

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Орлова Ольга Владимировна**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ  
БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН**

3.1.9 – Хирургия

диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
Доктор медицинских наук, доцент  
Жариков Андрей Николаевич

Барнаул  
2024 год

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>                                                                                                                                          | <b>3</b>  |
| <b>Глава 1 СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН. ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОМАТЕРИАЛОВ В МЕДИЦИНЕ И ХИРУРГИИ РАНЕВЫХ ПРОЦЕССОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....</b> | <b>12</b> |
| 1.1 Распространенность, механизмы повреждения, летальность, классификация ожогов кожи и мягких тканей.....                                                    | 12        |
| 1.2 Современные методы лечения ожоговых ран.....                                                                                                              | 18        |
| 1.3 Свойства и безопасность материалов на основе бактериальной целлюлозы.....                                                                                 | 25        |
| 1.4 Медицинские приложения бактериальной целлюлозы.....                                                                                                       | 31        |
| 1.5 Применение раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в лечении ожоговых ран.....                                                                 | 35        |
| <b>Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....</b>                                                                                                                        | <b>38</b> |
| 2.1 Синтез, структура, свойства применяемых в исследовании образцов бактериальной целлюлозы.....                                                              | 38        |
| 2.2 Дизайн экспериментальных исследований.....                                                                                                                | 40        |
| 2.3 Экспериментальная оценка безопасности БЦ (токсичность и острая токсичность).....                                                                          | 42        |
| 2.4 Экспериментальное исследование применения БЦ в качестве раневого покрытия при лечении ожоговых ран.....                                                   | 44        |
| 2.5 Морфологические исследования.....                                                                                                                         | 48        |
| 2.6 Статистическая обработка полученных результатов.....                                                                                                      | 49        |
| <b>Глава 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ.....</b>                                       | <b>50</b> |
| 3.1 Исследование острой токсичности бактериальной целлюлозы при накожном применении.....                                                                      | 51        |
| 3.2 Патоморфологическое исследование изменений внутренних органов крыс при применении бактериальной целлюлозы.....                                            | 56        |
| 3.3 Исследование цитотоксичности бактериальной целлюлозы при контакте с дермальными фибробластами человека .....                                              | 59        |
| <b>Глава 4 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГОВЫХ РАН</b>                                           | <b>64</b> |
| 4.1 Изменения площади и микробного спектра ожоговых ран при лечении с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в эксперименте.....          | 64        |

|                                       |                                                                                                                                                      |     |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2                                   | Патоморфологические изменения ожоговых ран при использовании различных раневых покрытий.....                                                         | 72  |
| 4.2.1                                 | Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе контроля на 3 и 28 сутки.....                                                                    | 72  |
| 4.2.2                                 | Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием БЦ (физиологический раствор) на 5, 10, 20 и 28 сутки.....                       | 73  |
| 4.2.3                                 | Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием БЦ (1% хлоргексидин) на 5, 10, 20 и 28 сутки.....                               | 77  |
| 4.2.4                                 | Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием в лечении мази Левомеколь на 5, 10, 20 и 28 сутки.....                          | 84  |
| 4.3                                   | Динамика лабораторных показателей крови при лечении экспериментальных ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы..... | 95  |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>                |                                                                                                                                                      | 105 |
| <b>ВЫВОДЫ.....</b>                    |                                                                                                                                                      | 113 |
| <b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b> |                                                                                                                                                      | 115 |
| <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>         |                                                                                                                                                      | 116 |
| <b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>         |                                                                                                                                                      | 117 |

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Ожоговая травма продолжает оставаться актуальной проблемой хирургии повреждений [Алексеев А.А. с соавт., 2022; Зиновьев Е.В. с соавт., 2020]. Несмотря на достигнутые успехи в комбустиологии летальность в России варьирует от 3,9 до 5,7%. В настоящее время при наличии пограничных термических ожогов кожи II, III степени широко используется местное лечение с применением разнообразных перевязочных материалов, которые позволяют ускорить заживление ожоговой раны, уменьшить длительность лечения и профилактировать постожоговые осложнения [Бобровников А.Э. с соавт. 2019]. Исследователи и клиницисты, наряду с известными методами (ауто- и аллодермопластика) и материалами (гидрогели, композиционные препараты и др.), для лечения ожоговых ран все чаще обращают внимание на субстанции природного (биологического) происхождения, большая часть из которых может быть с успехом использована для стимуляции процессов репарации и регенерации.

Современные антисептики и атравматичные перевязочные средства, используемые в специализированных ожоговых подразделениях, а также активная хирургическая тактика не в полной мере решают все имеющиеся проблемы, связанные с лечением обожженных. По данным Грибань П.Н. с соавт. (2010) высоким остается лизис аутодермотрансплантатов, частота которых достигает 32% случаев, а нагноение ран донорских участков кожи согласно Вано I. (2017), Goverman J. (2017) встречается в более чем в 70% наблюдений. Это приводит к отрицательным результатам лечения, низкому реабилитационному потенциалу реконвалесцентов, а также к высокой летальности среди больных с обширными и глубокими ожогами, которая по данным Рева И.В. с соавт. (2017) варьирует от 13 до 15%.

Одной из эффективных технологий лечения ожогов кожи является создание над раневой поверхностью закрытой влажной среды, что позволяет

создать механический барьер, уменьшить количество перевязок и добиться более быстрого заживления раневого дефекта.

В последнее время популярным кандидатом для создания новых раневых перевязочных материалов является бактериальная целлюлоза (БЦ) из-за ее высокой механической прочности, биосовместимости, пластичности, биоразлагаемости, водоудерживающей способности и нетоксичности [Sulaeva I. et al., 2015; Liu W. et al., 2020]. Сегодня она применяется во многих областях экономики, включая не только биомедицину, но и упаковки для пищевых продуктов, электронику, передающие устройства и т.д. [Gregory D.A. et al., 2021; Choi S.M. et al., 2022]. Наноструктуру ей придает уникальная трехмерная сетка из микрофибрилл, толщиной от 25 до 200 нм, обеспечивающая большую площадь поверхности, эластичность, сопротивление и гибкость [Skiba E.A. et al., 2021]. По сравнению с растительной целлюлозой, БЦ не содержит лигнина и других полисахаридов [Lee K.Y. et al., 2014; Portela R. et al., 2019]. Благодаря этим преимуществам ее рассматривают в качестве основы для различных медицинских изделий, перевязочных средств и делают возможность применения этого материала в различных биомедицинских приложениях, включая инженерию костной ткани [Saska S. et al., 2011], формирование кровеносных сосудов в микрохирургии [Klemm D. et al., 2001], сердечно-сосудистой хирургии (при дефектах сонных артерий), разработку сосудистых стентов [Fink H. et al., 2010], лечение ожогов [Czaja W. et al., 2007] и восстановления кожи [Fu L. et al., 2012], замену хрящевой ткани уха [Nimeskern L. et al., 2013], регенерацию поврежденных нервных волокон [Kowalska-Ludwicka K. et al., 2013], лечение трофических язв [Portal O. et al., 2009], в том числе при синдроме диабетической стопы [Solway D.R. et al., 2011], замену твердой мозговой оболочки [Rosen C.L. et al., 2011], лечение заболеваний парадонта, восстановления костей носа, в качестве матрицы для роста роговицы и т.д.

В этой связи система лечения ожогов кожи во влажной среде с привлечением новых влажно высыхающих биоматериалов может явиться перспективной технологией лечения.

## Степень разработанности темы исследования

В настоящее время существует несколько ключевых проблем в стандартной процедуре лечения ожоговых ран, что влияет на ускорение их заживления при минимизации процессов рубцевания [Phelan H.A. et al., 2019]: предотвращение экссудации из ран (увеличивается до 70 раз по сравнению с нормальной кожей), защита раневой поверхности от инфекции, быстрое и эффективное закрытие раны, которое может быть выполнено с использованием кожного трансплантата или других заменителей кожи (ауто- аллотрансплантаты, ксенотрансплантаты) [Balasubramani M. et al., 2001; Baxter R.M. et al., 2013]. В многочисленных исследованиях установлено, что повязки БЦ особенно эффективны при экссудующих ожоговых ранах и ранах с повышенной температурой [Czaja W. et al., 2007]. Благодаря высокому содержанию воды они могут охлаждать место ожога и снимать боль [Aboelnaga A. et al., 2018]. Создавая защитный механический барьер в случае свежих и неглубоких ожоговых ран повязки БЦ смогут ускорить процесс эпителизации, снизить риск инфицирования и потери жидкости [Coelho G.A. et al., 2020], а при глубоких ожогах (II и IIIa степени) способствовать удалению некротизированных тканей из раны и стимуляции ангиогенеза [Brassolatti P. et al., 2018].

Таким образом, применение БЦ, как нового медицинского биопродукта является перспективным при лечении ран кожи и мягких тканей различного генеза, особенно ожоговых ран, где она может не только обеспечить комфортную влажную среду для раны, абсорбировать ее раневой экссудат, предотвратить бактериальную инфекцию, но и позволяет ране свободно дышать, не прилипать к ее поверхности и не вызывать вторичную травматизацию формирующихся регенераторных клеток. В этой связи БЦ становится новым, современным биоматериалом для создания на ее основе раневых покрытий в комбустологии и исследование ее дополнительных возможностей в этой связи становится актуальным.

## **Цель исследования**

Экспериментально обосновать биомедицинскую технологию хирургического лечения глубоких ожоговых ран с помощью раневых биологических покрытий на основе бактериальной целлюлозы

## **Задачи исследования**

1. В экспериментальных исследованиях на основе проведения токсикологических испытаний изучить безопасность образцов бактериальной целлюлозы, используемых в качестве потенциальных кандидатов раневых биологических покрытий.
2. Разработать в эксперименте формирование глубокого ожога кожи и биомедицинскую технологию лечения ожоговых ран животных с помощью биологических покрытий на основе бактериальной целлюлозы.
3. Дать патоморфологический и морфометрический анализ регенерации глубоких ожоговых ран при использовании биологических покрытий на основе бактериальной целлюлозы в эксперименте и провести сравнение с традиционными технологиями.
4. Изучить эффективность заживления ожоговых ран биологическими покрытиями на основе бактериальной целлюлозы с помощью клинико-лабораторных и микробиологических методов исследования.

## **Научная новизна исследования**

В экспериментальных исследованиях доказана безопасность (острая токсичность и цитотоксичность) пластин влажной бактериальной целлюлозы при использовании их в качестве кожного раневого покрытия у животных и при контакте с дермальными фибробластами человека.

Впервые разработан способ моделирования глубокого ожога кожи в эксперименте, максимально приближенный по механизму к ожоговой травме для дальнейшего изучения возможности местного лечения ожоговых ран с помощью

основных методов, применяемых в комбустиологии, в том числе с помощью биологических покрытий на основе бактериальной целлюлозы.

В эксперименте с помощью клинических, лабораторных, микробиологических методов изучены этапы заживления ожоговых ран с помощью различных биологических раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы. Впервые проведено патоморфологическое и морфометрическое исследование заживления глубоких ожогов кожи в эксперименте в сроки от 3-х до 28 суток в зависимости от применения биологических раневых покрытий БЦ в сравнении с традиционным открытым ведением ожоговых ран.

В ходе сравнительных экспериментальных исследований доказана высокая эффективность заживления ожоговых ран при использовании раневых покрытий на основе БЦ за счет формирования закрытой среды, что способствует, наряду с уменьшением количества перевязок и травматизации раневой поверхности, снижению микробной контаминации, увеличению скорости эпителизации ран, улучшению основных клинических и лабораторных показателей.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Безопасность кожного применения биопленок БЦ продемонстрирована в эксперименте на лабораторных животных, а также при контакте с дермальными фибробластами человека *in vitro*. Полученные данные впервые демонстрируют эффективность применения данного биологического материала в комбустиологии. Патоморфологические изменения ожоговых ран, клинические, микробиологические и лабораторные исследования убедительно доказали высокую скорость заживления ожоговых ран в закрытой среде при использовании раневых покрытий на основе БЦ при сравнении с открытым традиционным ведением. В эксперименте разработан новый способ формирования глубоких ожоговых ран. Установлено, что раневые покрытия на основе БЦ могут способствовать повышению эффективности оказания хирургической помощи в медицинских организациях 1,2,3 уровня при

термических ожогах 2-3 степени. Полученная информация дает возможность обосновать клиническое применение БЦ в лечении ожоговых ран.

### **Методология и методы исследования**

Научно-исследовательская работа проведена на кафедре госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (зав. кафедрой – д.м.н., доцент А.Н. Жариков). Период выполнения: 2023-2024 гг. Для достижения поставленной цели сформулированы задачи, определен двухэтапный дизайн проспективного исследования. Для решения первой задачи проведены экспериментальные токсикологические исследования безопасности раневых биологических покрытий на основе БЦ при нажном контакте с лабораторными животными и дермальными фибробластами человека. Для решения второй задачи в эксперименте разработан способ формирования глубокого ожга кожи и биомедицинская технология лечения ожоговых ран кожи животных с помощью биологических покрытий на основе бактериальной целлюлозы. Для решения третьей и четвертой задачи у экспериментальных животных с ожоговыми ранами проведены клинические, лабораторные, бактериологические, патоморфологические, морфометрические, бактериологические методы исследования.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В экспериментальных исследованиях установлено, что биологические покрытия на основе бактериальной целлюлозы при нажном применении у лабораторных животных не обладают острой токсичностью, а также не приводят к цитотоксическим изменениям при контакте с дермальными фибробластами человека *in vitro*.

2. Биологические покрытия на основе БЦ в процессе высыхания образуют над ожоговой раной плотный струп, который является механическим барьером, препятствующим повреждению образующихся новых дермальных элементов на

раневого поверхности, способствующим снижению ее экссудации, микробной контаминации, что в итоге позволяет уменьшить количество перевязок и ускорить заживление в 1,3 раза быстрее по сравнению с открытым ведением.

3. При использовании биологических покрытий на основе БЦ к 28 суткам лечения экспериментальных ожоговых ран в зарытой среде у более 90% животных основных групп раневые поверхности достигли окончательных патоморфологических критериев заживления (критерий 4), тогда как в группе сравнения это отмечено только у 60% особей, а при морфометрическом исследовании они отличались более эффективным уменьшением плотности воспалительного инфильтрата; меньшей выраженностью нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрации; более компактным расположением фибробластов, коллагеновых волокон; преобладанием количества вновь образованных сосудов капиллярного типа.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность научных положений, результатов исследований и рекомендаций обусловлена дизайном исследования и достаточным количеством экспериментальных животных ( $n=100$ ); современными клиническими, бактериологическими, патоморфологическими, морфометрическими, лабораторными методами; использованием соответствующих характеру распределения изучаемых признаков и величин методов статистического анализа. Основные положения и результаты исследования доложены на: неделе науки в АГМУ 07.02.2023г., 05.02.2024г. (г. Барнаул), межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы абдоминальной, сосудистой хирургии и флебологии» 21 апреля 2023г. (г. Барнаул), 3 Алтайском венозном форуме с международным участием 21-23 сентября 2023г (г. Барнаул). Апробация диссертации состоялась на совместном заседании кафедр госпитальной хирургии, факультетской хирургии им. проф. И.И. Неймарка с курсом ДПО, общей хирургии, оперативной хирургии и топографической

анатомии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул (протокол № от 05.12.2023г.) Методика формирования экспериментального глубокого ожога кожи у крыс изложена в заявке на изобретение № 2023126921/14(059688). Работа прошла экспертную комиссию и рекомендована к защите на заседании диссертационного совета ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России. Материалы диссертации используются в учебно-образовательном процессе на кафедре госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России в соответствии с учебно-методическими планами и программами подготовки студентов по специальности 31.05.01 «Лечебное дело», аспирантов и клинических ординаторов, обучающихся по программам подготовки кадров высшей квалификации по специальности 31.08.67 «Хирургия», а также включены в программы повышения квалификации циклов непрерывного образования врачей-хирургов.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК, 1 из которых в индексируемой базе SCOPUS. Получен патент РФ № 2815760 на изобретение «Способ создания глубокого ожога кожи у крыс в эксперименте».

### **Структура и объём и структура диссертации**

Диссертационная работа построена по традиционному плану, изложена на 143 страницах машинописного текста, включает введение, литературный обзор, 3 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Библиографический указатель содержит 231 литературный источник, из них 34 отечественных и 197 зарубежных публикаций.

Текст иллюстрирован 12 таблицами и 36 рисунками.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют специальности 3.1.9. – хирургия (медицинские науки). Результаты проведённого экспериментального исследования соответствует пункту 4 (экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику) по специальности «хирургия» (медицинские науки).

### **Личный вклад автора в выполнение исследования**

Автор непосредственно участвовала в написании литературного обзора, апробации способа лечения экспериментальных ожоговых кожи у животных с помощью раневых покрытий на основе БЦ, дизайна исследования, выборе методов исследования, в организации и проведении всех его этапов, в обработке медицинского и статистического материала, анализе и интерпретации полученных данных, а также в подготовке публикаций по диссертационной теме. Автор лично принимала участие в выполнении свыше 60% всех перевязок ожоговых ран экспериментальных животных с помощью раневых покрытий на основе БЦ, в проведении обследования в последующем периоде, в выполнении экспериментальных исследований по определению острой токсичности и цитотоксичности БЦ. Результаты исследования опубликованы в рецензируемых журналах, в заявке на изобретение и доложены на научных конференциях.

## Глава 1

# СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ РАН. ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОМАТЕРИАЛОВ В МЕДИЦИНЕ И ХИРУРГИИ РАНЕВЫХ ПРОЦЕССОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Распространенность, механизмы повреждения, летальность, классификация ожогов кожи и мягких тканей

Термическая травма остается одной из сложных проблем хирургии повреждений и продолжает занимать четвертое место по распространенности после дорожно-транспортных происшествий, падений и физического насилия [1,12, 19, 123]. Согласно ВОЗ ежегодно обращается за медицинской помощью с ожогами примерно 6 миллионов человек. При этом частота ожогов достигает 1:1000 населения в год. В настоящее время в России ежегодно регистрируется около 270-280 тысяч пациентов с термическими ожогами, а 20% из них нуждаются в стационарном лечении, остальные больные лечатся в амбулаторных условиях [13]. Несмотря на то, что за последние 15 лет отмечается тенденция к снижению числа ожоговых травм в Российской Федерации, как среди взрослых, так и детей, количество ежегодных госпитализаций пациентов с ожогами и их последствиями за последние 3 года, наоборот, увеличилось, в том числе за счет взрослых пациентов с обширными ожогами [21]. Так, в 2022 году на ожоговых койках медицинских организаций в России находилось на лечении 39993 пациентов с ожогами и их последствиями, а общая летальность у больных с ожогами в среднем составила 4,3%, из них у взрослых с ожогами – 6,9%, а летальность у детей с ожогами – 0,2% [1].

Тяжелые ожоговые повреждения занимают ведущее место в структуре гибели военнослужащих, участвующих в современных вооруженных конфликтах [9] и являются одними из самых тяжелых видов боевой травмы [20]. От всего количества повреждений, полученных в боевых условиях, частота ожогов варьирует от 2 до 5%. В 2022-2023 годах, в связи с проведением

специальной военной операции, значительно возросло количество пострадавших военнослужащих в результате ожоговой травмы [21].

Классификация глубины ожогов (4 степени) разработанная А.А. Вишневым, М.И. Шрайвером используется в России на протяжении многих лет начиная с 60-х годов [3]. Согласно Souza C.M.C.O. et al. (2014) ожоги первой степени являются поверхностными, так как затрагивают только эпидермис, наружный слой кожи, и характеризуются эритемой с небольшим отеком кожи. Ожоги второй степени затрагивают эпидермис и сосочковый слой дермы, который является частью нижнего слоя кожи. Место ожога в основном эритематозное с отеком, часто образуются пузыри, содержащие серозную и серозно-геморрагическую жидкость. Ожоги первой и второй степени называют поверхностными, так как в них сохраняются эпителиальные клетки, и кожные покровы в таких случаях могут восстановиться самостоятельно [191, 195]. При ожогах IIIA степени повреждение уже доходит до сетчатого (росткового) слоя дермы, но при этом большая часть структур придатков кожи (потовые и сальные железы, фолликулы) может быть неповрежденной, в результате чего может быть быстрое восстановление и эпителизация раневого дефекта, а риск рубцевания низким. По данным Алексеева А.А. с соавт. (1999) в ряде случаев, при большой вариабельности ожогов, придатки кожи препятствуют ее самостоятельному заживлению [4]. Если же ожог распространяется на более глубокие слои дермы, при большем повреждении придатков, регенерация эпителия будет проходить трудно, займет больше времени (3–6 недель) с высокой вероятностью образования гипертрофических рубцов, что нередко требует проведение аутодермопластики. В этой связи ожоги 3A степени называют пограничными [16]. Такие ожоги покрыты тонким коричневым струпом или большими волдырями с серозным содержимым желтого цвета

Глубокие ожоги кожи (3Б степень) характеризуются полным повреждением всей толщины кожи, а при 4 степени с переходом на подлежащие мягкие ткани (подкожно-жировая клетчатка, сухожильные элементы, мышцы, кости). При ожогах 3Б степени на раневой поверхности образуется плотный

струп серого или коричневого цвета, фиксированный к подлежащим структурам, а иногда можно отметить наличие больших пузырей с геморрагическим экссудатом, а при ожогах IV степени можно наблюдать плотную черного цвета корочку, глубоко фиксированную к подлежащим тканям. Ожоги 3Б – 4 степени являются глубокими и требуют хирургического вмешательства для обеспечения правильного заживления ран [5].

Как отмечает Алексеев А.А. с соавт. (2015) в 2017 году на 5 съезде комбустиологов Российской Федерации была утверждена международная классификация глубины термического поражения по МКБ-10. В соответствие с международными стандартами к клиническому применению рекомендована классификация ожогов по трем степеням. На основе этой классификации эпидермальными ожогами I степени считаются, ожоги I и II степени из классификации А.А. Вишневого и М.И. Шрайбера, к дермальным ожогам II степени соотносят соответственно ожоги IIIА степени и, наконец, глубоким ожогам III степени соответствуют ожоги IIIБ и III степени – повреждение всех слоев кожи и подлежащих мягкотканых структур.

Для определения площади ожогов в комбустиологии широко используется правило «девятки». Установлено, ладонь человека составляет 1% от поверхности его тела. Для определения доли поврежденной поверхности на теле человека принято выделять 11 сегментов по 9% каждый. В результате каждая верхняя конечность составляет по 9%, обе нижние конечности по 18% от всей площади тела, лицо и шея – 9%, передняя и задняя поверхность туловища по 18% и промежность – 1%. У детей используется модифицированное правило девятки с ошибкой не более 5% [31].

Долгое время исследователи ищут золотой стандарт в процессе лечения ожогов, чтобы не только значительно улучшить и ускорить процесс заживления, но и предотвратить потенциальное инфицирование [8]. Эту задачу решают с помощью моделирования различных по площади и глубине ожогов на животных и последующего использования новых повязок, материалов в лечении. Однако, практически невозможно создать идеальную экспериментальную модель ожога

у животных в связи с особенностями анатомического строения тела различных видов. На крысах сложнее, чем на крупных животных, формировать ожоговую рану большой площади с равномерной глубиной повреждения тканей. Адмакин А.Л. с соавт. (2013) в эксперименте использовали медную пластину с рабочей поверхностью круглой формы ( $D=1,5$  см, что соответствовало  $S=2,25$  см<sup>2</sup>). Было установлено что, при средней массе крысы  $210\pm 20$  гр. площадь поверхности тела соответствует 200 см<sup>2</sup>. Для расчета площади поверхности кожи крысы использовали формулу, предложенную М. Lee в 1929 г. (по Н.И. Кочетыгову, 1964):  $S = 12,54 \times M^{0,66}$ , где  $S$  – поверхность тела, см<sup>2</sup>;  $M$  – масса тела животного. В итоге, средняя площадь поверхности тела подопытных крыс составила  $427\pm 26$  см<sup>2</sup>, а ожог от однократной экспозиции нагретой пластины  $S=2,25$  см<sup>2</sup> соответствовал 0,53% поверхности тела животного. Известен метод измерения площади ожога по Постникову Б.Н., который широко применяется в ветеринарии. Согласно этому методу на ожоговую поверхность накладывается прозрачная пленка, с помощью которой чертят контур имеющейся ожоговой раны. Учитывая общую площадь поверхности тела животного и полученные размеры раны на пленке получают окончательные результаты площади ожоговой поверхности [17].

