа Study group	Сутки Day		
				5	10	15
Лейкоциты Leukocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	5.2-19.0	Опытная Trial group	17.9 (17.3; 18.3)*	17.4 (17; 18.9)	15.6 (15.1; 16.1)
			Контрольная Control group	22.2 (20.1; 22.7)	19.3 (16.5; 19.6)	16.5 (15.8; 17.2)
Лимфоциты Lymphocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	4.4-16.9	Опытная Trial group	15.7 (15.2; 16.1)*	17.2 (16.4; 17.9)*	11 (10.3; 11.7)
			Контрольная Control group	19.4 (17.7; 20.8)	14 (9.8; 14.6)	10.7 (8.5; 12)
Гранулоциты Granulocytes	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	2.0-7.8	Опытная Trial group	1.8 (1.4; 2.2)	0.5 (0.4; 0.7)*	1.1 (0.9; 1.5)*
			Контрольная Control group	2.2 (1.5; 2.7)	5.1 (4.4; 6)	5 (4; 5.5)
Эритроциты Erythrocytes	10 ¹² /л 10 ¹² /l	5.3-9.1	Опытная Trial group	9 (8.9; 9.1)	8.1 (7.9; 8.3)*	9.4 (9.4; 9.5)
			Контрольная Control group	9 (8.5; 9.2)	9.7 (9.2; 9.9)	9.2 (9; 9.3)
Гемоглобин Hemoglobin	г/л g/l	128-176	Опытная Trial group	120 (118.5; 121)*	106 (104; 107.5)*	128 (127.5; 128.5)
			Контрольная Control group	127.1 (120.8; 128)	130.2 (127.6; 131.4)	129 (129; 130.8)
Гематокрит Hematocrit	%	39.3-52.2	Опытная Trial group	41.6 (40.8; 42.2)*	34.7 (34.2; 35.6)*	40.3 (39.9; 40.8)
			Контрольная Control group	38.5 (35.9; 40.5)	39.9 (39.3; 40.4)	40.1 (38.6; 40.9)
Тромбоциты Platelets	10 ⁹ /л 10 ⁹ /l	430-1000	Опытная Trial group	995 (973.5; 1014.5)	877.5 (855.5; 918.5)*	898.5 (884.5; 909)*
			Контрольная Control group	998 (975; 1061)	1041 (1000; 1075)	1033 (990; 1081)

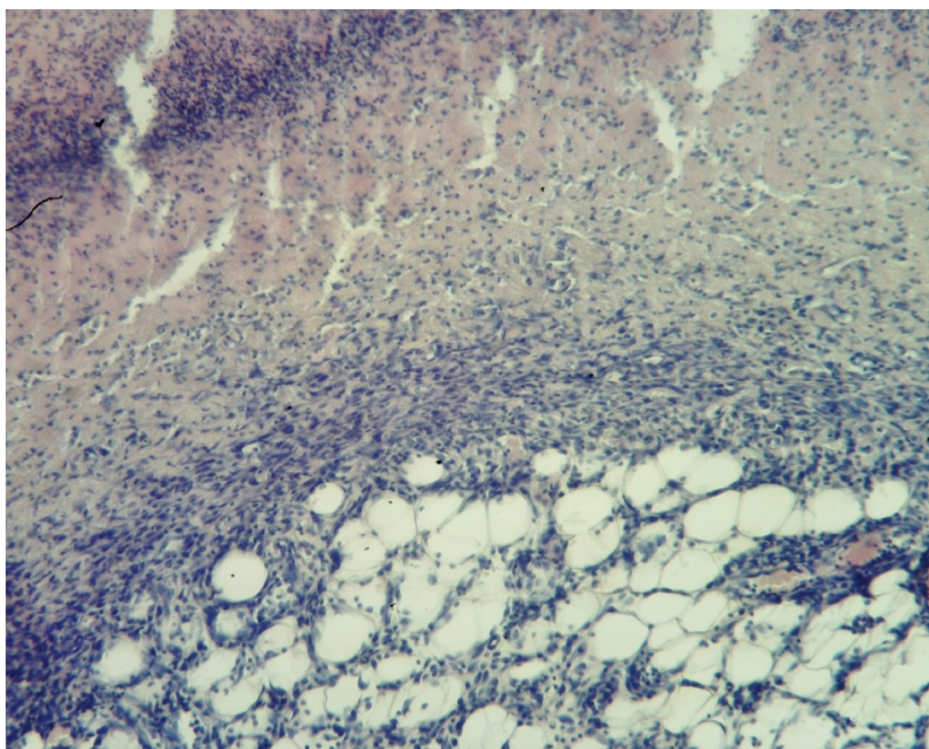
Примечание: символом * отмечены статистически значимые различия при сравнении опытной и контрольной групп (p<0,05).

