

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

На правах рукописи

Антипина Людмила Сергеевна

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

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
заслуженный деятель науки РФ
член-корреспондент РАН
доктор медицинских наук, профессор
Дамбаев Георгий Цыренович
Научный консультант:
кандидат технических наук
Большасов Евгений Николаевич

Томск – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Фазы заживления раны	12
1.2 Современные раневые покрытия на основе нановолокон полученных методом электропрядения	17
1.3 Пьезоэлектрические свойства и пьезоэлектрические мембраны	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	32
2.1. Описание экспериментального исследования	32
2.2. Методы исследования экспериментальных животных в послеоперационном периоде	35
2.3. Статистическая обработка полученных данных	38
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
3.1. Характеристика разрабатываемого материала	39
3.2. Результаты исследования антибактериальной активности	44
3.3. Оценка клинических проявлений фаз раневого процесса	46
3.4. Определение скорости заживления ран	59
3.5. Гистологическая оценка течения раневого процесса	64
3.6. Результаты бактериологических исследований раневой поверхности гнойных ран	69
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	77
ВЫВОДЫ	79
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	81
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	83

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Лечение ран является актуальной проблемой для системы здравоохранения во всем мире [3]. Согласно данным литературы, гнойно-воспалительные заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре общехирургической патологии, составляя около 35–45 % [3, 5]. Пожилые люди и больные сахарным диабетом в большинстве случаев подвержены длительному и тяжелому течению гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей [49]. Осложнения послеоперационных ран регистрируются в 33–38 % случаев. Раны мягких тканей являются основной проблемой среди осложнений послеоперационного периода в стационаре и составляют около 40 % всех госпитальных инфекций. Увеличение числа гнойных заболеваний ведет к учащению случаев генерализации инфекций.

К сожалению, традиционные методы с применением антибиотиков в профилактике и лечении инфекций мягких тканей не всегда себя оправдывают. Это объясняется высокими темпами изменения биологических свойств бактериальной клетки, приводящих к росту резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [5]. Для создания адекватной концентрации препарата в очаге инфекции и преодоления резистентности к антибактериальным препаратам приходится прибегать к введению больших доз, что негативно влияет на организм больного в целом [3].

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

В настоящее время наметилась тенденция к эффективному заживлению гнойных ран, основанная на ликвидации инфекционного агента в очаге воспаления. С практической точки зрения, приоритетным остается лечение ран повязками ввиду простоты и удобства их применения [78].

Нановолоконные полимерные материалы, изготовленные методом электроспиннинга, вызывают интерес как многофункциональный перевязочный

материал, обеспечивающий контролируемое высвобождение антибактериального вещества в установленных терапевтических дозах, абсорбцию раневого экссудата, обеспечение газообмена в ране [2, 9, 57].

Электроспиннинг, или электропрядение, – универсальный способ получения тонких полимерных волокон в нано- и микрометровом диапазоне из полимерных растворов или расплавов в результате действия электростатических сил. Синтетические и природные полимеры могут выступать в качестве сырья для электроспиннинга. Синтетические полимеры, в отличие от природных, обеспечивают механические свойства, позволяющие использовать их как надежный каркас нановолоконных материалов [79, 103]. Кроме того, они обладают биологически инертными и биосовместимыми характеристиками.

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

Степень разработанности темы исследования

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

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

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

Задачи исследования

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

Научная новизна исследования

На основании клинической картины заживления экспериментальной гнойной раны, данных морфологического, планиметрического и бактериологического исследований изучено влияние композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием поливинилпирролидона, полученных методом электроспиннинга, на течение раневого процесса. Установлено, что исходные и отожденные полимерные перевязочные материалы с ПВП обладают повышенной сорбционной способностью, приводят к более быстрому очищению ран от гнойно-некротического отделяемого и снижению концентрации микроорганизмов в очаге. Впервые в сравнительном аспекте изучено влияние исходных и отожденных композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с содержанием ПВП 0%, 5%, 10%, 20%, 40%.

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

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

Теоретическая и практическая значимость работы

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

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование включало в себя несколько этапов. Первый этап заключался изучении отечественных и зарубежных литературных источников, посвященных проблеме лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. На втором этапе проводилась оценка антибактериальной активности композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с различным содержанием ПВП (0%, 5%, 10%, 20% и 40%). На третьем этапе осуществлялось экспериментальное исследование на лабораторных животных, были проведены оценка и анализ течения раневого процесса при применении композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран с разным процентным содержанием ПВП.

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

Положения, выносимые на защиту

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

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

Степень достоверности и апробация результатов

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

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

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

Публикации

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

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 95 страницах машинописного текста, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 10

таблицами и 34 рисунками. Библиографический указатель содержит 110 источников литературы, из них 7 отечественных и 103 иностранных авторов.

Личный вклад автора

Автором лично выполнялось моделирование экспериментальной плоскостной полнослойной кожно-мышечной гнойной раны, сбор и изучение материала, выбор методов исследований, статистический анализ и обработка данных, а также обобщение полученных результатов исследования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Кожа – самый большой орган в теле человека – защищает ткани и органы от механических повреждений, микробных инфекций, ультрафиолетового излучения и экстремальных температур. Это делает кожу очень уязвимой к травмам. Больные сахарным диабетом, пожилые люди и лица с генетическими нарушениями, такими как серповидно-клеточная анемия, особенно предрасположены к патологическому заживлению ран, ведущему к долгосрочным последствиям. Удивительно, но практикуемые в настоящее время вмешательства не оказали значимого влияния на ситуацию. Несмотря на то, что существует несколько методов лечения гнойных ран, они обладают недостаточной результативностью. Поэтому имеется потребность в поиске новых, более эффективных методов лечения подобных ран [4].

При повреждении кожи, несколько типов клеток в трех ее слоях должны взаимодействовать на определенных этапах, чтобы вызвать заживление. Стадии гемостаза, воспаления, ангиогенеза, роста, реэпителизации и ремоделирования могут проходить в определенной временной последовательности, но также перекрываться [48].

Восстановление кожи является одним из самых сложных процессов в организме человека. Первая реакция на повреждение – сужение поврежденных кровеносных сосудов и активация тромбоцитов с образованием фибринового сгустка (гемостаз) [23].

При изучении стадии воспаления возрастает интерес к пониманию неоднородности участвующих в данном процессе иммунных клеток, особенно в вопросе, каким образом конкретные их подмножества участвуют в очищении от клеточного «мусора» [31, 32].

По окончании воспалительной стадии наступает ангиогенез, который включает пролиферацию, миграцию и ветвление эндотелиальных клеток с образованием новых кровеносных сосудов. Одновременно с пролиферацией эндотелиоцитов активируются перициты в базальной пластинке [14], которые

обеспечивают структурную целостность эндотелиальных клеток [16]. Несколько типов клеток участвуют в формировании новых кровеносных сосудов, большая часть клеточного разнообразия приходится на периваскулярное пространство. По мере появления новых кровеносных сосудов резидентные фибробласты размножаются и проникают в ступок, образуя сократительную грануляционную ткань. Делящиеся фибробласты откладывают внутриклеточный матрикс (ВКМ) и переводят микросреду раны из воспалительного состояния в состояние роста [16]. Одновременно происходит реэпителизация и включается пролиферация, как унипотентных эпидермальных стволовых клеток из базальной мембраны, так и де-дифференцировку терминально дифференцированных эпидермальных клеток [16]. Регенерация эпидермального слоя включает также реконструкцию придатков кожи. Эпидермальные стволовые клетки становятся очень пластичными в ответ на травму и могут дать начало другим типам клеток, которые быстро восстанавливают эпидермис во время заживления ран.

Стромальные сосудистые клетки и их подмножества внутри подкожной жировой ткани ранее были подробно описаны [16]. Эти клетки выделяют факторы роста и цитокины для неоваскуляризации и заживления ран. В большинстве случаев заживление восстанавливает барьерную функцию и прочность кожи в ответ на травму. Заживление ран у взрослых приводит к образованию фиброзного рубца [48]. Чрезмерное рубцевание приводит к фиброзным состояниям гипертрофического рубцевания и образованию келоидов [102].

Появляется все больше доказательств того, что рубцевание является результатом дифференциальной реакции клеток на механический стресс в заживающей коже [102]. Нарушение процесса заживления ран также может привести к хроническому течению [102]. Хронические раны часто встречаются при сахарном диабете, сосудистых заболеваниях и старении, а также у лиц, страдающих гемоглобинопатиями.

Важно отметить, что современные представления о восстановлении кожи и клеточной архитектуре заживающих ран в значительной степени были получены с использованием хирургически сконструированных моделей повреждения кожи у грызунов. Экспериментальные модели на лабораторных мышцах использовались чаще, чем на других животных с кожными повреждениями, поскольку у мышей легче смоделировать нарушение кожных покровов. Однако кожа грызунов, в отличие от кожи человека или, например, свиньи, более эластична, подвижна по отношению к подлежащим структурам, и у них рана закрывается за счет сокращения кожи, стимулируемого поперечно-полосатой мышцей [102]. В свою очередь, кожа человека заживает за счет образования грануляционной ткани и реэпителизации. Когда используются мышинные модели для изучения процессов заживления ран, особое внимание уделяется применению силиконовых стентов вокруг иссеченной кожи, которые предотвращают сокращение и позволяют заживать за счет образования грануляционной ткани и реэпителизации [102].

1.1 Фазы заживления раны

Эпителиальные клетки кожи представляют собой лабильные элементы, которые постоянно элиминируются в роговом слое в процессе десквамации кератиноцитов и заменяются в базальном слое дифференцированными элементами, образующимися в результате пролиферации и дифференцировки стволовых клеток. Обновление клеток зависит от различных факторов, таких как травма, гормональные влияния, состояние кожи и индивидуальное самочувствие.

Кожно-регенеративный процесс при раневом повреждении состоит из многочисленных фаз, активируемых внутри- и межклеточными биохимическими путями и гармонично скоординированных для восстановления целостности тканей и гомеостаза [18]. Запускаются клеточные элементы, активирующие каскад коагуляции и воспалительный процесс. Вовлекаются несколько типов клеток, таких как фибробласты, кератиноциты и эндотелиальные клетки, а также

нейтрофилы, моноциты, макрофаги, лимфоциты и дендритные клетки в качестве иммунных компонентов [44].

Процесс регенерации включает последовательные фазы, регулируемые экспрессией генов через ауто- или паракринные механизмы. Окончание активных процессов достигается подавлением экспрессии генов при прогрессировании процесса регенерации [36]. Заживление ран включает пространственную и временную синхронизацию воспалительной фазы с регенерацией и ремоделированием тканей. Фаза воспаления следует за повреждающим событием и включает каскад коагуляции, воспалительный путь и участие иммунной системы [45] для предотвращения чрезмерной потери крови и жидкости, развития инфекций, а также для облегчения удаления некротизированных тканей. Гемостаз достигается образованием тромбоцитарного сгустка с последующим формированием фибринового матрикса, который действует как каркас для клеточной инфильтрации. В результате дегрануляции тромбоцитов, высвобождения хемотаксических сигналов некротическими тканями и продуктов бактериальной деградации активируется система комплемента, и к очагу поражения прибывают нейтрофилы [99]. Наконец, макрофаги координируют все события, происходящие в ответ на повреждение. Эти клетки ответственны за активность фагоцитоза фибрина и клеточный дебрис, а также секретируют фактор роста макрофагов (MDGF) для фибробластов и эндотелиальных клеток [61].

Образование новой ткани начинается в течение 2–10 дней после поражения и состоит из пролиферации клеток и миграции разных цитотипов. Когда поражение затрагивает дерму, формируется малодифференцированная и сильно васкуляризированная соединительная ткань, называемая грануляционной тканью, которая состоит из клеточных и фибриллярных компонентов, интегрированных в аморфный матрикс. К клеткам грануляционной ткани относятся: фибробласты, отвечающие за синтез фибриллярного компонента; миофибробласты, участвующие в механизме заживления раны, и эндотелиальные клетки, ответственные за процесс неоангиогенеза [10]. В фазу

формирования новой ткани зарождается процесс реэпителизации, характеризующийся пролиферацией и миграцией кератиноцитов в центральную часть поражения, поскольку область между дном и краями раны заполняется грануляционной тканью, представляющей собой матрикс, в котором кератиноциты, находящиеся по периферии зоны повреждения, мигрируют к ее центру и пролиферируют [61].

Реэпителизацию кожи структурно можно объяснить двумя моделями: скользящей и катящейся (роллинг). Согласно скользящей модели, кератиноциты базального слоя претерпевают модификацию своих якорных соединений (десмосомы и гемидесмосомы), что делает возможным их отслоение и латеральную миграцию к центру зоны поражения. Согласно модели роллинга, кератиноциты претерпевают морфологическую и функциональную модификацию вместе с десмосомами, что приводит к их миграции к базальным кератиноцитам, которые остаются прикрепленными к базальной мембране [97].

Регенерация базального слоя приводит к пролиферации и вертикальной дифференцировке кератиноцитов, восстанавливая физиологические особенности многослойной эпителиальной ткани.

Фаза ремоделирования начинается примерно через 3 нед после повреждения и длится более года. Во время этой фазы все процессы, активированные в предыдущих фазах, затухают, и макрофаги, изолированные эндотелиальные клетки и миофибробласты вступают в апоптоз или перемещаются из раны, оставляя область, богатую коллагеном и другими белками отложения внеклеточного матрикса (extracellular matrix – ECM). Взаимодействия между эпидермисом и дермой вместе с дополнительной обратной связью позволяют непрерывно регулировать целостность кожи и гомеостаз. Коллаген III типа, находящийся в ВКМ, постепенно замещается в течение 6–12 мес.

После травмы в коже активируется воспалительный механизм, который не только вырабатывает экссудат, но и приводит к образованию

антимикробных пептидов (АМП) в ответ на инфекцию. Антимикробные пептиды представляют собой амфипатические пептиды, которые конститутивно экспрессируются или индуцируются после клеточной активации в ответ на воспалительную или гомеостатическую стимуляцию. Наиболее подробно изученными семействами АМП в коже человека являются дефенсины и кателицидины, которые продуцируются различными клетками кожи (кератиноцитами, фибробластами, дендритными клетками, моноцитами, макрофагами), а также потовыми и сальными железами. Попадание бактерий на участок кожи, подвергшийся некрозу, является неизбежным явлением, и поэтому иногда иммунное действие оказывается неэффективным, что приводит к осложнениям и даже летальному исходу у лиц с выраженными хроническими поражениями кожи [83].

Здоровая кожа насыщена бактериями, которые играют важную роль в ее экосистеме. В случае нарушения целостности кожи бактерии мигрируют с ее поверхности в области, в которых они обычно не располагаются, вызывая дисбаланс, который приводит к инфицированию кожной раны. Бактерии могут происходить из внешней среды (например, золотистый стафилококк) или из бактерий, обитающих в полых органах и мигрирующих через кровь. Дополнительный бактериальный риск представлен образованием биопленки, слоя микроокружения, богатого гликопротеином, который прилипает к ложу раны, защищая бактерии и усиливая их пролиферацию. Матрица биопленки делает бактерии устойчивыми к неблагоприятным условиям и антибактериальным обработкам. Кроме того, биопленки вызывают широкий спектр хронических заболеваний из-за возникающей устойчивости бактерий к антибиотикам, что может являться причиной снижения эффективности лечения таких пациентов [17, 106].

Раневой экссудат является отражением физиологии раневого ложа. Кожная рана продуцирует экссудат, который является маркером хронического состояния травмы, признаком эффективности лечения раны и представляет собой микроокружение поврежденной ткани. Появляется все больше доказательств

того, что наблюдаемые при хронических травмах деструктивные эффекты могут усугубляться компонентами экссудата, которые, будучи деструктивными по своей природе, приводят к непрерывной деградации ВКМ. Выделение этих компонентов способствует образованию внутри ВКМ матричных металлопротеиназ (ММП), в частности ММП-9, как доминирующие компоненты деструктивного процесса. Установлена связь между повышенным уровнем бактерий и ММП-9 в хронических ранах [54]. Кроме того, экссудация может быть первым индикатором возможных системных осложнений [88]; передача сигналов медиаторов и состав белка могут предоставить информацию о типе вовлеченной в повреждение ткани и облегчить выбор оптимального подхода к лечению.

Организм всегда реагирует на травму, активизируя процессы заживления ран и образования рубцов. Рубцы не воспроизводят характеристики и функции физиологических тканей, которые замещают [85]. В большинстве случаев мягкие ткани у человека после повреждения имеют свойство восстанавливаться за счет формирования рубца, заменяющего травмированную ткань внеклеточным матриксом, состоящим в основном из фибронектина и коллагена I и III типов. При этом некоторые элементы кожи, например, субэпидермальные придатки, волосяные фолликулы, сальные и потовые железы, не восстанавливаются после массивного повреждения [50]. Матрикс рубцовой ткани, представленный грануляционной тканью, является конечным продуктом фазы рубцевания и характеризуется высокой плотностью фибробластов, гранулоцитов, макрофагов, капилляров и коллагеновых волокон [100].

В фазе первичного рубцевания ткани (на 5–7-е сут после повреждения) ангиогенез еще не завершен, при этом рубец гиперемирован. Доминирующими клетками на этой стадии являются фибробласты, которые выполняют различные функции, такие как выработка коллагена и компонентов ВКМ (например, фибронектин, гликозаминогликаны, протеогликианы и гиалуроновая кислота).

В фазе созревания количество фибробластов уменьшается за счет их дифференцировки в миофибробласты. Формирование рубца заканчивается в фазе ремоделирования, начинается на 21-е сут и продолжается в течение 1 года после травмы. В процессе созревания раны компоненты ВКМ претерпевают постоянные изменения. Коллаген III типа, продуцируемый в пролиферативной фазе, теперь заменяется наиболее прочной формой коллагена I типа в виде небольших параллельных пучков, отличающихся от текстуры здоровой дермы [50]. Затем миофибробласты из-за их сильной адгезии к коллагену способствуют заживлению раны.

Кроме того, уменьшаются ангиогенные процессы и кровоток в раневом ложе, острая метаболическая активность раны замедляется и в итоге прекращается, что приводит к формированию зрелого рубца. Образование рубцов является физиологической конечной точкой заживления ран у млекопитающих. Когда происходит чрезмерное рубцевание, возникает дисбаланс между биосинтезом и деградацией, опосредованный апоптозом и деградацией ВКМ, что приводит к персистирующей воспалительной реакции, длительной пролиферации и снижению ремоделирования [38].

Гипертрофические рубцы содержат избыточное количество микрососудов, которые в большинстве случаев закупорены из-за чрезмерной пролиферации и функциональной регрессии эндотелиальных клеток, вызванных гиперактивностью миофибробластов и избыточной выработкой коллагена. Изменения в ВКМ и эпителии, по-видимому, также связаны с аномальным рубцеванием; механический стресс стимулирует механо-сенсорные ноцицепторы кожи, которые высвобождают нейропептиды, участвующие в модификации сосудов и активации фибробластов [64].

1.2 Современные раневые покрытия на основе нановолокон полученных методом электропрядения

В настоящее время одним из важнейших аспектов в заживлении ран является использование перевязочных материалов [1]. Современные

перевязочные материалы должны обладать не только барьерной функцией для уменьшения вероятности попадания инородных объектов в рану, но и способствовать заживлению ран, основываясь на патофизиологических процессах. Среди перспективных перевязочных материалов можно выделить электроспиновые нановолокна.

Нановолокна находились в центре внимания во многих областях биомедицинских исследований, включая доставку лекарственных средств в зону повреждения, ускорение процесса заживления ран в результате большой поверхности волокон и наличия различных средств, которые включаются в их состав в процессе изготовления [47].

В настоящее время для изготовления нановолокон доступны три типа полимеров: природные, синтетические и смешанные. Природные полимеры характеризуются широким спектром преимуществ, включая биосовместимость, нетоксичность, биоразлагаемость, антибактериальные свойства и благоприятную механическую структуру, что делает их пригодными для биомедицинского применения [109]. Между тем, синтетические полимеры более эффективны по сравнению с природными в качестве перевязочных материалов для ран, поскольку их функции и свойства могут быть заданы и модифицированы во время синтеза в соответствии с особенностями раневого процесса [12]. Полученный каркас может иметь различные параметры химического состава, молекулярной массы и кристаллические свойства с предсказуемыми химическими и механическими характеристиками, обеспечивающими высокую воспроизводимость. В свою очередь, смешанные полимеры для электропрядения нановолокон показали самую высокую эффективность. Было обнаружено, что каркасы из гибридного полимера и хитозана, нагруженного гидрохлоридом ципрофлоксацина, подходят для более быстрого заживления ран [12].

Проведенное М. Abrigo и соавт. (2014) исследование показало, что нанопористость и большая площадь поверхности нановолокон делают их эффективным средством для ускорения процесса заживления ран [8]. Сетка

с большой площадью поверхности способствует абсорбции жидкости и доставке лекарств. Нанопористость способствует клеточному дыханию и газопроницанию, предотвращая проникновение микробных частиц и прорастание тканей. По данным М. Abrigo и соавт. (2014), нановолоконные сетки из электропряденной стали изготавливаются из смешанных полимеров [8].

Синтетические полимеры обладают высокой технологичностью, что позволяет изготавливать из них механически прочные сетки. Природные полимеры повышают способность волоконных сеток активно взаимодействовать с биохимическими компонентами процесса заживления.