Эпителизация ожоговой раны с восстановлением нарушенной непрерывности ткани в результате термического воздействия представляет собой трудоемкий процесс, нередко длится продолжительное время [62] и содержит несколько этапов репарации, зависящих от иммунной системы [210]. В целом для полного закрытия ожоговая рана должна последовательно пройти ряд последовательных стадий: 1 стадия - воспаление, 2 стадия – пролиферация (формирование грануляционной ткани) и 3 – стадия - ремоделирование (возможно развитие рубца) [146]. По данным Pikuła M. et al. (2015), Szymański K. et al. (2014) основную роль в заживлении ожоговых ран играет иммунная система пациента, немедленная реакция которой активирует фактор роста фибробластов, тромбоцито - производного фактора роста, биологические медиаторы воспаления (интерлейкин-1, интерлейкин-2, интерлейкин-4,

интерлейкин-8, интерлейкин-10), а также различные факторы роста, многие другие клетки иммунной системы и элементы внеклеточного матрикса [178, 209]. При повреждении тканей происходит автоматическое нарушение гомеостаза, связанное с накоплением жидкости, воспалением и развитием гипоксии [100].

В настоящее время кожа и ожоговые поверхности наиболее подвержены инфекционным осложнениям, особенно в течение первых 7 дней после госпитализации. [72, 123, 157]. Junaidi K. et al. (2019) установили высокую способность контаминации раневого участка с образованием колоний микроорганизмов и развитием клинически видимой инфекции. Культуры штаммов, взятые из раневых мазков, были положительными в 95% случаев [84]. Анализ последних научных исследований, посвященных инфекционным осложнениям у ожоговых больных, показывает, что инфекции ожоговых ран являются самым распространенным видом осложнений, возникающих у обожженных. Ramirez-Blanco C.E. et al. (2017) установили, что в анализируемой группе больных (ожоги II/III степени, возраст >50 лет, огнестрельные ранения) бактериальные раневые инфекции не были наиболее распространенной инфекцией и наблюдались только у 4,2% пациентов, а инфекции кожных лоскутов возникали в 1,7% случаев [189]. При анализе изменений, происходящих на обожженной поверхности, помимо контаминации раны грамположительными кокками в начальных фазах, в раневой процесс чаще вовлекаются грамотрицательные бактерии. Труднозаживающие раны и хронические раны часто имеют полимикробную этиологию. Наблюдается рост флоры в культурах и к тому же бактерии могут создавать и модифицировать структуру биопленки. Влажная раневая среда способствует быстрому росту бактерий, особенно из семейства Enterobacteriaceae, которые поражают более глубокие слои кожи. Биопленка представляет собой структуру, образованную сообществом микробных клеток. Возникающие инфекционные осложнения у ожоговых больных увеличивают стоимость и продолжительность лечения, а смертность. Как отмечают Ward J. et al. (2018), Bahemia I.A. (2015) при наличии

общего тяжелого состояния госпитализированных пациентов, контроль инфекций является одной из основных задач, с которой сталкиваются врачи при лечении больных с глубокими ожогами [116, 156, 189, 217].

Биопленки, возникающие на неживых ожоговых поверхностях и в мертвых тканях, благодаря уникальному и сложному матриксу из вне клеточных полимерных веществ создают благоприятные условия для роста микроорганизмов. Согласно Brandenburg K.S. et al., (2019) образующаяся бактериальная слизь способствует адгезии к тканям, защищает микроорганизмы от элементов иммунной системы, способствует активации макрофагов и стимулирует выработку медиаторов воспаления, таких как IL-6 и TNF- $\alpha$ . Это позволяет патогенным микроорганизмам выживать в присутствии широко используемых антибиотиков, даже в концентрациях, значительно превышающих стандартные дозы (Ramírez T. et al., 2019) [115, 188]. В этой связи местное применение антибиотиков и противогрибковых средств необходимо для успешного лечения инфицированных ран. Согласно Catanzano O. et al. (2021), Farahani M. et al. (2021) естественные сигнальные молекулы, участвующие в процессе заживления, такие как цитокины, компоненты внеклеточного матрикса и ткане специфические факторы роста, могут быть использованы в качестве активных ингредиентов в передовых композитных перевязочных и ранозаживляющих материалах. [85, 112]. Значимым патофизиологическим компонентом термической травмы является развитие окислительного стресса. Перфузия ишемизированных тканей после ожогового повреждения приводит к дисбалансу между реактивными видами кислорода и антиоксидантным и защитными системами из-за перепроизводства свободных радикалов (Вописси J. et al., 2018) [211].

Лечение глубоких ожогов остается сложной задачей, так как первичная клиническая объективная оценка ожога зачастую затруднена и может неправильно классифицироваться, особенно при ожогах средней тяжести. Глубокие ожоги часто требуют хирургического вмешательства для удаления необратимо измененных тканей. Согласно Esteban-Vives R. et al. (2016) при

глубоких и обширных ожогах консервативное лечение часто оказывается неадекватным из-за плохого общего состояния пациента. [196]. Правильное местное лечение ожоговых ран приводит к успеху, однако до сих пор не разработаны и широко не внедрены идеальные повязки, позволяющие осуществлять полное самозаживление раневых дефектов без постоянного контроля и ухода.

## **1.2 Современные методы лечения ожоговых ран**

Как указывает Nessler M. et al., (2013) в первой половину XX-го века лечение ожоговых больных было очень затруднительным, и большинство больных погибали от гиперволемического шока в ранние сроки после термической травмы [165]. Во второй половине XX-го века, благодаря интенсивно развивающейся регенеративной медицины, разработке местного лечения ожоговых ран и фармакотерапии результаты лечения ожоговых пациентов значительно улучшились. Основой лечения больных с пограничными ожогами II-III степени является хирургическая тактика, которая позволяет улучшить исходы ожоговой травмы и сократить время пребывания в стационаре. Принцип активной хирургической тактики в лечении глубоких ожогов требует наличия современных раневых повязок, как основного метода современной ожоговой науки. Однако основой восстановления дефектов кожи является аутодермопластика. Зачастую одномоментное окончательное закрытие обширных глубоких ожогов невозможно, а недостаток донорских тканей и необходимость подготовки ожоговых ран к аутодермопластике диктуют необходимость использования повязок для их временного закрытия. В настоящее время продолжают оставаться дискуссионными методы местного лечения ожоговых ран, и в частности сухой и влажный [15, 28]. Большинство авторов отдает предпочтение высушиванию ожоговых ран с целью образования сухого некротического струпа коагуляционного характера, который реализуется открытым и повязочным (полуоткрытым) способом с применением медицинской марли. Концепция ведения ран сухим методом основана на том, что

формирование плотного сухого струпа создает неблагоприятные условия для размножения микроорганизмов.

При пограничных ожогах IIIA степени рекомендуется начинать лечение с влажных повязок с возможностью высыхания, которые будут способствовать формированию тонкого струпа, представленного некротическим слоем кожи и фибринозными наложениями. Большинство исследователей отмечают, что марлевые повязки с растворами антисептиков (например, йодинол, иодонат, бетадин, хлоргексидин, димексид), водорастворимые мази на основе полиэтиленгликоля (левомеколь, левоцин, диоксиколь) в сочетании с физическими методами подсушивания струпа могут быть использованы для ведения ран сухим способом [2, 7, 25, 215]. В настоящее время для лечения пограничных ожогов (IIIA степени) и глубоких ожогов IIIB-IV (степени) широко используются различные раневые повязки, и в том числе успешно применяется гетерогенная ксенокожа. Предварительно перфорированная свиная кожа накладывается на ожоговую рану для обеспечения ей покоя и защиты от инфекции, не мешая одновременному применению других препаратов для местного очищения раны. В литературе имеются данные об эффективности применения метода лечения ожоговых ран во влажной среде, который является альтернативой сухому методу лечения. Shupp J.W. с соавторами [40] указывают на то, что при лечении ожоговых ран во влажной среде отмечается оптимизация межклеточного взаимодействия, транспорт питательных ингредиентов, биоактивных веществ (гистамин, серотонин, простагландин E2), факторов роста, гормонов (альдостерон, соматотропин). Также во влажной среде улучшаются межклеточные взаимодействия иммунокомпетентных (нейтрофилы, В- и Т-лимфоциты, моноциты) и дермальных клеток, экскреция внеклеточного матрикса и цитокинов. По данным Lohmeyer J.A. et al. (2011) используемая для лечения ожоговых ран влажная среда способствует предупреждению высыхания тканей и профилактирует углубление зоны некроза, что является важным с точки зрения профилактики формирования рубцовых деформаций и контрактур в отдаленном периоде [221]. Также во влажной среде водный баланс клеток кожи,

подкожно-жировой клетчатки и мышечной ткани меньше подвержен дисбалансу, предотвращается избыточная перспирация [171]. Однако, сама по себе влажная раневая среда может способствовать контаминации, росту и развитию микроорганизмов и инфекции. В этой ситуации развитие вторичной инфекций может негативно сказаться на общем состоянии больного, продлевая сроки госпитализацию и снижая шансы на выздоровление.

В настоящее время распространен консервативный метод лечения ожогов, включающий использование влажных специализированных повязок типа гидрогелей, гидроколлоидов или гидроволокон, механическую или ферментативную очистку [229]. Гидрогели представляют собой сравнительно новую группу перевязочных материалов [227]. В зависимости от используемого полимера указанные материалы можно разделить на натуральные и полученные синтетическим путем. Elbadawy A.K. et al. (2017) отмечают, что наличие индивидуальных свойств гидрогелей, таких как высокая чувствительность к физиологической среде и мягким тканям, большое влагосодержание и достаточная гибкость делающих идеальными для заживления ожоговых ран [104]. Использование этих повязок имеет многоцелевой эффект, поскольку их можно наносить практически на все участки тела, выполнять функции охлаждения и покрытия раны, они бывают разных размеров и могут отводить тепло от раны посредством конвекции и испарения [121]. Кроме того, некоторые продукты обогащены веществами с анестезирующими, питательными или противовоспалительными свойствами. Как показывает практика, большинство перевязочных материалов настолько плотно прилипают к ранам, особенно к ожоговым ранам, что их смена приводит к новому повреждению формирующегося эпителия, замедлению заживления и дискомфорту пациента после перевязки. По данным Navare K.J. et al. (2020) смена повязки занимает много времени (в основном более одного часа) и сопровождается часто отмачиванием материала от раневой поверхности, а потенциальный риск микробной контаминации в этот период окажет негативное влияние на дальнейший процесс заживления [56].

Хитин и его производные (хитозан) – широко распространенные и недорогие биологические материалы, выделенные из клеточных стенок грибов (Mucoraceae), экзоскелетов насекомых и скелетов беспозвоночных [128]. Хитозан, продукт N-диацелирования хитина, является биосовместимым, биоразлагаемым, нетоксичным, антибактериальным, не антигенным и увлажняющим агентом [155]. В исследованиях Valachova K. et al. (2020) установлено, что в процессе регенерации и заживления ран хитозан играет существенную роль в поддержании гемостаза, поскольку он может связываться с эритроцитами, что приводит к эффектам быстрого свертывания крови [222]. Также хитозан отвечает за процессы пролиферации фибробластов, моделируя образовавшиеся воспалительные клетки, оказывает положительное влияние на процесс формирования грануляций и дермальных клеток. По данным Singh R. et al. (2017) полупроницаемая биологическая повязка на основе хитозана поддерживает стерильную среду для образующегося экссудата, оптимизирует условия для заживления, предотвращает образование рубцов и возможное микробное обсеменение раны. [198].

Kozłowska E. et al. (2018) указывает, что в комбустиологии активно применяется лечение ожоговых ран с помощью низкого давления (NPWT), а также вакуум-ассистированная терапия (VAC), что подразумевает использование механического метода коллабирования раны на основе отрицательного давления [230]. По данным Pawlica P. (2020) вакуумная терапия применяется в зависимости от типа раны, ее поверхности и других факторов, влияющих на сложность процесса лечения, например, наличие раневой инфекции [175]. Процесс лечения основан на том, что отрицательное давление за счет силы всасывания, создаваемой насосом, влияет на механическое растяжение клеток, что в итоге стимулирует процесс пролиферации и ускоряет процесс заживления ран [175, 230]. Białomyzy A. et al. (2020) поясняет, что эффективность этого метода обусловлена его многогранностью действия вследствие увеличения локального кровотока в ране, усиления синтеза коллагена, а возникающие при этом процессы ангиогенеза приводят к усилению

грануляции и эпителизации. Это и определяет эффективность лечения [169]. Одновременно благоприятное воздействие на процесс регенерации и заживления оказывает уменьшение локального отека и снижение количества микрофлоры в ране.

Раннее иссечение и применение расщепленной кожной пластики являются основой лечения глубоких ожогов кожи и ожогов на всю толщину, чтобы избежать распространенных осложнений, таких как сепсис, полиорганная недостаточность и острое повреждение почек [144]. Аутокожа, трупная и свиная кожа являются основными источниками этого временного покрытия. Недавно стали применяться ксенотрансплантаты на основе бесклеточной рыбьей кожи, которые создаются путем минимальной обработки кожи рыб атлантической трески (*Gadus morhua*) [202].

Установлено, что соматические стволовые клетки играют ведущую роль в физиологическом процессе заживления кожных ран. По данным Przekora A. (2020) мезенхимальные стволовые клетки (МСК), полученные из костного мозга обладают способностью мигрировать в раневое ложе и видоизменяться в фибробласты кожи [186, 201]. До 20% фибробластов в месте зажившей раны могут быть клетками, происходящими из МСК [89]. Coalson E. et al. (2019) свидетельствуют, что кератиноциты, участвующие в реэпителизации раны, возникают в результате дифференцировки эпидермальных стволовых клеток в межфолликулярном эпидермисе и фолликулярных утолщениях волосяных фолликулов. [201]. Для лечения ожоговых ран с целью ускорения заживления и уменьшения процессов рубцевания возможно использование принципов современной регенеративной медицины, которая включает в себя терапию на основе стволовых клеток (Larouche J. et al., 2018) [150, 186]. Frykberg R.G.C. et al. (2015) полагают, что механизм действия МСК связан с паракринной функцией, высвобождением тканевых факторов роста, цитокинов и внеклеточных везикул, которые играют важную роль в стимуляции ангиогенеза, миграции и пролиферации клеток кожи, а также необходимы для контроля воспалительных процессов [119]. МСК - наиболее часто используемые стволовые клетки,

способствующие регенерации кожи. Согласно данным Atalay S. et al. (2014) их обычно выделяют из жировой ткани с помощью ферментативного переваривания и центрифугируют для получения стромально-сосудистой фракции (ССФ), которая является основой для выделения чистой популяции стволовых клеток (Kazimierczak P. et al., 2019) [60, 143]. Многие авторы Zhu M. et al. (2019), Karina K. et al. (2019), Bowles A.C. et al. (2017) подчеркивают, что стромально-сосудистая фракция, кроме 10-35% МСК, содержит другие клетки, обладающие сильными иммуномодулирующими, ангиогенными и репаративными свойствами, такие как перициты, гемопоэтические стволовые клетки, эндотелиальные клетки, цитокины [55, 90, 131].

По рекомендациям Vig K. et al. (2017) в случаях обширных ожогов, составляющих более >25% поверхности тела медицинские, фармакологические, минимально инвазивные или не инвазивные методы лечения обычно неэффективны или не дают ожидаемого клинического результата. Этим больным рекомендуется проведение этапных некрэктомий и пересадку кожи [48]. Из-за минимального риска иммунного отторжения аутооттрансплантаты являются лучшим выбором для трансплантации. Тем не менее, применение аутооттрансплантатов у больных с очень обширными ожогами ограничено, используются аллогенные трансплантаты кожи [106, 174]. Для лечения ожоговых ран Gupta D.K. et al. (2009) рекомендуют кожные трансплантаты, разной толщины (тонкий – 0,2 – 0,3 мм, средний – 0,3–0,45 мм, толстый – более 0,45 мм) и состоящие из эпидермиса и части дермы [124]. При использовании аллогенных трансплантатов кожи по свидетельству Dixit S et al. (2017) всегда имеется высокий риск осложнений, включающий передачу различных заболеваний, а также отторжение кожного трансплантата [130].

Vig K. et al. (2017) в исследованиях современной инженерии кожной ткани, направленной на создание биоинженерных искусственных кожных трансплантатов, отмечают что возможно создание таких материалов, структура которых может преодолеть ограничения, связанные с использованием кожных аутооттрансплантатов или отторжением аллотрансплантатов [48, 130]. Такие

искусственные системы способны насыщать кислородом раневое ложе, поддерживать необходимую влажность в раневой среде, способствовать регенерации раневой поверхности и защищать её от инфекции. [48, 130, 162, 223]. Frisman I. et al. (2010), Zhu J. et al. (2010), Lee C.H. et al. (2015), Zhang K. et al. (2018) отмечают, что природными полимерами для изготовления кожных трансплантатов чаще всего являются коллаген I типа или коллаген III типа, гиалуроновая кислота, хитозан и фибрин, а синтетические полимеры включают в состав полиэтиленгликоль, полиуретан, полимолочную гликолевую кислоту, полигалактин и силикон [47, 61, 117, 231]. Биоинженерную кожу можно производить в виде клеточных трансплантатов (биоматериалы, засеянные клетками кожи) или бесклеточных трансплантатов (биоматериал без клеток) [48, 130]. В зависимости от части кожи, которую имитируют искусственные трансплантаты, их подразделяют на эпидермальные, дермальные или дермо-эпидермальные [48, 130, 194].

Эпидермальные заменители кожи обычно изготавливаются из тонких мембран на основе биоматериала, которые в случае клеточных трансплантатов могут быть дополнительно засеяны кератиноцитами. Аутологичный эпидермальный трансплантат создается с использованием кератиноцитов пациента, которые выделяются из биопсии кожной ткани и расширяются *in vitro* с образованием тонкого клеточного листа, имитирующего эпидермальный слой [107, 186]. Основным недостатком клеточного эпидермального трансплантата является очень длительное время (2–4 недели), необходимое для культивирования клеток, поскольку известно, что кератиноциты имеют относительно медленную пролиферацию [48, 194]. Тем не менее, мембраны на основе биополимеров (например, коллагена, фибрина, гиалуроновой кислоты) преодолевают это ограничение, способствуя пролиферации кератиноцитов в условиях *in vitro* [129, 142]. После трансплантации бесклеточный дермальный трансплантат выполняет функцию каркаса для эндогенной популяции фибробластов, ускоряя регенерацию раны [142, 194]. В последнее время были созданы дермо-эпидермальные заменители кожи, имитирующие оба слоя кожи:

дерму и эпидермис [148]. Бесклеточные дермо-эпидермальные трансплантаты, изготовленные только из биоматериалов, также применяются для лечения ожоговых ран [19, 51, 158]. Тем не менее, учитывая решающую роль взаимодействия кератиноцитов и фибробластов в процессе заживления ран и реэпителизации, клеточные трансплантаты, содержащие оба типа клеток, кажутся наиболее желательными конструкциями кожи [142, 194]. Для производства таких дермо-эпидермальных заменителей кожи исследователи часто используют такие методы, как трехмерная биопечать [35, 212] или электропрядение [152, 213]. В последние годы сообщается, что мицелий считается подходящим каркасом для роста фибробластов и кератиноцитов [46]. Значительное распространение при лечении ожоговых ран получают биополимеры, такие как БЦ, применение которой вызывает большой научный интерес.

### **1.3 Свойства и безопасность материалов на основе бактериальной целлюлозы**

Все больше и больше исследователей начинают обращать внимание на БЦ, изучать ее, увеличиваются и связанные с этим достижения в сфере биотехнологий. В связи с этим были написаны соответствующие литературные обзоры, включающие все аспекты области применения БЦ в экономике, например, в биологической медицине, упаковке для пищевых продуктов, электронике, косметике, одежде и т.д. [63, 181, 220]. Количество исследований, посвященных использованию природных субстратов в составе перевязочных материалов для ран, медицинских изделий и медицинском текстиле демонстрирует впечатляющий экспоненциальный рост [36, 37, 43, 45, 86, 140, 143, 149, 167, 190, 197, 204, 207].

В биомедицинских целях биополимеры используются не только из соображений устойчивости, но в основном из-за их биосовместимости. Если материал вызывает адекватную или благоприятную реакцию организма, то считается биосовместимым. Однако, если это приводит возникновению

некротических гранулем вследствие реакции на инородное тело, аллергии, инфекции материал классифицируется как не биосовместимый [79]. Свойства биосовместимости включают оценку цитотоксичности биоматериалов, разработанных *in vitro*, до экспериментов *in vivo*. Цитотоксичность можно упрощенно рассматривать, как влияние материала на живые клетки с точки зрения жизнеспособности, пролиферации, метаболизма, адгезии, изменений в морфологии, экспрессии ключевых метаболитов [193]. Установленный порог приемлемой потери жизнеспособности составляет 30% [95]. При наличии цитотоксичности изделие не вызовет адекватного или полезного ответа организма, а при отсутствии цитотоксичности, он с большей вероятностью вызовет соответствующую реакцию хозяина. Тем не менее, не цитотоксический материал может быть несовместим даже при наличии биосовместимости.

Материалы на основе БЦ в различных биомедицинских применениях отличаются низкой генотоксичностью и цитотоксичностью [23, 44, 54, 102, 111, 192, 206]. Кроме того, гемосовместимость является ключевым параметром для медицинских применений, что определяется его склонностью к лизису эритроцитов, а также уровнем адсорбции коагулирующих агентов и других сигнальных молекул, которые взаимодействуют с путем активации комплемента. Отсутствие гемосовместимости быстро приводит к тяжелому иммунному ответу пациента. Гемосовместимость *ex vivo* в краткосрочном и долгосрочном ответе на имплантацию *in vivo* исследовали при влажной, лиофилизированной и высушенной БЦ с помощью определения гемолиза и времени свертывания крови [108]. Взаимодействие между эритроцитами и влажной БЦ уменьшалось за счет присутствия жидкости, снижая процент гемолиза до приемлемых значений.

БЦ по понятным причинам является одним из наиболее распространенных биополимерных субстратов для биомедицинских применений и медицинского текстиля, а также в других сферах промышленности из-за ее повсеместной доступности и замечательных свойств [29]. Сейчас нановолокна БЦ в основном синтезируются из бактерий [41] с накоплением во время инкубации

сгенерированных фибрилл в трехмерной матрице. На их размер влияют штаммы бактерий, концентрация растворенного кислорода, тип культуры (статическая или динамическая), время инкубации, схема реактора, культуральная среда и другие параметры [203]. Кристалличность БЦ значительно выше, чем у растительной целлюлозы. Размер волокон БЦ и их концентрация (которая влияет на размер пор) сильно варьируется: ширина от 10 до 100 нм и длина от 50 нм до 100 мкм [88, 200, 226]. Макроскопически БЦ можно рассматривать как трехмерный или двумерный материал. Влажная «губчатая» структура БЦ имеет макроскопический 3D вид. То же самое происходит в случае лиофилизированного БЦ или аэрогеля с «морозным» внешним видом. Однако, если БЦ высушить, то из-за испарения воды, содержащейся в нанофибриллах БЦ, они будут разрушаться, образуя дополнительные водородные связи и становиться «бумажными». Свобода нанофибрилл перестраиваться резко снижается, что уменьшает ее способность к растяжению [71, 73, 138].