Note: * symbol indicates statistically significant differences when comparing the trial and control groups (p<0.05).

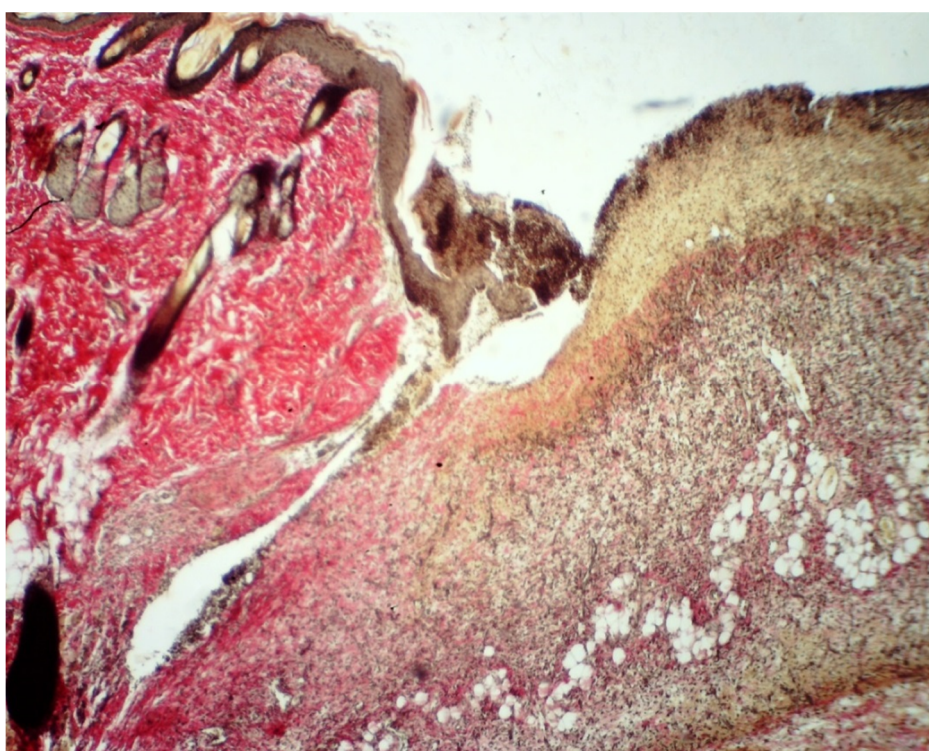
был выражен с тенденцией к абсцедированию, состоял преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов, распространялся в глубину тканей, расслаивая при этом сохранные участки дермы. Последние – были резко отечны, с расширенными лимфатическими и кровеносными капиллярами.

На 10 сутки эксперимента у животных опытной группы весь объем раневого кратера полностью заполнялся волокнистой соединительной тканью (рис. 2А, В). При окраске гематоксилин-эозином этот объем волокнистой ткани был интенсивно базофилен, а при окраске по Ван-Гизон отчетливо отмечалось, что это тонкие молодые,

слабо оксифильные незрелые коллагеновые волокна. В целом грануляционная ткань была организована. Отчетливо дифференцировались слои горизонтальных фибробластов, вертикальных сосудов и поверхностный слой. Практически у всех животных в толще слоя горизонтальных фибробластов, над и среди расширенных плазматических капилляров удалось различить скопления активных макрофагов. У всех животных отмечен феномен краевой эпителизации, но различной степени выраженности. Эпидермис формировал почки роста, из которых восстанавливаются производные эпидермиса (рис. 2В).