Н. Chen и соавт. (2016) использовали трехмерные биоразлагаемые нановолокна, имитирующие ВКМ по структуре и функционированию в качестве стратегии заживления ран для замены утраченного или дисфункционального ВКМ [19]. В указанном исследовании полимер молочной кислоты и гликолевой кислоты (polylactic-co-glycolic acid – PLGA) подвергали электропрядению для получения волокнистого материала. Было показано, что он эффективен для улучшения пролиферации дермальных фибробластов человека (human dermal fibroblasts – HDF), инфузии на каркасах после 7 дней культивирования.

Исследование *in vivo*, проведенное S. Chen и соавт. (2017) на мышах, также демонстрирует результаты, в которых трехмерное нановолокно имеет характеристики, аналогичные таковым нативного ВКМ, и что нанопористость позволяет проникать HDF в структуру мембраны. Нановолокна коллагена типа I способствовали пролиферации клеток. Время закрытия хронической раны сократилось до 14 дней при использовании в качестве повязок 3D нанофиброзных каркасов [20].

Скорость разложения нановолокон в окружающей среде важна для определения условий хранения, транспортировки и использования полимерных мембран. L. Wang и A. He (2015) применяли тесты на гидролиз и воздействие ультрафиолетового (УФ) излучения на образцы нановолокон из этиленвинилового спирта [104]. Испытание на гидролиз показало уменьшение массы полимерной мембраны всего на 2% после 7 дней воздействия УФ-

излучением, следовательно нановолокна возможно применять для длительной перевязки ран. Кроме того, масса образцов, в состав которых были включены частицы серебра, что типично для антибактериальных средств, уменьшилась более чем на 40% после 3 дней воздействия ультрафиолетом, что в 2 раза превышало данный показатель в образцах, не содержащих частиц серебра. Было установлено, что высокая чувствительность нановолокон EVON к УФ-излучению может быть полезна для быстрого высвобождения наночастиц серебра для лечения инфицированных ран [6, 104].

В исследовании, проведенном M. Arenbergerova и соавт. (2012), полиуретановый нановолоконный текстиль (НТ) Tecophilic™ применялся в качестве раневой повязки в эксперименте *in vitro* и в клинических испытаниях [15].

В статье J. D. Raffetto (2010) указывается на неэффективность традиционных методов лечения в поддержании асептической среды в ране из-за роста устойчивых к антибиотикам бактериальных штаммов. Нановолокна, применяемые в этом исследовании, изготавливались с использованием технологии электропрядения Nanospider™ [81]. Автор сообщает, что 162 больных с хроническими (сроком возникновения более 8 нед) венозными язвами голени были случайным образом распределены на три группы в соотношении 2 : 1 : 1. В 1-й группе всех 84 пациента лечили с использованием освещенного тетрафенилпорфиринового (ТФП) нановолоконного текстиля. Пациентам 2-й группы (39 человек) лечение проводили с использованием освещенных НТ без ТФП, а в 3-й группе пациентам (39 человек) лечение ран осуществляли с использованием ТФП-допированных НТ. Основная цель этого исследования состояла в том, чтобы изучить бактериостатический эффект fotocувствительного НТ, легированного ТФП. В исследовании J. D. Raffetto (2010) также изучались безопасность вмешательства, прогноз заживления раны и сроки ее закрытия. Период лечения составил 42 дня. Динамику уменьшения площади поверхности язвы определяли с помощью компьютеризированных программ на 15-й, 28-й и 42-й день. Эффективность заживления раны авторы

исследования определяли путем оценки очищения пораженной ткани, покрытия фибрином, формирования здоровой соединительной ткани и эпителизации. Уменьшение боли также определяли с помощью субъективной оценки пациентов по Визуальной аналоговой шкале (ВАШ). Полученные результаты показали замедление бактериальной колонизации в культурах бактерий *in vitro* на поверхности НТ, легированных ТФП, которые были освещены. Результаты клинических исследований в 1-й группе показали уменьшение площади поверхности язвы на 35% и боли, связанной с раной, на 71%. Полученные данные доказали, что замедление роста бактерий связано с фотоинактивацией, вызванной образованием светосенсибилизированного короткоживущего высокорекреационноспособного синглетного кислорода, обладающего поверхностным антибактериальным действием [91].

I. Fulco и соавт. (2015) в проспективном рандомизированном клиническом исследовании оценили эффективность применения тонкой интерфейсной мембраны, состоящей из нановолокон поли-N-ацетилглюкозамина (поли-N-АГ), в терапии ран отрицательным давлением (negative pressure wound treatment – NPWT) [43].

Устройства для NPWT использовались для постоянного дренирования раневого экссудата, что способствует грануляции и эпителизации тканей [30, 35, 90]. Основным недостатком таких устройств является то, что в случае активного кровотечения пена для NPWT может пропитаться кровью и (или) ее сгустками, особенно у пациентов, проходящих антитромбоцитарную медикаментозную терапию. Таким образом, NPWT используется в сочетании с тонкой мембраной, состоящей из нановолокон поли-N-АГ, для снижения риска кровотечения [40, 41]. Двадцать пациентов с пролежнями были набраны в этом исследовании. Перед применением стандартной NPWT либо комбинации NPWT и поли-N-АГ участникам проводили санацию раны для того, чтобы иметь активное кровоточащее раневое ложе. Раны исследовали на наличие признаков инфекции и заживления во время смены повязок при NPWT. Объем ран измеряли с помощью теста Берга в начале и в конце 14-дневного периода лечения.

Некротизированную ткань, полученную после хирургической обработки раны на 14-й день, направляли на гистологическое исследование с целью оценки эпителизации раны и образования грануляционной ткани. Шести пациентам, получавшим лечение антитромбоцитарным препаратом, была назначена sNAG-NPWT для определения риска послеоперационного кровотечения. Результаты исследования показали, что применение sNAG приводит к статистически значимому уменьшению площади раневой поверхности ($p = 0,05$) за счет стимуляции сокращения краев раны. Кроме того, гемостатически активный sNAG эффективно снижает риск послеоперационного кровотечения. Хотя нановолокна, используемые в этом проспективном клиническом исследовании, были получены из морских микроводорослей, достигнутые клинические результаты могут быть применены при изготовлении нановолокон поли-N-ацетилглюкозамина с использованием электропрядения для производства перевязочных материалов [40, 41].

T. J. Kelechi и соавт. (2012) провели исследование, посвященное оценке безопасности, эффективности и допустимости применения нановолокон поли-N-АГ) для заживления ран у больных с венозными язвами голени [59]. Пациенты с хроническими венозными язвами были рандомизированы в четыре стратифицированные группы и перед вмешательством получали стандартную терапию, а хирургическая или химическая обработка язв у них не проводилась. Представители группы А (20 человек) получали лечение мембранами из поли-N-АГ только один раз в течение 1-й недели. Больным группы В (22 человека) было назначено лечение один раз каждые 2 недели, тогда как пациенты группы С (20 человек) проходили терапию поли-N-АГ один раз в 3 недели. Представителей контрольной группы (D) (20 человек) лечили стандартными средствами. Среди сопутствующих заболеваний у участников исследования регистрировались гипертония, сахарный диабет, ожирение, артрит и сосудистые расстройства. Период исследования составил 20 недель, в течение которого наблюдали за процессом заживления ран у пациентов. В группах А, В и С у 45,0; 86,4 и 65,0% участников соответственно наблюдалось полное заживление раны, тогда как в

контрольной группе D значение этого показателя составило, как и в группе A 45,0%. Сравнение групп показало, что в группе В регистрировалась статистически значимо более высокая доля полного заживления ран по сравнению с другими группами ($p < 0,05$). Кроме того, было показано, что применение нановолоконных мембран не приводило к появлению каких-либо побочных эффектов. Полученные данные свидетельствуют о том, что нановолоконная мембрана поли-N-АГ способна усиливать клеточный метаболизм и миграцию клеток, стимулировать ангиогенез, ремоделирование тканей и пролиферацию эндотелиальных клеток [89].

P. López-Jaramillo и соавт. (2010) исследовали эффективность применения пластыря из нановолокна по сравнению с внутримышечным введением меглюмина антимоноата (глюкантима) при лечении язв кожного лейшманиоза (КЛ). Глюкантим является стандартным препаратом для лечения этих поражений, но он может вызывать неблагоприятные побочные эффекты, такие как дискомфорт и боль в животе, общая слабость, рвота, повышение активности печеночных аминотрансфераз и панкреатит [70, 75].

Трансдермальные пластыри, состоящие из электропряденных нановолокон, были разработаны для периодического высвобождения оксида азота (NO). 178 пациентов с КЛ (амастиготы *Leishmania* в мазках или промастиготы в культуре) были рандомизированы в две сгенерированные компьютером исследовательские группы. Представители 1-й группы (90 человек) получали лечение с использованием меглюмина антимоноата (глюкантим) в дозе 20 мг/кг массы тела 1 раз в день и пластыря плацебо в течение 20-дневного периода. В лечении участников 2-й группы (88 больных) использовали пластырь с активным NO-нановолокном и внутримышечным введением плацебо (5–20 мл/день) в течение 20 дней. В ходе исследования оценивали объективный статус пациентов, тяжесть и распределение поражений до начала лечения и на 21-й, 45-й и 90-й день исследования. Также отслеживали токсичность действия пластыря и неблагоприятные побочные эффекты от его применения. Результаты исследования показали, что частота излечения представителей группы

глюкантима была выше, чем в группе пациентов, в лечении которых использовали пластырь с активным NO-нановолокном [75]. Частота нежелательных явлений была статистически значимо ниже ($p < 0,05$) в группе пациентов, получавших терапию пластырем с активным NO-нановолокном, по сравнению с группой глюкантима. Исследование показало, что предлагаемый пластырь может быть более безопасной альтернативой при лечении язв КЛ, особенно тем больным, кому глюкантим противопоказан. G. Khan и соавт. (2017) [60] считают, что стандартная терапия заболеваний пародонта, характеризующаяся болезненными механическими процедурами и системным лечением антибиотиками в высоких дозах, иногда приводит к развитию устойчивых к лекарственным препаратам штаммов бактерий и имеет неблагоприятные побочные эффекты, такие как желудочно-кишечные расстройства [24, 53].

M. Dash и соавт. (2011) использовали нановолокна хитозана, в состав которых был включен сульфат неомицина с целью улучшения их ранозаживляющих свойств [29]. Дизайн исследования предполагал сравнение влияния нановолокон хитозана, пропитанных неомицинсульфатом, приготовленных методом электропрядения, на заживление ран с нанесением крема с неомицинсульфатом в экспериментальной модели раны на животных. Результаты исследования показали, что действие нановолоконных повязок с неомицинсульфатом, изготовленных из хитозана, оказалось более эффективным для заживления ран, чем применение крема с неомицинсульфатом. Нановолокна хитозана способствуют продлению высвобождения сульфата неомицина, что приводит к пролонгированию эффекта действующего вещества и уменьшает необходимость частой смены повязок. В результате снижается риск внутрибольничной инфекции за счет уменьшения количества посещений пациентом лечебно-профилактических учреждений, а также стоимость ухода. Кроме того, уменьшение количества перевязок позволяет минимизировать частоту травматизации тканей. Дифференциальная сканирующая колориметрия показала отсутствие взаимодействия между лекарственным средством и

полимером; сульфат неомицина полностью инкапсулировался и был стабильным без деградации. По мнению авторов, хитозан является хорошей добавкой для поддержания влажности повязки с целью более быстрого заживления.

Более ранние исследования других авторов показывают, что сульфат неомицина эффективен в качестве антибактериального средства против золотистого стафилококка и других бактерий, а также широкого спектра микроорганизмов, включая грибки и вирусы [52].

A. J. Singer и R. A. F. Clark (1999) установили, что инфицирование ран ухудшает процесс заживления и может вызвать сепсис [93]. Исследование этих авторов показало, что нановолокна sNAG могут способствовать ускорению процесса заживления ран за счет увеличения клеточной пролиферации, миграции клеток и ангиогенеза.

Было обнаружено, что механизм работы нановолокон sNAG заключается в их взаимодействии с интегринами в организме. Это приводит к увеличению экспрессии нескольких цитокинов и факторов роста, таких как IL-1 и VEGF, которые необходимы для заживления ран [101]. Исследование также показало, что обработка кожной раны у мышей с использованием нановолокон sNAG приводит к статистически значимому повышению экспрессии α - и β -дефензинов *in vivo* ($p < 0,05$). Дефензины – природные пептиды-антибиотики, действие которых основано на разрушении клеточной мембраны бактерий [102]. Кроме того, лечение с использованием нановолокон sNAG мышей с кожными ранами, инфицированными *Staphylococcus aureus*, также показало значительное снижение грамположительного окрашивания, что свидетельствует об очищении раны.

K. Rieger и соавт. (2016) отмечают, что химический состав раны и гидрофильность влияют на адгезию и пролиферацию бактерий [87]. В их исследовании проводился сбор и изучалась инактивация *Escherichia coli* K12 с использованием сеток из целлюлозных нановолокон, имеющих цилиндрическую форму и средний диаметр 0,84 мм. Поверхность сеток была обработана полиакриловой кислотой, хитозаном и полидиаллилдиметиламмонийхлоридом

(pDADMAC). Полиэлектролитная функция нановолоконных сеток не изменила их морфологию, однако изменились химический состав поверхности и гидрофильность. Гидрофильность функционализированных матов в сочетании с положительными зарядами повышает адсорбцию бактерий [11, 95]. Кроме того, pDADMAC и хитозан обладают антибактериальными свойствами, поэтому нановолоконные маты проявляли наибольшую пассивность в отношении *E. coli* K12 [37].

Исследование, проведенное в 2014 г. G. Jin и соавт., было направлено на устранение таких недостатков регенерации тканей, как высокая стоимость, малый срок хранения искусственного ВКМ, плохие адгезионные свойства, неудача в регенерации утраченной ткани, особенно дермы при ожоговых ранах [56]. X. Jiang и соавт. (2012) обнаружили, что фототоковая терапия повышает пролиферацию клеток, но ограничивает пролиферацию HDF из-за токсичности полимера РЗНТ (Poly(3-hexylthiophene)) [55]. Процесс электроформования инкапсулировал РЗНТ и эпидермальный фактор роста (Epidermal growth factor – EGF) в нановолокнах Gel/PLLCL/P3GF(cs) для улучшения биосовместимости светочувствительного полимера. Кроме того, пролиферация HDF на желатиновом каркасе PLLCL-EGF была статистически значимо выше ($p < 0,05$), чем на нановолоконном каркасе Gel/PLLCL и PLLCL [96]. Основная причина заключалась в том, что светочувствительный РЗНТ при световой стимуляции способствовал высвобождению EGF, что увеличивало пролиферацию HDF[96].

Было доказано, что EGF играет важную роль в пролиферации клеток и способствует заживлению ран [51, 65, 66, 74], светочувствительный РЗНТ в нановолокнах Gel/PLLCL ускоряет заживление ран *in vitro*. Кроме того, эпидермальная дифференцировка атипичных плоскоклеточных клеток наблюдалась на нановолокнах при световой стимуляции, в то время как недифференцированная морфология фибробластов регистрировалась под нестимулированными нановолокнами. Исследование на моделях крыс в эксперименте *in vivo* показало, что синий и красный свет способствуют дифференцировке первичных кератиноцитов [26].

Таким образом, во всех работах, представленных в этом разделе, было показано применение электропряденных нановолокон для ускорения заживления ран. На основании анализа опубликованных работ можно сделать вывод о том, что для заживления ран применяются нановолокна различного состава, а добавление в их состав лекарственных средств позволяет ускорить процесс заживления.

1.3 Пьезоэлектрические свойства и пьезоэлектрические мембраны

Термин «пьезоэлектричество» происходит от греческих «piezō» (πιέζω – давлению) и «ēlektron» (ἤλεκτρον – электричество). Явление пьезоэлектричества было открыто Пьером и Жаком Кюри, которые описали прямой и обратный пьезоэлектрические эффекты. В настоящее время пьезоэлектрические устройства широко применяются в микроэлектронике, авиа- и космической промышленности, транспорте, медицине и т.д.

Открытие пьезоэлектрических свойств у костей, кожи, мышц, нервов стимулировало развитие технологий хирургического восстановления этих тканей посредством использования искусственно созданных тканевых эквивалентов – специализированных пьезоэлектрических мембран, обеспечивающих оптимальное взаимодействие между искусственной мембраной и живой тканью [82]. Использование таких мембран позволяет проводить электрическую стимуляцию тканей без имплантации батарей и электродов, посредством механического воздействия со стороны окружающих тканей и, кроме того, иметь возможность дополнительно стимулировать процесс гистогенеза тканей посредством воздействий, например, ультразвука [71]. Считается, что стимулирующий эффект пьезоэлектрических материалов на ткани носит прямой (через воздействие на внутриклеточные компоненты (ионы, факторы роста и рецепторы) и опосредованный (изменение конформации белков) характер [22]. Электрическое поле вызывает перераспределение ионов кальция (Ca^{2+}) во вне- и внутриклеточном матриксе, что стимулирует гальванотаксис клеток [76] и изменения в конформации фибронектина, облегчая

адсорбцию белков на имплантируемом материале, тем самым улучшая его биосовместимость [63].

В настоящее время выделяют несколько основных направлений в развитии исследований, нацеленных на создание пьезоэлектрических мембран. Первое – применение неорганических сегнетоэлектриков с высокими значениями пьезоэлектрических коэффициентов для формирования мембран. Так, для исследования возможности стимулировать рост аксонов в нейронах, полученных из головного мозга лабораторных крыс, использовался широко распространенный цирконат-титанат свинца. Было установлено, что длина аксонов в нейронах, культивируемых на пьезоэлектрической керамике, увеличивалась, одновременно увеличивая амплитуду постсинаптического потенциала [105]. Пьезокерамика на основе ниобата лития (LiNbO_3) способствует улучшению адгезии и пролиферации фибробластов – основных клеток, формирующих соединительную ткань [98], а также биоминерализации металлических имплантатов [110]. Пьезокерамика на основе титаната бария использовалась как базис для создания жестких трехмерных конструкций с взаимосвязанной пористостью для восстановления костной и хрящевой ткани [33]. К ограничениям в использовании в широкой клинической практике каркасов на основе неорганических сегнетоэлектриков можно отнести сложности интраоперационных манипуляций с каркасами этого типа, обусловленные высокой твердостью и хрупкостью последних, что затрудняет точную подгонку имплантируемого материала по месту имплантации, повышая вероятность возникновения осложнений.

Вторым направлением исследований является разработка композиционных мембран на основе микронных и субмикронных порошков неорганических сегнетоэлектриков (нитрида бора, оксида цинка, титаната бария) и полимеров различной природы. Так, композиционные мембраны на основе желатина и гексагонального нитрида бора применялись для разработки мембран, способствующих продуцированию костной ткани без дополнительной стимуляции [77], при этом композиты на основе нанотрубок

нитрида бора стимулировали активность остеобластов под воздействием ультразвука [28].

Высоко оцениваются перспективы применения мембран с нанотрубками нитрида бора в качестве материалов, обеспечивающих адресную доставку и контролируемое высвобождение противораковых компонентов [34]. Было показано, что полиуретановые мембраны с оксидом цинка не только обладают антибактериальными свойствами, но и стимулируют остеогенную дифференцировку проостеобластов линии MC3T3-E1, что делает этот тип пьезоэлектрических мембран перспективным для восстановления костной ткани [92]. Мембраны на основе желатина и оксида цинка стимулировали пролиферацию фибробластов и успешно применялись для заживления ран у лабораторных животных [21]. Композиционные мембраны на основе полимолочной кислоты и наночастиц титаната бария стимулируют дифференцировку стволовых клеток в остеобласты, способствуя формированию полноценной костной ткани [68].

Композиционные мембраны обладают высокой эластичностью, легкостью в обработке, что в условиях операции позволяет проводить манипуляции с мембранами, идеально подгоняя их размер и форму по месту имплантации. Фактором, ограничивающим использование мембран этого типа для реконструктивно-восстановительной хирургии, является риск выделения токсичных ионов и комплексов [107, 108], что потенциально способно провоцировать отрицательные тканевые реакции в процессе длительного функционирования мембраны *in vivo*.

Третьим направлением исследований является применение пьезоэлектрических полимеров для разработки пьезоэлектрических мембран [84]. В настоящее время за рубежом активно изучается возможность использования поливинилиденфторида (ПВДФ, PVDF) для создания мембран с пьезоэлектрическими свойствами. ПВДФ – растворимый, биосовместимый и бистабильный полимер, обладает пьезо-, пиро- и сегнетоэлектрическими свойствами, является одним из наиболее электроактивных полимеров. Интерес

к использованию полимерных мембран, изготовленных из ПВДФ, в области реконструктивно-восстановительной хирургии обусловлен обнаруженными недавно свойствами этого типа каркасов стимулировать рост нейритов в нейронах [67], дифференцировать стволовые клетки в остеобласты [27, 80, 86], ускорять регенерацию костной ткани [39, 72] и т.д. При этом мембраны из ПВДФ не выделяют токсичных ионов и комплексов, хорошо моделируются в условиях операционной, технологичны и легко стерилизуются.

Считается, что электрически активные мембраны из ПВДФ в ближайшей перспективе станут серьезной альтернативой широко применяемым в клинической практике полимерным каркасам, изготовленным из политетрафторэтилена, в областях где требуется длительное функционирование имплантата без изменения его свойств, таких как гастроэнтерология, пластическая хирургия, офтальмология, сердечно-сосудистая хирургия и т.д., а также там, где имплантат устанавливается на короткий срок и требует периодической замены, например в стоматология для регенерации слизистых оболочек, заживления трофических язв и т.д.