В отличие от своего растительного аналога, БЦ представляет собой чистый полимерный гидрогель без примесей лигнина [93, 133], волокна ее намного толще и имеют более низкую плотность водородных связей. БЦ более гидрофильна и обладает более замечательной способностью образовывать трехмерную разветвленную сеть плотно упакованных ультратонких волокон. Эта структура определяет многие полезные свойства, такие как высокая прочность на растяжение, отличные водоотталкивающие свойства. Материалы на основе БЦ показали биосовместимость при отсутствии или минимальной цитотоксичности и генотоксичности [23, 54, 102, 111, 192].

БЦ обладает рядом замечательных физико-химических свойств, необходимых для лечения ран, таких как кристалличность, эластичность, прозрачность, высокая степень полимеризации, наноструктура, высокая чистота, механическая прочность и прочность на растяжение, пористость, биоразлагаемость, биосовместимость [53, 65, 69, 147, 164, 206, 217]. Кроме того, нативная БЦ способна абсорбировать раневой экссудат, обеспечивая при этом хорошее увлажнение раневого ложа и газообмен с окружающей средой.

Некоторые из характеристик БЦ (пористость, химический состав поверхности и ориентация волокон) не являются идеальными для каждого применения, и иногда необходимо адаптировать БЦ для конкретного медицинского приложения [11]. Желаемые свойства БЦ могут быть дополнительно улучшены за счет синтеза его нанокомпозитов, посредством модификации БЦ [98, 216]. Существует большое разнообразие вариантов, которые можно сгруппировать в два различных класса: модификации *in situ* и *ex situ* [185, 205].

Природные биополимеры, полученные из растений, животных и микроорганизмов, такие как гиалуроновая кислота, желатин, хитозан, крахмал, протеины, широко используются для лечения ран, в том числе вследствие термических повреждений. [70, 72, 114, 126]. В качестве важного члена природного биополимера БЦ относится к полимеру глюкозы, секретируемому бактериями и линейно связанному Р-1,4-гликозидными связям. [152, 182]. Кроме того, БЦ представляет собой экологически чистый материал с высокой удельной площадью поверхности сетчатая структура которой позволяет молекулам-гостям внедряться в его внутреннее пространство и создавать матрицу для лекарств [24]. В качестве лекарственного каркаса БЦ имеет широкий спектр преимуществ применения при лечении ран. Такие носители можно использовать во многих областях фармации, медицины и хирургии, от перевязочных материалов до внутренних или зубных имплантатов, которые доставляют обезболивающие, противовоспалительные препараты или бактериостатики в определенное место [26, 184, 224].

Новым применением перевязочного материала на основе БЦ является его использование Vilar F.D.O. et al. (2016) для лечения послеоперационных ран мочеполовой системы у мужчин. У пациентов не наблюдались осложнения, связанные с применением препарата, такие как ишемия, инфекция или боль, что позволило сделать вывод о безопасности и эффективности перевязочных средств на основе БЦ. [42]. Хорошо задокументированным примером композита БЦ, изученного Qiu Y. et al. (2016) *in vivo* в процессе заживления ран, является БЦ с добавлением ваккарина (БЦ-Вак), действие которого сравнивали со

стандартными повязками (петролатумной марлей и повязками с наночастицами серебра). Наиболее главными преимуществами композита БЦ-Вак были повышенная гибкость, что облегчало практическое применение материала (смена повязок, моделирование в ране) и, самое главное, было отмечено ускорение процесса заживления к 14 суткам от начала лечения, что объяснялось образованием более активных фибробластов. [187]. Известно, что вязкозные повязки часто используются для лечения хронических язв венозной этиологии на нижних конечностях. В исследованиях de Amorim J.D.P. et al. (2022), Silva et al. (2021) было показано, что по сравнению с вязкими повязками для ухода за ранами повязки из БЦ [76] превосходят их из-за низкой частоты смены повязок, минимального прямого контакта с раневой поверхностью, меньшего риска загрязнения и вторичного инфицирования, большей автономии пациента и меньшей фиксации повязки к ране. Meamar R. et al. (2021) показали, что более эффективное заживление ран диабетической инфицированной стопы по сравнению с контрольной группой было достигнуто при использовании пластин из нановолокон БЦ, пропитанных венлафоксином и доксициклином [52].

Poonguzhali et al. (2017) приготовили биосовместимые композиты, включающие хитозан, поли(винилпирролидон) и БЦ. Были оценены толщина композита, барьерные, механические свойства, свойства проницаемости для водяного пара и кислорода. Установлено, что композит способен поддерживать адекватную влажную среду над раной. Кроме того, композит показал набухание, совместимость с кровью (менее 2% гемолиза) и умеренную антибактериальную активность в отношении золотистого стафилококка, синегнойной палочки. Цитотоксичность композита превышала допустимый порог в 70% при тестировании с использованием клеток нормальных эмбриональных фибробластов мыши [180].

Как было уже отмечено БЦ обладает многими свойствами эффективного ранозаживляющего материала, однако отсутствие у него антибактериальной активности является его основным недостатком. Исследования последних лет показали, что для лечения раневой инфекции пластины БЦ используют в

качестве матрицы для нанесения на них лекарственных препаратов с антибактериальной активностью [89, 159, 163, 208]. Носители представляют собой гибриды иммобилизации лекарств и содержат фрагменты целлюлозных мембран и их композиты, целлюлозные шарики, а также целлюлозные волокна [64, 80, 93, 118, 177]. Последние исследования в этой области Ciolacu D.E. et al. (2020), Inselman D.W. et al. (2021) ориентированы на разработку управляемых лекарственных систем, которые будут безвредны для организма, смогут вместить количество лекарственного средства, необходимое для достижения планируемых результатов лечения, а время высвобождения лекарств средств будет регулироваться различной продолжительностью лечения (от часов до дней) [89, 139]. Однако в опубликованных исследованиях Sulaeva I. Et al. (2020), Silva N.H.C.S. et al. (2020) сообщается о различных проблемах, связанных с доставкой лекарств на основе БЦ [109, 214]. В опубликованных исследованиях Silva N.H.C.S. et al. (2014), Cacicedo M.L. et al. (2020) в качестве носителя и чаще всего в качестве повязки используется мембрана, поэтому лекарство доставляется замачиванием, что ограничивает возможность контролируемого отсроченного высвобождения действующего лекарственного вещества [66, 87]. Большинство исследований носителей БЦ посвящено сочетанию целлюлозы с анальгетиками и противовоспалительными лекарственными препаратами (диклофенак, ибупрофен, венлафаксин, доксициклин), бактериостатическими препаратами, такими как ионы металлов (оксид титана, пероксид цинка, серебро), антибиотиками (амоксциллин, ципрофлоксацин, гентамицины), в сочетании с малыми молекулами, такими как наночастицы серебра и другими химическими соединениями, например, глицерин, глютаровый альдегид, эвалуцин, рутин, низин [14, 52, 66, 74, 92, 105, 118, 122, 141, 170]

Более крупные молекулы, такие как белки (например, альбумин, лизоцим, липаза или фосфолипаза) и факторы роста, должны быть адекватно иммобилизованы в целлюлозной мембране [80, 120, 225, 228]. Такие методы находят особое применение при разработке целлюлозных повязок и имплантатов, способствующих ангиогенезу и эпителизации. Многообещающие

решения представлены в работах Ai F.-F. et al (2020), Wang B. et al. (2020), Meamar R. et al. (2021), где носители БЦ стимулируют образование кровеносных сосудов с помощью фактора роста эндотелия сосудов или интерлейкина 4, повязки и имплантаты способствуют заживлению за счет ингибирования провоспалительных факторов (матрикс металлопротеиназы) [49, 52, 225]. Наиболее передовые, хотя и относительно немногочисленные таргетные методы лечения с использованием БЦ применимы для лечения рака, где активным веществом обычно является доксорубин [64, 103, 183]. В этой области задача заключается в создании БЦ с реальной системой высвобождения. Поэтому необходима разработка новых, безопасных методов производства бактериальной целлюлозы (возможно, ферментативное окисление) и создание композитных материалов с магнитными, термическими и фоточувствительными свойствами [94, 145, 199, 219]. Такие исследования могут привести к созданию безвредных, функциональных и совместимых с современными методами лечения носителей.

#### **1.4 Медицинские приложения бактериальной целлюлозы**

БЦ используется в биомедицинских приложениях не менее 20 лет [151, 179]. Как уже было сказано одним из наиболее важных ограничений БЦ является отсутствие у нее антимикробной активности, что сильно ограничивает применение в качестве активной повязки на рану и в других областях хирургии с развитием инфекциям [78]. Однако в конкретных медицинских приложениях БЦ сама по себе по-прежнему обладает весьма важными функциями [6]. Кроме того, еще одной отличительной особенностью БЦ является ее макроскопическая форма, которая подстраивается под форму области, поэтому некоторые исследования были сосредоточены на разработке кондуитов БЦ для использования в качестве кровеносных сосудов или катетеров [75, 77].

Autier L. et al. (2019) разработали BNC-мембрану, которая использовалась в качестве каркаса для наложения на паренхиму головного мозга после резекции глиобластомы [38]. Благодаря высокой гибкости каркас из БЦ может быть легко

введен в хирургическую резекционную полость глиобластомы. Кроме того, случайная волокнистая природа БЦ идеально подходит для улавливания опухолевых клеток, предотвращая их движение после прикрепления, что облегчает целенаправленное лечение и предотвращает рецидивы. Биосовместимость БЦ была показана отсутствием влияния на микроокружение головного мозга после имплантации мембраны БЦ в паренхиму головного мозга. Кроме того, через 12 месяцев клетки головного мозга присутствовали на мембране БЦ, что свидетельствует о отсутствии цитотоксичности БЦ по отношению к нормальным клеткам. В литературе имеются экспериментальные разработки использования БЦ в качестве материала для пластики твердой мозговой оболочки [30, 81]. Материал показал хорошие свойства биосовместимости, не вызывал иммунную и воспалительную реакцию, отсутствие нейротоксичности.

Ul-Islam M. et al. (2019) усилили свойства БЦ погружением в хитозан, который затем лиофилизировали для получения каркаса [101]. Взаимодействие клеток и каркаса анализировали с использованием клеточных линий рака яичников человека (A2780). Линии клеток рака яичников человека были обнаружены на поверхности и в глубине матрикса каркаса. Включение хитозана значительно повысило вероятность повышенной биосовместимости БЦ, способствуя клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировке.

Han Y. Et al. (2020) использовали композиты БЦ и поливинилового спирта для создания тканевой инженерии стромы роговицы. Трансплантация роговицы является наиболее распространенным методом лечения серьезных заболеваний роговицы, хотя она ограничена из-за отсутствия доноров роговицы, которым была трансплантирована эта смесь. Результаты испытаний *in vivo* на кроликах не выявили негативных эффектов, таких как воспаление, а биосовместимость была хорошей [204]. БЦ можно применять в качестве альтернативы амниотической мембране, доступность которой сильно ограничена и зависит от донорской ткани. Мембрана БЦ показала более высокую устойчивость к швам, чем амниотическая мембрана, предлагая хорошую прилегаемость к форме глаза.

Никаких существенных изменений в диаметре или толщине, как было установлено визуальным наблюдением и измерениями поверхностной массы, обнаружено не было [73]. Zhang X. et al. (2019) изучали биосовместимость БЦ в качестве каркаса для замены стромы роговицы с использованием клеток эпителия роговицы и стромы кролика. Тесты *in vitro* показали почти 100% выживаемость, хорошую адгезию и пролиферацию эпителиальных и стромальных клеток на БЦ. Эксперименты *in vivo* подтвердили адекватную биосовместимость и стабильность БЦ в роговице кролика. Оптическая прозрачность БЦ сохранялась, и в течение 90 дней не было обнаружено явного отека или воспаления вокруг БЦ [50].

Трансплантаты из БЦ способствовали закрытию перфораций барабанной перепонки в оториноларингологии, где было продемонстрировано, что они являются инновационными, эффективными, безопасными, минимально инвазивными, эффективными материалами и имеют очень низкую стоимость [153, 218]. Исследования Pang M. et al. (2020) свидетельствуют о том, что более плотная БЦ (спрессованность около 18%) является конкурентно способным скелетным материалом для реконструкции и регенерации хрящевой и костной ткани наружного уха. Материал соответствует упругими механическим свойствам человеческого хряща и может быть изготовлен по индивидуальной форме ушной раковины пациента. В то же время в работах Nimeskern L. Et al (2013) и Martínez Ávila H. Et al. (2015) показано, что он демонстрирует отличную биосовместимость с хрящевыми и костными клетками *in vivo* и не препятствует процессу заживления [57, 154, 168]. Было разработано несколько методов, способствующих росту клеток в костных каркасах БЦ с регулированием размера пор и их взаимосвязей во время синтеза БЦ [58, 135], а также на этапе постпроизводства – с помощью лазерной абляции (лазерного паттернирования) [173], 3D-печати [200, 206] или лиофилизации [154].

Композитные каркасы для костной ткани были изготовлены Noh Y.K. et al. (2019), содержащие в своем составе БЦ и коллаген [110]. Композит с самым высоким содержанием БЦ показал наиболее организованную взаимосвязанную

пористую структуру с улучшенной физической стабильностью и водопоглощением. Регенеративную способность имплантатов БЦ оценивали с использованием стандартизированной модели штамповки бычьего хряща [136]. Хрящевые цилиндры-хозяева были получены из блока бедренной кости крупного рогатого скота с использованием стандартизированной перфорационной системы, в которую были вставлены имплантаты БЦ. При исследовании имплантатов БЦ наблюдалась прогрессирующая колонизация в сочетании с признаками миграции хондроцитов хряща хозяина. Такие результаты свидетельствовали о высокой цитосовместимости имплантата БЦ в текущей модели *in vitro*.

Несмотря на то, что существуют материалы «золотого стандарта» для изготовления сосудистых протезов большого и среднего диаметра, по-прежнему существует потребность в разработке сосудистых протезов малого диаметра (<6 мм), особенно с длительной проходимостью [39, 83, 91, 137, 172, 176]. Потенциал кондуитов БЦ кровеносных сосудов изучался Bao L. et al. (2021), где в качестве первого метода сосуды готовили путем помещения одной силиконовой трубки внутрь полый стеклянной трубки. Затем полость между ними заполняли культуральной средой, содержащей бактерии. Кондуиты БЦ обладали адекватной водопроницаемостью, процентом адгезии тромбоцитов, периодом рекальцификации плазмы и пролиферацией эндотелиальных клеток подвздошной артерии свиньи. Такие результаты предполагают лучший обмен питательных веществ, гемосовместимость и эндотелизацию после имплантации [132]. Weber C. et al. (2018) разработали BNC-слоистые трубки с уменьшенной толщиной стенок и гладкой поверхностью для небольших сосудистых трансплантатов, которые были протестированы *in vivo* путем замены правой сонной артерии у овец. Результаты показали отсутствие расслоения в организме даже после нескольких месяцев имплантации, острых признаков реакции на инородное тело. Однако трубки были склонны к тромботической окклюзии, что требовало введения антитромбоцитарного препарата для снижения явлений окклюзии. Несмотря на медикаментозную терапию, проходимость увеличилась

с 67% до 80% за 9 месяцев [172]. Возможность контролировать форму БЦ, изменяя ее во время культивирования или после очистки, расширила показания к применению этого материала в сосудистой хирургии и нейрохирургии, включая, в частности, протезы для реконструкции сосудов и каркасы трубки для регенерации периферических нервов [59, 68, 166].

### **1.5 Применение раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в лечении ожоговых ран**

Все исследовательские работы по оценке лечения ожоговых ран с помощью материалов на основе бактериальной целлюлозы в настоящее время являются экспериментальными. Первые клинические испытания перевязочного материала из БЦ были проведены в Центре лечения ожоговых ран в Семяновице-Сленске, Польша [96, 97]. Целью исследования Czaja W. et al. (2004) была оценка пригодности повязок для лечения ожоговых ран по трем основным направлениям: предотвращение потери жидкости из ожоговой раны, снижение микробной контаминации ожоговой раны и подготовка ее к аутодермопластике. Исследуемая группа состояла из 77 пациентов в возрасте от 18 до 70 лет с ожогами кожи I, IIА, IIБ и III степени, занимающими от 9 до 20 % общей поверхности тела. Повязки из БК были особенно эффективны при экссудующих и ожоговых ранах с большой температурой. Благодаря высокому содержанию жидкости они охлаждают место ожога и снимают болевые ощущения. В свежих, неглубоких ожоговых ранах повязки из БЦ способствуют эпителизации, снижают риск инфицирования и потери жидкости, а при глубоких ожогах, IIВ, III степени способствуют удалению некротических тканей из раны (Czaja W. et al., 2020). Более быстрое заживление проявлялось и более ранним изменением соотношения обилия грамотрицательных и грамположительных видов [97].

В качестве повязки на ожоговую рану БЦ может обеспечить влажную и мягкую среду для раны, что способствует заживлению раны [134]. В то же время ее нелегко приклеить к ране, но легко заменить [99]. Клинические исследования

Oliveira M.H. et al. (2020) показывают, что повязки из бактериальной целлюлозы особенно рекомендуются для лечения ожогов на сложных анатомических участках (уши, лицо, суставы, кисти, стопы промежность) благодаря своей эластичности и конгруэнтности. [82]. Также было показано, что сочетание повязки с антисептиками (нитрат серебра, сульфат гидроксихинолина, борная кислота и др.) оказывает положительное влияние на снижение инфекции ожоговой и других видов ран [10, 27, 33, 34, 97]. Клинические испытания Jancau et al. с использованием БЦ (Bowel Biotech Ltd., Владиславово, Польша) в качестве повязки у больного с термическими ожогами показали очень хорошие клинические результаты [67].

Vilar F.D.O. et al. (2016), Emre Oz Y. Et al. (2021) считают, что основным преимуществом этого материала является легкость получения больших по площади биологических мембран, покрывающих все тело и адаптирующихся к контурам конкретной области. Эти авторы также отмечают, что благодаря своим механическим свойствам этот материал поддерживает фазу регенерации кожной ткани за счет правильной адгезии к ожоговой ране с поддержкой пролиферации и дифференцировки клеток, а также защитой от механического ее повреждения [42, 105]. В качестве повязки на ожоговые раны БЦ моделирует стерильную, удобную, защитную и достаточно влажную среду для чистых ожоговых ран, что ускоряет их заживление [160]. Кроме того, влажная БЦ хорошо поддается формованию, плотно прилегает к месту раны. Она более растяжима, однако она менее устойчива к разрыву, чем лиофилизированная БЦ [138]. Хорошие результаты показали повязки с БЦ для закрытия для донорского участка кожи при аутоотрасплатации. Они были биосовместимы, легко прикреплялись к ложу раны и оставались на месте до тех пор, пока донорский участок не заживет. В последующем повязки легко отслаивались от эпителизированной кожи сама по себе [161]. Новые композитные повязки на основе БЦ с антибактериальным, антисептическим и ранозаживляющим действием привлекают всеобщее внимание при лечении ожоговых ран [22, 127].

Последние разработки по включению сульфатированных фукополисахаридов (фукоидана), содержащихся в бурых водорослях, в состав раневых повязок на основе БЦ представляются перспективными. В экспериментальном исследовании Зиновьева Е.В. с соавт. (2019) 2% раствор фукоидана в повязках на основе БЦ толщиной от 0,5 до 1 мм и 1 и 2 мм на 14 день показал снижение площади раны на 54% и 47% по сравнению с контрольной группой [22].

Группа исследователей из Санкт-Петербурга в 2020 году предложила новый подход, позволяющий усовершенствовать свойства БЦ для медицинских приложений. Чтобы сделать целлюлозу биоразлагаемой, а значит, перспективной для изготовления раневых повязок, они использовали целлобиогидролазу. Включение этого фермента в состав покрытия оказалось безопасным, что было подтверждено экспериментами на животных. Разрабатываемые раневые повязки на основе бактериальной целлюлозы с добавлением целлобиогидролазы положительно повлияли на лечение обширных ожогов III степени, значительно ускорив процесс заживления [94].

В экспериментальном исследовании Черниговой С.В. с соавт. (2021) было установлено, что при местном лечении ожоговых ран БЦ-покрытия благодаря их наноструктурным свойствам следует использовать на первой стадии раневого процесса, так как они способны адсорбировать и удалять экссудат. При контакте с раневой поверхностью нанопокрывтия плотно прилегают к раневой поверхности, создавая оптимальные условия для заживления раны [32].

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, клинические и экспериментальные исследования, связанные с изучением новых биотехнологий и наноматериалов, открыли новые хирургические горизонты в области лечения различных раневых процессов, в том числе местного лечения ожоговых ран. БЦ является одним из перспективных биологических продуктов, а эффективность применения раневых покрытий на ее основе для заживления ран, в том числе возникающих при глубоких ожогах, нуждается в дополнительном изучении.

## Глава 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

#### 2.1 Синтез, структура, свойства применяемых в исследовании образцов бактериальной целлюлозы

В качестве потенциальных кандидатов для создания экспериментальных раневых покрытий были использованы образцы гель-пленки БЦ, которые получены в лаборатории биоконверсии

ИПХЭТ СО РАН (г. Бийск). Она является биополимером глюкозы, который синтезирован путем микробной трансформации простых сахаров в полимерную влажную волокнистую структуру (рис. 1).

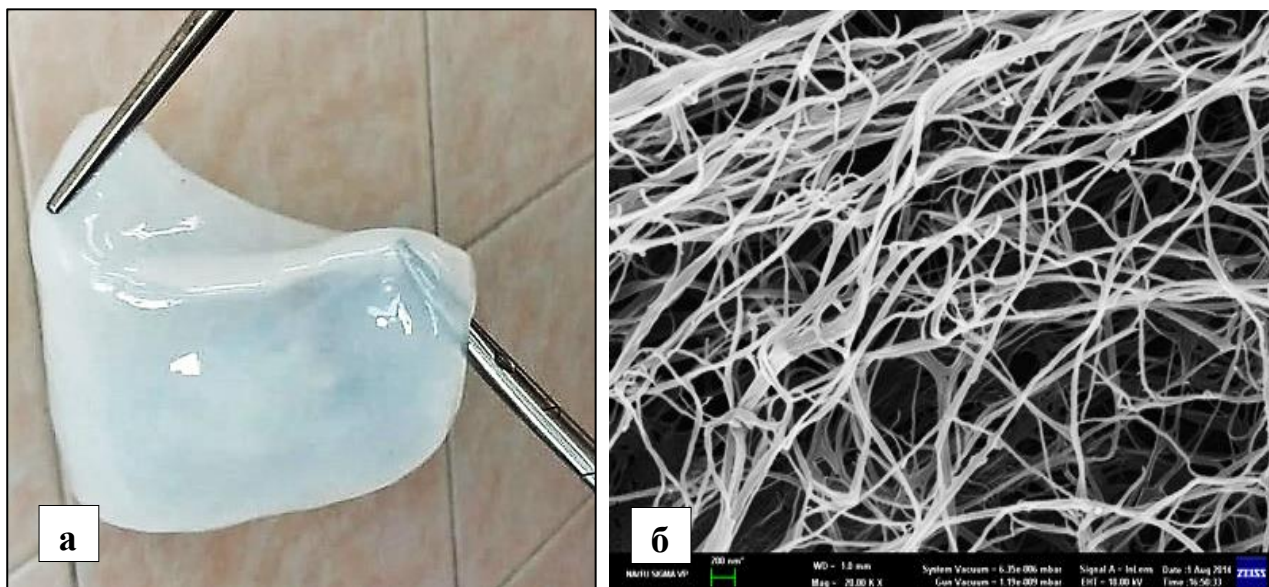


Рисунок 1 – а - пластины влажной бактериальной целлюлозы (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск), б – переплетение микрофибрилл в БЦ (электронная микроскопия)

Физико-химические свойства образцов БЦ, представленных для экспериментальных исследований были следующие: студневидная пленка, нерастворимая в воде, прозрачного цвета, толщиной 2-3 или 3-4 мм, стерильная, рН нейтральный. Один грамм бактериальной целлюлозы может удерживать до 99 граммов жидкости [23].