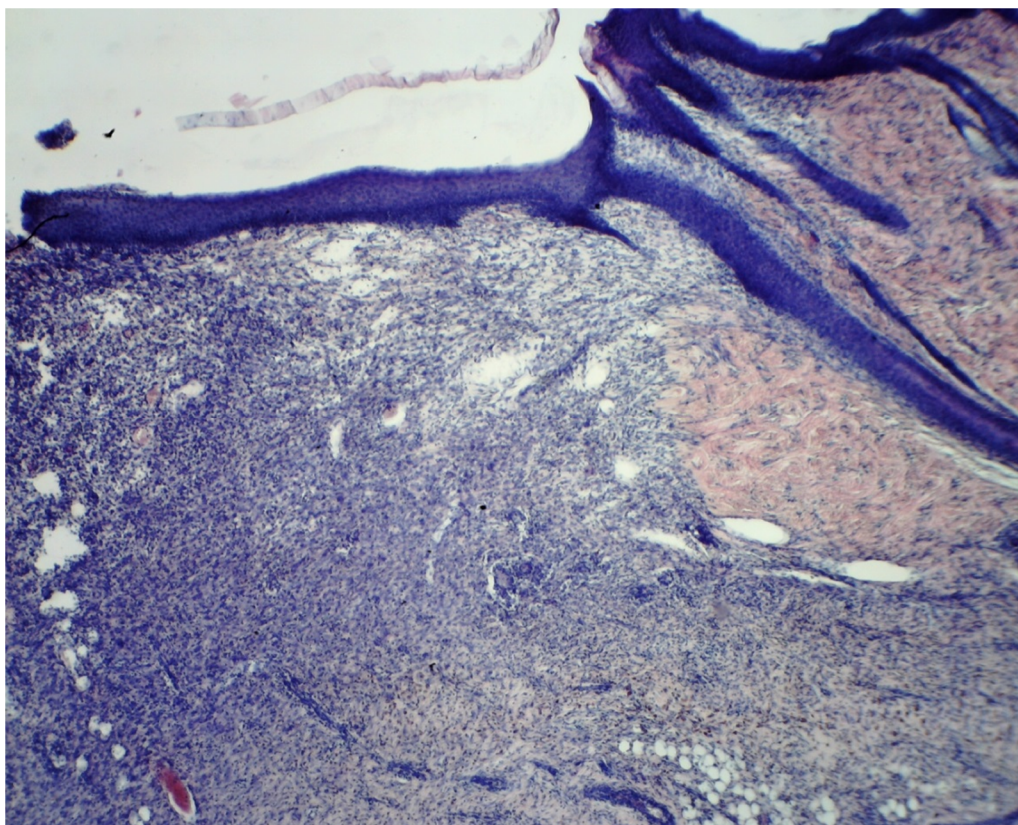
А



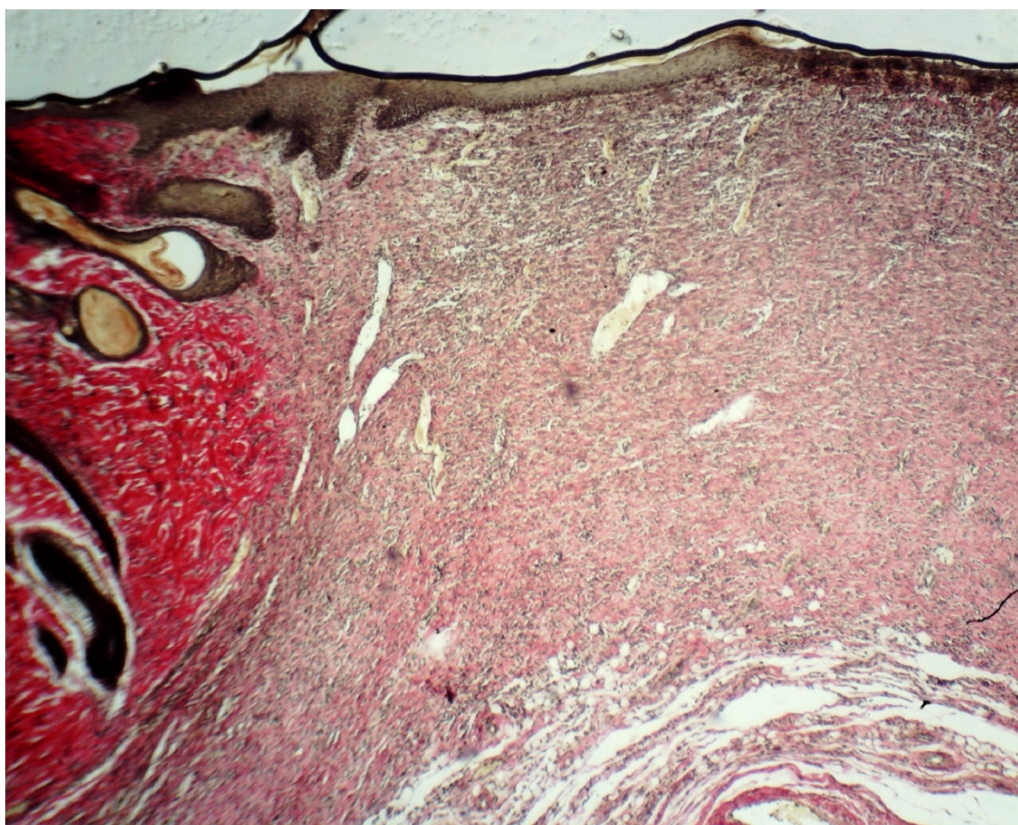
В

Рис. 1. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 5 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином. ув. x100; В – окраска по Ван-Гизон. ув. x40.

Fig. 1. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 