Несмотря на очевидные преимущества, мембранам, изготовленными на основе ПВДФ, присущ и ряд недостатков, что существенно ограничивает применение этого полимера в реконструктивно-восстановительной хирургии. В частности, известно, что наиболее стабильной полиморфной модификацией ПВДФ является параэлектрическая α -форма [62], не обладающая электрической активностью. Данное обстоятельство заставляет использовать дополнительные технологические способы (экспандирование, поляризация и т.д.) для трансформации параэлектрической α -формы в сегнетоэлектрическую β - или γ -форму с целью придания мембранам из ПВДФ пьезоэлектрических свойств [73].

Мембраны из ПВДФ характеризуются низкими значениями свободной поверхностной энергии, что затрудняет их смачивание физиологическими жидкостями и, как следствие, существенно замедляет адгезию клеток к мембране, а также интеграцию мембраны с нативными тканями. Для придания

мембранам гидрофильности используют такие дополнительные способы, как плазменная и радиационная обработка, химическое модифицирование, нанесение функциональных покрытий, что ведет к существенному увеличению стоимости таких мембран [58].

Мембраны из ПВДФ характеризуются малым размером пор и низкой взаимосвязанной пористостью [25], что существенно затрудняет транспорт питательных веществ и отвод продуктов жизнедеятельности клеток и тканей из внутреннего объема мембраны, препятствуя полноценной интеграции последней с тканями. Для растворения ПВДФ пригодна ограниченная номенклатура органических растворителей, при этом «хорошие» растворители ПВДФ, такие как диметилформамид и диметилацетамид, являются токсичными веществами, что, с одной стороны, ограничивает спектр технологических способов формирования мембран, с другой стороны, заставляет дополнительно очищать сформированные мембраны от остатков растворителя, а это повышает стоимость изготовления мембран.

Резюмируя вышесказанное, можно констатировать, что разработка эффективных пьезоэлектрических мембран для реконструктивно-восстановительной хирургии является предметом исследований, направленных на создание эффективных и доступных материалов. Следует отметить, что, несмотря на значительные успехи в данной области, мембраны с необходимыми свойствами пока не созданы, о чем свидетельствует отсутствие доступной информации о клинических испытаниях мембран подобного рода.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Описание экспериментального исследования

Композитные сегнетоэлектрические мембраны активно применяются в различных областях промышленности, в том числе в медицинской сфере. Для оценки взаимодействия с мягкими тканями исследуемого материала и выявления наиболее совершенного образца, нами было выполнено экспериментальное исследование.

Работа проведена на базе лаборатории биомоделей ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск). Все эксперименты выполнены на белых аутбредных крысах-самках линии Wistar массой тела 250–300 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, руководствуясь следующими документами, регламентирующими работу с лабораторными животными:

1) СанПиН 1045-73 «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (утверждены Главным санитарным врачом СССР 06.04.1973);

2) Положение о контроле качества лабораторных животных, питомников экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утверждено министром здравоохранения РФ 23.04.2003);

3) Правила лабораторной практики в РФ (Приказ МЗ РФ №708 Н от 28.08.2010);

4) Приказ Минздрава СССР №1179 от 10.10.83 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения»;

5) Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Исследование проводили на 50 экспериментальных животных, которые были разделены на 10 групп – по 5 особей в каждой. Анестезиологическое

обеспечение, модель оперативного вмешательства и ведение послеоперационного периода у всех животных были одинаковыми.

В асептических условиях под наркозом препаратом «Золетил 100» в дозе 15 мг/кг массы тела, животное укладывали и фиксировали на операционном столике в положении на животе. Для проведения исследований у всех крыс формировали плоскостную полнослойную кожно-мышечную гнойную рану по методике, разработанной в лаборатории экспериментальной хирургии и патофизиологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова (г. Москва) в модификации М. П. Толстых. Для формирования раны у животных в межлопаточной области удаляли лоскут кожи прямоугольной формы размерами 20×20 мм вместе с подкожно-жировой клетчаткой, а края ран и подлежащие мышцы раздавливали зажимом Кохера. Полученную рану инфицировали микробной взвесью, содержащей 10^6 колониеобразующих единиц (КОЕ) *Staphylococcus aureus*, затем поверхность инфицированной раны на 72 ч укрывали полиэтиленовой пленкой для формирования очага острого воспаления (Рисунок 1) [7].



Рисунок 1 – Этап укладки полиэтиленовой пленки на плоскостную полнослойную кожно-мышечную рану у экспериментального животного

После формирования экспериментальной гнойной плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны (Рисунок 2) животным накладывали повязки, смену которых осуществляли ежедневно.



Рисунок 2 – Гнойная плоскостная полнослойная кожно-мышечная рана у экспериментального животного

Крысам 1-й (контрольной) группы на поверхность раны накладывали марлевую повязку, пропитанную водным 0,05%-м раствором хлоргексидина биглюконата (Kemerovo Pharmaceutical Factory, Россия). Животным основных групп (1–9) поверхность раны укрывали композиционной полимерной мембраной (Таблица 1). Ход оперативных вмешательств фиксировали в операционный журнал. Крыс выводили из эксперимента путем летальной передозировки эфира на 25-е сут после оперативного вмешательства.

Оценку эффективности регенерации раны осуществляли, фиксируя состояние раны с помощью цифрового фотоаппарата EOS 250D (Canon, Япония),

описывали локальный статус раны. Для проведения гистологических исследований процесса регенерации из зоны интереса изымали образцы тканей, которые заливали в парафин. Из полученных образцов готовили срезы толщиной 5–7 мкм по стандартной методике.

Таблица 1 – Группы экспериментальных животных и тип применяемых повязок

Группа	Повязка
Контрольная	Марлевая повязка с водным раствором хлоргексидина
Основная №1	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 0%
Основная №2	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 5%
Основная №3	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 10%.
Основная №4	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 20%.
Основная №5	Исходная полимерная мембрана с содержанием ПВП 40%
Основная №6	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 0%
Основная №7	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 5%
Основная №8	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 10%
Основная №9	Отожженная полимерная мембрана с содержанием ПВП 20%

Окраску гистологических препаратов выполняли гематоксилином и эозином. Исследования препаратов проводили методом просвечивающей световой микроскопии (Axioscop 40, Carl Zeiss, Германия). Оценивались следующие признаки: отек тканей, кровоизлияния, полнокровие сосудов, воспалительная инфильтрация, признаки регенерации.

2.2 Методы исследования экспериментальных животных в послеоперационном периоде

Оценку течения раневого процесса в эксперименте при лечении с использованием композиционных сегнетоэлектрических мембран на основе сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом и поливинилпирролидона

проводили по результатам оценки локальных данных, определения скорости заживления раны, антибактериальной активности, микробиологического и гистологического исследований.

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

Одним из наиболее объективных методов оценки эффективности местного лечения ран является измерение планиметрических данных в динамике лечения. Измерение длины периметра производили при каждой перевязке в сроки 3, 7, 10 сут. Периметры высчитывали после фиксации раны с помощью цифрового фотоаппарата EOS 250D (Canon, Япония) в приложении Image J 1.38 (National Institutes of Health, США).

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

Антибактериальную активность A определяли по формуле:

$$A = (\log C_{24} - \log C_0) - (\log T_{24} - \log T_0) = F - G,$$

где $\log C_{24}$ – логарифм количества бактерий, обнаруженных на контрольном образце через 24 ч инкубирования;

$\log C_0$ – логарифм количества бактерий, обнаруженных на контрольном образце к началу испытаний;

$\log T_{24}$ – логарифм количества бактерий, обнаруженных на образцах с добавлением ПВП через 24 ч инкубирования;

$\log T_0$ – логарифм количества бактерий, обнаруженных на образцах с добавлением ПВП к началу испытаний.

Оценку эффективности мембран проводили, исходя из следующих условий:

при $A < 0,5$ – состояние оценивали, как отсутствие антибактериальной активности;

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

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

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

В контрольные сроки (3-и, 7-е и 10-е сут) осуществляли забор тканей кожно-мышечной раны для гистологического исследования. Фрагменты мягких тканей забирали из центра гнойной раны, так как заживление происходило более активно от периферии к центру. Оценивали клеточный состав и динамику раневого процесса в гистологической картине.

Микробиологические исследования проводили после забора исследуемого экссудата из раны тампоном. Тампон с диагностируемым материалом засеивали на чашки Петри с 5%-м кровяным и 10%-м желточно-солевым агарами. Материал втирали по краю среды, а затем рассеивали по чашке при помощи этого же тампона или бактериологической петли методом секторов. Засеянные среды выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 2 сут либо 1 сут в термостате и дополнительно 1 сут при естественном освещении и комнатной температуре. На вышеуказанных средах стафилококк растет в виде круглых блестящих маслянистых выпуклых пигментированных колоний. На средах, содержащих желток *St. aureus*, в 60–70% случаев образуется радужный венчик вокруг колонии (положительная лецитовителлазная реакция).

Отвивка на скошенный агар осуществлялась для дальнейшего исследования не менее двух колоний, подозрительных на стафилококк. Для исследования отвиваются прежде всего колонии, дающие положительную лецитовителлазную реакцию. При отсутствии на чашках таких колоний дальнейшему исследованию подвергают пигментированные колонии, схожие по

морфологии со стафилококком. При одновременном наличии на чашках колоний стафилококка, отличающихся по пигменту, следует отивать не менее двух колоний различного вида; пробирки с посевом помещают в термостат при температуре 37 °С на 18–20 ч.

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

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

2.3 Статистическая обработка полученных данных

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

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Характеристика разрабатываемого материала

Совместно с сотрудниками лаборатории плазменных материалов Национального исследовательского Томского политехнического университета (г. Томск) были разработаны композиционные сегнетоэлектрические мембраны (Рисунок 3) для местного лечения гнойных ран.



Рисунок 3 – Композиционная сегнетоэлектрическая мембрана

Композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны были получены методом электроспиннинга из прядильных растворов. Исходным сырьем для прядильных растворов служили: полимер поливинилпирролидон К17 (ПВП К17), сополимер винилиденфторид с тетрафторэтиленом (ВДФ-ТФЭ), наночастицы оксида цинка, ацетон и изопропиловый спирт. Во все растворы был добавлен диметилформамид во избежание кластеризации наночастиц оксида цинка и равномерного его распределения по всему объему прядильного раствора и, как следствие, равномерного распределения по всему объему нановолоконных мембран. Всего было приготовлено пять растворов с различным содержанием ПВП: 0%, 5%, 10%, 20% и 40%.

Композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны были изготовлены методом электроспиннинга с помощью установки NANON-01A

(MECC Co., Fukudo, Япония). После прядения часть образцов подвергали отжигу в электрической печи при температуре 105 °С для модификации их структуры – отожженные мембраны. При отжиге у мембран увеличивается количество электрически активных кристаллических фаз.

Перед началом процесса электропрядения сегнетоэлектрических полимерных композиционных мембран были выполнены измерения вязкости и проводимости прядильных растворов (Таблица 2). Вязкость прядильных растворов определяли с помощью вискозиметра SV-10 (AND, Япония) по протоколу изготовителя оборудования. Проводимость прядильных растворов измеряли, используя кондуктометр InoLab Cond 7319 (WTW, Германия), оснащенный измерительной ячейкой TetraCon 325 (WTW, Германия). Измерение вязкости и проводимости прядильных растворов проводили при температуре 24 °С.

Таблица 2 – Средние показатели вязкости и проводимости прядильных растворов, $M \pm m$

Содержание ПВП, %	Вязкость, мкПа	Проводимость, кСм/см
0	51,86 ± 4,31	43,54 ± 1,00
5	60,28 ± 2,50	38,22 ± 0,63
10	52,84 ± 3,92	33,88 ± 0,65
20	28,02 ± 1,45	32,82 ± 0,49
40	6,28 ± 0,41	34,46 ± 0,50

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

Все мембраны представлены сформированными волокнами с нормальным распределением размеров по диаметру и развитой взаимосвязанной пористостью, что позволяет хорошо собирать раневой экссудат (Рисунки 4, 5).

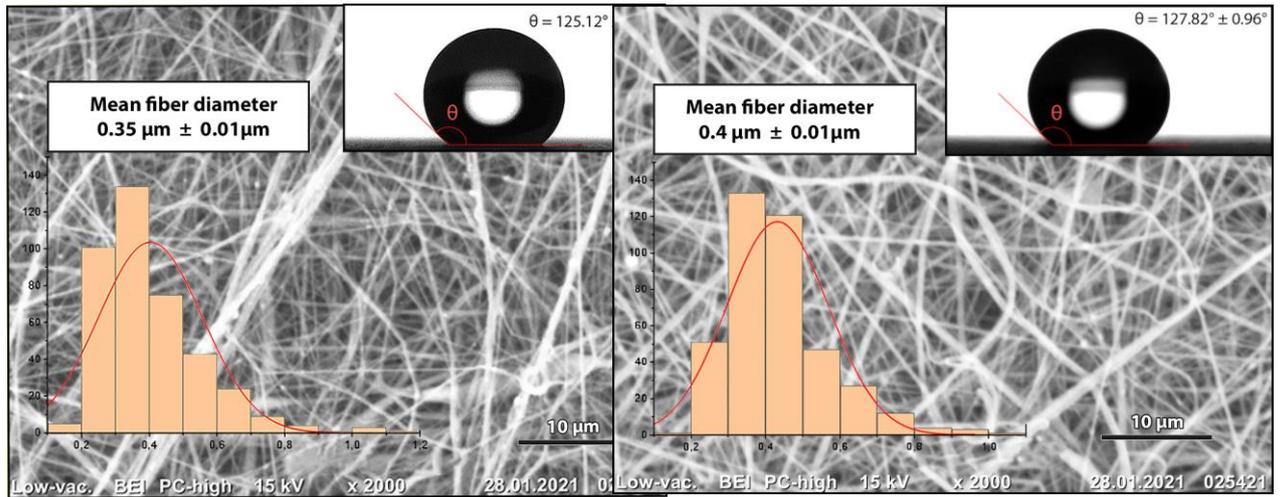
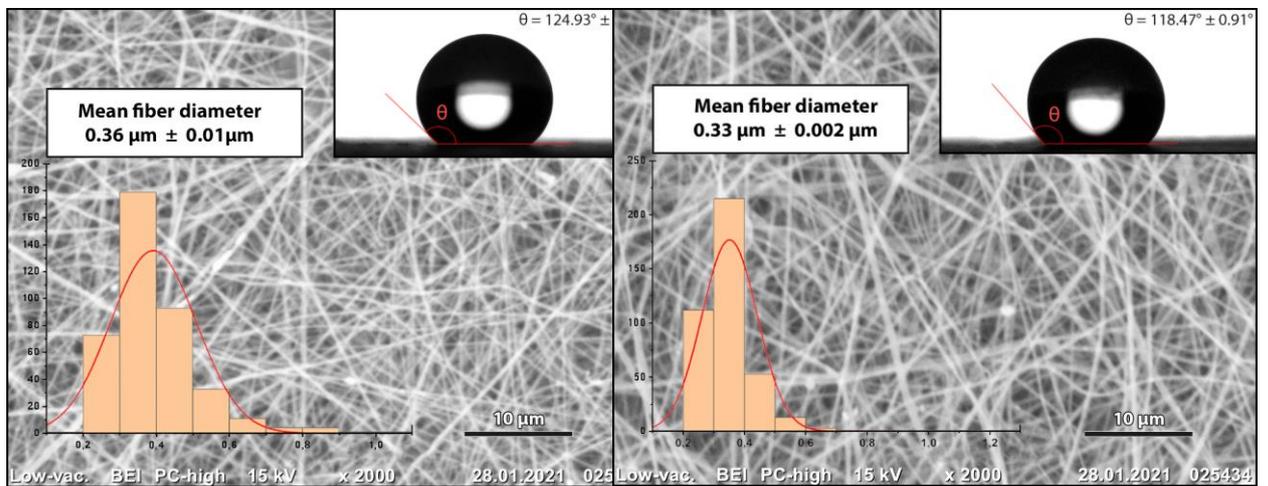
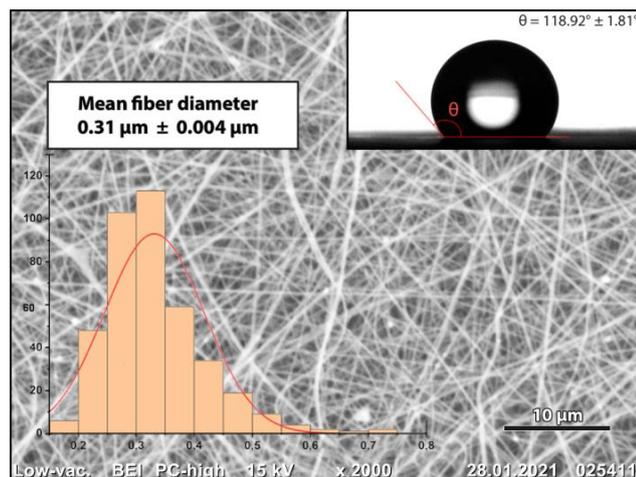
*a**б**с**з**д*

Рисунок 4 – Структура, гистограмма распределения диаметров волокон и краевой угол смачивания для исходных мембран с содержанием ПВП 0% (а); 5% (б); 10% (в); 20% (з); 40% (д) при 2000-кратном увеличении

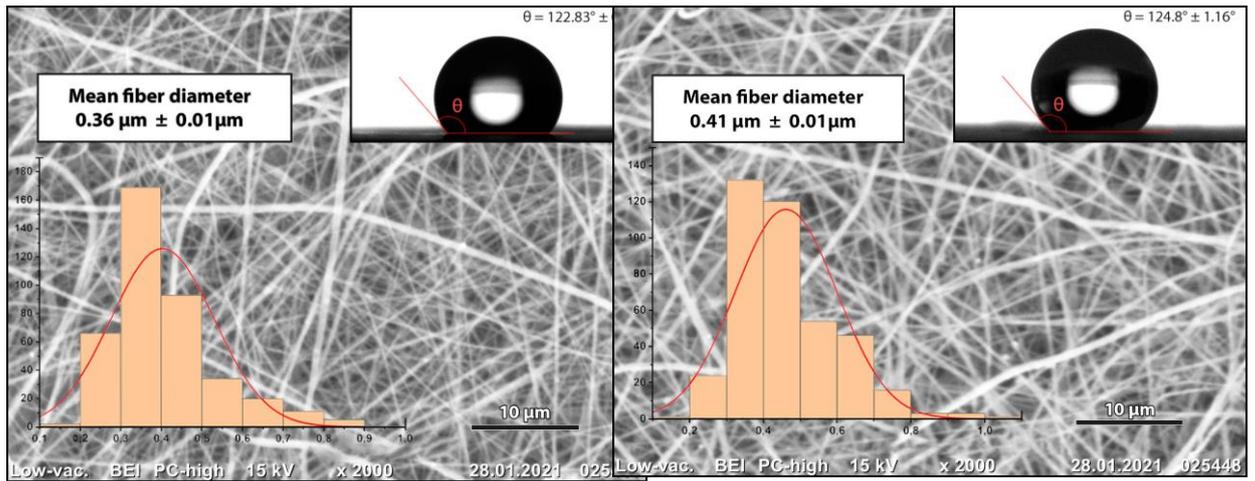
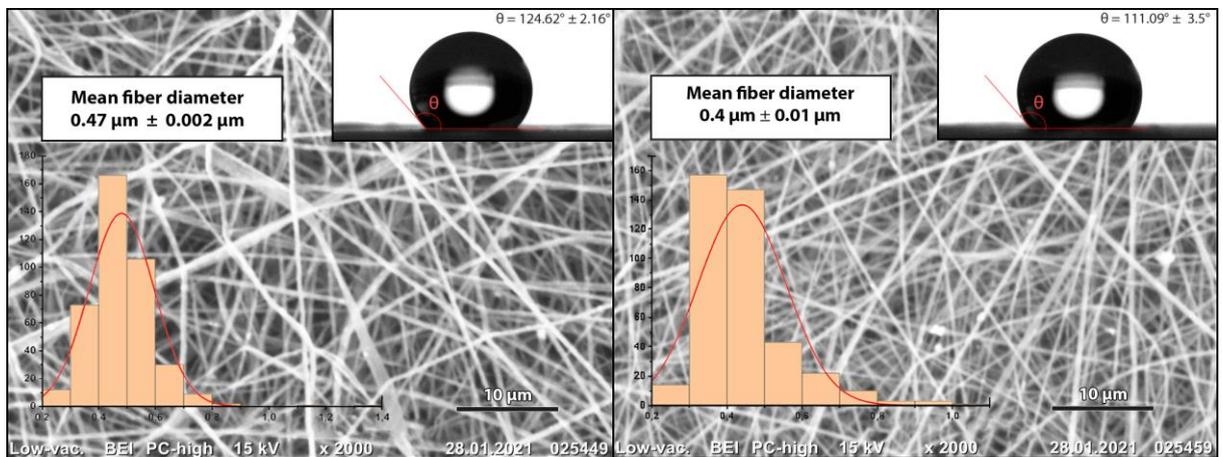
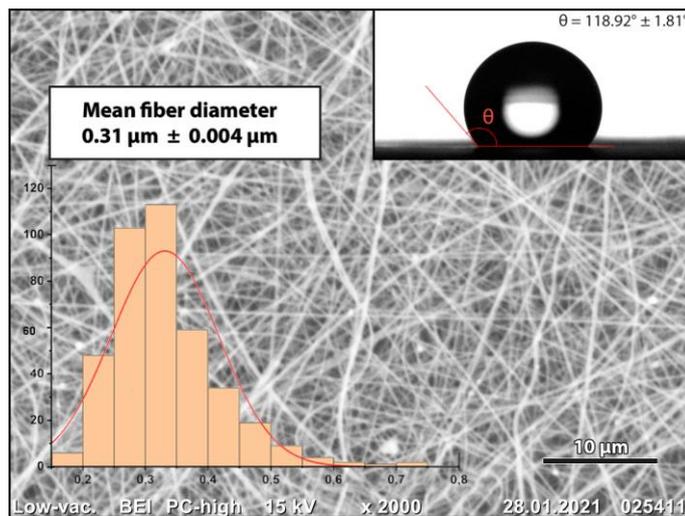
*a**b**b**z**d*

Рисунок 5 – Структура, гистограмма распределения диаметров волокон и краевой угол смачивания для отоженных мембран с содержанием ПВП 0% (*a*); 5% (*b*); 10% (*в*); 20% (*z*); 40% (*d*) при 2000-кратном увеличении

Исследование структуры волокон проводили методом сканирующей электронной микроскопии (JEOL JCM-6000, Япония). Диаметр волокон в мембранах определяли по изображениям, полученным при световой электронной микроскопии. Для определения среднего диаметра волокон для каждого образца было проведено по 400 измерений с помощью приложения Image J 1.38 (National Institute of Health, США). Затем в программе OriginPro 2021 (OriginLab Corporation, США) строили шкалу распределений и рассчитывали среднее значение диаметров волокон для каждой группы исследуемых образцов (по 150 образцов в каждой группе) (Таблицы 3, 4).