По данным Гладышевой Е.К. с соавт. (2015) для приготовления БЦ использовалась симбиотическая культура *Medusomyces gisevii*, которая состоит из 15-30 родов дрожжей и 8-10 родов уксуснокислых бактерий, известна также как *Kombucha*. Культивирование инокулята проводилось при температуре  $(27 \pm 0,2)^{\circ}\text{C}$  в суховоздушном термостате в течение 7 суток. Для поддержания жизнедеятельности продуцента *Medusomyces gisevii* и проведения биосинтеза БЦ использовали полусинтетическую питательную среду, состоящую из глюкозы (ООО «Промсинтез», CAS № 5996-10-1, Россия) и экстракта чёрного чая. Это классическая среда для используемого продуцента (Gohetal et al., 2012). Среда готовилась следующим образом: навеску сухого чёрного чая (10 г сухого чёрного чая на 1 л питательной среды, что соответствует содержанию экстрактивных веществ черного чая в среде 3,2 г/л) заливали кипятком, вносили глюкозу в количестве 20 г/л, ёмкость для экстракции закрывали крышкой, выдерживали содержимое при температуре 94-96 °С 15 минут, после чего отфильтровывали с помощью металлического сита. Биосинтез БЦ проводился при температуре 27 °С в климатической камере (Binder-400, Germany) в статических условиях. Гель-пленка, образующаяся в результате биосинтеза, в процессе роста очищалась следующим способом: в течение двух суток образцы выдерживались в 2 %-ном растворе NaOH для удаления клеток, затем пленка промывалась в дистиллированной воде до нейтральной реакции, далее обрабатывались в течение суток в 2 %-ном растворе HCl для удаления красящих веществ, затем пленка промывалась дистиллированной водой до нейтральной реакции среды. Методом ИК-спектроскопии установлена химическая чистота БЦ: образцы не содержат примесей, характерных для растительной целлюлозы, т.к. отсутствуют полосы поглощения, указывающие на ароматические соединения. ИК-спектры образцов БЦ, полученных на синтетической питательной среде и среде ферментативного гидролизата ТЦ ПОО идентичны. Методом ЯМР-спектроскопии подтверждена идентичность химического строения опытных образцов БЦ и растительной целлюлозы. Стерилизация

материала достигалась автоклавированием при температуре 120<sup>0</sup> С в течение 30 минут.

## **2.2. Дизайн экспериментальных исследований**

Всего в экспериментальных исследованиях было использовано 100 крыс типа Wistar (50/50 самки и самцы). Для достижения поставленной цели и выполнения установленных задач в ходе исследований было выделено 2 основных этапа. Выбор материала был обоснован оптимальными характеристиками БЦ, в частности, гидрофильностью, высокой эластичностью и растяжимостью, тонкостенностью и конгруэнтностью по отношению к подлежащим тканям, биосовместимостью.

Исследования проводили согласно ГОСТа 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и правил, принятых Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (г. Страсбург, 1986). Эвтаназию осуществляли с соблюдением требований Хельсинкской декларации о гуманном отношении (г. Хельсинки, 2002) путем декапитации на гильотине лабораторной (после наркотизации диэтиловым эфиром) с одновременным забором биологического материала. Все процедуры с животными в исследовании проводились в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, принятой Европейским союзом в 1986 г.; Директивой Совета 86/609/ЕЕС, основанной на тексте соглашения «Dr. Robert Hubrecht, Current EU Legislation Controlling Animal Experiments», и в соответствии с «Правилам надлежащей лабораторной практики евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств», утвержденными решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81. Служба контроля качества лаборатории осуществляла проверку плана, хода исследования и итогового протокола. Протоколы

экспериментальных исследований настоящей работы прошли биоэтическую экспертизу на заседании ЛЭК ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протокол № 6 от 26 апреля 2023г). Внутривенной наркоз крысам осуществлялся раствором Телазола в концентрации 1 мг/кг. Дизайн исследований представлен на рисунке 2.



Рисунок 2 – Дизайн экспериментальных исследований

Первый этап включал проведение экспериментальных исследований по определению безопасности БЦ, как потенциального кандидата для создания раневых покрытий. На данном этапе изучалась острая токсичность при накожном применении БЦ на крысах линии Wistar и ее цитотоксичность при взаимодействии с дермальными фибробластами человека. Второй этап заключался в оценке скорости заживления экспериментальных ожоговых ран с помощью двух групп раневых покрытий на основе БЦ (БЦ в физиологическом растворе и БЦ с экспозицией в 1% растворе хлоргексидина) по сравнению с их традиционным местным лечением (группа сравнения) и контролем. В ходе

исследований проведена оценка клинических, бактериологических, патоморфологических, морфометрических, лабораторных изменений.

### **2.3 Экспериментальная оценка безопасности БЦ (токсичность и острая токсичность)**

Исследование острой токсичности с оценкой класса опасности проведено в соответствии с требованиями руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Эксперименты проведены на 20 аутбредных крысах сток Вистар обоего пола, возрастом 4-5 месяца и массой от 300 до 350 граммов.

При определении острого токсического действия за сутки до нанесения БЦ на кожу животным основной группы (n=10) выстригали шерстный покров в области спины размером 5x5 см. Местное раздражающее действие на кожу оценивали при нанесении кусочка БЦ размером 2,5x2,5 см. БЦ наносили однократно, равномерно распределив по всей поверхности участка и слегка втирая в кожу. В контрольной группе (n=10) использовали марлевую повязку размером 2,5x2,5см, смоченную в растворе хлорида натрия 0,9% (изотонический). Первичную реакцию кожи оценивали сразу после нанесения, далее через 1, 2, 24, 48 и 72 ч. Оценивали состояние кожи, обращая особое внимание на возможность ее покраснения, отечность, наличие трещин, изъязвлений, кровоизлияний, появления сухой корки и т.д. Оценку раздражающего действия выражали в баллах по шкале в соответствии с принятыми методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны (1980). На протяжении всего эксперимента для кормления крыс использовался стандартный лабораторный рацион. Суточное потребление корма и воды фиксировали до применения БЦ, а также после наложения ежедневно, визуально. Массу тела животных определяли перед нанесением БЦ, а затем в течение всего периода наблюдения. Оценку общего состояния животных проводили с учетом

изменения поведенческих реакций (двигательная активность, число дыхательных движений, температура, груминг, акт приема корма, воды, акт дефекации). По истечении исследований у крыс каждой группы проводили забор органокомплекса и подвергали их эвтаназии под наркозом. Критерии оценки «острой» токсичности: число погибших животных и сроки их гибели, местные изменения, общая клиническая картина интоксикации, изменение поведенческих реакций. В эксперименте использовались животные одного возраста (3-4 месяцев), которые распределялись по группам так, чтобы их индивидуальная масса не отличалась более, чем на 10 % от средней массы животных одного пола. За каждым животным наблюдение проводили отдельно, в течение первых 24 часов непрерывно. Особенное внимание уделялось первым 8 часам после нанесения БЦ. Начиная со второго дня, на протяжении 14 суток, продолжали вести наблюдение за животными в утренние и вечерние часы с учетом картины интоксикации. Осмотр осуществлялся в клетках, на руках, на открытой поверхности.

Оценка цитотоксичности *in vitro* проводили согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*» методом экстракции. При этом оценивали непрямую токсичность. При этом заливали каждый образец площадью 2 см<sup>2</sup> полной ростовой средой (DMEM/F12, 10% FBS (Gibco), Anti-Anti (Gibco)) в количестве по 5 мл и выдерживали на протяжении 24 часов при 37 °C в CO<sub>2</sub>инкубаторе (Binder, Германия). Для исследования использовали 5-й пассаж линии клеток дермальных фибробластов, выделенных из кожи человека ранее по своей усовершенствованной методике. При этом предварительно подготавливали монослой клеток, чтобы он достигал не менее 80%. Для этого в 24 – луночный планшет засевали по 25 тысяч клеток на одну лунку и заливали полной ростовой средой (DMEM/F12, 10% FBS (Gibco), Anti-Anti (Gibco) 0,5 мл) в количестве 1 мл в каждую. При этом засеивали не менее 3 лунок для каждого образца. На 6-ой день (при достижении монослоя) производили замену ростовой среды на подготовленные экстракты. В

контрольной группе производили смену новой ростовой средой. После этого выдерживали клетки 24 часа в CO<sub>2</sub> инкубаторе при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub>. Качественную оценку клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа путём визуального осмотра окрашенных кристаллвиолетом. При этом оценивали общую морфологию, вакуолизацию, расщепление, лизис клеток и целостность клеточных мембран. Результаты выражали в процентах.

#### **2.4 Экспериментальное исследование применения БЦ в качестве раневого покрытия при лечении ожоговых ран**

В качестве раневых покрытий для лечения экспериментальных ожоговых ран использовались пластины влажной БЦ (лаборатория биоконверсии ИПХЭТ СО РАН. г. Бийск) размером 2,0х2,0 см и толщиной 2-3 мм. Образцы БЦ были тиражированы, расфасованы в стеклянные флаконы / пакеты из полимерной пленки, содержащие физиологический раствор / 1% раствор хлоргексидина и простерилизованы термическим методом (рис. 3).



Рисунок 3 – Стеклянные и пластиковые упаковки для хранения раневых покрытий на основе БЦ во влажной среде (физиологический раствор и 1% раствор хлоргексидина)

Исследование проводилось на модели гранулирующих ран после глубоких ожогов II-III степени. Для воспроизведения модели тяжелой термической травмы у животных (60 беспородных крыс-самцов, массой 200–240 г.) выстригалась

шерсть в зоне нанесения ожога. Под однокомпонентным внутрибрюшным наркозом (раствор Телазола в концентрации 1 мг/кг) в межлопаточном пространстве спины крысы линии Wistar, весом 230-300 грамм сбривалась шерсть, кожа обрабатывалась 70%-ным этиловым спиртом. Предварительно на нагревательной плите ПЛК-1818 производили нагревание металлической пластины, изготовленной из стали ЭИ992, толщиной 0,5 см и имеющей размеры нагревательной поверхности 2,0х2,0 см, с ручкой длиной 15 см и общим весом 50 грамм до температуры 180°C (рис. 4а). В дальнейшем в течение 12 секунд осуществлялось плотное соприкосновение кожи животного с нагретой поверхностью пластины (рис. 4б) для формирования глубокого ожога кожи, площадь которого соответствовало площади пластины.

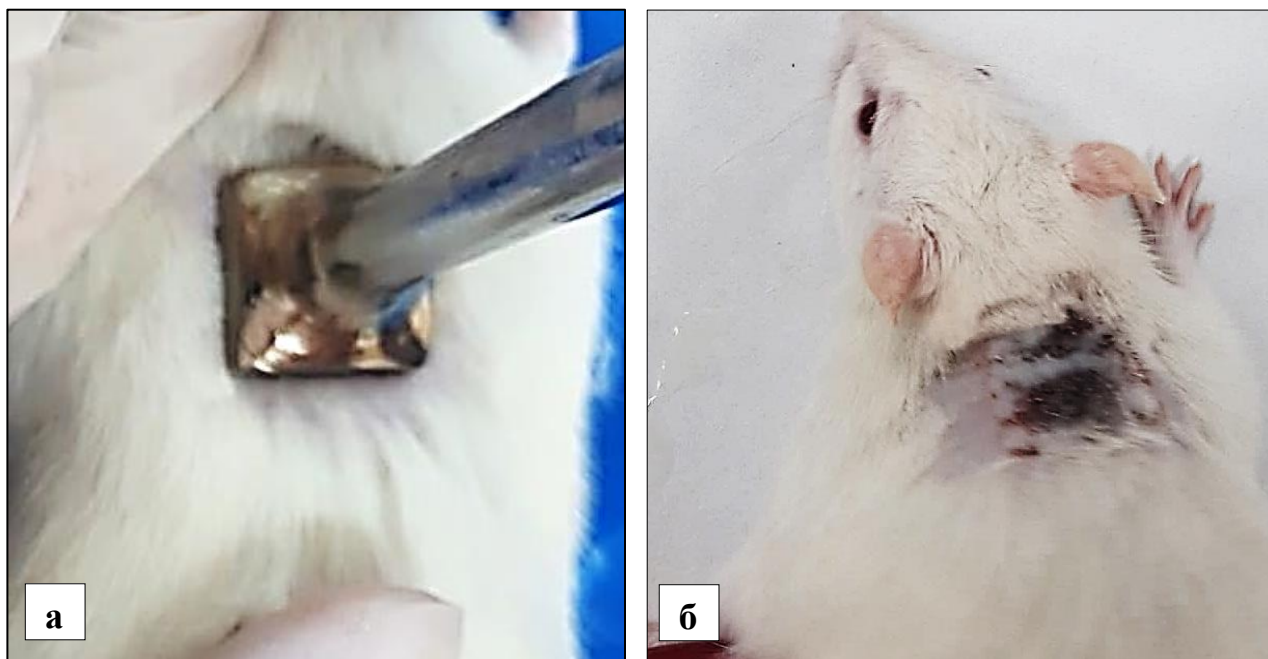


Рисунок 4 – Формирование глубокого ожога кожи у лабораторного животного: а – контакт нагревающей пластины с кожей животного, б – площадь формируемого ожога

Через двое суток выполнялась некрэктомия ожогового струпа (рис. 5а), с последующей аппликацией исследуемых материалов и фиксацией их на ране тканевым лейкопластырем. Пластины с БЦ укладывались на раневую поверхность на 3-5 суток (рис. 5б), после чего по мере высыхания и изменения цвета на серо-желтый во время повязки заменялись на новые. Критериями

эффективности служили: скорость заживления, сроки полного заживления, микробный пейзаж, лабораторные показатели (развернутый анализ крови, общий белок, АЛТ, АСТ, креатинин), макроскопическая картина ран, патоморфологические и морфометрические критерии на 5, 10, 20, 28-е сутки.

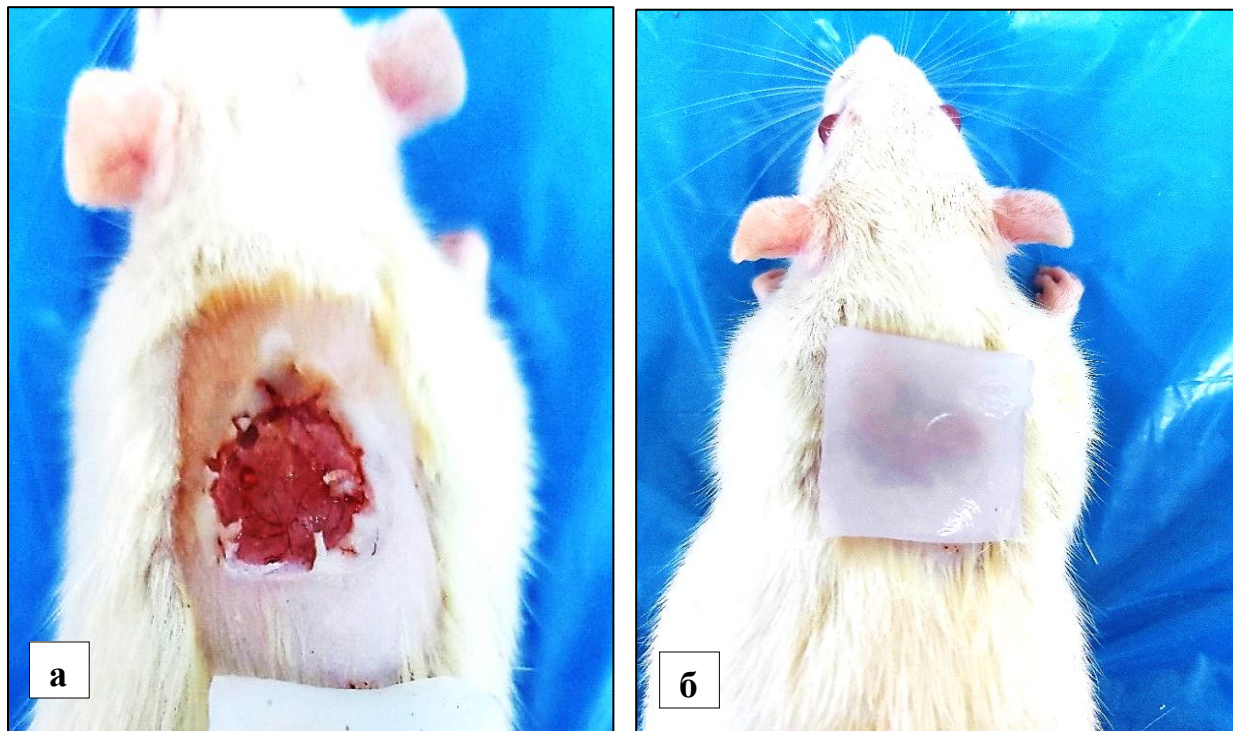


Рисунок 5 – Формирование и лечение экспериментальной ожоговой раны: а – вид ожоговой раны после удаления некротического детрита, б – на ожоговую поверхность нанесено раневое покрытие на основе влажной БЦ (показано стрелкой)

Были определены 3 группы животных (всего 80 беспородных крыс обеих полов линии Wistar, массой 200–240 гр.), по 20 особей в каждой: 1 группа (основная,  $n=20$ ) – лечение с помощью раневых покрытий на основе пластин влажной БЦ, находящихся в физиологическом растворе, 2 группа (основная,  $n=20$ ) – лечение с помощью раневых покрытий на основе влажной БЦ с адсорбцией антисептика (экспозиция в 1% растворе хлоргексидина), 3 группа (группа сравнения,  $n=20$ ) – традиционное лечение экспериментальных ожоговых ран с использованием мази Левомеколь, группа контроля ( $n=20$ ). Методология экспериментальной части работы заключалась в проведении клинико-лабораторных исследований у 60 экспериментальных животных с ожоговыми ранами кожи и мягких тканей нижних конечностей. В процессе исследования

оценивался характер течения раневого процесса. Указанные сроки были выбраны с учетом продолжительности фазы раневого процесса после ожога.

Эффективность применения исследуемых покрытий на основе БЦ оценивали по следующим критериям:

1. Клиническое состояния животных (наблюдение за общим состоянием, измерение температуры тела, пульса, частоты дыхательных движений);
2. Изучение регенеративных процессов поврежденных тканей у животных при помощи планиметрического метода исследования ожоговых ран на 5-е, 10-е, 20-е, 28-е сутки;
3. Динамика патоморфологических и морфометрических показателей заживления раны у животных контрольной и опытных групп на 5-е, 10-е, 20-е и 28-е сутки после формирования ожоговой раны;
4. Показатели развернутого анализа крови (гемоглобин, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, нейтрофилы, моноциты), биохимического анализа крови (общий белок, креатинин, АЛТ, АСТ) у животных контрольной и опытных групп на 5-е, 10-е, 20-е и 28-е сутки после лечения ожоговой раны;
5. Показатели бактериальной контаминации у животных контрольной и опытных групп на 5-е, 10-е, 20-е и 28-е сутки лечения ожоговой раны.

Скорость заживления ран оценивалось планиметрическим методом. Начиная с пятых суток после нанесения повреждения ежедневно на прозрачную пленку переносили контуры каждого дефекта, затем подсчитывали его площадь с помощью миллиметровой бумаги. Абсолютную площадь ( $S$ , мм<sup>2</sup>) поверхностного дефекта кожи рассчитывали по формуле:  $S = n + 1/2k \times C$ , где  $n$  – количество квадратов размером 2,0×2,0 мм<sup>2</sup>, полностью находящихся в пределах контура раны;  $k$  – количество квадратов размером 2,0×2,0 мм<sup>2</sup>, частично находящихся в пределах контура раны;  $C$  – площадь одного квадрата размером 2,0×2,0 мм<sup>2</sup>. Динамику репарации и регенерации оценивали по индексу заживления, расчет которого осуществлялся по формуле:  $S - S_n \times 100 / S \times T$ , где:  $S$  - площадь раны при предыдущем измерении, мм<sup>2</sup>;  $S_n$  - площадь раны при данном измерении, мм<sup>2</sup>;  $T$  - интервал между измерениями, сутки.

Дополнительно проводилась макроскопическая оценка (гиперемия, отек, инфильтрация, отделяемое из раны, наличие фибрина и отграниченных скоплений гноя), проводились двукратные микробиологические и гистологические исследования ран и БЦ, забор и оценка клинического и биохимического анализа крови. Во время ежедневного осмотра ожоговых ран регистрировали сроки образования и фиксацию струпа, наличие отека окружающих тканей, сроки полного очищения, начало формирования грануляционной ткани и краевой эпителизации, полное заживление раны и отмечали наличие инфекционных осложнений. В течение всего периода наблюдения следили за поведением животных, характеристиками потребления корма и воды. На всем протяжении клинического исследования выполнялась фотосъемка, включая фотографии результатов гистологического исследования.

## **2.5 Патоморфологические и морфометрические исследования**

Для исследования использовали биоптаты кожи, полученные от экспериментальных животных крыс-самцов и самок линии Wistar в количестве по 6 образцов из каждой группы на 5, 10, 20, и 28 день эксперимента. Для этого после эвтаназии животного вырезали кусочек кожи размером 0,5х0,5 см и погружали в фиксирующий раствор (10% формалин) на 24 часа. После фиксации материал проводили в 8 порциях изопропилового спирта в автоматической проводочной станции TISSUE-TEK VIPTM6 (Sakura, NaganoJapan) и заливали в парафин. Срезы толщиной от 5 до 7 мкм изготавливали на роторном микротоме Accu-Cut SRM (Sakura, Japan), окрашивали гематоксилином и эозином и заключали под покровное стекло при помощи монтирующей среды Витрогель (Биовитрум). Полученные препараты фотографировали при помощи микроскопа Zeiss Primo Star. Оценивали процентный состав воспалительного инфильтрата (лимфоциты, плазмоциты, макрофаги), фибробласты. Количество клеток воспалительного инфильтрата и число сосудов подсчитывали при увеличении х400 в 5 полях зрения в каждом случае в программа Image Tool 3.0. при помощи

инструмента Coutand Tag. Патоморфологические исследования выполнены при изучении безопасности образцов БЦ (острая токсичность и цитотоксичность), а также оценке скорости заживления ран в период 5, 10, 20 и 28 суток.

## **2.6 Статистическая обработка полученных результатов**

Статистическая обработка полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ Statistica 10.0. и пакета статистического анализа программы MS EXCEL 2010. Для каждой из величин высчитывали среднее (М) и ошибку среднего (m). Гипотезу о нормальности распределения вероятности данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении данных при проверке статистических гипотез применяли методы параметрической статистики (t-test Стьюдента), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка  $W = 0,89$ ,  $p < 0,01$ ), то применяли тест Колмогорова-Смирнова или U-тест Манна-Уитни. Данные считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Материалы данной главы изложены в следующих публикациях:

1. Жариков А.Н. Морфологические свойства и безопасность кожного применения бактериальной целлюлозы / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Н.М. Семенихина // Сибирское медицинское обозрение. – 2023. – №4. – С.68-75.
2. Жариков А.Н. Результаты заживления ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в эксперименте / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Н.М. Семенихина // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – Т.31. – №3. – С.19-29.
3. Жариков А.Н. Оценка эффективности лечения экспериментальных ожоговых ран по результатам лабораторных и морфологических исследований / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, В.В. Прокопьев, Н.М. Семенихина // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – Т.31. - №3. – С.65-73.