5th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining. M x100; B – Van Gieson's stain. M x40.



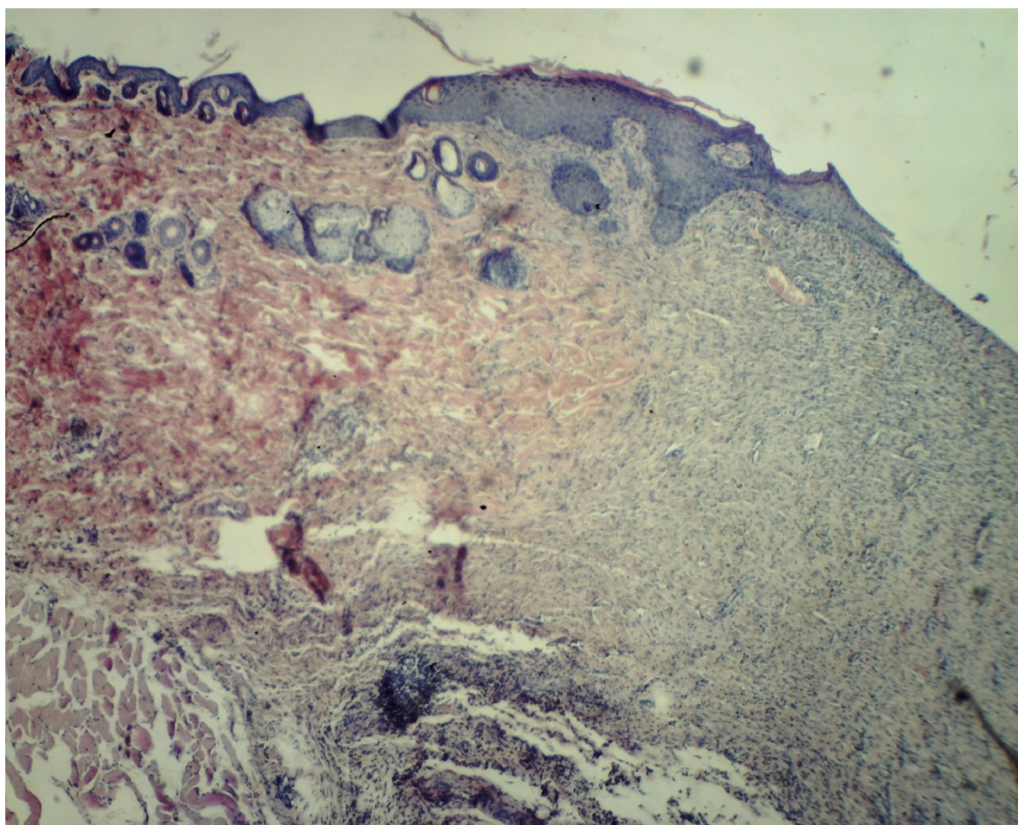
А



В

Рис. 2. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 10 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином; В – окраска по Ван-Гизон. Ув. х40.