Таблица 3 – Средние диаметры волокон и значения краевого угла смачивания исходных полимерных мембран, $M \pm m$

Содержание ПВП, %	Средний диаметр, мкм	Среднее значение краевого угла смачивания, град
0 (n = 150)	0,35 ± 0,01	125,12 ± 2,33
5 (n = 150)	0,40 ± 0,01	127,82 ± 0,96
10 (n = 150)	0,36 ± 0,01	124,93 ± 1,21
20 (n = 150)	0,33 ± 0,002	118,47 ± 0,91
40 (n = 150)	0,31 ± 0,004	118,92 ± 1,81

Таблица 4 – Средние диаметры волокон и значения краевого угла смачивания отожденных полимерных мембран, $M \pm m$

Содержание ПВП, %	Средний диаметр, мкм	Среднее значение краевого угла смачивания, град
0 (n = 150)	0,36 ± 0,01	122,83 ± 0,72
5 (n = 150)	0,41 ± 0,01	124,80 ± 1,16
10 (n = 150)	0,47 ± 0,002	124,62 ± 2,16
20 (n = 150)	0,40 ± 0,01	111,09 ± 3,50
40 (n = 150)	0,33 ± 0,005	115,40 ± 3,22

По результатам сравнения табличных данных, отмечаются тенденции к уменьшению среднего диаметра волокон мембран, краевого угла смачивания и повышению гидрофильности за счет динамической вязкости и проводимости прядильных растворов при увеличении содержания ПВП с 0 до 40% в исходных и отожженных образцах.

3.2 Результаты исследования антибактериальной активности

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

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

При увеличении содержания ПВП и при неизменном содержании ZnO антибактериальная активность мембран повышается (Таблица 5). Данный факт свидетельствует о том, что увеличение содержания ПВП приводит к улучшению транспортных свойств сформированных мембран антибактериального агента в зону контаминации. Термическая обработка приводит к ухудшению антибактериальных свойств мембран с концентрацией ПВП 0% и 5% (Таблица 6), но улучшает их у мембран с содержанием ПВП 10%, 20% и 40%. Следовательно, выбранный нами метод модификации – отжиг экспериментальных повязок – способствует улучшению их антибактериальных свойств, и это мы связываем именно с дополнительным улучшением транспортных свойств мембран в отношении антибактериального агента ZnO. Наибольшей антибактериальной активностью (значительной) обладают мембраны при содержании ПВП, равном 40%.

Таким образом, у исходных образцов с более низким содержанием ПВП антибактериальная активность оценивалась как незначительная. У отожженных образцов мембран с содержанием ПВП 5% антибактериальная

активность отсутствовала, а с содержанием ПВП 10%, 20% и 40% она оценивалась как значительная.

Таблица 5 – Оценка антибактериальной активности исходных мембран

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

Таблица 6 – Оценка антибактериальной активности отоженных мембран

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

3.3 Оценка клинических проявлений фаз раневого процесса

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

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

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

В течение всего периода наблюдения в контрольные точки перевязок (3-и, 7-е и 10-е сут) при взаимодействии между перевязочным материалом и раной отмечалось травмирование мягких тканей. Во всех случаях на 3-и сут снятие материала сопровождалось кровотечением из сформированной грануляционной ткани (Рисунки 6–10).

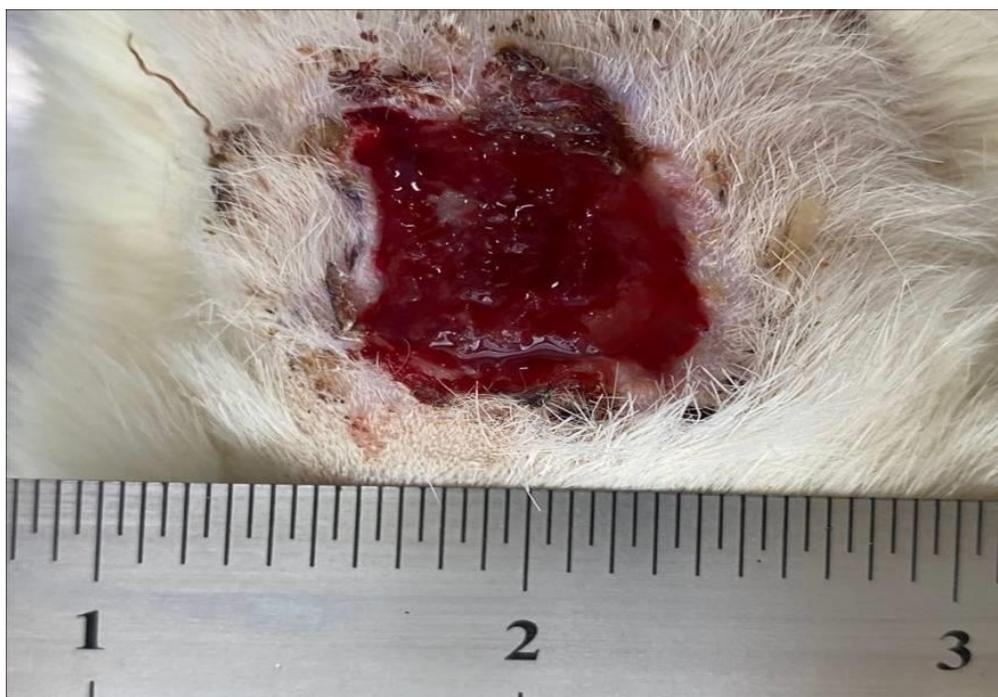


Рисунок 6 – Вид экспериментальной раны у животного контрольной группы на 3-и сут лечения



Рисунок 7 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 2 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 5%) на 3-и сут



Рисунок 8 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 3 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 10%) на 3-и сут



Рисунок 9 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 5 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 40%) на 3-и сут



Рисунок 10 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 9 (лечение отоженной мембраной с содержанием ПВП 20%) на 3-и сут

При удалении марлевой повязки отмечалось выделение геморрагического отделяемого на 10-е сут лечения экспериментальной гнойной раны (Рисунок 11).

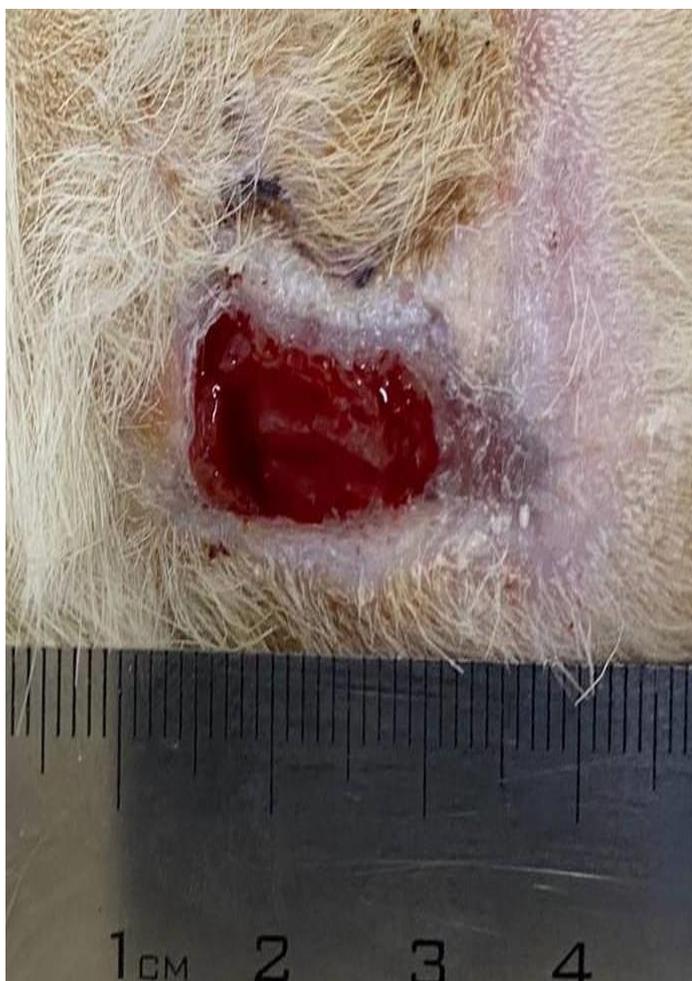


Рисунок 11 – Вид экспериментальной раны у животного контрольной группы (лечение плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны марлевой повязкой с водным раствором хлоргексидина) на 10-е сут лечения

При использовании исходных мембран кровотечения на 10-е сут не отмечалось, повязки удалялись без механического воздействия на мягкие ткани, отделяемое носило серозный характер (Рисунки 12–15). Однако при использовании отоженных мембран механическое повреждение тканей во время снятия материала было более выраженным в сравнении с таковым у животных контрольной группы (см. Рисунок 11).

На поверхности снимаемых повязок (марли и мембран) экссудат имел вид рыхлой пленки, что свидетельствует о хорошем его контакте с повязками во всех исследуемых группах (Рисунок 16).

Удаление экссудата вместе с повязками свидетельствует о хорошей гидрофильной способности материалов, однако при локальном исследовании экспериментальных ран материалы из отоженных мембран показали худший результат по сравнению с исходными (Рисунок 15). Отмечалось гнойное отделяемое в небольшом количестве, однако процесс регенерации не страдал (сформированы вялые грануляции).

На 10-е сут наблюдалось появление грануляционной ткани с хорошей васкуляризацией у крыс, в лечении которых применялись исходные мембраны (Рисунки 12–14), что свидетельствовало о переходе от фазы воспаления к фазе регенерации раневого процесса. По периферии раны отмечался процесс эпителизации.

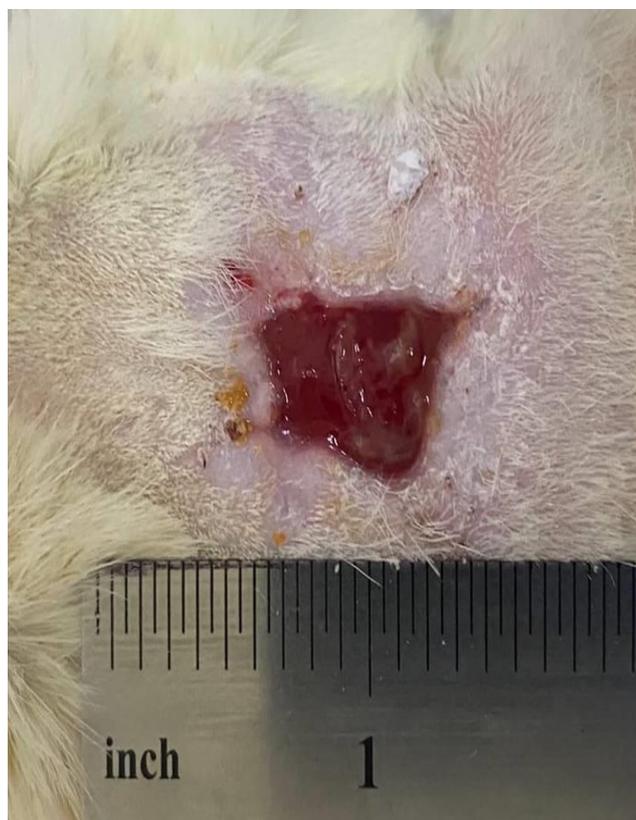


Рисунок 12 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 2 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 5%) на 10-е сут лечения



Рисунок 13 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 3 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 10%) на 10-е сут лечения



Рисунок 14 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 5 (лечение исходной мембраной с содержанием ПВП 40%) на 10-е сут лечения



Рисунок 15 – Вид экспериментальной раны у животного основной группы 9 (лечение отожженной мембраной с содержанием ПВП 20%) на 10-е сут лечения

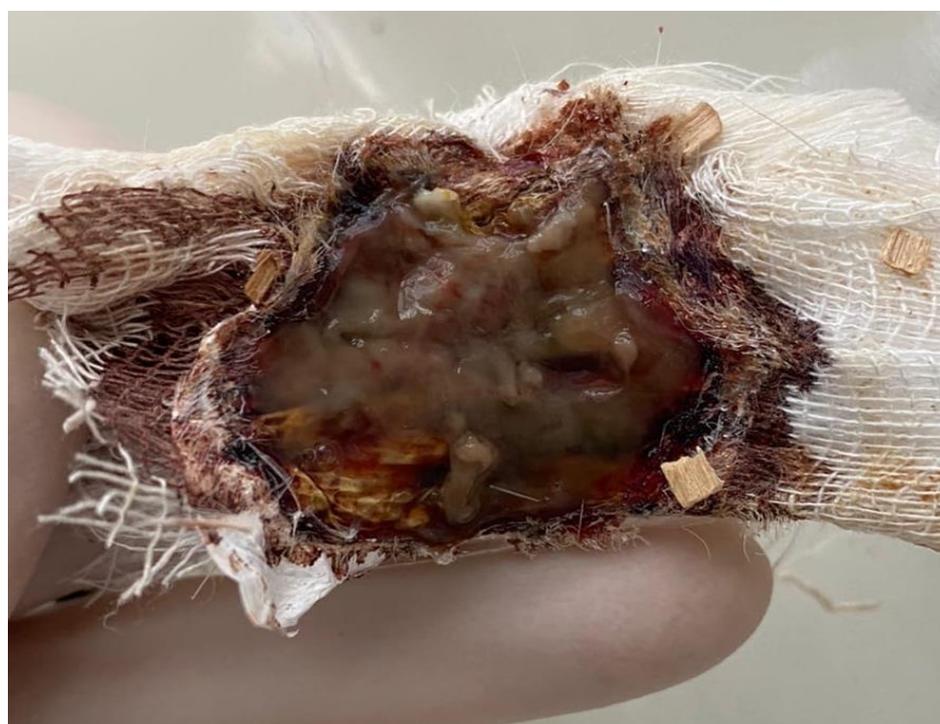


Рисунок 16 – Вид композиционной сегнетоэлектрической полимерной мембраны (исходная с содержанием ПВП 5%) с раневым экссудатом после удаления

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

Как показали полученные результаты, во всех исследуемых группах животных окружающие ткани не были вовлечены в раневой процесс.

Зависимость скорости течения раневого процесса от вида применяемого покрытия отражена в сроках клинических проявлений фаз раневого процесса (Таблица 7). Так, у крыс контрольной группы очищение раны от гнойно-некротического процесса наступало в среднем на $(13,67 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – на $(10,33 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(10,33 \pm 0,58)$ сут. В основных группах 2, 3, 5 и 7 эти сроки были статистически значимо короче на 2–5 сут, чем в контрольной группе.

У животных основной группы 2 (исходная повязка с ПВП 5%) очищение раны от гнойно-некротического процесса регистрировалось в среднем на $(7,33 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – на $(6,67 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(6,67 \pm 0,58)$ сут. В основной группе 3 (исходная повязка с ПВП 10%): очищение раны наблюдалось на $(8,67 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – на $(7,33 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(7,33 \pm 0,58)$ сут. В основных группах 4 (исходная повязка с ПВП 20%) и 7 (отоженная повязка с ПВП 5%) очищение раны происходило в среднем на $(9,00 \pm 0,23)$ и $(8,67 \pm 2,08)$ сут соответственно, появление грануляций – на $(7,00 \pm 0,24)$ и $(7,33 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(7,21 \pm 0,23)$ и $(7,33 \pm 0,58)$ сут соответственно (Рисунки 16–18, Таблица 7).

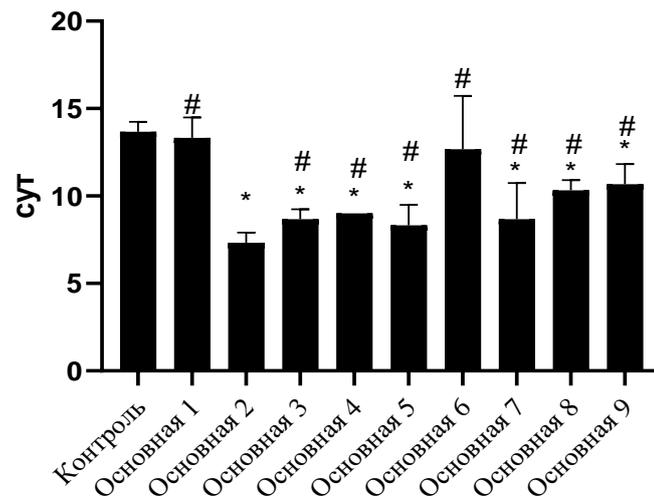


Рисунок 16 – Сроки очищения раны от гнойных и некротических масс у животных экспериментальных групп: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с лучшим результатом (основная группа 2)

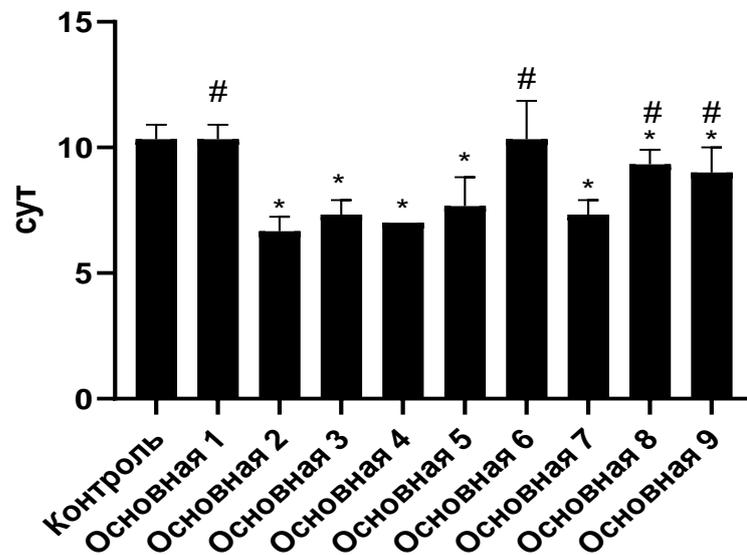


Рисунок 17 – Сроки появления грануляций: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; # – $p < 0,05$ при сравнении с лучшим результатом (основная группа 2)

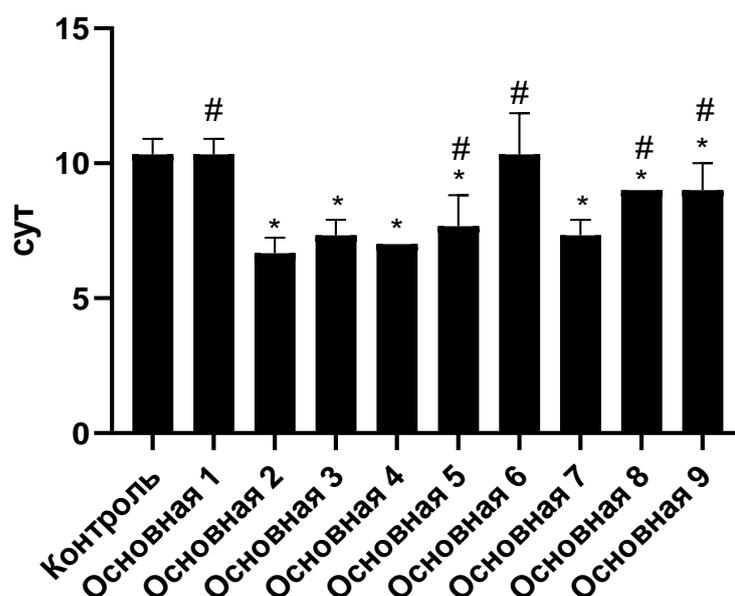


Рисунок 18 – Сроки начала эпителизации: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; # – $p < 0,05$ при сравнении с лучшим результатом (основная группа 2)

Полное заживление гнойной раны у животных контрольной группы наблюдалось в среднем на сроке $(25,0 \pm 1,0)$ сут. Во всех основных группах данные сроки были меньше, а лучший результат регистрировался у крыс основной группе 2, в лечении которых применялась исходная мембрана с содержанием ПВП 5% $(20,67 \pm 0,58)$ сут (Таблица 7, Рисунки 19, 20).