### Глава 3

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ**

Эксперименты проведены на 20 аутбредных крысах линии Вистар обоих полов возрастом 4-5 месяца и массой от 250 до 350 граммов. Животные были выращены в отделении генетики животных и человека Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск). Исследования на крысах проводили согласно ГОСТа 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и правил, принятых Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (г. Страсбург, 1986). Эвтаназию животных осуществляли с соблюдением требований Хельсинкской декларации о гуманном отношении (г. Хельсинки, 2002) путем декапитации на гильотине лабораторной (после наркотизации диэтиловым эфиром) с одновременным забором биологического материала.

Все процедуры с животными в исследовании проводились в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, принятой Европейским союзом в 1986 г.; Директивой Совета 86/609/ЕЕС, основанной на тексте соглашения «Dr. Robert Hubrecht, Current EU Legislation Controlling Animal Experiments», и в соответствии с «Правилам надлежащей лабораторной практики евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств», утвержденными решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 №81. Служба контроля качества лаборатории осуществляла проверку плана, хода исследования и итогового протокола.

Протоколы экспериментальных исследований настоящей работы прошли биоэтическую экспертизу на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протокол № 6 от 26 апреля 2023г.)

### **3.1 Исследование острой токсичности бактериальной целлюлозы при накожном применении**

Распределение животных по экспериментальным группам при накожном применении БЦ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных по группам при моделировании острой токсичности

| Группа животных    | Режимы накожного применения БЦ в сравнении с контролем                                    | Количество животных           |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Контрольная группа | Однократное нанесения марлевой повязки 2,5х2,5 см смоченной 0,9% раствором натрия хлорида | 5 крыс самок<br>5 крыс самцов |
| Опытная группа     | Однократное нанесение стерильной бактериальной целлюлозы 2,5х2,5 см                       | 5 крыс самок<br>5 крыс самцов |

При определении острой накожной токсичности за сутки до нанесения бактериальной целлюлозы на кожу животным выстригали шерстный покров в области спины размером 5,0х5,0 см (рис. 6а). Раздражающее действие на кожу оценивали при нанесении кусочка БЦ размером 2,5х2,5 см в опыте по определению острого токсического действия. БЦ наносили однократно, равномерно распределив их по всей поверхности участка и слегка втирая в кожу и фиксируя марлевой повязкой (рис. 6б). В качестве контроля использовали марлевую повязку размером 2,5х2,5 см смоченный раствор хлорида натрия 0,9% (изотоническим). В эксперименте использовались животные одного возраста (3-4 месяца), которые распределялись по группам так, чтобы их индивидуальная масса не отличалась более, чем на 10 % от средней массы животных одного пола. Первичную реакцию кожи оценивали сразу после нанесения, далее через 1, 2, 24, 48 и 72 часа. Оценивали состояние кожи, обращая особое внимание на возможность ее покраснения, отечность, наличие трещин, изъязвлений, кровоизлияний, появления сухой корки и т.д.

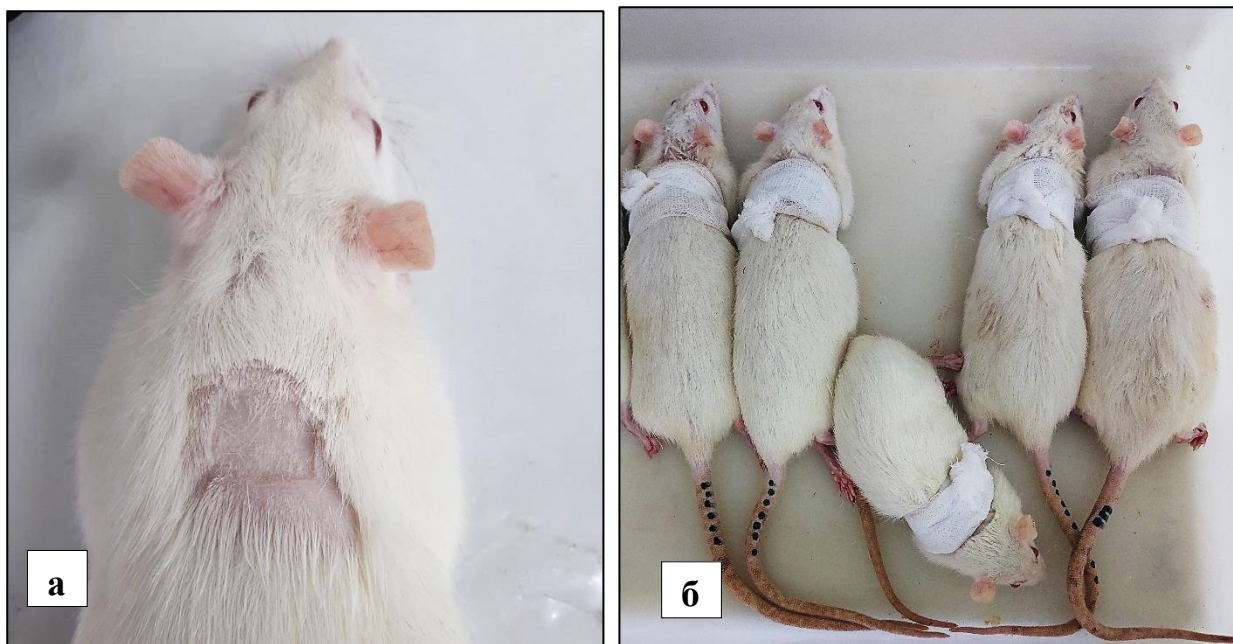


Рисунок 6 – Экспериментальные исследования острой токсичности БЦ: а – формирование площадки на спинке животного для эксперимента, б – фиксация БЦ на поверхности кожи крыс

За каждым животным наблюдение проводили отдельно, в течение первых 72 часов непрерывно. Особенное внимание уделялось первым 8 часам после нанесения БЦ. Начиная со второго дня, на протяжении 14 суток, продолжали вести наблюдение за животными в утренние и вечерние часы с учетом картины интоксикации. Осмотр осуществлялся в клетках, на руках, на открытой поверхности. Суточное потребление корма и воды фиксировали до введения соединений, а также после введения ежедневно, визуальное. Массу тела животных определяли перед введением препаратов, а затем в течение всего периода наблюдения. Оценку общего состояния животных после введения исследуемых соединений проводили с учетом изменения поведенческих реакций (двигательная активность, груминг, акт приема корма, воды, акт дефекации), а также при исследовании температуры тела и количества дыхательных движений. Все данные в течение всего периода исследования заносились в индивидуальную карту исследования животного (рис. 7)

**Экспериментальная карта № 1**

**Изучения острой токсичности**

Подопытное животное: крыса  
Пол: мужской  
Доза исследуемого препарата: Бактериальная целлюлоза 2,5х2,5 см

Эксперимент начал: 25.07.2023      Эксперимент окончен: 10.08.2023

Таблица 1

Сравнительная оценка массы тела экспериментального животного

| Дата определения | До введения<br>25.07.2023 | 28.07.2023 | 02.08.2023 | 06.08.2023 | 09.12.2023 |
|------------------|---------------------------|------------|------------|------------|------------|
| Вес, граммы      | 326,0                     | 327,0      | 330,0      | 330,0      | 332,0      |

Таблица 2

Оценка общего состояния экспериментального животного

| Показатели<br>Дата | Общее состояние | Поведение | Характер двигательной активности | Состояние кожных покровов, шерсти | Потребление корма и воды | Кожная реакция |
|--------------------|-----------------|-----------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|----------------|
| 25.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 26.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 27.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 28.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 29.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 30.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 31.07.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 01.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 02.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 03.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 04.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 05.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 06.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 07.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 08.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |
| 09.08.2023         | норма           | активны   | активны                          | норма                             | в норме                  | отсутствует    |

Подпись исследователя \_\_\_\_\_

Рисунок 7 – Индивидуальная карта исследования лабораторного животного

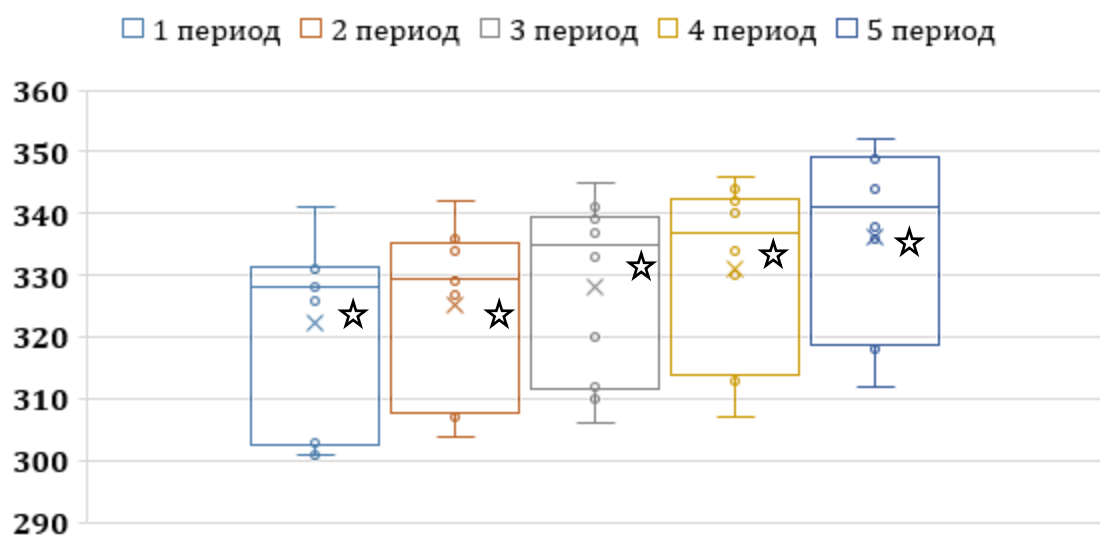
Оценку раздражающего действия выражали в баллах по шкале в соответствии с принятыми методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны. Критерии оценки «острой» токсичности были следующие: число погибших животных и сроки их гибели, общая клиническая картина интоксикации, изменение поведенческих реакций. На протяжении всего эксперимента для кормления крыс использовался стандартный лабораторный рацион. По истечении исследований у крыс каждой группы проводили забор органокомплекса и подвергали их эвтаназии под наркозом. Оценку класса опасности БЦ проводили в соответствии с требованиями, изложенными в практическом руководстве «Общая токсикология» под редакцией А.О. Лойта

(2006). Проведенные эксперименты по изучению острой кожной токсичности БЦ показали, что ни в одной экспериментальной группе крыс случаев гибели животных за 14 дней периода наблюдений зафиксировано не было (таблица 2).

Таблица 2 – Токсичность бактериальной целлюлозы при однократном кожном введении крысам

| Вид животных | Пол   | Доза бактериальной целлюлозы | Число животных в группе/число погибших животных |
|--------------|-------|------------------------------|-------------------------------------------------|
| Крысы        | Самцы | 2,5х2,5 см                   | 10/0                                            |
| Крысы        | Самки | 2,5х2,5 см                   | 10/0                                            |

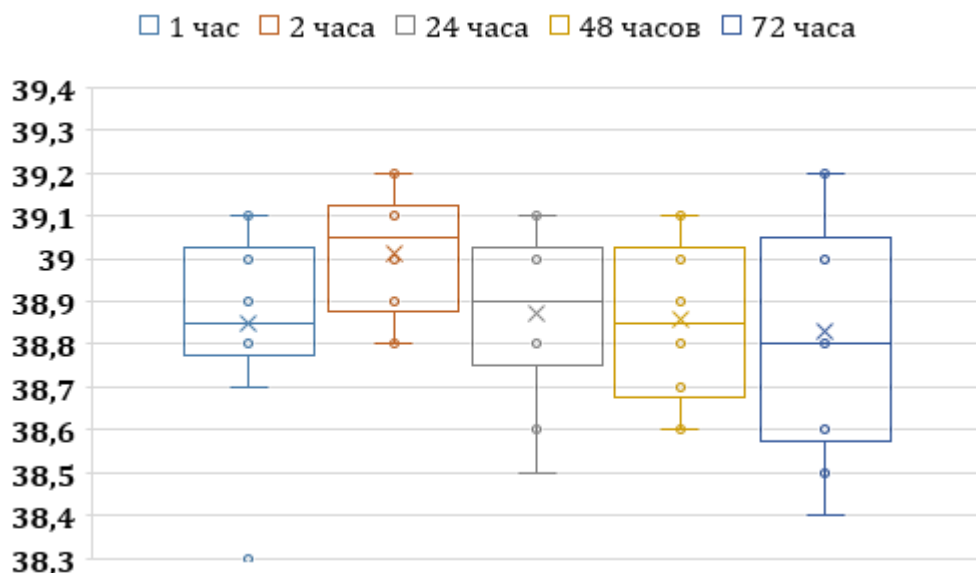
Клинических проявлений токсичности в экспериментальной группе и изменений в поведенческих реакциях в течение всех 14 дней не наблюдалось. Измерение массы тела крысам, которым наносили бактериальную наноцеллюлозу, показало, что, как у самцов, так и у самок, наблюдалось последовательное статистически значимое увеличение массы тела относительно исходного уровня (рис. 8).



Примечание: \* - значимость различий массы животных между периодами наблюдений ( $p < 0,05$ )

Рисунок 8 – Сравнительная оценка массы тела экспериментальных животных на протяжении 14 суток наблюдений

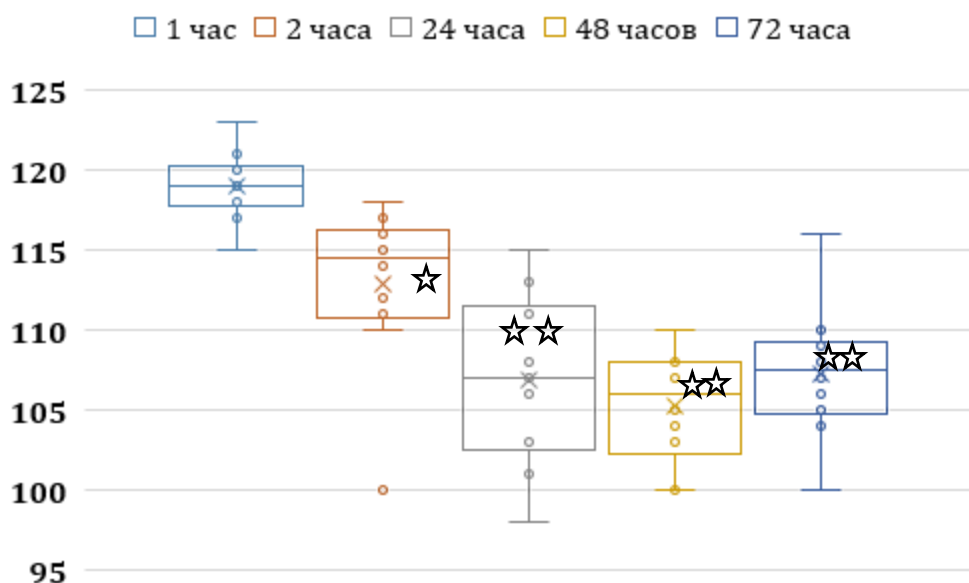
Отмечалась нормальная координация движений. Животные активно потребляли корм и воду. Физиологические отправления и показатели температуры без отклонений от нормы (рис. 9). Так в первый час наблюдений ее средние показатели были равны  $38,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  и к периоду 72 часов достоверно не изменились, составив в среднем  $38,8 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .



Примечание: отсутствие различий температурной реакции у животных в первые 72 часа наблюдений ( $p > 0,05$ )

Рисунок 9 – Сравнительная оценка температуры экспериментальных животных на протяжении первых 72 часов наблюдений

При исследованиях количества дыхательных движений в течении 72 часов наблюдений установлено (рисунок 10), что в первый час эксперимента число дыхательных движений крыс было несколько чаще, достигая  $119,0 \pm 0,7$  дыхательных движений в минуту, что объяснялось поведенческой реакцией животных на анестезию и хирургическое вмешательство, с постепенным снижением ко второму часу ( $p < 0,05$ ) и нормализацией показателей в течение 72 часов ( $p < 0,001$ ). Значимых различий в частоте дыхательных движений спустя 24, 48 и 72 часа наблюдений не выявлено ( $p < 0,05$ ).



Примечание: \* - значимость различий между 1 и 2 часом ( $p < 0,01$ ), \*\* - значимость различий между 1 часом и 24, 48, 72 часами наблюдений ( $p < 0,001$ )

Рисунок 10 – Сравнительная оценка количества дыхательных движений экспериментальных животных на протяжении 72 часов наблюдений

Патологоанатомическая картина при аутопсии животных в опытных группах не отличалась от таковой, которая наблюдалась у контрольных животных.

### 3.2 Патоморфологическое исследование внутренних органов крыс при применении бактериальной целлюлозы

#### 3.2.1 Патоморфологическая характеристика печени

В контрольной группе размеры гепатоцитов и их ядер были в норме, в цитоплазмах гепатоцитов четко были видны крупные гранулы гликогена. Полнокровие сосудов, стазы эритроцитов в синусоидных капиллярах и отек пространств Диссе не отмечались. Явления вакуольной дистрофии не определялись. В печени отмечали значительное число малых лимфоцитов (рис. 11a). В подопытной группе патоморфологическая картина была сходна с картиной в подопытной группе (рис. 11б).

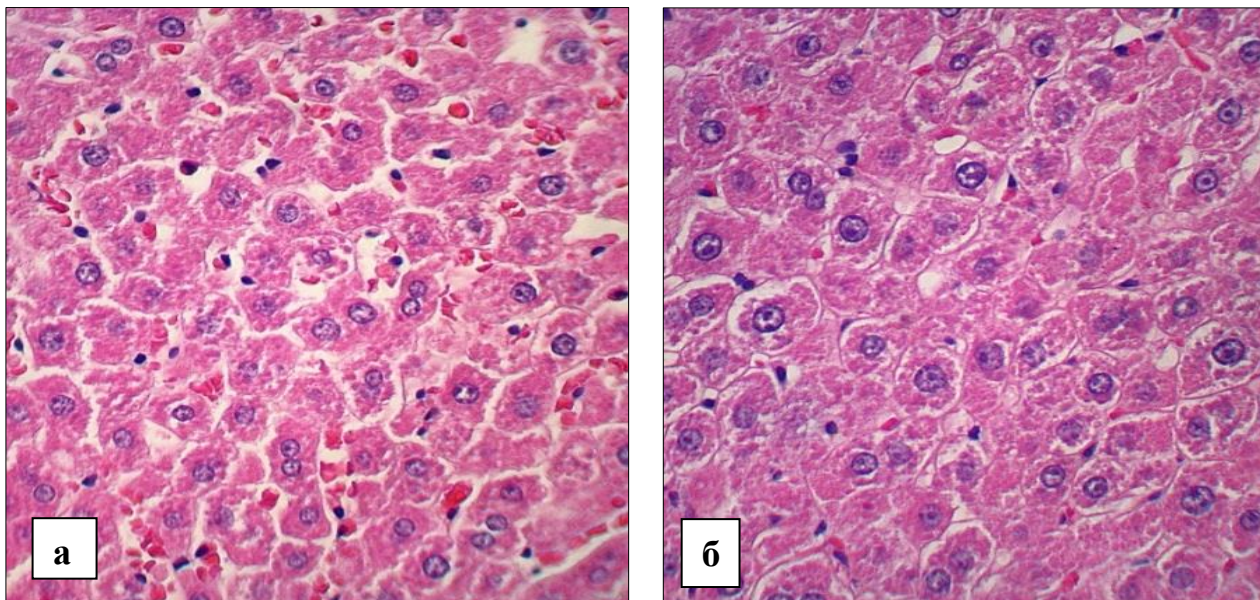


Рисунок 11 – Сравнение патоморфологической картины печени крыс контрольной (а) и подопытной групп (б). Примечание: Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

### 3.2.2 Патоморфологическая характеристика миокарда

В миокарде крыс контрольной группы полнокровия сосудов и стазы в капиллярах отсутствовали, эритроциты в капиллярах были четко видны в виде цепочек. Ядра кардиомиоцитов не увеличены в размерах, явления интерстициального отека отсутствовали (рис. 12а). Аналогичная картина наблюдалась и в подопытной группе (рис. 12б).

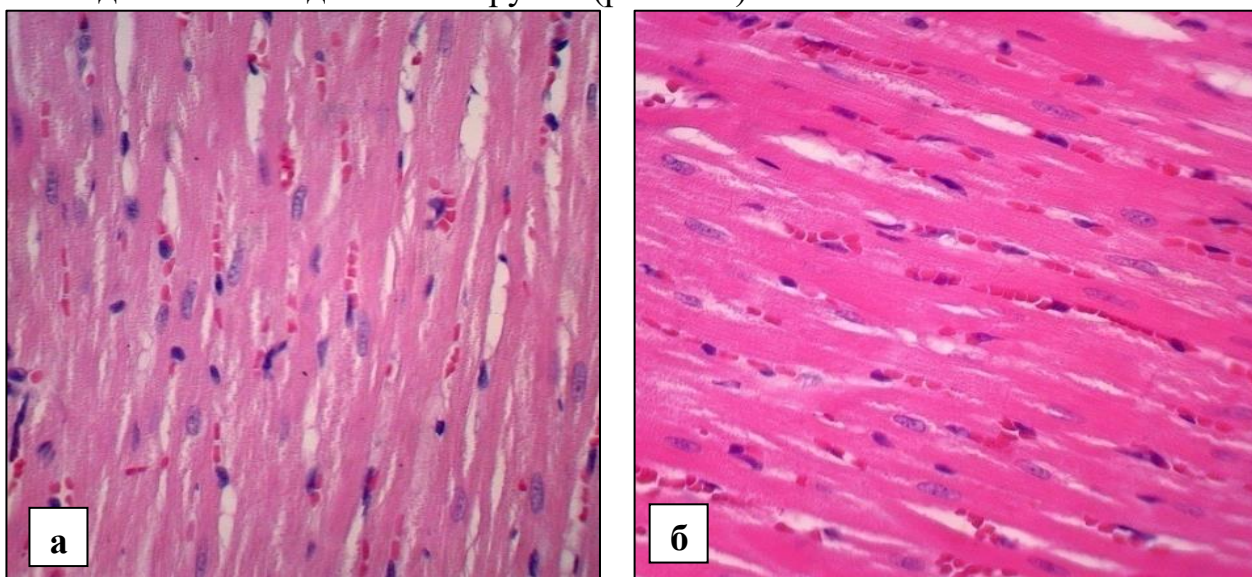


Рисунок 12 – Сравнение патоморфологической картины миокарда крыс контрольной (а) и подопытной (б) группы. Примечание: Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

### 3.2.3 Патоморфологическая характеристика легких

В контрольной группе в легких экспериментальных животных изменения в сосудах и бронхах не выявляли. Сосуды находились в состоянии умеренно выраженного полнокровия, межалвеолярные перегородки были тонкими. Транссудата в альвеолах не было (рис. 13а). В подопытной группе патоморфологическая картина легких была сходна с картиной контрольной группы. Спазмы сосудов и бронхов не обнаруживались (рис. 13б).