Fig. 2. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 10th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining; B – Van Gieson's stain. M x40.



A



B

Рис. 3. Микрофотографии срезов ран опытной группы на 15 сутки после начала лечения. А – окраска гематоксилин-эозином; В – окраска по Ван-Гизон. Ув. x40.

Fig. 3. Micrographs of wound sections in the Trial group on the 15th day after the treatment started. A – hematoxylin-eosin staining; B – Van Gieson's stain. M x40.

Пик фазы экссудации был пройден, и типичная для нее морфологическая картина сохранялась только в поверхностных слоях грануляций в центре раны.

В контрольной серии продолжалось заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, которая местами была покрыта фибриновыми наложениями. Инфильтрат распространялся на всю глубину грануляций. Отмечались признаки краевой эпителизации.

К 15 суткам эксперимента раневой дефект в опытной группе был полностью выполнен волокнистой соединительной тканью (рис. 3А, В). При окраске по Ван-Гизон отчетливо было видно, что степень зрелости коллагеновых волокон практически равномерна как по толщине, так и по направлению от края к центру (рис. 3В). У большинства животных была полностью завершена эпителизация поверхности эпидермисом и сформированы закладки для восстановления волосяных фолликулов (рис. 3А, В). Имел место разгар пролиферативной фазы воспаления. В препаратах контрольной серии на 15 сутки продолжался процесс эпителизации раневого дефекта, однако сохранялась умеренная инфильтрация подлежащих тканей. Полной эпителизации ран отмечено не было.

Данные описательной морфологии были подтверждены и при морфометрическом исследовании гистологических срезов ран, где было выявлено, что в опытной группе в клеточном составе на 5 и 10 сутки превалировали макрофаги (52 (39; 68) и 61 (43; 64) % соответственно), процент гранулоцитов уменьшался с 28 (12; 35) на 5 сутки до 9 (3; 11) на 15 сутки, в то же время нарастало процентное содержание фибробластов и лимфоцитов, к 15 суткам превалировали клетки фибробластического ряда. В контрольной серии, напротив, на 5 и 10 сутки процентное содержание гранулоцитов превосходило все остальные клеточные элементы (53 (49; 55) и 47 (43,8; 49,8) % соответственно), причем на 10 сутки различия были статистически значимы ($p < 0,05$). К 15 суткам происходило увеличение количества фибробластов на фоне снижения гранулоцитов (различия между опытной и контрольной группами были статистически значимы, $p < 0,05$).

При измерении концентрации гидроксипролина была выявлена следующая закономерность: с 5 по 15 сутки происходило увеличение его концентрации в опытной группе с 9,7 (9,1; 11,1) до 16,2 (15,9; 16,7) мкг/мг, а в контрольной – с 9 (8,7; 9,7) до 10,2 (9,5; 10,9) мкг/мг. На 10 и 15 сутки различия между группами были статистически значимы ($p < 0,05$), что указывает на более активный синтеза коллагена в опытной группе, нежели в контрольной.

На основании проведенного исследования можно утверждать, что применение хитозан-коллагенового комплекса с включением коллоидного серебра обеспечивало ускоренный темп заживления ран в опытной группе по сравнению с контрольной, данное обстоятельство было доказано на основании планиметрического, гистологического, морфометрического, гематологического методов исследования и гидроксипролинового теста.

Сопоставляя полученные нами результаты с данными литературы, можно сделать вывод, что ранозаживляющее действие хитозан-коллагенового комплекса с включением коллоидного серебра обеспечивается за счет высокой сорбции раневого экссудата и наличия гелеобразования. При этом создаются оптимальные условия заживления раны во влажной среде и ее защита от вторичной контаминации за счет пролонгированного выделения в раневую среду частиц коллоидного серебра [3, 9, 10]. Описано, что хитозан стимулирует пролиферацию клеток и гистоархитектурную организацию тканей, стимулирует эпителиальные клетки и фибробласты, способствует синтезу фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), сохраняя уровень активности естественных факторов роста [6, 12], а коллаген уменьшает активность протеолитических ферментов в ране и, таким образом, способствует формированию грануляционной ткани [2]. Данное обстоятельство нашло подтверждение и в нашем исследовании при описании гистопрепаратов кожи и анализе морфометрических данных. В то же время благодаря сохраненной структуре волокна, коллаген ускоряет росту новой полноценной ткани на месте раневого дефекта, выступая своего рода основой для роста новой ткани, что нашло отражение в нашем исследовании и было подтверждено гидроксипролиновым тестом. Кроме того доказано, что со стороны исследуемых биохимических показателей крови и гистологического изучения микропрепаратов печени и почек отклонений от нормы не выявлено, что говорит об отсутствии пагубного воздействия на данные органы при местном применении хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра.