Средние сроки полного заживления ран в «лучших» группах составили: в основной 2 – $(20,67 \pm 0,58)$ сут, в основной 3 – $(23,33 \pm 0,58)$ сут, основной 4 – $(24,00 \pm 0,24)$ сут, в основной 7 – $(22,33 \pm 0,59)$ сут. В контрольной группе крыс эти сроки были статистически значимо больше $(25,00 \pm 1,00)$ сут) значений этих показателей в основных группах ($p < 0,05$) (Рисунок 21).

Таблица 7 – Средние сроки (сут) клинических проявлений раневого процесса на фоне проводимого лечения исходными и отожденными полимерными мембранами с ПВП, $M \pm m$

Группа	Очищение раны от гнойных и некротических масс	Появление грануляций	Начало эпителизации	Полное заживление
Контрольная	$13,67 \pm 0,58$	$10,33 \pm 0,58$	$10,33 \pm 0,58$	$25,00 \pm 1,00$
Основная 1	$13,33 \pm 1,15^{\#}$	$10,24 \pm 0,59^{\#}$	$10,24 \pm 0,59^{\#}$	$24,67 \pm 0,58^{\#}$
Основная 2	$7,33 \pm 0,58^*$	$6,67 \pm 0,54^*$	$6,67 \pm 0,54^*$	$20,67 \pm 0,58^*$
Основная 3	$8,67 \pm 0,58^*$	$7,33 \pm 0,53^*$	$7,33 \pm 0,53^*$	$23,33 \pm 0,58^{\#}$
Основная 4	$9,00 \pm 0,23^{*,\#}$	$7,00 \pm 0,24^*$	$7,21 \pm 0,23^*$	$24,00 \pm 0,24^{\#}$
Основная 5	$8,33 \pm 1,15^*$	$7,67 \pm 1,15^*$	$7,67 \pm 1,23^*$	$23,33 \pm 1,53^{\#}$
Основная 6	$12,67 \pm 3,06^{\#}$	$10,33 \pm 1,53^{\#}$	$10,33 \pm 1,53^{\#}$	$24,33 \pm 2,52^{\#}$
Основная 7	$8,67 \pm 2,08^*$	$7,33 \pm 0,55^*$	$7,33 \pm 0,55^*$	$22,33 \pm 0,59^{*,\#}$
Основная 8	$10,33 \pm 0,58^{*,\#}$	$9,33 \pm 0,56^{\#}$	$9,00 \pm 0,56^{*,\#}$	$24,33 \pm 0,49^{\#}$
Основная 9	$10,67 \pm 1,15^{*,\#}$	$9,00 \pm 1,00^{\#}$	$9,00 \pm 0,98^{*,\#}$	$24,67 \pm 0,54^{\#}$

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; # – $p < 0,05$ при сравнении с лучшим результатом (основная группа 2)



Рисунок 19 – Вид раны у крысы контрольной группы на 25-е сут исследования



Рисунок 20 – Вид раны у крысы основной группы 2 на 20-е сут исследования

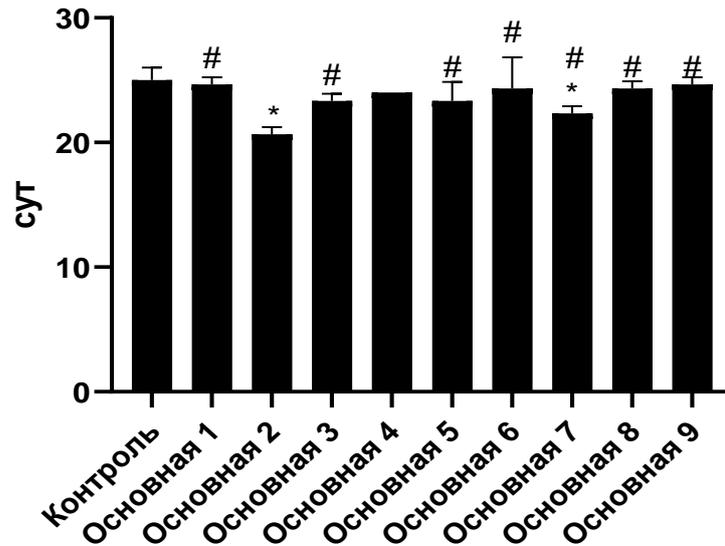


Рисунок 21 – Сроки полного заживления ран в сравниваемых группах:

* – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; # – $p < 0,05$ при сравнении с лучшим результатом (основная группа 2)

3.4 Определение скорости заживления ран

В настоящем исследовании мы применили, по нашему мнению, простой и эффективный способ определения скорости заживления ран за счет оценки планиметрических данных.

Длина периметра ран различалась по своей величине в различные сроки лечения (Таблица 8). Уменьшение значений этого показателя отмечалось во всех группах животных, у которых для лечения применялись образцы исходных полимерных мембран, а также в контрольной группе. В ходе измерений было обнаружено, что длина периметра раны в контрольной группе уменьшалась на $(37,0 \pm 1,5) \%$ к 7-м сут лечения и на $(51,0 \pm 2,3) \%$ к 10-м сут. Лучшие показатели регистрировались в случаях применения исходных мембран с содержанием ПВП 5% и 10%. Так, на 10-е сут их значения достигали $(23,3 \pm 2,0)$ и $(30,3 \pm 5,0)$ мм соответственно. Таким образом, у мембран с содержанием ПВП 5% периметр уменьшился на $(73,0 \pm 2,1) \%$, а с ПВП 10% – на $(61,0 \pm 1,6) \%$ (Рисунки 22, 23).

Таблица 8 – Влияние действия исходных полимерных мембран с различным содержанием ПВП на длину периметра раны (мм), $M \pm t$

Материал	Срок исследования		
	3-й день	7-й день	10-й день
Контроль	71,0 ± 2,0	44,7 ± 4,0	35,3 ± 1,0
ПВП 0%	85,9 ± 2,0*	71,2 ± 2,0**	58,3 ± 3,0**
ПВП 5%	86,2 ± 4,0*	56,8 ± 4,0*	23,3 ± 2,0**
ПВП 10%	79,4 ± 1,0*	59,6 ± 1,0*	30,3 ± 5,0*
ПВП 20%	78,9 ± 4,0*	48,8 ± 2,0	42,2 ± 1,0*
ПВП 40%	66,2 ± 5,0*	60,7 ± 1,0**	44,0 ± 4,0*

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; ** – $p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой

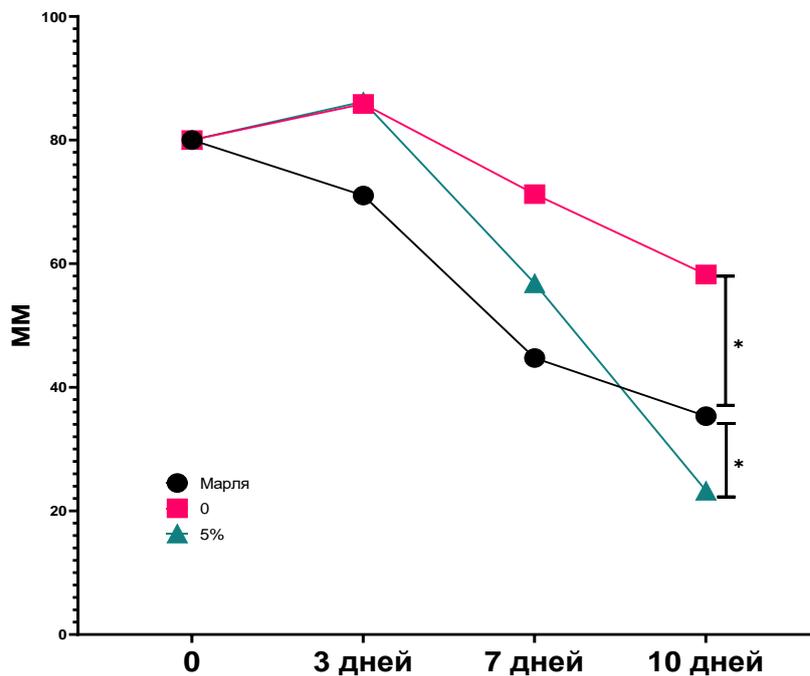


Рисунок 22 – Динамика изменений длины периметра ран (мм) при использовании марлевой повязки и исходных полимерных мембран с ПВП 0% и 5%: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

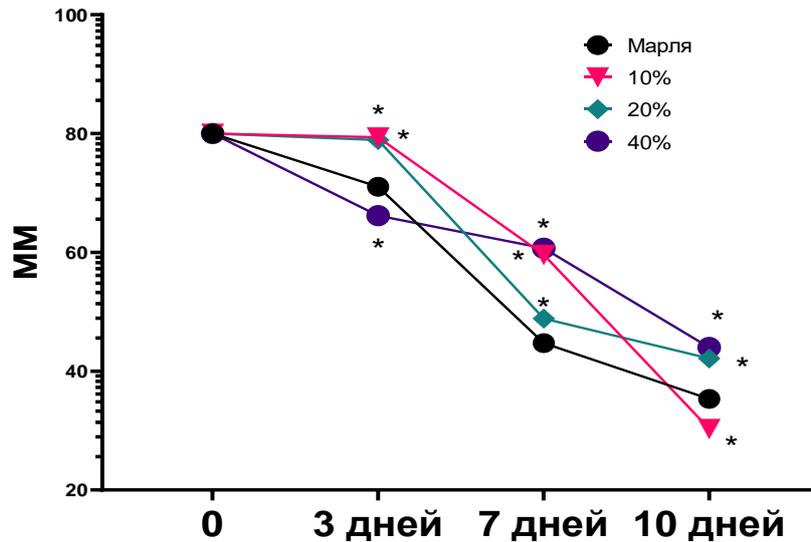


Рисунок 23 – Динамика изменений длины периметра ран (мм) при использовании марлевой повязки и исходных полимерных мембран с ПВП 10%, 20% и 40%: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

Сравнение отоженных мембран показало, что наибольшее статистически значимое уменьшение длины периметра ран (на $64,0 \pm 2,3$ %) по сравнению с контрольными значениями наблюдалось у мембраны содержанием ПВП 5%, составив ($23,97 \pm 4,00$) мм (Таблица 9, 10, Рисунки 24, 25).

Таблица 9 – Влияние действия отоженных полимерных мембран с различным содержанием ПВП на длину периметра раны (мм), $M \pm m$

Материал	Срок исследования		
	3-й день	7-й день	10-й день
Контроль	$71,0 \pm 2,0$	$44,7 \pm 4,0$	$35,3 \pm 1,0$
ПВП 0%	$65,5 \pm 3,0^*$	$62,2 \pm 6,0^{**}$	$60,1 \pm 1,0^{**}$
ПВП 5%	$66,5 \pm 4,0^*$	$58,4 \pm 3,0^{**}$	$23,97 \pm 4,0^{**}$
ПВП 10%	$42,9 \pm 2,0^{**}$	$41,9 \pm 6,0$	$38,6 \pm 2,0$
ПВП 20%	$45,1 \pm 2,0^{**}$	$44,5 \pm 1,0$	$38,2 \pm 2,0$

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; ** – $p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой

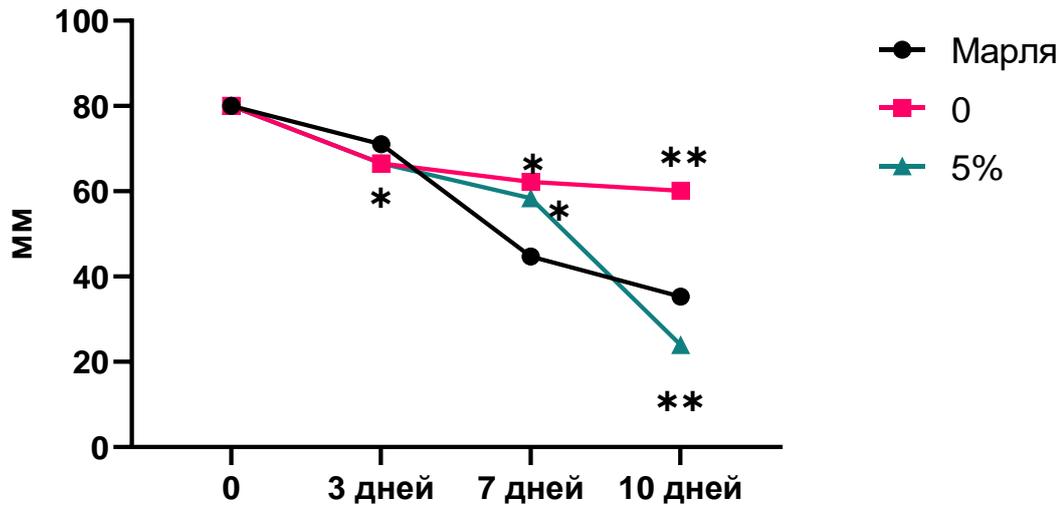


Рисунок 24 – Динамика изменения длины периметра ран (мм) при использовании марлевой повязки и отоженных полимерных мембран с ПВП 0% и 5%

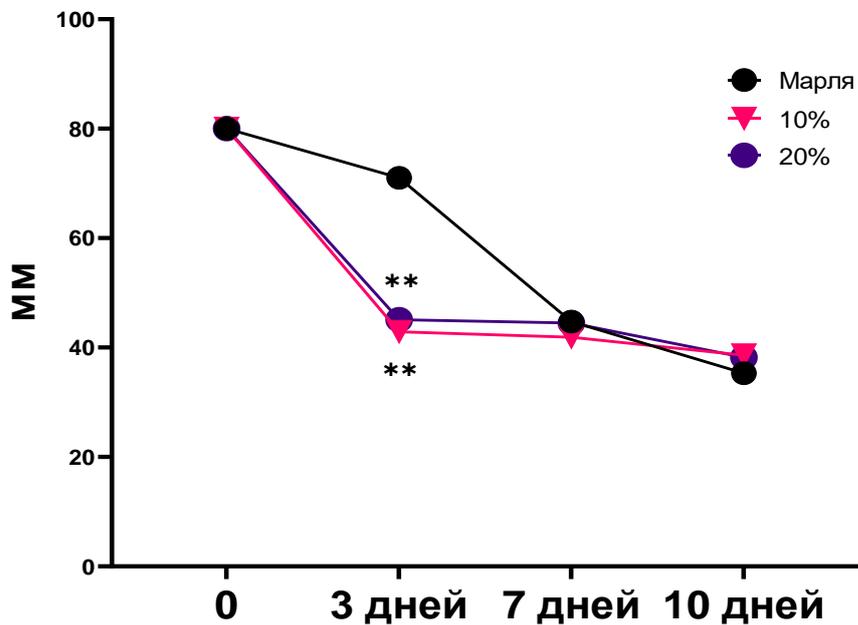


Рисунок 25 – Динамика изменения длины периметра ран (мм) при использовании марлевой повязки и отоженных полимерных мембран с ПВП 10% и 20%

Таблица 10 – Сравнение эффективности действия исходных и отоженных полимерных мембран на длину периметра раны (мм)

Группа	Срок исследования		
	3-й день	7-й день	10-й день
Контроль (марлевая повязка)	71,0 ± 2,0	44,7 ± 4,0	35,3 ± 1,0
Основная 1 (исходные, ПВП 0%)	85,9 ± 2,0*	71,2 ± 2,0**	58,3 ± 3,0**
Основная 2 (исходные, ПВП 5%)	86,2 ± 4,0*	56,8 ± 4,0*	23,3 ± 2,0**
Основная 3 (исходные, ПВП 10%)	79,4 ± 1,0*	59,6 ± 1,0*	30,3 ± 5,0*
Основная 4 (исходные, ПВП 20%)	78,9 ± 4,0*	48,8 ± 2,0	42,2 ± 1,0*
Основная 5 (исходные, ПВП 40%)	66,2 ± 5,0*	60,7 ± 1,0**	44,0 ± 4,0*
Основная 6 (отоженные, ПВП 0%)	65,5 ± 3,0*	62,2 ± 6,0**	60,1 ± 1,0**
Основная 7 (отоженные, ПВП 5%)	66,5 ± 4,0*	58,4 ± 3,0**	23,97 ± 4,0**
Основная 8 (отоженные, ПВП 10%)	42,9 ± 2,0**	41,9 ± 6,0	38,6 ± 2,0
Основная 9 (отоженные, ПВП 20%)	45,1 ± 2,0**	44,5 ± 1,0	38,2 ± 2,0

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; ** – $p < 0,001$ при сравнении с контрольной группой

При сравнении эффективности лечебного действия полимерных мембран было установлено, что лучший результат достигался при использовании как исходных, так и отоженных мембран с содержанием ПВП 5% на 10-е сут: длина периметра составила (23,3 ± 2,0) и (23,97 ± 4,0) мм соответственно (Таблица 10). Уменьшение длины периметра раны при использовании исходной мембраны с содержанием ПВП 5% составило (73,0 ± 2,1) %, у отоженной – (64,0 ± 2,3) %.

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать вывод о том, что при лечении композиционными сегнетоэлектрическими полимерными мембранами – исходными и отоженными с содержанием ПВП 5% – скорость регенерации раны выше по сравнению с таковой, полученной в контрольной группе, а также с другими концентрациями поливинилпирролидона.

3.5 Гистологическая оценка течения раневого процесса

У животных контрольной и основных групп на 3-и сут эксперимента при исследовании наблюдалась сопоставимая гистологическая картина. Первая фаза раневого процесса характеризовалась фибринозно-гнойным воспалением, инфильтрацией ткани, наличием масс фибрина и гнойных телец. Наличие формирующейся соединительной ткани может свидетельствовать о переходе ко второй фазе раневого процесса (Рисунки 26–28).

В этот период наблюдения у крыс контрольной группы определялись фрагменты зрелой волокнистой клеточной фиброзной ткани с наличием капилляров и групп сосудов среднего калибра по типу артериальных с отчетливым эндотелием. По периферии микропрепарата – пласт, представленный массами и нитями фибрина с густой инфильтрацией сегментоядерными нейтрофилами и гнойными тельцами (Рисунок 26).

У экспериментальных животных основной группы 2 на 3-и сут определялись фрагменты жировой клетчатки с наличием рыхлой грануляционной ткани, инфильтрированной лимфоплазмочитарными клетками. По периферии отмечалась картина фибринозно-гнойного воспаления в виде нитей и масс фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов, и гнойных телец (Рисунок 27).

В основной группе 7 у животных определялись фрагменты фиброзно-жировой ткани с небольшим количеством капилляров, единичными сосудами среднего калибра типа артериальных. По периферии фрагмента массы фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец (Рисунок 28).

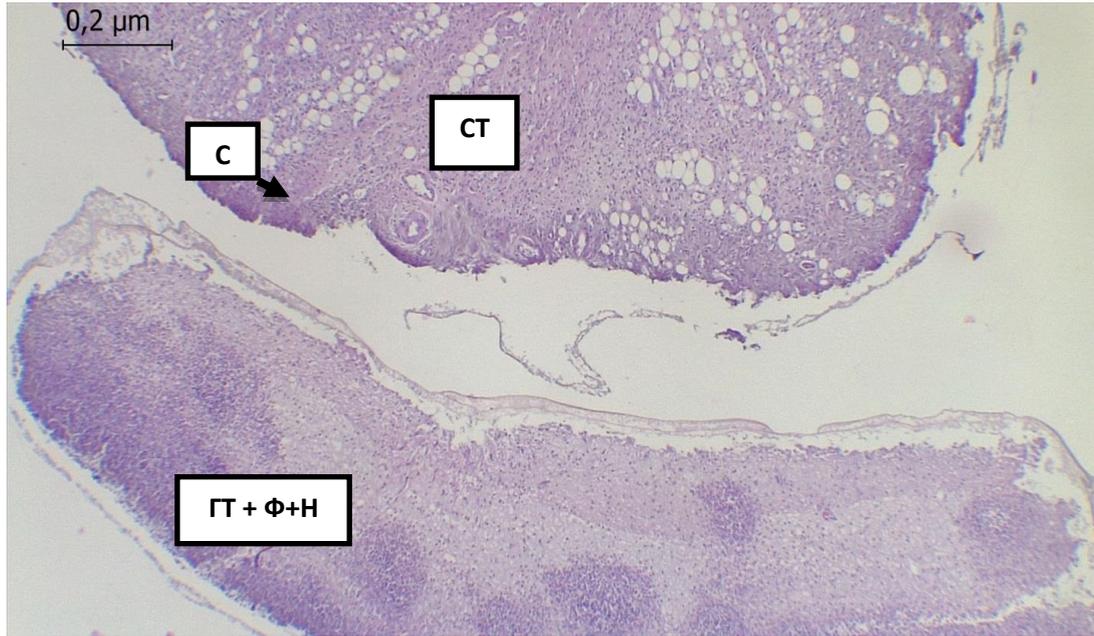


Рисунок 26 – Микропрепарат мягких тканей животного контрольной группы, 3-и сут исследования. Ф – фибрин; Н – нейтрофилы; ГТ – гнойные тельца; С – сосуды; СТ – соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. $\times 40$.