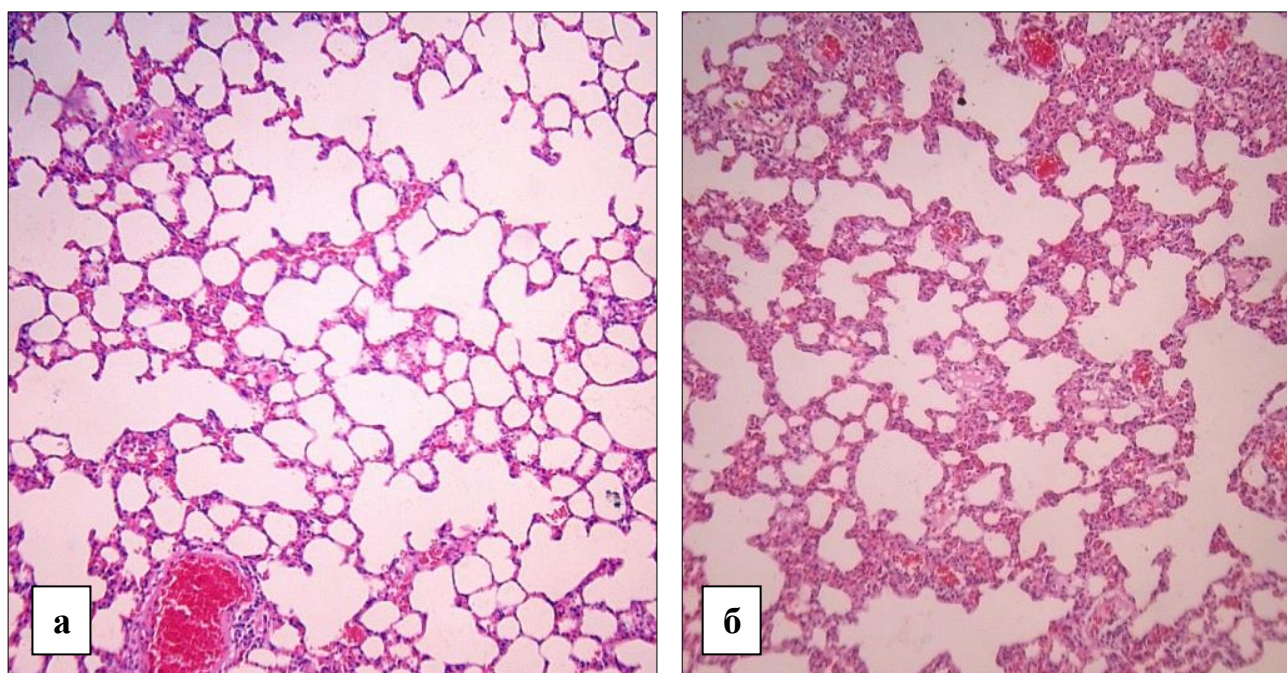


Рисунок 13 – Сравнение патоморфологической картины легких крыс контрольной и подопытных групп. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

### 3.2.4 Патоморфологическая характеристика ткани почки

В контрольной группе исследования нефроциты и их ядра в норме, просветы канальцев были видны отчетливо (рис. 14а). В подопытной группе в почках крыс выявлялась патоморфологическая картина, аналогичная картине, найденной в почках крыс контрольной группы, но явления полнокровия сосудов уменьшались (рис. 14б).

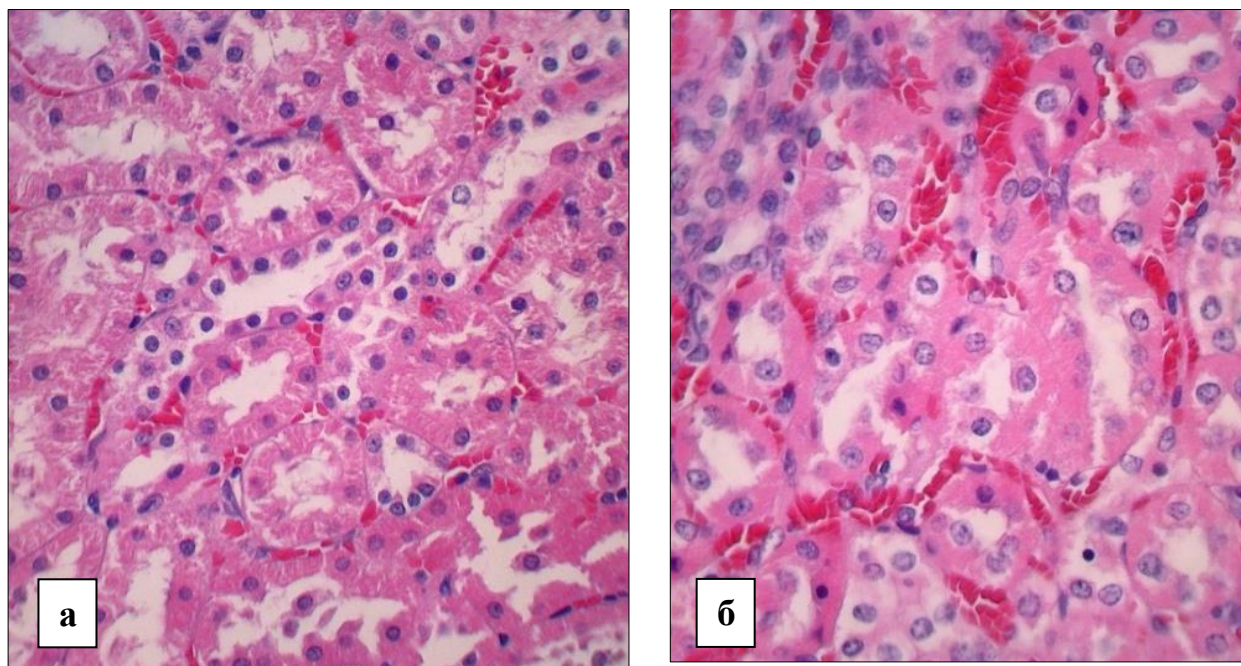


Рисунок 14 – Сравнение патоморфологической картины почек крыс контрольной (а) и подопытных групп (б). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Таким образом, патоморфологические исследования внутренних органов экспериментальных животных подтвердили отсутствие негативного действия изучаемого раневого покрытия на основе бактериальной наноцеллюлозы. Микроциркуляция и реология крови во внутренних органах экспериментальных животных была в норме, развитие стазов и сладж-феномена в капиллярах печени, миокарда, почки не наблюдалось.

### **3.3 Исследование цитотоксичности экстракта бактериальной целлюлозы при контакте с дермальными фибробластами человека**

Исследование на цитотоксичность проводили согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. Оценка на цитотоксичность БЦ выполнялась методом экстракции. При этом заливали каждый образец площадью 2 см<sup>2</sup> полной ростовой средой (DMEM/F12, 10% FBS (Gibco), Anti-Anti (Gibco)) в количестве по 5 мл и выдерживали на протяжении

24 часов при 37 0С. в CO2 инкубаторе (Binder, Германия). Для исследования использовали 5 пассаж линии клеток дермальных фибробластов человека, выделенных из кожи человека ранее по своей усовершенствованной методике. При этом предварительно подготавливали монослой клеток, чтобы он достигал не менее 80%. Для этого в 24 –луночный планшет засеивали по 25 тысяч клеток на одну лунку и заливали полной ростовой средой (DMEM/F12, 10% FBS (Gibco), Anti-Anti (Gibco) 0,5 мл) в количестве 1 мл в каждую. При этом засеивали не менее 3 лунок для каждого образца.

На 6-ой день (при достижении монослоя) производили замену ростовой среды на подготовленные экстракты. После этого выдерживали клетки 24 часа в CO2 инкубаторе при 37 0С и 5% CO2. Качественную оценку клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа путём визуального осмотра окрашенных кристаллвиолетом клеток под микроскопом (Nicon). При этом оценивали изменение морфологии клеток опытных групп и сравнивали с контролем.

При определении цитотоксичности образцов бактериальной целлюлозы *in vitro* при качественной оценке клеток обращали внимание общую морфологию, вакуолизацию, расщепление, лизис клеток и целостность клеточных мембран, выражая в % (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты качественной оценки фибробластов человека после добавления экстрактов бактериальной целлюлозы

| Показатель                                              | 1 образец | 2 образец  | Контроль              | P     |
|---------------------------------------------------------|-----------|------------|-----------------------|-------|
| Наличие монослоя, %                                     | 85,0±2,4* | 85,1±2,1** | 88,3±2,6 <sup>k</sup> | >0,05 |
| Фибробластоподобная морфология, %                       | 90,2±1,8  | 88,1±1,6   | 92,3±1,4              | >0,05 |
| Вакуолизация цитоплазмы, включения, клеточный дебрис, % | 3         | 1          | 2                     | >0,05 |

Примечание: значимость различий между образцами БЦ в сравнении с контролем (p>0,05)

Фибробласты опытных групп имели общую морфологию с клетками контрольной группы, в частности по наличию монослоя ( $p>0,05$ ), фибробластоподобной клеточной морфологии ( $p>0,05$ ), вакуолизации цитоплазмы, включениям, клеточному дебрису (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты качественной оценки дермальных клеток после добавления экстрактов БЦ

| Показатель                  | 1                                  | 2                                              | Контроль                                       |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Наличие монослоя            | да                                 | да                                             | да                                             |
| Расположение клеток         | Параллельно друг другу             | Параллельно друг другу, образуя завитки, пучки | Параллельно друг другу, образуя завитки, пучки |
| Форма клеток                | Веретеновидная                     | Веретеновидная                                 | Веретеновидная                                 |
| Форма ядра, расположение    | Овальное, центрально расположенное | Овальное, центрально расположенное             | Овальное, центрально расположенное             |
| Ядрышки, количество, размер | 2-4, одинаковой формы и размера    | 2-4, одинаковой формы и размера                | 2-5, одинаковой формы и размера                |
| Цитоплазма                  | умеренная                          | умеренная                                      | умеренная                                      |
| Вакуоли, включения          | нет                                | нет                                            | нет                                            |

Из данных таблицы следует, что клетки из первой и второй группы имели минимальное количество различий по морфологии с клетками контрольной группы, в частности по характеру расположения (рис. 15 а, б). В целом клетки основных групп имели морфологию, характерную для типичных фибробластов: клетки веретеновидной формы, расположенные параллельно друг другу. Ядро овальное, центрально расположенное, ядрышек от 2 до 4 (рис. 15).

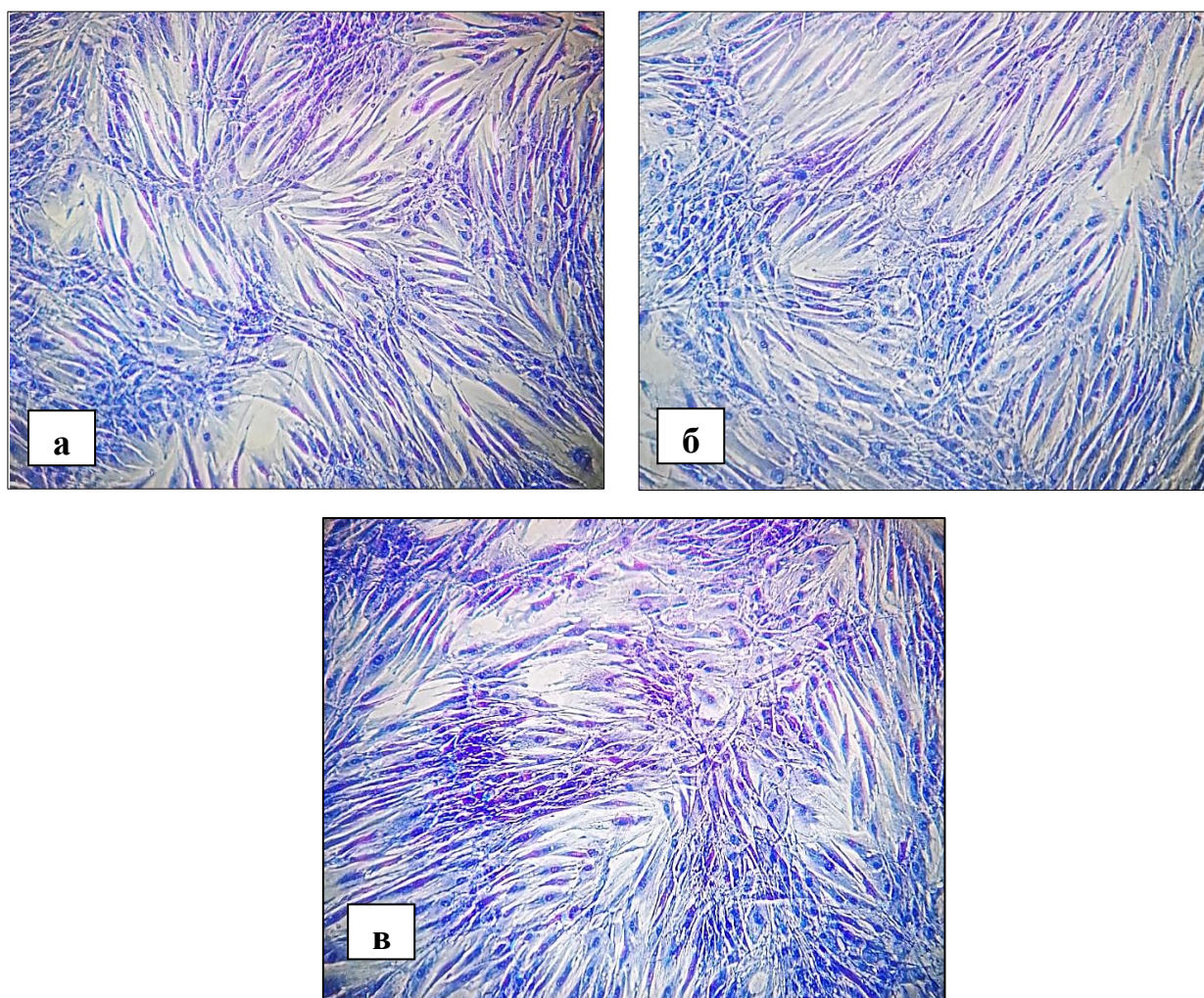


Рисунок 15 – Фибробласты человека: а – первой опытной группы, б – второй опытной группы, в – дермальные фибробласты контрольной группы (Об.х 10, ок.х10, генцианвиолет).

Цитоплазма была умеренная, без четких клеточных контуров (рис. 12 а, б, в). При оценке скорости образования монослоя не выявлено существенной разницы среди исследуемых групп. Клетки во всех чашках занимали более 85% поверхности культурального сосуда, располагались равномерно. Вакуолизация, лизис клеток, наличие клеточного дебриса также не имело достоверных различий между группами. В целом полученные наблюдения свидетельствовали, что экстракты, полученные из БЦ, не проявляют цитотоксического действия в отношении тестируемых клеток, в частности дермальных фибробластов человека.

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований по определению острой кожной токсичности и цитотоксичности образцов бактериальной наноцеллюлозы, изготовленной в лаборатории биоконверсии института проблем химико-энергетических технологий СО РАН (г. Бийск) относится к IV классу опасности химических веществ: (малоопасные вещества). После однократного нанесения стерильных образцов бактериальной наноцеллюлозы размером 2,5х2,5 см случаев гибели подопытных животных не зафиксировано. Клинических проявлений интоксикации (температурной реакции, увеличения частоты дыхательных движений) и изменений поведенческих реакций также не выявлено. При изучении динамики массы тела подопытных животных установлено, что в течение 14 дней периода наблюдений имела место отчетливая тенденция к увеличению массы тела крыс обоего пола. Патоморфологические изменения внутренних органов экспериментальных животных не отличались от таковых в контрольной группе. Так же не наблюдалось проявлений цитотоксичности, что отражается в отсутствии изменения морфологии дермальных клеток человека при сравнении с контрольной группой.

Материалы данной главы изложены в следующих публикациях:

1. Жариков А.Н. Морфологические свойства и безопасность кожного применения бактериальной целлюлозы / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Н.М. Семенихина // Сибирское медицинское обозрение. – 2023. – №4. – С.68-75.

## Глава 4

# РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖГОВЫХ РАН

### 4.1 Изменения площади и микробного спектра ожговых ран при лечении с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в эксперименте

Клинические наблюдения показали, что в течение первых суток после ожговой травмы у всех лабораторных животных отмечалось нарушение координации движений, вялость. В первые сутки после нанесения ожга во всех группах снижалось потребление корма и повышенное потребление воды.

При визуальном осмотре было установлено, что во всех группах животных на месте термического ожга 2-3 степени в течение первых суток после его нанесения формировался участок сухого коагуляционного некроза серо-черного цвета.

После его удаления на фоне индукции новой анестезии ожговые раны во 1 и 2 группе были хорошо изолированы от внешней среды с помощью наложения пластин влажной БЦ, а в группе сравнения на ожговые раны накладывались ежедневные повязки с мазью Левомеколь. Благодаря уникальной 3D наноструктуре и влажности мембраны БЦ практически полностью выравнивали и воспроизводили раневую поверхность по площади, создавая оптимальную закрытую среду для заживления ран и регенерации кожи.

Спустя 3 суток после нанесения на рану БЦ, материал во 1 и 2 группе высыхал, плотно фиксируясь на ожговой поверхности и к кожным краям в виде струпа коричневого цвета (рис. 16), что препятствовало прилипанию марли к ране. При отсутствии признаков инфицирования струп во время перевязок не убирали, что позволяло ему находиться на поверхности раны до 5-10 суток, обеспечивая ей защитный барьер.

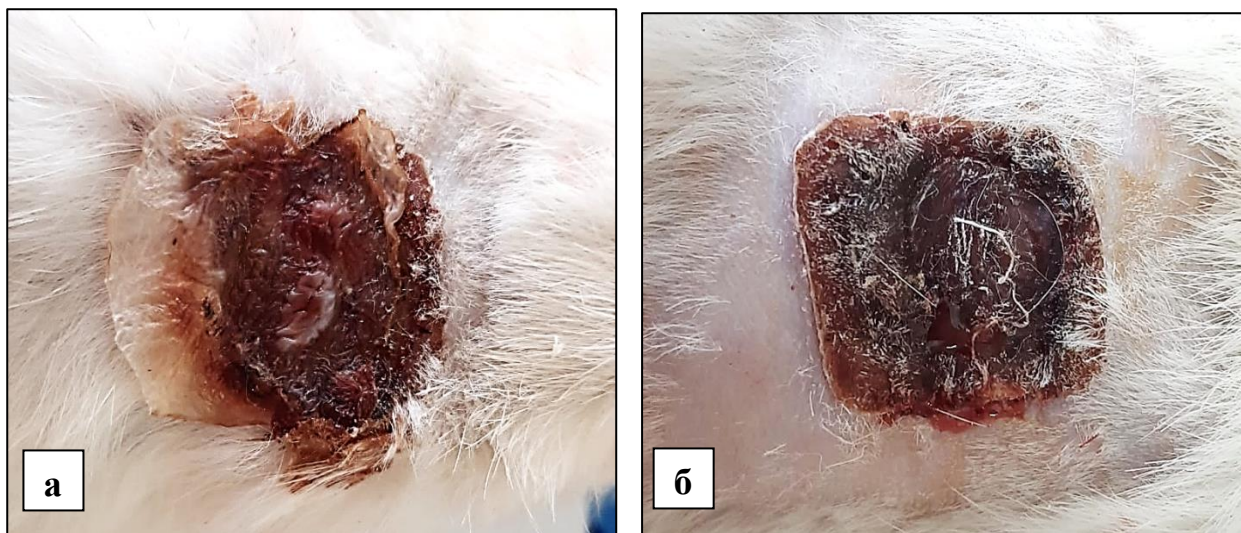


Рисунок 16 – Пластины фиксированной к ожоговой ране БЦ в виде сухого струпа на 5 сутки (а) и 10 сутки (б)

Благодаря ускоренному метаболизму фазы заживления ран у крыс короче, чем у людей, что позволяло быстрее получать результаты, так в исследовании уже через 10 дней наблюдения ожоговые раны в трех группах подвергались заживлению. Однако, при макроскопической оценке бактериальные целлюлозные мембраны оказались более эффективными в скорости заживления ожоговых ран. Так, на 5 сутки сухие пластины БЦ (группа с физиологическим раствором и группа с раствором хлоргексидина) были уже хорошо фиксированы к ране, однако под ними имелся небольшой серозный экссудат и эпителизации раны еще не отмечалось (рис. 17а), тогда как на 10 сутки после удаления пластины отмечалось заживление раны почти на половину (рис. 17б), а к 20 суткам практически более чем на 2/3 площади раны (рис. 17в). У животных 1-й и 2-й групп (БЦ в физиологическом растворе и с антисептиком) высохшие пластины БЦ снимались легко, без кровотечения и без удаления рыхлой грануляционной ткани. В обеих группах животных, где лечение термических кожных ран проводилась с помощью целлюлозных пластин (физиологический раствор и 1% раствор хлоргексидина) не было признаков инфекции, скопления гнойного экссудата или образования абсцессов.

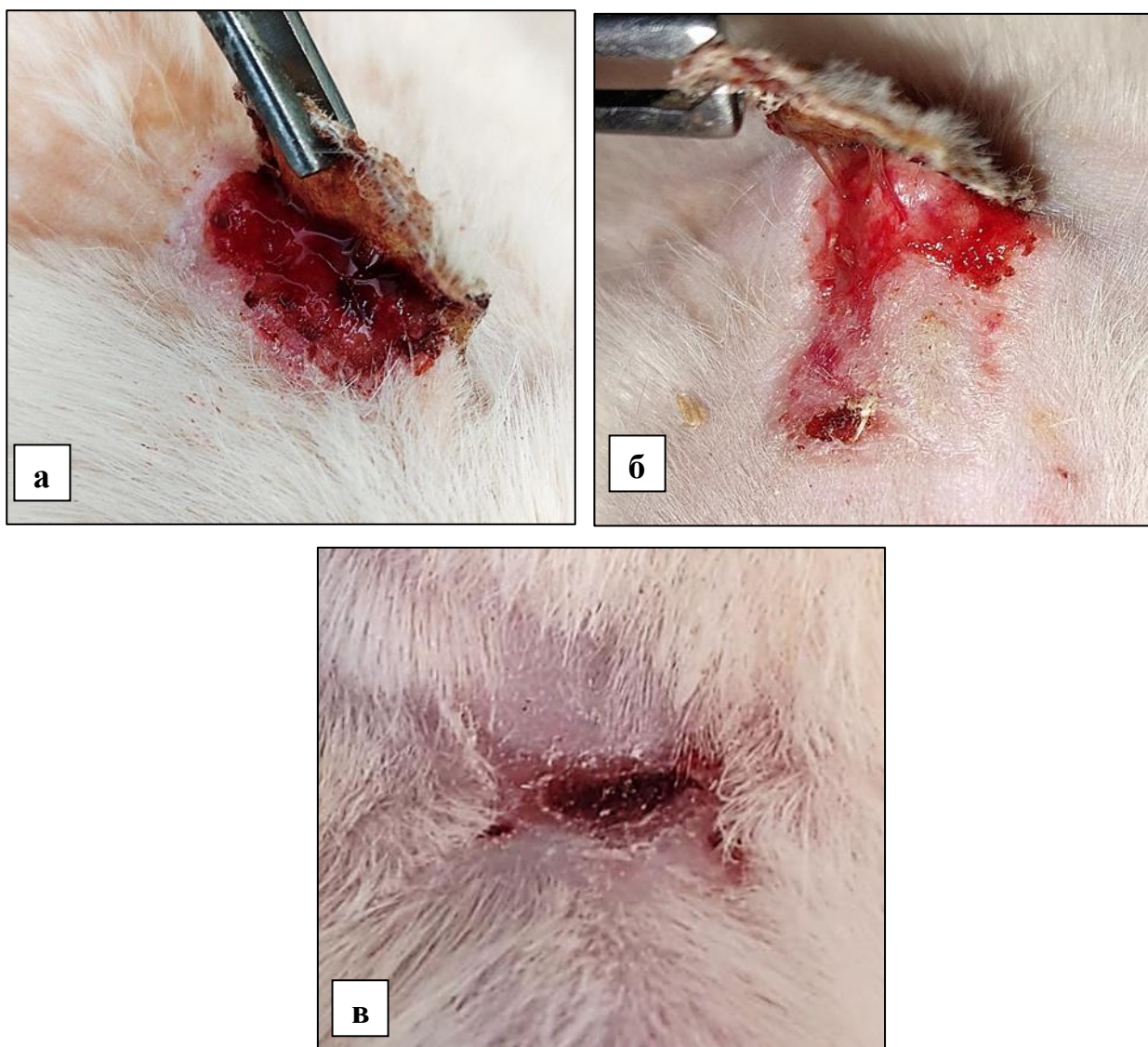


Рисунок 17 – Фото ожоговых ран после удаления сухих пластин бактериальной целлюлозы у животных 1 и 2 группы: а – 5 сутки после нанесения БЦ, б – 10 сутки после нанесения БЦ, в – 20 сутки после нанесения БЦ

На 5 сутки в группе животных, где использовались перевязки с мазью Левомеколь (3 группа, сравнения) марля была приклеена непосредственно к ложу ожоговой поверхности, где имелся мокнущий раневой детрит с признаками воспаления, наличием серозно-геморрагического экссудата. Ежедневное снятие марли в 3 группе приводило к небольшому повреждению и легкому эрозивному кровотечению из ран, а также к дискомфорту у крыс. Сокращение размеров термической раны и ее эпителизации на 5 и 10 сутки шли в этой группе медленно (рис. 18).