Таким образом можно заключить, что применение хитозан-коллагенового комплекса положительно влияет на процесс заживления ран, кроме того пролонгированное высвобождение из комплекса коллоидного серебра обеспечивает стойкий противомикробный эффект. Следовательно, данный комплекс можно рекомендовать для дальнейшего исследования на доклиническом, а затем и клиническом уровне.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Бежин А.И. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Липатов В.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Фрончек Э.В. – анализ и интерпретация данных, окончательное утверждение для публикации рукописи. Григорьян А.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Наимзада М.Д.З. – анализ и интерпретация данных, Лазаренко Е.Д. – анализ и интерпретация данных, Медведева М.А. – анализ и интерпретация данных.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета от 05.11.2013 г., протокол № 2.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Аралова М.В. Лечение трофических язв нижних конечностей гидроактивными раневыми покрытиями. *Вестник новых медицинских технологий*. 2013; 20(2): 25-28 [Aralova M.V. The use of hydroactive wound coverage for treatment of trophic ulcers of the lower extremities. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2013; 20(2): 25-28 (in Russ.)]
2. Бегма А.Н., Бегма И.В., Хомякова Е.К. Опыт применения коллагеновых повязок и губок Метурacol в хирургической практике. *Русский медицинский журнал*. 2014; 22(17): 1248-1252 [Begma A.N., Begma I.V., Khomyakova E.K. Experience with the use of collagen dressings and sponges Meturacol in surgical practice. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 22(17): 1248-1252 (in Russ.)]
3. Богданов Е.А., Гойхман А.Ю., Шушарина Н.Н., Литвинова Л.С., Новиков М.Ю. Первый опыт применения перевязочного материала с наноструктурированным покрытием серебра в лечении раневого процесса. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2011; 4(3): 561-564. [Bogdanov E.A., Goykhan A.Yu., Shusharina N.N., Litvinova L.S., Novikov M.Yu. The first experience of application of dressings with nanostructured coating of silver in the treatment of wound healing. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii*. 2011; 4(3): 561-564 (in Russ.)]
4. Винник Ю.С., Маркелова Н.М., Соловьева Н.С., Шишацкая Е.И., Кузнецов М.Н., Зуев А.П. Современные раневые покрытия в лечении гнойных ран. *Новости хирургии*. 2015; 23(5): 552-558 [Vinnik Yu.S., Markelova N.M., Solov'yeva N.S., Shishatskaya E.I., Kuznetsov M.N., Zuyev A.P. The current dressings for wound care in the treatment of purulent wounds. *Novosti khirurgii*. 2015; 23(5): 552-558 (in Russ.)] DOI: 10.18484/2305-0047.2015.5.552
5. Головушкина Г.В., Филиппова О.В., Сернов Л.Н. Перспективы использования сорбционных средств для лечения и профилактики гнойных ран. *Евразийское Научное Объединение*. 2017; 1(7): 67-69. [Golovushkina G.V., Filippova O.V., Sernov L.N. Prospects for the use of sorption agents for the treatment and prevention of purulent wounds. *EvrAziyskoye Nauchnoye Ob'yedineniye*. 2017; 1(7): 67-69 (in Russ.)]
6. Зудина И.В., Ведяева А.П., Булкина Н.В., Иванов П.В., Альзубаиди А.Ф. Изучение воздействия хитозана на процесс заживления костного дефекта в экспериментах INVIVO и INVITRO. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2016; 16(2): 171-179 [Zudina I.V., Vedyayeva A.P., Bulkina N.V., Ivanov P.V., Al'zubaidi A.F. To study the effect of chitosan on the process of bone defect healing in experiments INVIVO and INVITRO. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: KHimiya. Biologiya. Ekologiya*. 2016; 16(2): 171-179 (in Russ.)] DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-171-179.
7. Ибрагимова Р.Р., Кузнецов П.А. Проблема антибиотикорезистентности в современном мире. *Актуальные вопросы современной микробиологии и иммунологии*. 2017; (2): 36-38. [Ibragimova R.R., Kuznetsov P.A. The problem of antibiotic resistance in the modern world. *Aktual'nyye voprosy sovremennoy mikrobiologii i immunologii*. 2017; (2): 36-38 (in Russ.)] URL: <https://scienceforum.ru/2017/article/2017031534>
8. Лазаренко В.А., под ред. *Клиническая хирургия*. Курск: КГМУ, 2017 [Глава 6.2] Лазаренко В.А., Кононенко К.В. Раны и раневой процесс. С. 547-561. [Lazarenko V.A., editor. *Clinical surgery*. Kursk: KSMU, 2017. [Chapter 6.2] Lazarenko V.A., Kononenko K.V. Wounds and wound process. P. 547-561 (in Russ.)]
9. Парамонова О.А., Савченко Ю.П., Гайворонская Т.В., Бабичев С.А., Гербова Т.В., Уварова А.Г. Применение раневого покрытия «Аквасель Ag + повязка Гидрофайбер» в комплексном лечении больных флегмонами лица и шеи. *Клиническая стоматология*. 2017; 3: 44-47. [Paramonova O.A., Savchenko Yu.P., Gayvoronskaya T.V., Babichev S.A., Gerbova T.V., Uvarova A.G. Application of "Aquacel Ag + Hydrofiber dressing" wound covering in complex treatment of patients with face and neck phlegmons. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2017; 3: 44-47 (in Russ.)]
10. Попова Т.В., Толстикова Т.Г., Летагин А.Ю., Жукова Н.А., Бгатова Н.П., Рачковская Л.Н., Котлярова А.А., Бурмистров В.А. Влияние новой мазевой композиции Ag/ТАГА и хитозан-геля на лечение экспериментальных ран различной этиологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15(1): 47-54. [Popova T.V., Tolstikova T.G., Letyagin A.YU., Zhukova N.A., Bgatova N.P., Rachkovskaya L.N., Kotlyarova A.A., Burmistrov V.A. Influence of new ointment composition Ag/TAGA and chitosan-gel on the treatment of experimental wounds of different etiology. *Bulleten' sibirskoy meditsiny*. 2016; 15(1): 47-54.]