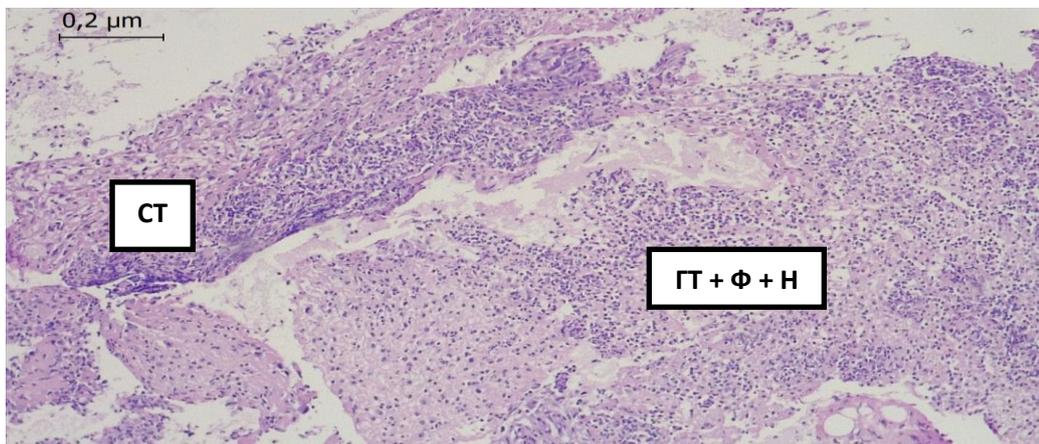


Рисунок 27 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 2, 3-и сут исследования: СТ – соединительная ткань; ГТ – гнойные тельца; Ф – фибрин; Н – нейтрофилы. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. $\times 100$

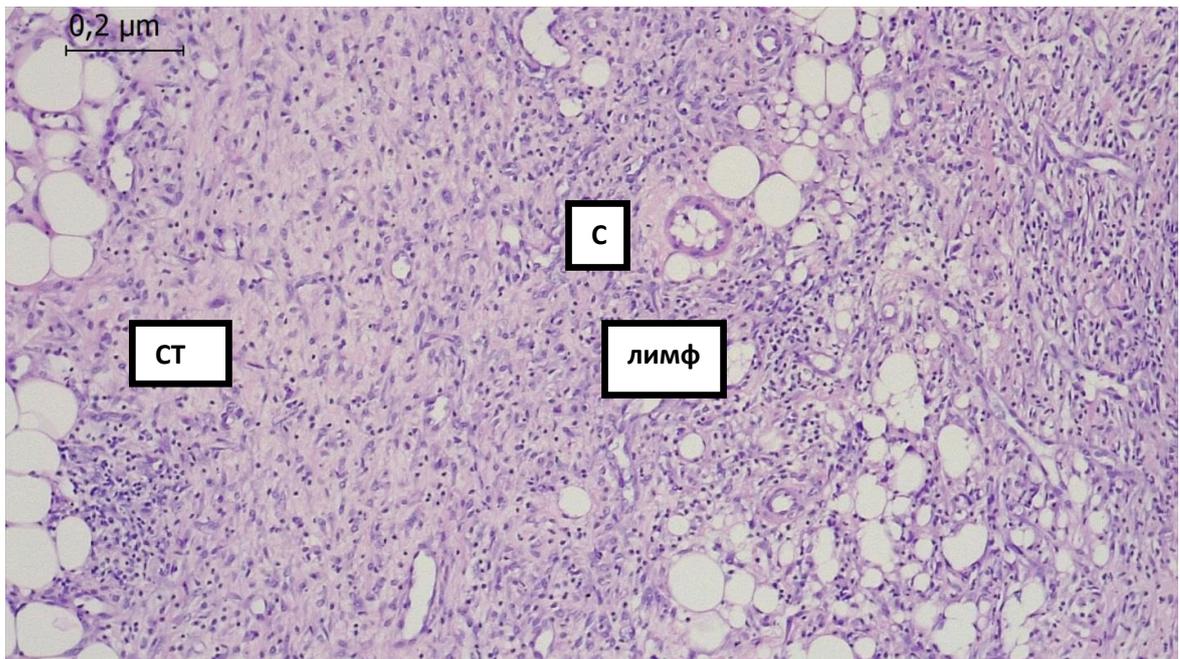


Рисунок 28 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 7, 3-и сут исследования: С – сосуды; СТ – соединительная ткань; лимф – лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

На 10-е сут у животных всех групп признаки воспаления стихали. В основных группах 1–5 (исходные полимерные мембраны) отмечалась фаза регенерации. Формировалась молодая соединительная ткань, фиброзная ткань с большим количеством фибробластов, с переходом в васкуляризованную грануляционную ткань. В контрольной группе и основных группах 6–9 сохраняются элементы воспаления. Мягкие ткани с массами фибрина с нейтрофильной инфильтрацией, по периферии примесь гнойных телец (Рисунки 29–32).

В этот период эксперимента у крыс контрольной группы в травмированной ткани наблюдались массы фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец, окружающие рыхлую соединительную ткань с наличием капилляров, немногочисленных лимфоцитов и плазмоцитов (Рисунок 29).

У животных основной группы 2 отмечались небольшие фрагменты фиброзной клеточной ткани с незначительной инфильтрацией нейтрофилами по периферии и большим количеством капилляров и фибробластоподобных клеток (Рисунок 30).

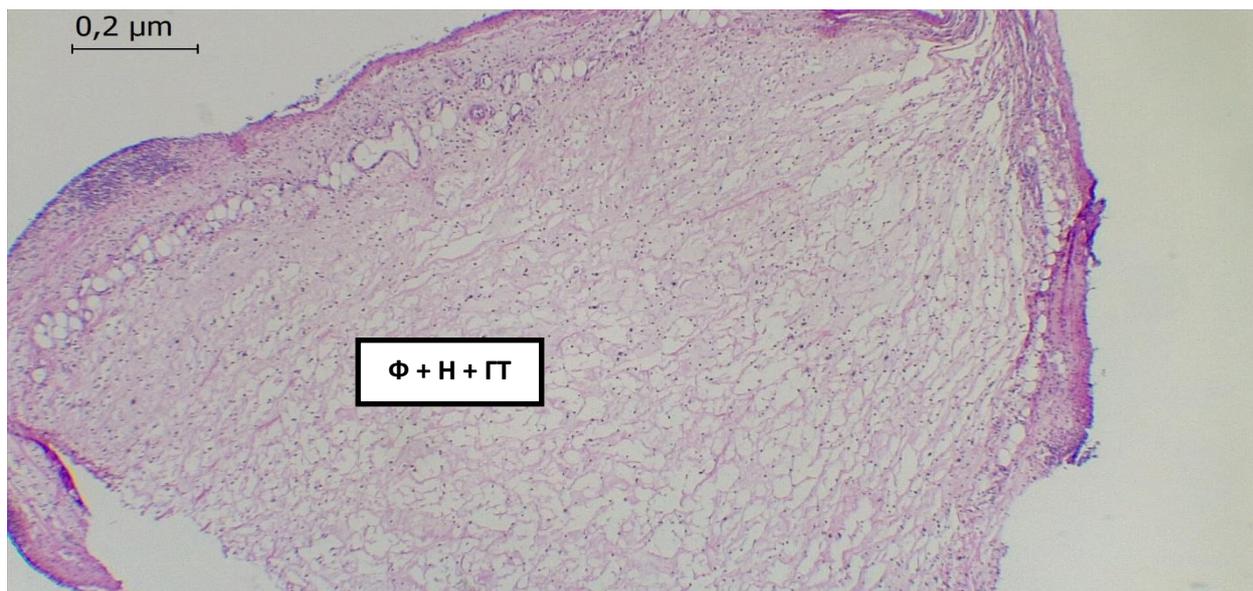


Рисунок 29 – Микропрепарат мягких тканей животного контрольной группы на 10-е сут исследования: Ф – фибрин; Н – нейтрофилы; ГТ – гнойные тельца.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

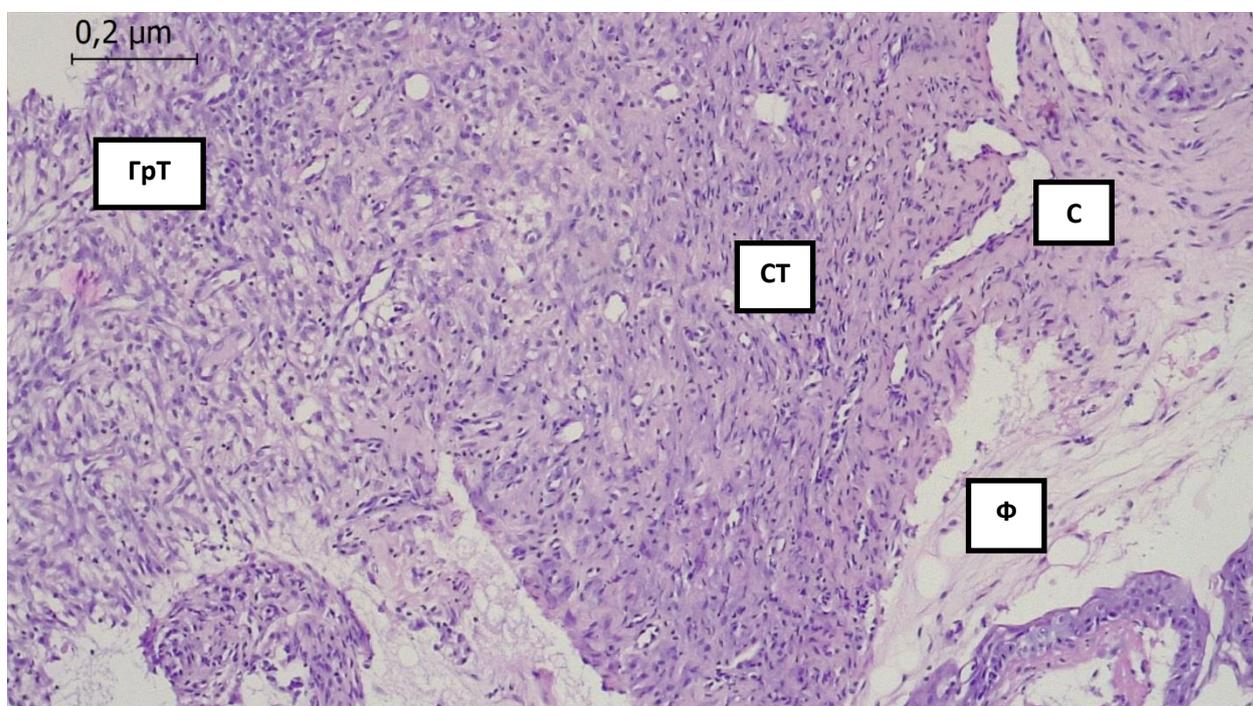


Рисунок 30 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 2 на 10-е сут эксперимента: Ф – фибрин; С – сосуды; СТ – соединительная ткань;

ГрТ – грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. $\times 100$

В основной группе 5 у животных в травмированной ткани определялись фрагменты фиброзно-жировой ткани. В фиброзной ткани наблюдалась картина хронического воспаления в виде очагов лимфоидной инфильтрации, наличия крупных макрофагов с одним, а местами – двумя ядрами, а также неангиогенез в виде большого количества капилляров (Рисунок 31).

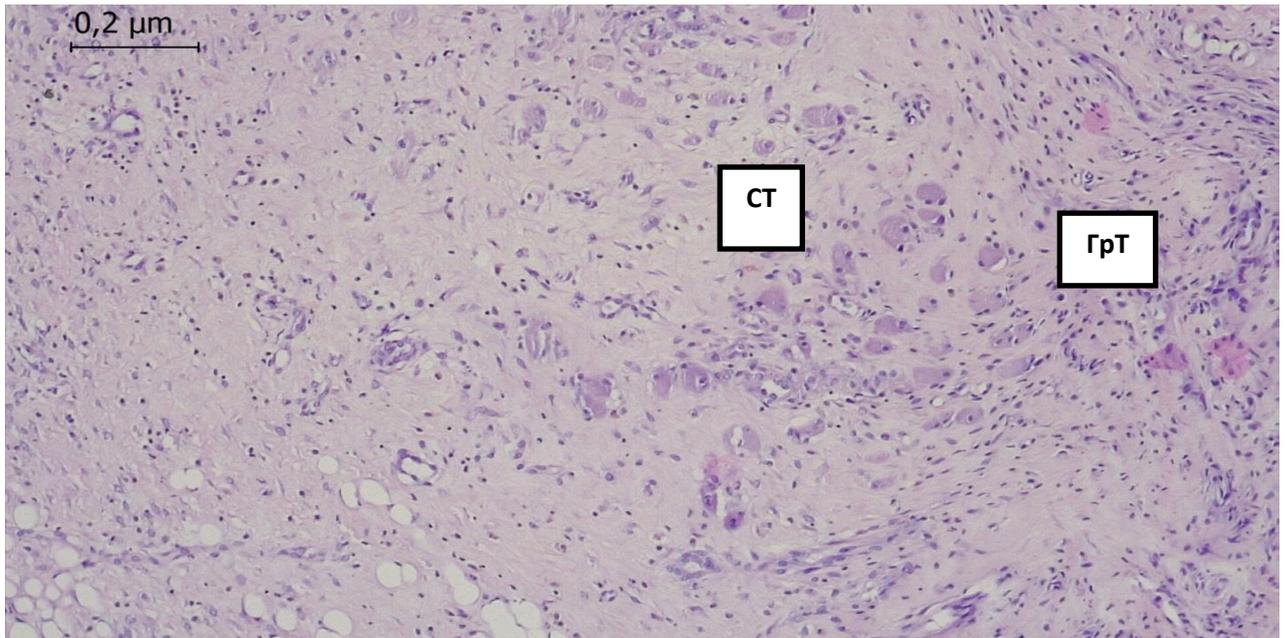


Рисунок 31 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 5 на 10-е сут исследования: СТ – соединительная ткань, ГрТ – грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином.
Ув. × 100

У животных основной группы 7 на 10-е сут эксперимента отмечались жировая ткань с наличием тонких фиброзных прослоек и единичных капилляров, а также массы фибрина с примесью сегментоядерных нейтрофилов и гнойных телец (Рисунок 32).

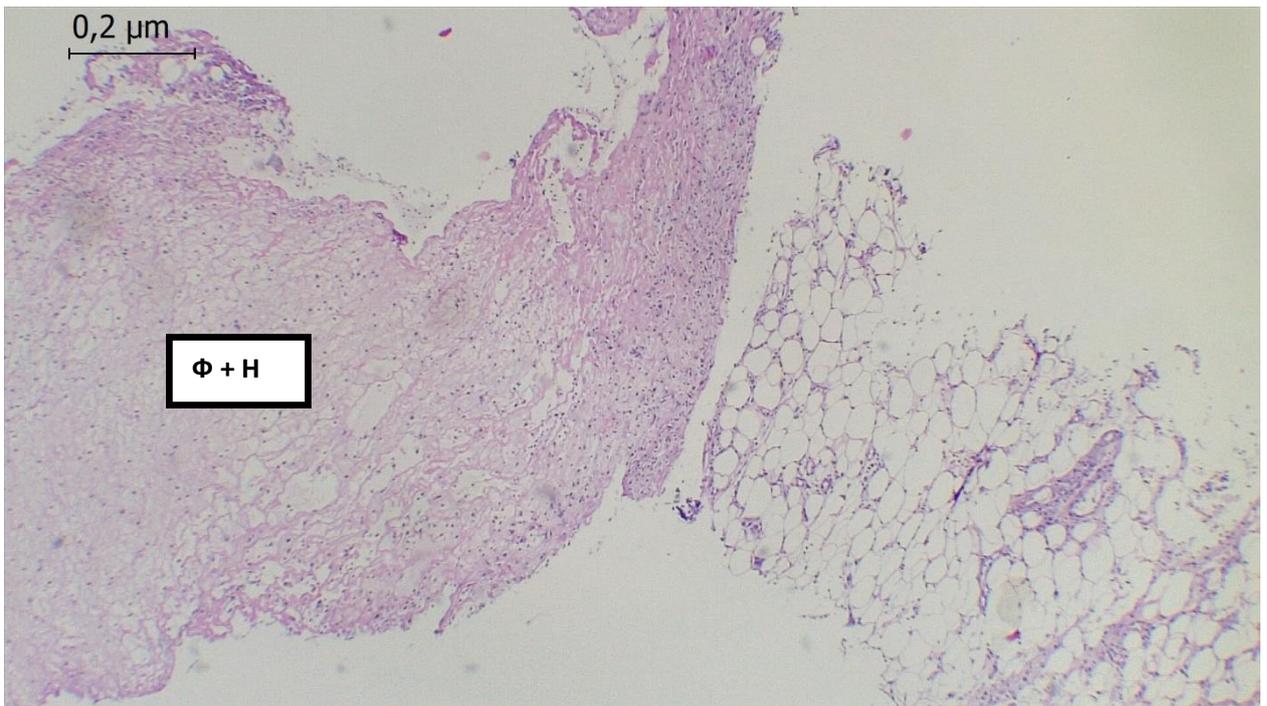


Рисунок 32 – Микропрепарат мягких тканей животного основной группы 7 на 10-е сут. Ф – фибрин, Н – нейтрофилы. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. × 40

Сравнивая гистологические картины во всех группах, мы обнаружили, что наилучший результат достигался при применении для лечения исходных полимерных повязок: отмечался более быстрый переход от воспаления к регенерации. В контрольной и основных группах 6–9 процесс воспаления носил вялотекущий характер, сохранились элементы гнойного воспаления даже на 10-е сут эксперимента.

Реакция тканей созданной плоскостной полнослойной кожно-мышечной раны в процессе эксперимента являлась общепатологической на гнойное воспаление и проведенное оперативное вмешательство.

3.6 Результаты бактериологических исследований раневой поверхности гнойных ран

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

На 3-и сут лечения (через 6 сут после создания модели гнойной раны) в раневой поверхности у крыс контрольной группы микробная обсемененность соответствовала 10^5 КОЕ/мл. В то же время у животных, леченных исследуемыми материалами, раневые поверхности имели микробную обсемененность, не превышающую в большинстве случаев 10^5 КОЕ/мл (Рисунки 33, 34).

К 7-м сут лечения в контрольной группе животных число колониеобразующих единиц в одном миллилитре раневого отделяемого снизилось до 10^4 и статистически значимо отличалась от показателей 1-х сут наблюдений ($p < 0,05$). Бактериологические исследования раневой поверхности у крыс основных групп выявили снижение числа микробных тел до 10^3 КОЕ/мл, а в группах 2 и 7 (исходные и отоженные полимерные мембраны с содержанием ПВП 5%) имело место статистически значимое снижение до критического уровня – 10^2 КОЕ/мл ($p < 0,05$) (Рисунки 33, 34).

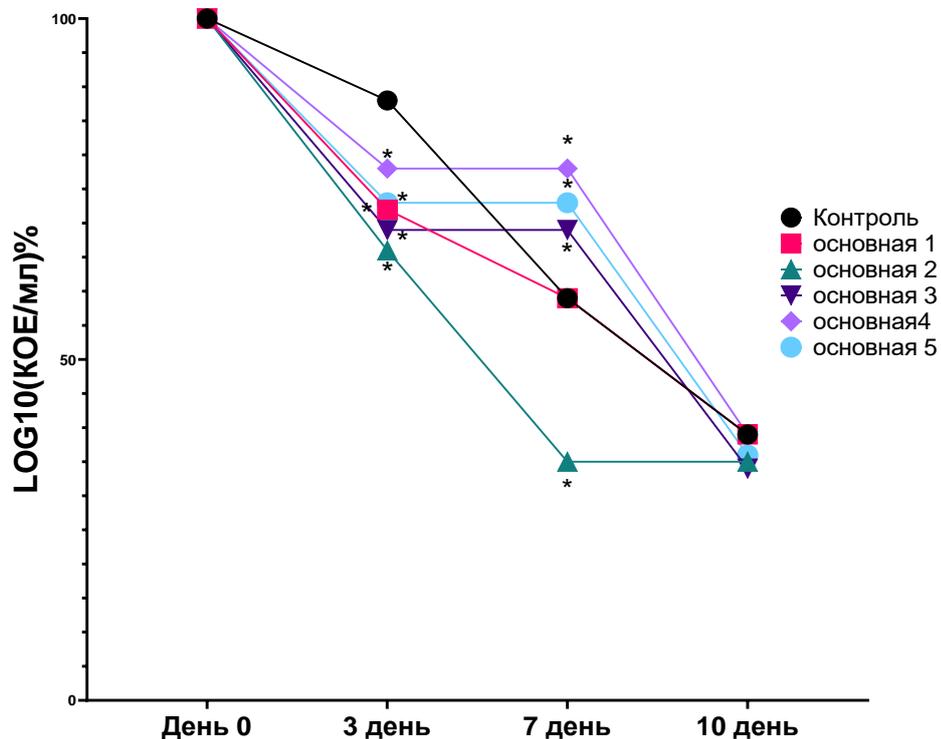


Рисунок 33 – Оценка изменения степени микробной обсемененности, $\text{Log}_{10}(\text{КОЕ}/\text{мл})$ в процентах от первоначальной степени микробной обсемененности колониеобразующих единиц, в контрольной и основных группах 1–5

На 10-е сут лечения у животных контрольной группы и основных групп 6 и 9 микробная обсемененность имела устойчивую тенденцию к снижению. Было отмечено появление ассоциированной инфекции *E. coli* в 10^2 КОЕ/мл. К этому сроку исследования в основных группах 2, 5 и 7 число микробных тел составляло 10^2 КОЕ/мл и статистически значимо отличалось от значений показателей в контрольной группе ($p < 0,05$) (Рисунки 33, 34).