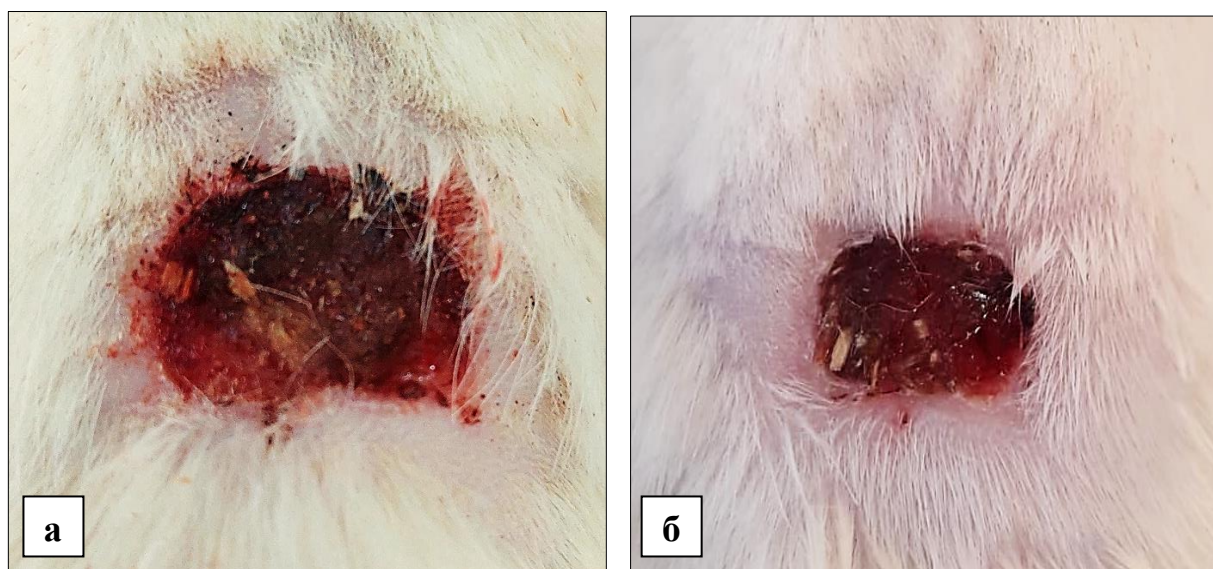


Рисунок 18 – Фото ожоговой раны крысы на 5 (а) и 10 (б) сутки, лечение которой осуществлялось перевязками с мазью Левомеколь

Уменьшение площади ожоговых ран у крыс в исследуемых группах на протяжении 28 суток наблюдений происходило по-разному, что отражено в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты заживления экспериментальных ожоговых ран в группах в течение 28 суток

| Показатель                                                            | Группа 1<br>(n = 20) | Группа 2<br>(n = 20) | Группа 3<br>(n = 20) | P <sub>1-2</sub> | P <sub>1-3</sub> | P <sub>2-3</sub> |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|
| Абсолютная площадь раны после некрэктомии на 3 сутки, см <sup>2</sup> | 36,4±0,8             | 35,8±0,6             | 37,1±0,5             | P>0,1            | P>0,1            | P>0,1            |
| 5 сутки                                                               | 34,1±0,6             | 33,9±0,4             | 35,3±0,6             | P>0,1            | P>0,1            | P>0,1            |
| 10 сутки                                                              | 26,4±0,8             | 27,6±0,6             | 31,2±0,6             | P>0,1            | P<0,001          | P<0,001          |
| 15 сутки                                                              | 18,8±0,5             | 19,6±0,6             | 23,1±0,9             | P>0,05           | P<0,001          | P<0,01           |
| 20 сутки                                                              | 8,1±0,8              | 10,4±0,9             | 15,2±0,5             | P>0,1            | P<0,001          | P<0,01           |
| 28 сутки                                                              | 0,8±0,5              | 1,1±0,6              | 7,8±0,7              | P>0,1            | P<0,001          | P<0,001          |
| % эпителизации раны (28 суток)                                        | 97,8±1,4             | 97,0±1,2             | 79,0±1,8             | P>0,1            | P<0,05           | P<0,05           |

Примечание: p – значимость различий площади ожоговых ран при сравнении между группами на фоне лечения

В результате проведенных исследований установлено, что достоверное ( $p \leq 0,001$ ) снижение площади ожоговой поверхности к 15 суткам наблюдений

происходило во всех трех группах крыс, однако более эффективнее оно наблюдалось при применении раневых покрытий из БЦ в 1 группе – на  $47,3 \pm 1,8\%$  и во 2 группе – на  $44,5 \pm 2,1\%$ , тогда как в 3 группе – на  $38,0 \pm 1,2\%$  ( $p < 0,05$ ). В дальнейшем улучшение заживления ожоговых ран во всех группах сохранялось, однако в 1 и 2 группе оно имело более интенсивную динамику (рис. 19 а, б).

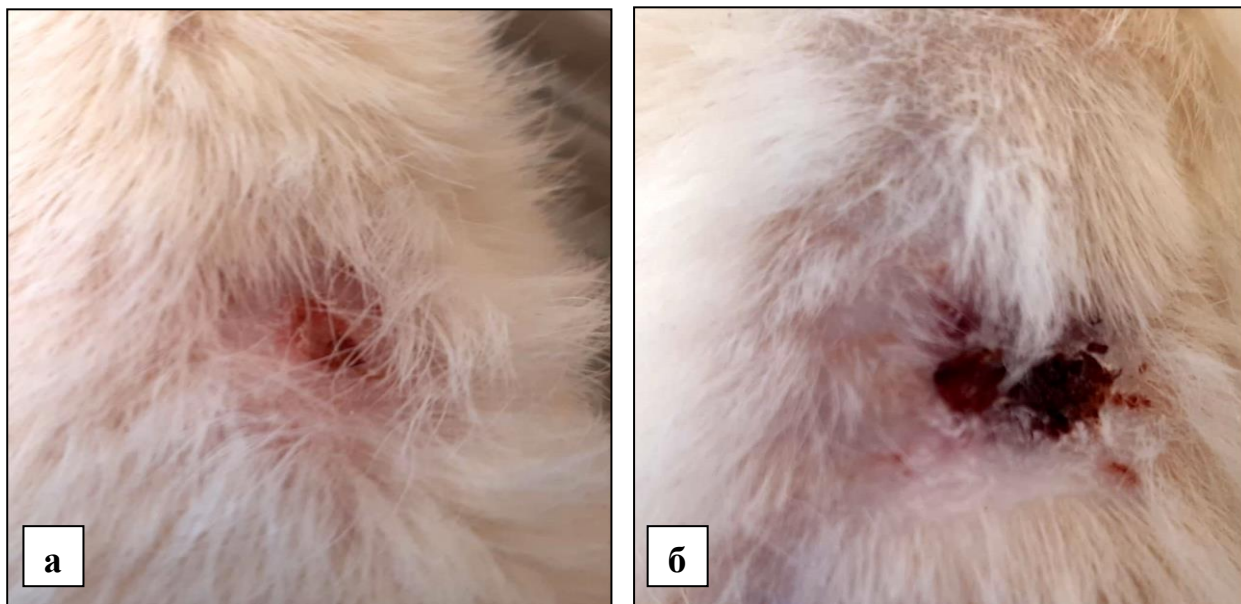


Рисунок 19 – Фото заживления ожоговой раны крысы на 20 сутки: а – лечение с помощью раневых покрытий на основе БЦ, б – лечение с помощью повязок с мазью Левомеколь

Так, в 1 группе площадь ожоговой раны на 28-е сутки по сравнению с 15-ми сутками уменьшилась на 95,8%, во 2 группе на 94,5%, тогда как, в 3 группе это снижение произошло на 66,1%. Большинство ожоговых ран в 1 и 2 группе к окончанию лечения эпителизировались.

В целом за 28 суток наблюдений площадь ожоговой раны у крыс 1 группы сократилось на  $97,8 \pm 1,4\%$ , 2 группы на  $97,0 \pm 1,2\%$  и 3 группы на  $79,0 \pm 1,8\%$ .

По-видимому, формирующийся и хорошо фиксированный сухой струп в ожоговой ране после высыхания БЦ способствует ее заживлению в закрытой среде и это обеспечивает более быстрый рост эпидермиса. В этом случае БЦ действует, как физический барьер между раной и окружающей средой и, следовательно, предотвращает травматизацию раневой поверхности при контакте с перевязочным материалом и ее микробную контаминацию. На

протяжении 10 суток у большинства животных основных групп демаркации и отторжения струпа, инфицирования раны не отмечалось. Результаты динамики микробиологического спектра ожоговых ран в группах экспериментальных животных на протяжении 28 суток исследования представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Изменения микробиологического спектра ожоговых ран в группах животных в процессе лечения

| Сутки    | 1 группа<br>(БЦ+физраствор)                                            | 2 группа<br>(БЦ + хлоргексидин)                                         | 3 группа<br>(мазь Левомеколь)                                                                           |
|----------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5 сутки  | St. epidermidis 10 <sup>4</sup>                                        | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                                                        |
|          | St. epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>4</sup>    | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | St. epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>2</sup>                                 |
|          | St. epidermidis 10 <sup>4</sup>                                        | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                                                        |
|          | St. epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>4</sup>    | Acinetobacter spp. 10 <sup>4</sup><br>St.epidermidis 10 <sup>4</sup>    | Corynebacterium spp. 10 <sup>4</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                |
|          | St. epidermidis 10 <sup>4</sup>                                        | Acinetobacter spp. 10 <sup>4</sup>                                      | St. epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Proteus mirabilis 10 <sup>4</sup>                                    |
| 10 сутки | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>2</sup>                                                                          |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Proteus mirabilis 10 <sup>4</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>3</sup> |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | Corynebacterium spp. 10 <sup>4</sup>                                                                    |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                         | St. epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>4</sup> | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                      |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>2</sup>                                          | Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                                                        |
| 20 сутки | Нет роста микрофлоры                                                   | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                                                          |
|          | Нет роста микрофлоры                                                   | St.epidermidis 10 <sup>2</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                                                          |
|          | Нет роста микрофлоры                                                   | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>4</sup>                                  |
|          | Нет роста микрофлоры                                                   | Escherichia coli 10 <sup>4</sup><br>St.epidermidis 10 <sup>4</sup>      | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>4</sup>                                  |
|          | St.epidermidis 10 <sup>2</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>2</sup>                                          | Escherichia coli 10 <sup>4</sup>                                                                        |
| 28 сутки | St.epidermidis 10 <sup>3</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>2</sup> | St. epidermidis 10 <sup>3</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>2</sup>     | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>3</sup>                                  |
|          | St.epidermidis 10 <sup>2</sup><br>Escherichia coli 10 <sup>2</sup>     | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>3</sup>                                  |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>3</sup> | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup><br>Corynebacterium spp. 10 <sup>3</sup>                                  |
|          | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                         | St.epidermidis 10 <sup>3</sup>                                          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                                                          |
|          | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                         | Escherichia coli 10 <sup>2</sup>                                        | St.epidermidis 10 <sup>4</sup>                                                                          |

При оценке микробиологического спектра ожоговых ран установлено, что в начале лечения в большинстве случаев в бактериальных посевах из ожоговых ран животных всех групп регистрировалась условно-патогенная флора в виде *Staphylococcus epidermidis* в концентрации 10<sup>4</sup> колониеобразующих единиц

(КОЕ) ( $p > 0,05$ ). Начиная с 5 суток, во всех группах появляются штаммы *Escherichia coli*, *Corynebacterium spp.*, *Proteus mirabilis* в концентрации  $10^4$  КОЕ в виде монокультур, а также в ассоциациях *St. epidermidis*  $10^4$ . Однако эти изменения более выражены в 3 группе, где проводились открытые ежедневные перевязки ожоговой раны.

На 20 сутки в 1 группе с использованием раневых чистых покрытий БЦ (физиологический раствор) почти во всех случаях отмечено отсутствие роста микрофлоры в посевах, а во второй группе обсемененность ран была не высокой с преобладанием штаммов *St. epidermidis*  $10^2$ . В дальнейшем, на 28 сутки в 1 и во 2 группе наблюдается снижение микробной обсемененности ран с  $10^4$  до  $10^3$ ,  $10^2$  КОЕ, тогда как в 3 группе концентрация штаммов возбудителей сохраняется практически на уровне  $10^4$  КОЕ ( $p < 0,05$ ).

В целом, на основании проведенных экспериментальных исследований имеются доказательства достоверного увеличения скорости заживления ожоговых ран в основных группах с использованием раневых покрытий на основе БЦ (группа 1 и 2), проявляющееся полноценной эпителизацией площади ожогового дефекта у большинства животных к 28 суткам, отсутствием признаков воспаления по отношению к группе сравнения. Установлено, что при глубоком ожоге 2-3 степени у крыс достаточно двух- трехкратного применения раневого покрытия на основе БЦ, которое формирует плотный ожоговый струп, который отторгается в ряде случаев в среднем через 10 суток или после полной эпителизации раны. На модели экспериментальных термических ожогов были выявлены положительные свойства раневых покрытий из БЦ: формирование закрытой среды, обеспечение барьера между раной и окружающей средой, защита раны от механических воздействий и травматизации раневой поверхности, уменьшение экссудации, отсутствие инфицирования ран по данным бактериологического мониторинга.

Таким образом, на основе экспериментальных клинических наблюдений установлено, что: 1. БЦ является безопасным материалом для лечения глубоких ожогов 2-3 степени у крыс. 2. Динамика заживления ожоговых ран в группах с

использованием раневых покрытий на основе БЦ (физиологический раствор или 1% раствор хлоргексидина) была сходной и к окончанию исследований достоверно превосходила по скорости эпителизации раны группы сравнения в среднем на 18,2%, где лечение осуществлялось открыто с использованием мази Левомеколь. 3. Формирующийся сухой струп вследствие высыхания пластин БЦ хорошо фиксируется к краям раны, формирует над ней механический барьер, который препятствует микробной контаминации, что может способствовать еще более быстрому ее заживлению в закрытой среде и сократить количество перевязок.

Полученные данные позволили сформировать основные позиции экспериментальной биомедицинской технологии лечения ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы:

1. Для нанесения на раневую ожоговую поверхность используются стерильные пластины влажной БЦ толщиной 2-4 мм, находящиеся в упаковках с жидкой средой, представленной 0,9% физиологическим раствором или 1% раствором хлоргексидина.
2. На 3 сутки после некрэктомии на ожоговую поверхность с захватом не измененной кожи укладываются пластины БЦ определенного размера, на которые сверху наносится сухая стерильная марлевая повязка.
3. Начиная с 2 суток пластины БЦ начинают высыхать, образуя над раной плотно фиксированный сухой струп коричневого цвета.
4. При отсутствии визуальных признаков инфицирования, экссудации образованная закрытая среда с помощью БЦ для заживления ожоговой раны под струпом может удерживаться до 10 суток, что уменьшает количество перевязок и травмирование образующихся в ране новых дермальных элементов (фибробласты, коллагеновые волокна, неососуды).
5. В последующем производится некрэктомия и на рану накладывается новая пластина влажной БЦ.

## **4.2. Патоморфологические изменения ожоговых ран при использовании различных раневых покрытий**

### **4.2.1 Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе контроля на 3 и 28 сутки**

В контрольной группе животных после некрэктомии ожогового струпа на 3 сутки отмечается некроз эпидермиса и верхних слоев дермы с расплавлением, набуханием коллагеновых волокон и разрушением фибробластов. Имели место стаз и расширение кровеносных сосудов, в большинстве своем не содержащих кровь. В глубоких слоях кожи появилась плотная диффузная воспалительная инфильтрация нейтрофилами, лимфоцитами (рис.20).

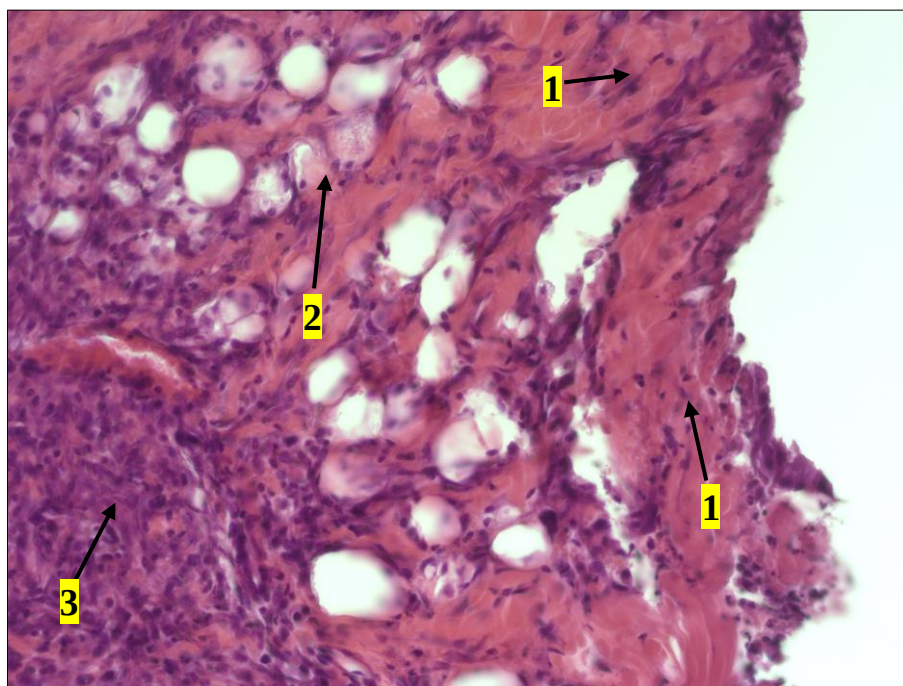


Рисунок 20 – Микрофото группы ожоговой раны группы контроля на 5 сутки. Окраска гематоклилин-эозин, ув.х400. 1 - эпидермис и верхние слои дермы 2 – кровеносные сосуды, 3 – воспалительная инфильтрация глубоких слоев кожи

На 28 сутки на фоне заживления контрольной ожоговой раны имеется небольшой отек с появлением незрелой грануляционной ткани с реактивными фибробластами и тонкими нитевидными светло-эозинофильного цвета коллагеновыми волокнами. Идет формирование кровеносных сосудов. Сохраняется умеренный воспалительный инфильтрат, в частности за счет

лимфоцитов и эпителиоидных макрофагов, плазматических клеток, единичных нейтрофилов (рис.21).

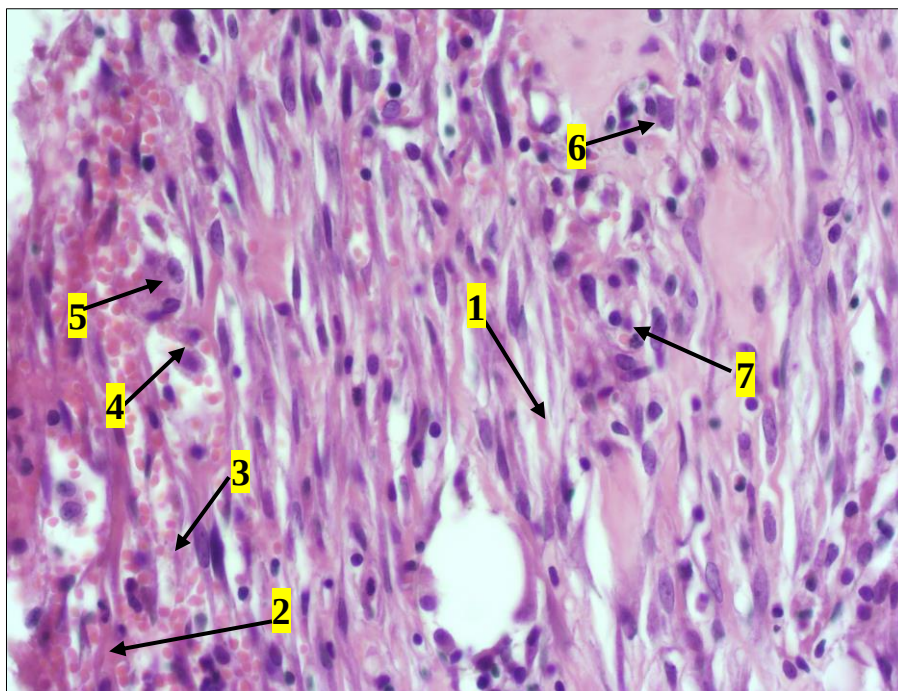


Рисунок 21 – Микрофото ожоговой раны группы контроля на 28 сутки. Окраска гематоклислин-эозин, ув.х400. 1 – межтканевой отек, 2 – грануляционная ткань, 3 – коллагеновые волокна, 3 – кровеносные сосуды, 4 – лимфоциты, 5 – макрофаги, 6 – плазматические клетки, 7 – нейтрофилы.

#### 4.2.2 Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием БЦ (физиологический раствор) на 5, 10, 20 и 28 сутки

На 5 сутки после наложения пластин влажной БЦ на ожоговую рану отмечается набухание плотно прилегающих к поверхности раны фрагментов бактериальной целлюлозы в виде ячеистых структур с образованием вокруг тканевой жидкости. Это может быть обусловлено явлениями сорбции БЦ образующегося экссудата. В это время в глубоких слоях раны начинает формироваться умеренный воспалительный инфильтрат (рис. 22а), преимущественно за счет дегенеративных форм нейтрофилов и лимфоцитов. Подлежащая дерма была отечна, утолщена, с фокусами кровоизлияний, также содержала большое количество нейтрофилов. В этот период регистрируется некоторая фрагментация коллагеновых волокон с частичным сохранением фибробластов (рис. 22б).