- rova A.A., Burmistrov V.A. Effect of novel ointment composition ag/taga: chitosan-gel on healing of experimental wounds with different origins. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15(1): 47-54 (in Russ.)] DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-47-54.
11. Привольнев В.И. Местное лечение раневой инфекции: антисептики или антибиотики? *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(2): 131-138. [Privol'nev V.I. Topical therapy of wound infections: antiseptics or antibiotics? *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(2): 131-138 (in Russ.)]
 12. Скрыбин К.Г., под ред. *Хитозан: сборник статей*. Москва: Центр «Биоинженерия», 2013. [Статья] Антонов С.Ф. *Материалы для лечения ран и ожогов на основе хитозана*. С. 436-488. [Skryabin K.G., editor. *Chitosan: a collection of articles*. Moscow: Centr «Bioinzheneriya», 2013. [Article] Antonov S.F. Materials for the treatment of wounds and burns based on chitosan. P. 436-488 (in Russ.)] URL: <http://www.prometeus.nsc.ru/acquisitions/14-07-29/cont04.ssi>.
 13. Acosta S., Björck M., Wanhainen A. Negative-Pressure Wound Therapy for Prevention and Treatment of Surgical-Site Infections After Vascular Surgery. *British Journal of Surgery*. 2017; 104(2): e75-e84. DOI: 10.1002/bjs.10403.
 14. Percival S.L. Restoring balance: biofilms and wound dressings. *J Wound Care*. 2018; 27(2): 102-113. DOI: 10.12968/jowc.2018.27.2.102.
 15. Vowden K., Vowden P. Wound Dressings: Principles and Practice. *Surgery (Oxford)*. 2017; 35(9): 489-494. Available from: doi: 10.1016/j.mpsur.2017.06.005.