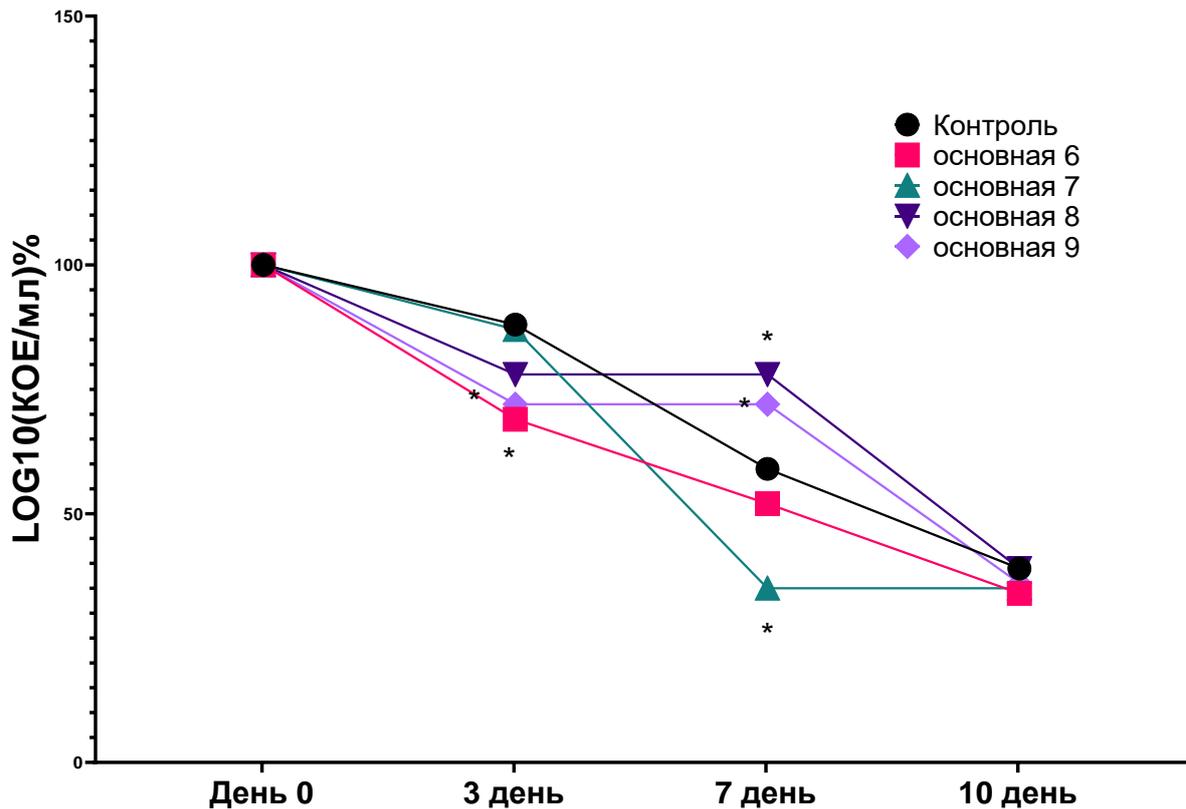


Рисунок 34 – Оценка изменения степени микробной обсемененности, $\text{Log}_{10}(\text{КОЕ}/\text{мл})$ в процентах от первоначальной степени микробной обсемененности колониеобразующих единиц, в контрольной и основных группах 6–9

Таким образом, композиционные сегнетоэлектрические исходные полимерные мембраны с содержанием ПВП 5% показали лучшие результаты при лечении экспериментальных гнойных ран в сравнении с применением для этой цели марлевой повязки с водным хлоргексидином по таким показателям, как антибактериальная активность и сроки заживления ран.

В остальных основных группах полимерные мембраны также показали эффективность выше, чем при использовании в лечении стандартной марлевой повязки в контрольных группах.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ

Гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей являются одними из наиболее распространенных в практике хирургов в поликлиническом звене. Течение таких нозологий нередко приводит к серьезным осложнениям, которые требуют лечения в стационаре.

Ведущими методами лечения данной патологии остаются комбинированные, то есть применение перевязочных материалов и препаратов для местного лечения в комбинации с антибактериальной терапией. Однако, несмотря на постоянное совершенствование этих методов, заметной тенденции к улучшению ситуации не отмечается.

В этой связи актуальной является разработка новых материалов для местного лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. Данное направление в хирургии считается одним из перспективных.

Результаты проведенного нами экспериментального исследования свидетельствуют об эффективности действия композиционных сегнетоэлектрических полимерных мембран на заживление плоскостной полнослойной кожно-мышечной гнойной раны в сравнении со стандартной марлевой повязкой, пропитанной водным раствором хлоргексидина. В качестве сырья для прядильных растворов мембран использовались полимер поливинилпирролидон К17 (ПВП К17), сополимер ВДФ-ТФЭ, наночастицы ZnO, ацетон и изопропиловый спирт.

Поливинилпирролидон является синтетическим полимером, сочетающим в себе такие свойства, как биосовместимость, нетоксичность, химическая стабильность, хорошая растворимость в воде и других растворителях. Эти свойства делают его пригодным для использования в качестве перевязочного материала в медицине. Включение поливинилпирролидона в структуру мембран обеспечивает эффективную доставку лекарственных препаратов (антибактериального агента) в зону гнойного воспаления за счет сорбирующих способностей [13, 42].

В качестве антибактериального агента использовали наночастицы оксида цинка, который обладает лучшим антибактериальным эффектом и высокой стабильностью, чем другие химические вещества. Эти свойства композиционных мембран способствуют повышению эффективности лечения гнойных ран [46, 94].

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

В исследовании применялись композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны с содержанием поливинилпирролидона: 0%, 5%, 10%, 20% и 40%. Использование различных концентраций ПВП позволило оценить различные по вязкости и проводимости прядильные растворы, а также пористость и гидрофильность сформированных мембран. После прядения часть образцов подвергались отжигу в электрической печи при температуре 105 °С для модификации структуры образцов (отожженные мембраны). Это образцы с содержанием ПВП: 0%, 5%, 10% и 20%.

Установлено, что в результате увеличения содержания ПВП наблюдается уменьшение вязкости и проводимости прядильного материала. За счет своего волокнистого строения мембраны имеют развитую взаимосвязанную пористость, что позволяет собирать выделяемый раной экссудат. При повышении содержания поливинилпирролидона уменьшается диаметр волокон мембран, в результате чего уменьшается краевой угол смачивания. Последнее свидетельствует об улучшении гидрофильных свойств мембран.

Выполненная оценка антибактериальной активности исходных и отожженных мембран показала, что при увеличении содержания поливинилпирролидона и неизменном содержании оксида цинка антибактериальная активность мембран увеличивается. Данный факт свидетельствует о том, что увеличение содержания ПВП приводит к улучшению транспортных свойств сформированных мембран, что обеспечивает миграцию антибактериального агента в зону контаминации. Как показали результаты

исследования, наибольшей антибактериальной активностью обладают мембраны с содержанием ПВП 40%. Модифицированные (отожженные) мембраны продемонстрировали схожие изменения по степени увеличения концентрации ПВП. У исходных образцов антибактериальная активность оценивается как значительная, у отожженных – как сильная.

В эксперименте у животных была сформирована плоскостная полнослойной кожно-мышечная гнойная рана. Лечение осуществляли исследуемым материалом в сравнении с марлевой повязкой с водным раствором хлоргексидина. Течение процесса было проанализировано на основании результатов макроскопических наблюдений, гистологической картины и скорости заживления ран. Оценивались механическое воздействие повязок на мягкие ткани, абсорбционная функция материалов, изменения в клеточном составе раны скорость процесса ее заживления за счет уменьшения длины периметра раневой поверхности.

Полимерные мембраны с содержанием ПВП 5% без термического воздействия на структуру показали более высокие результаты по всем изучаемым параметрам в сравнении с марлевой повязкой с водным хлоргексидином. В экспериментах данный материал продемонстрировал средние показатели по антибактериальной активности, гидрофильности и пористости, однако именно при его применении были достигнуты лучшие результаты в заживлении ран у животных. Уменьшение длины периметра раны на 10-е сут эксперимента составило $(23,3 \pm 2,0)$ мм – статистически значимо на $(73,0 \pm 2,1)$ % меньше по сравнению с результатами, полученными у животных контрольной группы ($p \leq 0,05$): длина периметра в контрольной группе на 10-е сут была равна $(35,3 \pm 1,0)$ мм, а уменьшение составило $(51,0 \pm 2,3)$ %. Механического воздействия на формирующуюся грануляционную ткань не наблюдалось. Процесс регенерации проходил быстрее, чем у контрольных животных, при гистологическом исследовании не выявлялись пласты фибрина и гнойных телец, что свидетельствует об удовлетворительных антибактериальном действии и абсорбционных свойствах.

При оценке течения раневого процесса лучшие результаты были выявлены у исходной полимерной повязки с содержанием ПВП 5%: очищение раны происходило в среднем на $(7,33 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – на $(6,67 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(6,67 \pm 0,58)$ сут. Средний срок полного заживления раны составил $(20,67 \pm 0,58)$ сут. В контрольной группе эти сроки были больше: очищение раны от гнойно-некротического процесса наступило на $(13,67 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – на $(10,33 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – на $(10,33 \pm 0,58)$ сут, полное заживление раны – на $(25,0 \pm 1,0)$ сут лечения.

Реакция мягких тканей при применении перевязочного материала являлась не специфической, а общепатологической на повреждение, вызванной оперативным вмешательством и действием флоры раны.

Другие исследуемые нами полимерные мембраны также продемонстрировали эффективность выше, чем при использовании в лечении стандартной марлевой повязки. Полимерные мембраны с содержанием ПВП более 10% демонстрировали более сильные антибактериальные свойства, чем ПВП 5%. Однако данный факт не оказал существенного влияния на течение раневого процесса. Модификация исследуемых полимерных мембран с помощью отжига также не оказала значимого эффекта на протекающие в ране процессы, хотя привела к улучшению абсорбционных и антибактериальных свойств полимерных мембран. Так, в процессе гистологических исследований были обнаружены признаки вялотекущего (хронического) воспаления в тканях при применении отожженных мембран, вероятно, по причине изменения структуры нановолокон. Указанная тенденция не наблюдалась в случаях использования исходных мембран.

Таким образом, на основании результатов проведенного исследования, мы предлагаем использовать именно исходные полимерные мембраны с содержанием ПВП 5% в качестве одного из перспективных перевязочных материалов для лечения гнойных ран.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом электроспиннинга из прядильных растворов были созданы композиционные сегнетоэлектрические полимерные мембраны, антибактериальную активность которых можно контролировать за счет изменения содержания полимера ПВП и сополимера ВДФ-ТФЭ, при этом содержание антибактериального агента – ZnO остается неизменным.

Использование различных концентраций ПВП позволило оценить различные по вязкости, проводимости, пористости, а также гидрофильности материалы. Полученные результаты показали, что повышение содержание ПВП в исследуемых образцах приводит к уменьшению вязкости и проводимости материалов, а также увеличивает их пористость и гидрофильность, что способствует лучшему впитыванию экссудата и доставке антибактериального агента (ZnO) в плоскостной полнослойной кожно-мышечной гнойной ране.

При проверке на антибактериальную активность полученных материалов было показано, что с увеличением в мембране концентрации поливинилпирролидона происходило усиление противомикробных свойств. В нашей работе также выполнялась оценка отоженных полученных материалов, которая показала у них более высокую антибактериальную активность по сравнению с таковой у исходных повязок. Отоженные материалы продемонстрировали и большую гидрофильность, чем материалы, не подвергнутые отжигу.

При проведении исследований на животных мы обнаружили, что наибольшей эффективностью обладают материалы с содержанием с ПВП 5%: их применение способствовало увеличению скорости заживления ран по сравнению со остальными используемыми материалами.

Также было выявлено, что при неизменном содержании ZnO антибактериальная активность мембран повышалась с увеличением концентрации ПВП. На этом основании можно сделать вывод об улучшении транспортных свойств противовоспалительного агента к зонам, пораженным патогенами.

Термическая обработка не оказала влияние на химический состав полимерных мембран: прослеживаются схожие тенденции в исходных и отожженных образцах. Отжиг повлиял разнонаправленно на лечебные свойства мембран: с одной стороны, повысилась однородность, и структура стала более кристаллической, что положительно сказывается на транспортных свойствах антибактериального агента в зону обсеменения, с другой стороны, не наблюдалось улучшение регенеративных функций по причине хрупкости структур отожженных мембран в результате термического воздействия на них, что вызывает травматизацию тканей при удалении мембран.

ВЫВОДЫ

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

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

3. При оценке сроков клинических проявлений раневого процесса у исходной полимерной повязки с содержанием поливинилпирролидона 5% показатели заживления раны имели значительную положительную динамику: очищение раны – $(7,33 \pm 0,58)$ сут, появление грануляций – $(6,67 \pm 0,58)$ сут, начало эпителизации – $(6,67 \pm 0,58)$ сут. Сроки полного заживления составили $(20,67 \pm 0,58)$ сут. Материал положительно влияет на очищение гнойной раны за счет гидрофильных свойств, а также на процесс регенерации: отмечается более быстрый переход от воспаления к регенерации, фаза регенерации проявляется формированием соединительной и фиброзной ткани с достаточной васкуляризацией при гистологической оценке клеточного состава.

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМП – антимикробные пептиды

ВКМ – внутриклеточный матрикс

ГрТ – грануляционная ткань

ГТ – гнойные тельца

КЛ – кожный лейшманиоз

КОЕ – колониеобразующие единицы

лимф – лимфоциты

ММП – матриксная металлопротеиназа

Н – нейтрофилы

НТ – нановолоконный текстиль

П – плазмоциты

ПВДФ – поливинилиденфторид

ПВП – поливинилпириolidон

поли-N-АГ – поли-N-ацетилглюкозамин

СТ – соединительная ткань

ТФП – тетрафенилпорфирин

УФ – ультрафиолетовый

Ф – фибрин

BC – bacterial colonies, колонии бактерий

ECM – extracellular matrix, внеклеточный матрикс

EGF – epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста

HDF – human dermal fibroblasts, дермальные фибробласты человека

NPWT – negative pressure wound treatment, терапия ран отрицательным давлением

TeFE – тетрафторэтилен

TnFE – трифторэтилен

ВДФ-ТФЭ – винилиденфторид с тетрафторэтиленом

лейк – лейкоциты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белов, А. А. Новые текстильные перевязочные материалы на основе биodeградируемых полимеров, содержащих протеиназы, для лечения ран / А. А. Белов, А. А. Ванюшенкова, Э. Э. Досадина, А. А. Ханафина // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костюченка. – 2018. – Т. 5, №1. – С. 16–26.
2. Больбасов, Е. Н. Сегнетоэлектрические полимеры и композиты на основе фторполимеров для приложений реконструктивно-восстановительной хирургии / Е. Н. Больбасов, В. М. Бузник // XXII Всероссийская конференция по физике сегнетоэлектриков (ВКС-XXII). – Екатеринбург, 2021. – С. 46.
3. Винник, Ю. С. Современные методы лечения гнойных ран / Ю. С. Винник, Н. М. Маркелова, В. С. Тюрюмин // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. – Т. 79, № 1. – С. 18–24.
4. Григорьян, А. Ю. Применение многокомпонентного раневого покрытия в лечении гнойных ран: рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование / А. Ю. Григорьян, А. И. Бежин, Т. А. Панкрушева и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2021. – Т. 28, №2. – С. 16–32.
5. Кузина, М. И. Раны и раневая инфекция: руководство для врачей / М. И. Кузина, Б. М. Костюченко. – М: Медицина, 1990. – 592 с.
6. Миронов, П. Ф. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при лечении наночастицами серебра / П. Ф. Миронов, В. И. Бугаев, Е. А. Тимакова, Л. А. Роговская // Украинский журнал медицины, биологии и спорта. – 2019. – Т. 4, №6. – С. 60–66.
7. Старичков, И.Г. Лечение экспериментальных гнойных ран микроволокнистыми раневыми покрытиями : автореф. ... дис. канд. мед. наук / И.Г. Старичков. – Москва, 2011. – 21 с.
8. Abrigo, M. Electrospun Nanofibers as Dressings for Chronic Wound Care: Advances, Challenges, and Future Prospects / M. Abrigo, S. L. McArthur, P. Kingshott

// *Macromolecular Bioscience*. – 2014. – Vol. 14, No. 6 – P. 772–792. doi:10.1002/mabi.201300561.

9. Afsharian, Y. P. Bioactive electrospun scaffolds for wound healing applications: A comprehensive review / Y. P. Afsharian, M. Rahimnejad // *Polymer Testing*. – 2021. – Vol. 93 – P. 106952. doi:10.1016/j.polymertesting.2020.106952.

10. Alhajj, M. Physiology, granulation tissue / M. Alhajj, P. Bansal, A. Goyal // – StatPearls Publishing, 2020.

11. An, Y. H. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces / Y. H. An, R. J. Friedman // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 1998. – Vol. 43, No 3. – P. 338–348.

12. Andreu, V. Smart dressings based on nanostructured fibers containing natural origin antimicrobial, anti-inflammatory, and regenerative compounds / V. Andreu, G. Mendoza, M. Arruebo, S. Irusta // *Materials*. – 2015. – Vol. 8, No. 8. – C. 5154–5193.

13. Ann, L. C. Antibacterial responses of zinc oxide structures against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pyogenes* / L. C. Ann, S. Mahmud, S. K. M. Bakhori, et al. // *Ceramics International*. – 2014. – Vol. 40, No. 2. – P. 2993–3001. doi:10.1016/j.ceramint.2013.10.008.

14. Ansell, D. M. Pericytes in wound healing: friend or foe? / D. M. Ansell, A. Izeta // *Experimental Dermatology*. – 2015. – Vol. 24, No. 11. – P. 833–834.

15. Arenbergerova, M. Light-activated nanofibre textiles exert antibacterial effects in the setting of chronic wound healing / M. Arenbergerova, P. Arenberger, M. Bednar et al. // *Experimental Dermatology*. – 2012. – Vol. 21, Iss. 8.

16. Armulik, A. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises / A. Armulik, G. Genové, C. Betsholtz // *Developmental Cell*. – 2011. – Vol. 21, No. 2 – P. 193–215.

17. Beyer, S. Ausgeprägte kutane Nekrosen und Blutungsneigung bei einem 73-jährigen Mann / S. Beyer, C. Pfrepper, J. Kronberg, et al. // *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. – 2015. – Vol. 13, No. 3 – S. 252–255.

18. Bielefeld, K. A. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration / K. A. Bielefeld, S. Amini-Nik, B. A. Alman // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2013. – Vol. 70, No. 12 – P. 2059–2081.
19. Chen, H. Electrospun 3D Fibrous Scaffolds for Chronic Wound Repair / H. Chen, Y. Peng, S. Wu, L. P. Tan // *Materials*. – 2016. – Vol. 9. – P. 272. doi:10.3390/MA9040272.
20. Chen, S. Recent advances in electrospun nanofibers for wound healing / S. Chen, B. Liu, M. A. Carlson, et al. // *Nanomedicine*. – 2017. – Vol. 12, No. 11. – P. 1335–1352. doi:10.2217/nnm-2017-0017.
21. Chhabra, H. A nano zinc oxide doped electrospun scaffold improves wound healing in a rodent model / H. Chhabra, R. Deshpande, M. Kanitkar, et al. // *RSC Adv*. – 2016. – Vol. 6. – P. 1428–1439. doi:10.1039/C5RA21821G.
22. Ciombor, D. M. The Role of Electrical Stimulation in Bone Repair / D. M. Ciombor, R. K. Aaron // *Foot Ankle Clin*. – 2005, – Vol. 10. – P. 579–593. doi:10.1016/j.fcl.2005.06.006.
23. Clark, R. A. F. Fibrin Is a Many Splendored Thing / R. A. F. Clark // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2003. – Vol. 121, No. 5 – P. xxi–xxii – doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12575.x.
24. Cobb, C. M. Non-surgical pocket therapy: Mechanical / C. M. Cobb // *Annals of Periodontology*. – 1996. – Vol. 1, No. 1 – P. 443–490.
25. Cui, Z. Recent progress in fluoropolymers for membranes / Z. Cui, E. Drioli, Y.M. Lee // *Prog. Polym. Sci*. – 2014. – Vol. 39. – P. 164–198. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.07.008.
26. Dai, T. Blue light for infectious diseases: *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori*, and beyond? / T. Dai, A. Gupta, C. K. Murray, et al. // *Drug Resistance Updates*. – 2012. – Vol. 15, No. 4. – P. 223–236.
27. Damaraju, S. M. Arinzeh, Structural changes in PVDF fibers due to electrospinning and its effect on biological function / S. M. Damaraju, S. Wu, M. Jaffe, T. L. Arinzeh // *Biomed. Mater*. – 2013, – Vol. 8. – P. 045007. doi:10.1088/1748-6041/8/4/045007.

28. Danti, S. Boron nitride nanotubes and primary human osteoblasts: in vitro compatibility and biological interactions under low frequency ultrasound stimulation / S. Danti, G. Ciofani, S. Moscato, et al. // *Nanotechnology*. – 2013. – Vol. 24. – P. 465102. doi:10.1088/0957-4484/24/46/465102.

29. Dash, M. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications / M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, E. Chiellini // *Progress in Polymer Science*. – 2011. – Vol. 36, No. 8. – P. 981–1014. doi:10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2011.02.001.

30. Dastouri, P. Waveform Modulation of Negative-Pressure Wound Therapy in the Murine Model / P. Dastouri, D. L. Helm, S. S. Scherer, et al. // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2011. – Vol. 127, No. 4 – P. 1460–1466. doi:10.1097/PRS.0b013e31820a63cb.

31. Davies, L. C. Distinct bone marrow-derived and tissue-resident macrophage lineages proliferate at key stages during inflammation / L. C. Davies, M. Rosas, S. J. Jenkins, et al. // *Nature Communications*. – 2013. – Vol. 4, No. 1. – P. 1–10.

32. Davies, L. C. Tissue-resident macrophages / L. C. Davies, S. J. Jenkins, J. E. Allen, P. R. Taylor // *Nature Immunology*. – 2013. – Vol. 14, No. 10. – P. 986–995.

33. Ehterami, A. Fabrication and characterization of highly porous barium titanate based scaffold coated by Gel/HA nanocomposite with high piezoelectric coefficient for bone tissue engineering applications / A. Ehterami, M. Kazemi, B. Nazari, et al. // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2018. – Vol. 79. – P. 195–202. doi:10.1016/j.jmbbm.2017.12.034.

34. Emanet, M. Evaluation of boron nitride nanotubes and hexagonal boron nitrides as nanocarriers for cancer drugs / M. Emanet, Ö. Şen, M. Çulha // *Nanomedicine*. – 2017. – Vol. 12. – P. 797–810. doi:10.2217/nnm-2016-0322.

35. Erba, P. Angiogenesis in Wounds Treated by Microdeformational Wound Therapy / P. Erba, R. Ogawa, M. Ackermann, et al. // *Annals of Surgery*. – 2011. – Vol. 253, No 2. – P. 402–409. doi:10.1097/SLA.0b013e31820563a8.

36. Erickson, J. R. Learning from regeneration research organisms: The circuitous road to scar free wound healing / J. R. Erickson, K. Echeverri // *Developmental Biology*. – 2018. – Vol. 433, No. 2 – P. 144–154.

37. Fang, B. Antimicrobial surfaces containing cationic nanoparticles: How immobilized, clustered, and protruding cationic charge presentation affects killing activity and kinetics / B. Fang, Y. Jiang, K. Nüsslein, et al. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2015. – Vol. 125 – P. 255–263.

38. Ferguson, M. W. J. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention / M. W. J. Ferguson, S. O’Kane // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. – 2004. – Vol. 359, No. 1445. – P. 839–850.

39. Ficat, J. J. Osteogenesis induced by bimorph polyvinylidene fluoride films / J. J. Ficat, G. Escourrou, M. J. Fauran, et al. // *Ferroelectrics*. – 2011. – Vol. 51. – P. 121–128. doi:10.1080/00150198308009062.

40. Fischer, T. H. Non-classical processes in surface hemostasis: mechanisms for the poly-N-acetyl glucosamine-induced alteration of red blood cell morphology and surface prothrombogenicity / T. H. Fischer, C. R. Valeri, C. J. Smith, et al. // *Biomedical Materials*. – 2008. – Vol. 3, No.1 – P. 15009.

41. Fischer, T. H. Poly-N-acetyl glucosamine fibers accelerate hemostasis in patients treated with antiplatelet drugs / T. H. Fischer, W. E. Hays, C. R. Valeri // *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. – 2011. – Vol. 71, No. 2. – P. S176–S182.

42. Franco, P. The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review / P. Franco, I. De Marco // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12, No. 5. – P. 1114 – doi:10.3390/polym12051114.

43. Fulco, I. Poly-N-acetyl glucosamine nanofibers for negative-pressure wound therapies / I. Fulco, P. Erba, R. C. Valeri, et al. // *Wound Repair and Regeneration*. – 2015. – Vol. 23, No. 2. – P. 197–202. doi:10.1111/wrr.12273.

44. George Broughton, I. I. The basic science of wound healing / I. I. George Broughton, J. E. Janis, C. E. Attinger // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2006. – Vol. 117, No. 7S – P. 12S–34S.

45. Gethin, G. Understanding the inflammatory process in wound healing / G. Gethin // *British Journal of Community Nursing*. – 2012. – Vol. 17, Supl. 3. – P. S17–S22.

46. Goel, S. A review on piezo-/ferro-electric properties of morphologically diverse ZnO nanostructures / S. Goel, B. Kumar // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2020. – Vol. 816. – P. 152491. doi:10.1016/j.jallcom.2019.152491.

47. Gupta, K. C. Nanofibrous scaffolds in biomedical applications / K. C. Gupta, A. Haider, Y. R. Choi, I. K. Kang // *Biomaterials Research*. – 2014. – Vol. 18, No. 1. – P. 1–11. doi:10.1186/2055-7124-18-5/FIGURES/4.

48. Gurtner, G. C. Wound repair and regeneration / G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, M. T. Longaker // *Nature*. – 2008. – Vol. 453, No. 7193 – P. 314–321.

49. Han, G. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments / G. Han, R. Ceilley // *Advances in Therapy*. – 2017. – Vol. 34, No. 3/ – P. 599–610 – doi:10.1007/s12325-017-0478-y.

50. Hinz, B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair / B. Hinz // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2007. – Vol. 127, No. 3 – P. 526–537.

51. Hong, J.P. The effect of various concentrations of human recombinant epidermal growth factor on split-thickness skin wounds / J. P. Hong, Y. W. Kim, H. D. Jung, K. Il Jung // *International Wound Journal*. – 2006. – Vol. 3, No. 2. – P. 123–132.

52. Howling, G. I. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro / G. I. Howling, P. W. Dettmar, P. A. Goddard, et al. // *Biomaterials*. – Elsevier, 2001. – Vol. 22, No. 22. – P. 2959–2966.

53. İkinci, G. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* / G. İkinci, S. Şenel, H. Akıncıbay, et al. // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2002. – Vol. 235, No. 1–2. – P. 121–127.

54. Jahromi, M. A. M. Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing / M. A. M. Jahromi,

P. S. Zangabad, S. M. M. Basri, et al. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2018. – Vol. 123. – P. 33–64.

55. Jiang, X. Nanofiber topography and sustained biochemical signaling enhance human mesenchymal stem cell neural commitment / X. Jiang, H. Q. Cao, L. Y. Shi, et al. // *Acta biomaterialia*. – 2012. – Vol. 8, No 3. – P. 1290–1302.

56. Jin, G. Photosensitive and Biomimetic Core-Shell Nanofibrous Scaffolds as Wound Dressing / G. Jin, M. P. Prabhakaran, S. Ramakrishna // *Photochemistry and Photobiology*. – 2014. – Vol. 90, No. 3. – P. 673–681. doi:10.1111/php.12238.

57. Juncos Bombin, A. D. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications / A. D. Juncos Bombin, N. J. Dunne, H. O. McCarthy // *Materials Science and Engineering*. – 2020. – Vol. 114. – P. 110994. doi:10.1016/j.msec.2020.110994.

58. Kang, G. Application and modification of poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes – A review / G. Kang, Y. Cao // *J. Memb. Sci.* 2014. – Vol. 463. – P. 145–165. doi:10.1016/j.memsci.2014.03.055.

59. Kelechi, T.J. A randomized, investigator-blinded, controlled pilot study to evaluate the safety and efficacy of a poly-N-acetyl glucosamine–derived membrane material in patients with venous leg ulcers / T.J. Kelechi, M. Mueller, C.S. Hankin, A. Bronstone, J. Samies, P.A. Bonham // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – Mosby, 2012. – T. 66 – № 6 – C. e209–e215 – doi:10.1016/J.JAAD.2011.01.031.

60. Khan, G. Tinidazole functionalized homogeneous electrospun chitosan/poly (ϵ -caprolactone) hybrid nanofiber membrane: Development, optimization and its clinical implications / G. Khan, S. K. Yadav, R. R. Patel, et al. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2017. – Vol. 103. – P. 1311–1326. doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2017.05.161.

61. Kim, H. S. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing / H. S. Kim, X. Sun, J.-H. Lee, H.-W. Kim, X. Fu, K. W. Leong // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2019. – Vol. 146. – P. 209–239.

62. Kochervinskii, V. V. The structure and properties of block poly(vinylidene fluoride) and systems based on it / V. V. Kochervinskii // *Russ. Chem. Rev.* – 2007. – Vol. 65. – P. 865–913. doi:10.1070/RC1996v065n10ABEH000328.

63. Kotwal, A. Electrical stimulation alters protein adsorption and nerve cell interactions with electrically conducting biomaterials / A. Kotwal // *Biomaterials.* – 2001. – Vol. 22. – P. 1055–1064. doi:10.1016/S0142-9612(00)00344-6.

64. Lazarus, G. S. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing / G. S. Lazarus, D. M. Cooper, D. R. Knighton, et al. // *Wound Repair and Regeneration.* – 1994. – Vol. 2, No. 3. – P. 165–170.

65. Lee, A.-R. C. Enhancing dermal matrix regeneration and biomechanical properties of 2nd degree-burn wounds by EGF-impregnated collagen sponge dressing / A.-R. C. Lee // *Archives of Pharmacal Research.* – 2005. – Vol. 28, No. 11. – P. 1311–1316.

66. Lee, H. Il. p53-, SIRT1-, and PARP-1-independent downregulation of p21WAF1 expression in nicotinamide-treated cells / H. Il Lee, S.-Y. Jang, H. T. Kang, E. S. Hwang // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2008. – Vol. 368, No. 2 – P. 298–304.

67. Lee, Y.-S. The influence of piezoelectric scaffolds on neural differentiation of human neural stem/progenitor cells / Y.-S. Lee, T. L. Arinzeh // *Tissue Eng. Part A.* – 2012. – Vol. 18. – P. 2063–72. doi:10.1089/ten.TEA.2011.0540.

68. Li, Y. Electroactive BaTiO₃ nanoparticle-functionalized fibrous scaffolds enhance osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells / Y. Li, X. Dai, Y. Bai, et al. // *Int. J. Nanomedicine.* – 2017. – Vol. 12. – P. 4007–4018. doi:10.2147/IJN.S135605.

69. Lindner, H. B. Anti-Bacterial Effects of Poly-N-Acetyl-Glucosamine Nanofibers in Cutaneous Wound Healing: Requirement for Akt1 / H. B. Lindner, A. Zhang, J. Eldridge, et al. // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6, No 4. – P. e18996. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0018996.

70. López-Jaramillo, P. A Controlled, Randomized-Blinded Clinical Trial to Assess the Efficacy of a Nitric Oxide Releasing Patch in the Treatment of Cutaneous

Leishmaniasis by *Leishmania* (V.) *panamensis* / P. López-Jaramillo, M. Y. Rincón, R. G. García, et al. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2010. – Vol. 83, No. 1. – P. 97. doi:10.4269/AJTMH.2010.09-0287.

71. Marino, A. Piezoelectric Effects of Materials on Bio-Interfaces, ACS / A. Marino, G. G. Genchi, E. Sinibaldi, G. Ciofani, // *Appl. Mater. Interfaces*. – 2017. – Vol. 9. – P. 17663–17680. doi:10.1021/acsami.7b04323.

72. Marino, A. A. Quasi-static charge interactions in bone / A. A. Marino, J. Rosson, E. Gonzalez, et al. // *J. Electrostat.* – 1988. – Vol. 21. – P. 347–360. doi:10.1016/0304-3886(88)90036-8.

73. Martins, P. Electroactive phases of poly(vinylidene fluoride): Determination, processing and applications / P. Martins, A. C. Lopes, S. Lanceros-Mendez // *Prog. Polym. Sci.* – 2014. – Vol. 39. – P. 683–706. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.07.006.

74. Matsumoto, Y. Development of a wound dressing composed of hyaluronic acid sponge containing arginine and epidermal growth factor / Y. Matsumoto, Y. Kuroyanagi // *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. – 2010. – Vol. 21, No. 6–7. – P. 715–726.

75. Miller, M. A. Inducible resistance to oxidant stress in the protozoan *Leishmania chagasi* / M. A. Miller, S. E. McGowan, K. R. Gantt, et al. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275, No. 43. – P. 33883–33889.

76. Mycielska, M. E. Cellular mechanisms of direct-current electric field effects: galvanotaxis and metastatic disease / M. E. Mycielska, M. B. a Djamgoz // *J. Cell Sci.* – 2004, – Vol. 117. – P. 1631–1639. doi:10.1242/jcs.01125.

77. Nagarajan, S. Design of Boron Nitride/Gelatin Electrospun Nanofibers for Bone Tissue Engineering / S. Nagarajan, H. Belaid, C. Pochat-Bohatier, et al. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2017. – Vol. 9. – P. 33695–33706. doi:10.1021/acsami.7b13199.

78. Naskar, A. Recent Advances in Nanomaterial-Based Wound-Healing Therapeutics / A. Naskar, K. Kim // *Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 12, No. 6. – P. 499. doi:10.3390/pharmaceutics12060499.

79. Ning, C. Electroactive polymers for tissue regeneration: Developments and perspectives / C. Ning, Z. Zhou, G. Tan, Y. Zhu, C. Mao // Progress in Polymer Science. – 2018. – Vol. 81 – P. 144–162. doi:10.1016/j.progpolymsci.2018.01.001.

80. Pärssinen, J. Enhancement of adhesion and promotion of osteogenic differentiation of human adipose stem cells by poled electroactive poly(vinylidene fluoride) / J. Pärssinen, H. Hammarén, R. Rahikainen, et al. // J. Biomed. Mater. Res. – Part A. – 2014. doi:10.1002/jbm.a.35234.

81. Raffetto, J. D. The definition of the venous ulcer / J. D. Raffetto // Journal of Vascular Surgery. – 2010. – Vol. 52, No. 5 – P. 46S–49S – doi:10.1016/J.JVS.2010.05.124.

82. Rajabi, A. H. Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review // A. H. Rajabi, M. Jaffe, T. L. Arinzeh // Acta Biomater. – 2015. – Vol. 24. – P. 12–23. doi:10.1016/j.actbio.2015.07.010.

83. Rajpaul, K. Biofilm in wound care / K. Rajpaul // British Journal of Community Nursing. – 2015. – Vol. 20. Supl. 3 – P. S6–S11.

84. Ramadan, K. S. A review of piezoelectric polymers as functional materials for electromechanical transducers / K. S. Ramadan, D. Sameoto, S. Evoy // Smart Mater. Struct. – 2014, – Vol. 23. – P. 033001. doi:10.1088/0964-1726/23/3/033001.

85. Reinke, J. M. Wound repair and regeneration / J. M. Reinke, H. Sorg // European Surgical Research. – 2012. – Vol. 49, No. 1 – P. 35–43.

86. Ribeiro, C. Dynamic piezoelectric stimulation enhances osteogenic differentiation of human adipose stem cells / C. Ribeiro, J. Pärssinen, V. Sencadas, et al. // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2014. doi:10.1002/jbm.a.35368.

87. Rieger, K. Polyelectrolyte-Functionalized Nanofiber Mats Control the Collection and Inactivation of *Escherichia coli* / K. Rieger, M. Porter, J. Schiffman // Materials. – 2016. – Vol. 9, No. 4. – P. 297. doi:10.3390/ma9040297.

88. Roy, R. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action / R. Roy, M. Tiwari, G. Donelli, V. Tiwari // Virulence. – 2018. – Vol. 9, No. 1. – P. 522–554.

89. Scherer, S. S. Poly-N-acetyl glucosamine nanofibers: a new bioactive material to enhance diabetic wound healing by cell migration and angiogenesis / S. S. Scherer, G. Pietramaggiore, J. Matthews, et al. // *Annals of Surgery*. – 2009. – Vol. 250, No. 2. – P. 322–330.

90. Scherer, S. S. Short Periodic Applications of the Vacuum-Assisted Closure Device Cause an Extended Tissue Response in the Diabetic Mouse Model / S. S. Scherer, G. Pietramaggiore, J. C. Matthews, D. P. Orgill // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2009. – Vol. 124, No. 5 – P. 1458–1465. doi:10.1097/PRS.0b013e3181bbc829.

91. Schneider, M. The impact of antimicrobial photodynamic therapy in an artificial biofilm model / M. Schneider, G. Kirfel, M. Berthold, et al. // *Lasers in Medical Science*. – 2012. – Vol. 27, No. 3. – P. 615–620. doi:10.1007/s10103-011-0998-7.

92. Shrestha, B. K. Bio-inspired hybrid scaffold of zinc oxide-functionalized multi-wall carbon nanotubes reinforced polyurethane nanofibers for bone tissue engineering / B. K. Shrestha, S. Shrestha, A. P. Tiwari, et al. // *Mater. Des.* – 2017. – Vol. 133. – P. 69–81. doi:10.1016/j.matdes.2017.07.049.

93. Singer, A. J. Cutaneous wound healing / A. J. Singer, R. A. F. Clark // *New England Journal of Medicine*. – 1999. – Vol. 341, No. 10. – P. 738–746.

94. Singh, Th. A. A state of the art review on the synthesis, antibacterial, antioxidant, antidiabetic and tissue regeneration activities of zinc oxide nanoparticles / Th. A. Singh, A. Sharma, N. Tejwan, et al. // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2021. – Vol. 295. – P. 102495. doi:10.1016/j.cis.2021.102495.

95. Terada, A. Bacterial adhesion to and viability on positively charged polymer surfaces / A. Terada, A. Yuasa, T. Kushimoto, et al. // *Microbiology*. – 2006. – Vol. 152, No. 12. – P. 3575–3583.

96. Ulubayram, K. EGF containing gelatin-based wound dressings / K. Ulubayram, A. N. Cakar, P. Korkusuz, C. Ertan, N. Hasirci // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22, No. 11. – P. 1345–1356.

97. Usui, M. L. Morphological evidence for the role of suprabasal keratinocytes in wound reepithelialization / M. L. Usui, R. A. Underwood, J. N. Mansbridge, et al. // *Wound Repair and Regeneration*. – 2005. – Vol. 13, No. 5. – P. 468–479.

98. Vaněk, P. Electrical activity of ferroelectric biomaterials and its effects on the adhesion, growth and enzymatic activity of human osteoblast-like cells / P. Vaněk, Z. Kolská, T. Luxbacher, et al. // *J. Phys. D. Appl. Phys.* – 2016. – Vol. 49. – P. 175403. doi:10.1088/0022-3727/49/17/175403.

99. Velnar, T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // *Journal of International Medical Research*. – 2009. – Vol. 37, No. 5. – P. 1528–1542.

100. Verhaegen, P. D. H. M. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: an objective histopathological analysis / P. D. H. M. Verhaegen, P. P. M. Van Zuijlen, N. M. Pennings, et al. // *Wound Repair and Regeneration*. – 2009. – Vol. 17, No. 5 – P. 649–656.

101. Vournakis, J. N. Poly-N-acetyl glucosamine nanofibers regulate endothelial cell movement and angiogenesis: dependency on integrin activation of Ets1 / J. N. Vournakis, J. Eldridge, M. Demcheva, R.C. Muijs-Helmericks // *Journal of Vascular Research*. – 2008. – Vol. 45, No 3. – P. 222–232.

102. Walmsley, G. G. Scarless wound healing: chasing the holy grail / G. G. Walmsley, Z. N. Maan, V. W. Wong, et al. // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2015. – Vol. 135, No. 3 – P. 907–917.

103. Wang, A. Piezoelectric nanofibrous scaffolds as in vivo energy harvesters for modifying fibroblast alignment and proliferation in wound healing / A. Wang, Z. Liu, M. Hu, C. Wang, X. Zhang, B. Shi, Y. Fan, Y. Cui, Z. Li, K. Ren // *Nano Energy*. – 2018. – Vol. 43 – P. 63–71. doi:10.1016/j.nanoen.2017.11.023.

104. Wang, L. Microstructure and thermal properties of polypropylene/clay nanocomposites with TiCl₄/MgCl₂/clay compound catalyst / L. Wang, A. He // *Journal of Nanomaterials*. – 2015. – Vol. 2015. doi:10.1155/2015/591038.

105. Wen, J. Piezoelectric Ceramic (PZT) Modulates Axonal Guidance Growth of Rat Cortical Neurons via RhoA, Rac1, and Cdc42 Pathways / J. Wen, M. Liu // *J. Mol. Neurosci.* – 2014. – Vol. 52. – P. 323–330. doi:10.1007/s12031-013-0149-7.

106. Willyard, C. Unlocking the secrets of scar-free skin healing / C. Willyard // *Nature.* – 2018. – Vol. 563, No. 7732. – P. 86–88.

107. Yoon, D. H. Barium ion leaching from barium titanate powder in water / D. H. Yoon, B. I. Lee, P. Badheka, X. Wang // *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* – 2003. – Vol. 14. – P. 165–169. doi:10.1023/A:1022306024907.

108. Yu, S.-W. Cytotoxicity and degradation behavior of potassium sodium niobate piezoelectric ceramics / S.-W. Yu, S.-T. Kuo, W.-H. Tuan, et al. // *Ceram. Int.* – 2012. – Vol. 38. – P. 2845–2850. doi:10.1016/j.ceramint.2011.11.056.

109. Zhao, W. Preparation of animal polysaccharides nanofibers by electrospinning and their potential biomedical applications / W. Zhao, W. Liu, J. Li, X. Lin, Y. Wang // *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* – 2015. – Vol. 103, No. 2 – P. 807–818. doi:10.1002/JBM.A.35187.

110. Zlotnik, S. Functionalized-ferroelectric-coating-driven enhanced biomineralization and protein-conformation on metallic implants / S. Zlotnik, M. Maltez-da Costa, N. Barroca, et al. // *J. Mater. Chem.* – 2019. – B. 7. – P. 2177–2189. doi:10.1039/C8TB02777C.