Поступила в редакцию 20.12.2018

Подписана в печать 20.06.2019

Для цитирования: Бежин А.И., Липатов В.А., Фрончек Э.В., Григорьян А.Ю., Наимзада М.Д.З., Лазаренко Е.Д., Медведева М.А. Влияние хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра на течение раневого процесса в эксперименте. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2019;(2):5-16. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01.

EFFECT OF CHITOSAN-COLLAGEN COMPLEX WITH SILVER NANOPARTICLES ON THE WOUND PROGRESS IN EXPERIMENT

© *Bezhin A.I.¹, Lipatov V.A.¹, Fronchek E.V.², Grigoryan A.Yu.¹, Naimzada M.D.Z.¹, Lazarenko E.D.¹, Medvedeva M.A.¹*

¹ **Kursk State Medical University (KSMU)**

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

² **“Evers Group Rus” LLC**

5, Flotskaya St., Moscow, 125493, Russian Federation

Objective: to study the local effects of the chitosan-collagen complex with silver nanoparticles on the wound process, as well as its hepato- and nephrotoxic effects.

Materials and methods. For the study, we used dressing samples based on high-molecular polymers, which were a highly porous sponge made of chitosan-collagen polyelectrolyte complex with the inclusion of colloidal (ultrafine) particles of metallic (zero-valent) silver. The experiment was performed on white Wistar rats. Evaluation of the results was carried out on the basis of planimetric, bacteriological, histological, biochemical, and hematological methods. The results are statistically processed.

Results. It was revealed that by the 15th day the wound area had decreased by 96% of the original size, the maximum healing rate was noted on 1–5 days of treatment, and no significant changes were found in hematological and biochemical blood tests. Histological examination of wound microscopic specimens revealed that by the 15th day the peak of the proliferative phase of inflammation had occurred, the data were also confirmed on the basis of a morphometric study and a hydroxyproline test.

Conclusion. The study revealed that the use of chitosan-collagen complex with silver nanoparticles has a positive effect on the course of the wound process by reducing the microbial contamination of the wound, stimulating tissue regeneration, with no negative effect on the liver and kidneys.

Key words: wound treatment, chitosan-collagen complex, silver nanoparticles, colloidal silver, wound covering, wound process.

Bezhin Alexander I. – DM, Professor, Head of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3776-9449. E-mail: abezin@yandex.ru

Lipatov Vyacheslav A. – DM, Professor, Professor of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Head of the Laboratory of Experimental Surgery and Oncology of Research Institute for Experimental Medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-6121-7412. E-mail: drli@yandex.ru

Fronchek Eduard V. – PhD in Chemistry, Advisor to the General Director, “Evers Group Rus” LLC, Moscow, Russian Federation. E-mail: fronchek6@yandex.ru

Grigoryan Arsen Yu. – PhD in Medicine, Associate Professor, Associate Professor of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-5039-5384. E-mail: arsgrigorian@mail.ru (correspondence author)

Naimzada M. David Z. – Junior Researcher, Laboratory of Experimental Surgery and Oncology of Research Institute for Experimental Medicine, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-7894-6029. E-mail: david.kursk@gmail.com

Lazarenko Ekaterina D. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation. E-mail: e.d.lazarenko@yandex.ru

Medvedeva Marina A. – Student, KSMU, Kursk, Russian Federation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The Study protocol was approved by the Regional Ethical Committee under Kursk State Medical University (Protocol No. 2 of 05.11.2013).

AUTHORS CONTRIBUTION

Bezhin A.I. – critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Lipatov V.A. – critical revision of the manuscript for important intellectual content. Fronchek E.V. – data analyzing and interpreting the results, final approval of the manuscript for publication. Grigoryan A.Yu. – developing the research concept and design, data analyzing and interpreting the results. Naimzada M.D.Z. – data analyzing and interpreting the results. Lazarenko E.D. – data analyzing and interpreting the results. Medvedeva M.A. – data analyzing and interpreting the results.

Received 20.12.2018

Accepted 20.06.2019

For citation: Bezhin A.I., Lipatov V.A., Fronchek E.V., Grigoryan A.Yu., Naimzada M.D.Z., Lazarenko E.D., Medvedeva M.A. Effect of chitosan-collagen complex with silver nanoparticles on the wound progress in experiment. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(2):5-16. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01.