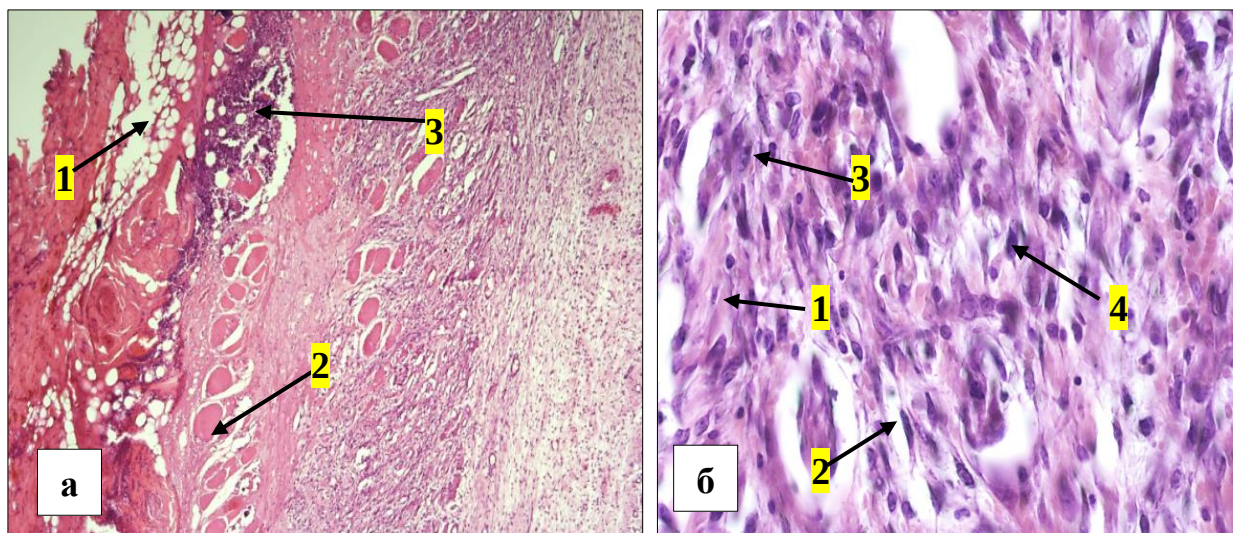


Рисунок 22 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (физиологический раствор) на 5 сутки. Окраска гематоксилин-эозин, а – ув.х100: 1 – бактериальная целлюлоза, 2 – тканевая жидкость, 3 – воспалительный инфильтрат; б – ув.х400: 1 – коллагеновые волокна, 2 – фибробласты, 3 – нейтрофилы, 4 – лимфоциты

Плотность воспалительного инфильтрата была равной  $52,4 \pm 1,3\%$ . При определении процентного состава клеток нейтрофилы составили  $59,6 \pm 2,2\%$ ; лимфоциты –  $18,9 \pm 1,1\%$ ; плазматические клетки –  $5,4 \pm 0,8\%$ ; фибробласты –  $15,6 \pm 2,7\%$ ; макрофаги –  $0,5 \pm 0,01\%$ . Число сосудов в абсолютных значениях равнялось  $3,5 \pm 0,3$ .

На 10 сутки на ожоговой раневой поверхности происходит постепенное формирование нежной, молодой грануляционной ткани на фоне снижения тканевого отека, воспалительной реакции с появлением плазматических клеток и гистиоцитов. Начинают появляться умеренное количество реактивных фибробластов (рис.23).

Плотность воспалительного инфильтрата на 10-е сутки несколько увеличилась и составила  $53,3 \pm 3,1$  ( $p > 0,05$ ). При подсчете процентного состава клеток нейтрофилы значительно уменьшились до  $50,9 \pm 1,8\%$  ( $p < 0,01$ ), уровень лимфоцитов существенно не изменился -  $19,2 \pm 3,6\%$  ( $p > 0,05$ ), произошло увеличение плазматических клеток до  $8,4 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,01$ ), макрофагов до  $1,8 \pm 0,03\%$  ( $p < 0,001$ ). Количество фибробластов значительно увеличилось до  $19,7 \pm 4,1\%$  ( $p > 0,05$ ). Количество кровеносных сосудов стало больше и составило  $7,2 \pm 1,1$  в абсолютных значениях ( $p > 0,01$ ).

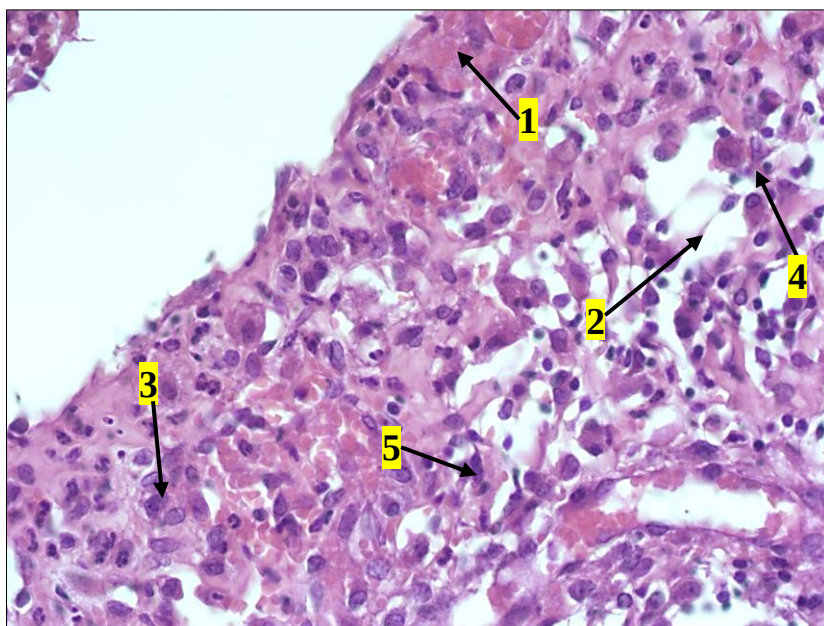


Рисунок 23 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (физиологический раствор) на 10 сутки. Окраска гематоксилин-эозин, ув.х400: 1 – грануляционная ткань, 2 – отек, 3 – гистиоциты, 4 – плазматические клетки, 5 – фибробласты

На 20 сутки в группе с использованием БЦ + физраствор на месте ожоговой раны отмечается наличие незрелой грануляционной ткани с одновременным снижением тканевого отека. Наблюдается полнокровие тканей с образованием большого количества новых кровеносных сосудов. Сохраняется небольшая воспалительная реакция, преимущественно за счет лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток (рис.24).

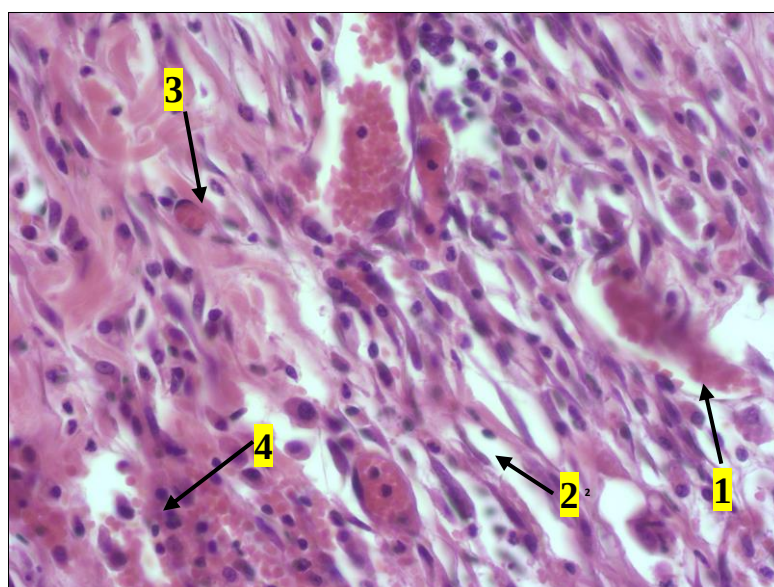


Рисунок 24 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (физиологический раствор) на 20 сутки. Окраска гематоксилин-эозин, ув.х400: 1 – грануляционная ткань, 2 – отек, 3 – кровеносные сосуды, 4 – лимфоциты

При этом плотность воспалительного инфильтрата по сравнению с 10 сутками снизилась и составила  $41,7 \pm 1,8$  ( $p < 0,01$ ). Также преимущественное процентное соотношение воспалительных клеток сместилось в сторону плазматических клеток и лимфоцитов  $12,6 \pm 0,9\%$  ( $p < 0,001$ ) и  $20,7 \pm 2,4\%$  ( $p > 0,05$ ) соответственно. Число нейтрофилов снизилось и составило  $38,4 \pm 3,5\%$  ( $p < 0,01$ ). Число фибробластов и кровеносных сосудов увеличилось и составило  $25,1 \pm 3,0\%$  ( $p > 0,05$ ) и  $12,3 \pm 1,4$  ( $p < 0,01$ ). соответственно.

К 28 суткам продолжается процесс образование незрелой грануляционной ткани с обрастанием фрагментов целлюлозы (при длительном ее нахождении). Сохраняется слабая хроническая нейтрофильная воспалительная реакция с отеком дермы (рис. 25а). Молодая грануляционная ткань в этой время представлена реактивными фибробластами и тонкими нитями светло-эозинофильных коллагеновых волокон. Продолжается активное формирование кровеносных сосудов. Имеется лимфоцитарно-плазмоцитарный инфильтрат в умеренном количестве (рис. 25б).

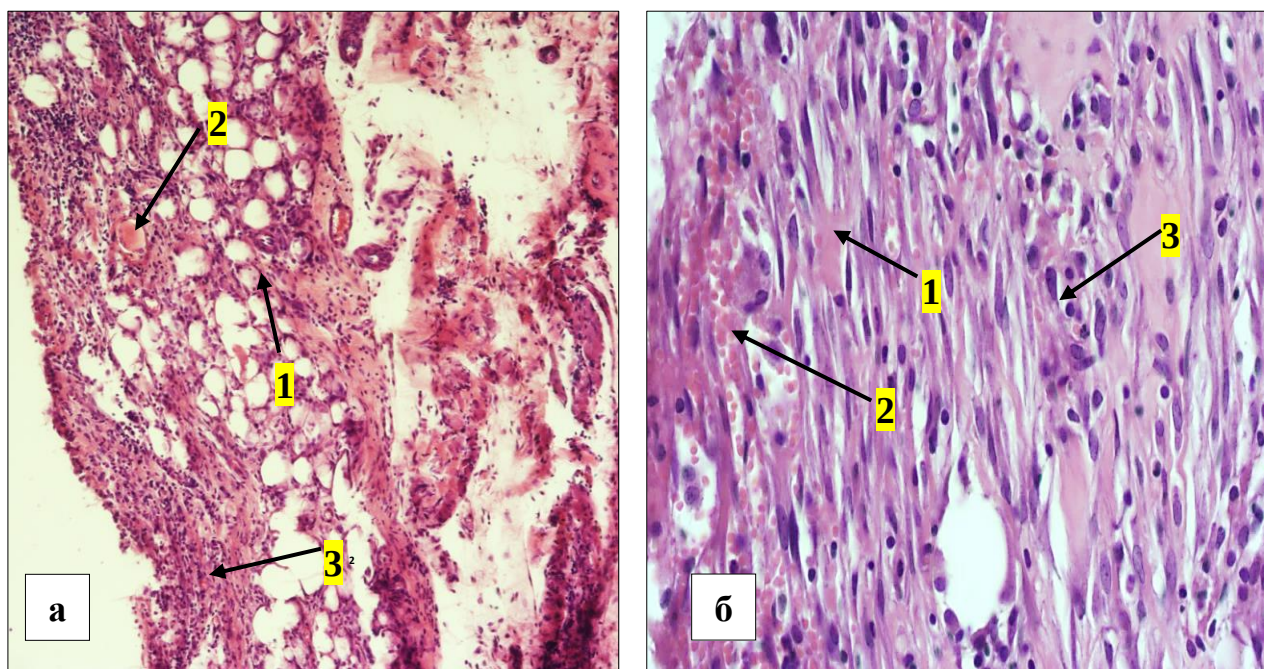


Рисунок 25 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (физиологический раствор) на 28 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. а: 1 – фрагменты целлюлозы, 2 – воспалительная реакция, 3 - отек дермы; б: 1 – нити светло-эозинофильных коллагеновых волокон, 2 – кровеносные сосуды, 3 – лимфоцитарно-плазмоцитарный инфильтрат

При подсчете клеток плотность воспалительного инфильтрата по сравнению с 20 сутками уменьшилась до  $34,5 \pm 2,8$  ( $p < 0,01$ ). При рассмотрении процентного состава клеток нейтрофилы снизились до  $22,2 \pm 2,7\%$  ( $p < 0,01$ ). Отмечается увеличение лимфоцитов до  $26,5 \pm 0,9\%$  ( $p < 0,01$ ), плазматических клеток до  $13,5 \pm 0,5\%$  ( $p > 0,05$ ), фибробластов до  $33,1 \pm 1,3\%$  ( $p < 0,05$ ), макрофаги до  $5,7 \pm 0,04\%$  ( $p < 0,001$ ). Число сосудов в 5 полях зрения стало равным  $12,5 \pm 0,8$  ( $p > 0,05$ ) (табл.11).

В итоге, начиная с 5 суток и к окончанию лечения воспалительный инфильтрат уменьшился на 34,2%, а количество нейтрофилов на 62,8%. К 28 суткам наблюдений произошло увеличение количества фибробластов на 42,9%, макрофагов на 91,2%, неососудов в поле зрения на 72%.

#### **4.2.3 Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием БЦ (1% хлоргексидин) на 5, 10, 20 и 28 сутки**

В группе животных, где для лечения использовалась бактериальная целлюлоза с антисептиком (БЦ+1% хлоргексидин) так же, как и при использовании БЦ (физиологический раствор) на 5 сутки идет формирование умеренного плотного струпа на поверхности раны, содержащего фрагменты целлюлозы, мертвые клетки, обломки нейтрофилов и воспалительный экссудат.

Отмечается значительное кровенаполнение тканей, отек, воспалительная реакция под струпом (рис. 26а), которая обусловлена расширением кровеносных сосудов и миграцией лейкоцитов в поврежденный очаг ткани с одновременным присутствием гистиоцитов. Кроме того, регистрируется отек дермы и пропитывание коллагеновых волокон воспалительным нейтрофильным и лимфоцитарным инфильтратом (рис. 26б).

Плотность воспалительного инфильтрата составила  $52,4 \pm 2,2$ , нейтрофилов  $55,7 \pm 2,2\%$ , лимфоцитов  $23,2 \pm 0,9\%$ , плазматических клеток  $4,7 \pm 0,03\%$ , фибробластов  $16,1 \pm 1,8\%$ , макрофагов  $0,3 \pm 0,01\%$ . Число сосудов в 5 полях зрения составило  $3,8 \pm 0,3$  (абсолютное значение).

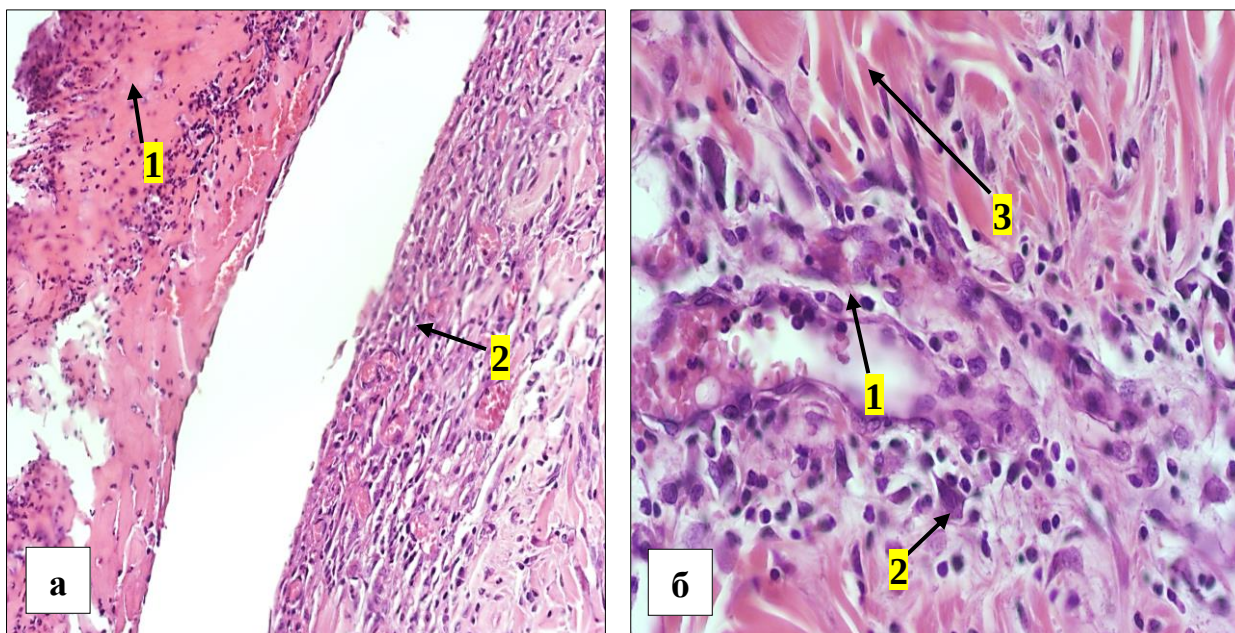


Рисунок 26 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (1% хлоргексидин) на 5 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х100: 1 – струп на поверхности раны с наличием воспалительного экссудата, 2 – кровенаполнение, отек, воспалительная реакция под струпом; ув.х400: 1 – воспалительная реакция, 2 – гистиоциты, 3 – коллагеновые волокна

На 10 сутки сохраняется умеренный отек, в ране присутствует смешанное воспаление за счет наличия макрофагов и нейтрофилов. Коллагеновые волокна фрагментированные, набухшие с единичными реактивными фибробластами и умеренным отеком вокруг (рис.27).

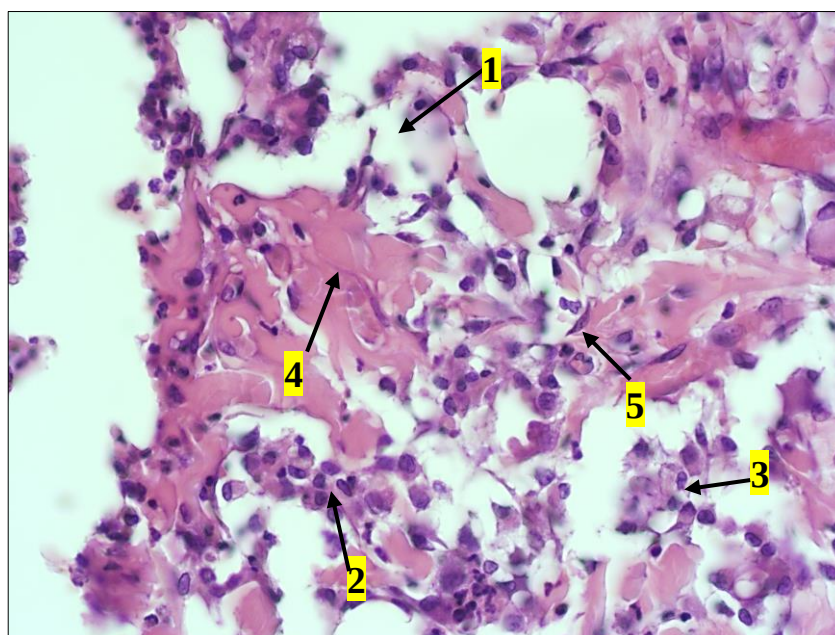


Рисунок 27 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (1% хлоргексидин) на 10 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х100: 1 – отек тканей, 2 – макрофаги, 3 – нейтрофилы, 4 – коллагеновые волокна, 5 – фибробласты

По сравнению с 5 сутками на 10 сутки плотность воспалительного инфильтрата снизилась до  $50,0 \pm 4,0$  ( $p < 0,05$ ), нейтрофилов  $46,8 \pm 3,5\%$  ( $p < 0,05$ ). Количество лимфоцитов незначительно увеличило до  $25,1 \pm 1,2\%$  ( $p > 0,05$ ), плазматических клеток до  $8,8 \pm 0,05\%$  ( $p < 0,001$ ), фибробластов  $18,4 \pm 3,3\%$  ( $p > 0,05$ ), макрофагов  $0,9 \pm 0,02\%$  ( $p < 0,001$ ), Число сосудов в 5 полях зрения выросло и составило  $9,5 \pm 0,8$  (абсолютное значение) ( $p < 0,001$ ).

На 20 сутки начинает уменьшаться отек тканей. На поверхности раны сохраняется струп, содержащий мертвые клетки, нейтрофилы. Под ним происходит снижение воспалительной реакции с формированием молодой грануляционной ткани с образованием тонких нитей коллагеновых волокон и увеличением числа реактивных фибробластов, образованием новых сосудов лакунарного типа (рис.28).

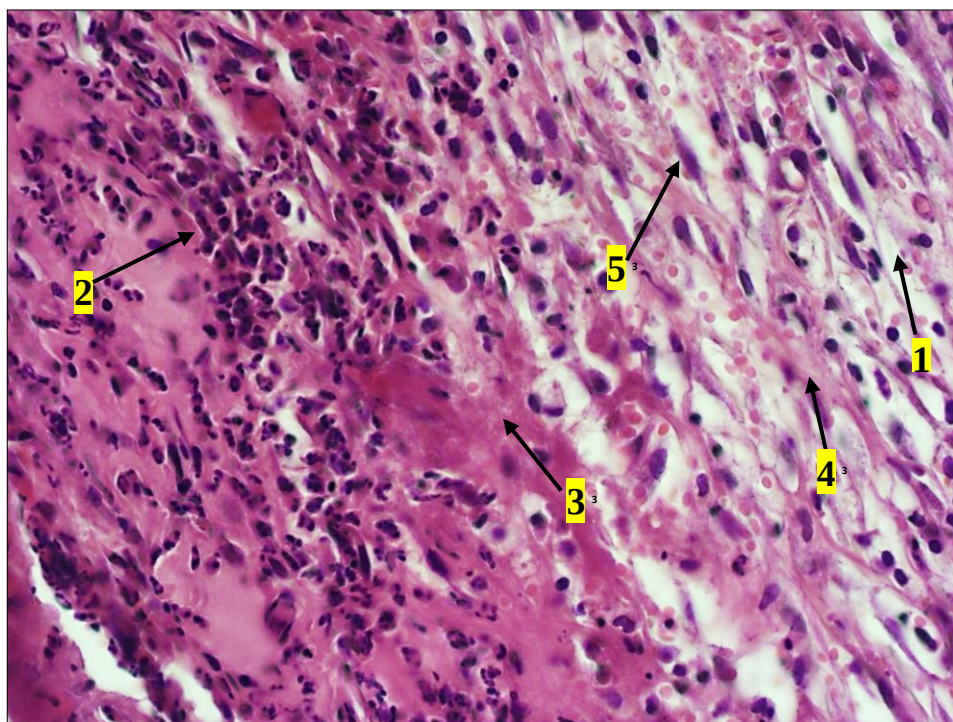


Рисунок 28 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (1% хлоргексидин) на 20 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х400: 1 – отек тканей. 2 – нейтрофилы (2), 3 – грануляционная ткань, 4 – нити коллагеновых волокон, 5 – реактивные фибробласты.

При подсчете клеток плотность воспалительного инфильтрата по сравнению с 10 сутками также уменьшилась до  $41,7 \pm 2,5$  ( $p < 0,05$ ). При рассмотрении процентного состава клеток нейтрофилы снизились и составили

$33,0 \pm 1,7$  ( $p < 0,01$ ). Незначимо снизилось количество лимфоцитов до  $20,7 \pm 2,1$  ( $p > 0,05$ ). Отмечается достоверно значимый рост плазматических клеток до  $11,8 \pm 0,05$  ( $p < 0,001$ ), фибробластов до  $31,5 \pm 2,7$  ( $p < 0,01$ ), макрофагов до  $2,0 \pm 0,01$  ( $p < 0,001$ ). Число сосудов в 5 полях зрения значимо выросло до  $14,6 \pm 0,2$  ( $p < 0,001$ ).

К окончанию эксперимента, на 28 сутки в этой группе наблюдается окончательное формирование более зрелой грануляционной ткани с наличием вновь образованных кровеносных сосудов. Иногда на поверхности раны сохранялись небольшие фрагменты струпа. Во всех случаях была отмечена краевая эпителизация раны. Сохранялись небольшие участки воспалительной реакции, только на поверхности раны в месте соприкосновения струпа с раневой поверхностью (рис. 29а). Формирование зрелой грануляционной ткани происходило за счет увеличения количества фибробластов, образующих утолщенные коллагеновые волокна разной степени зрелости с их умеренно плотным расположением. По-прежнему отмечалось активное формирование кровеносных сосудов. Воспаление было не выражено и представлено лишь единичными клетками воспаления (рис. 29б).

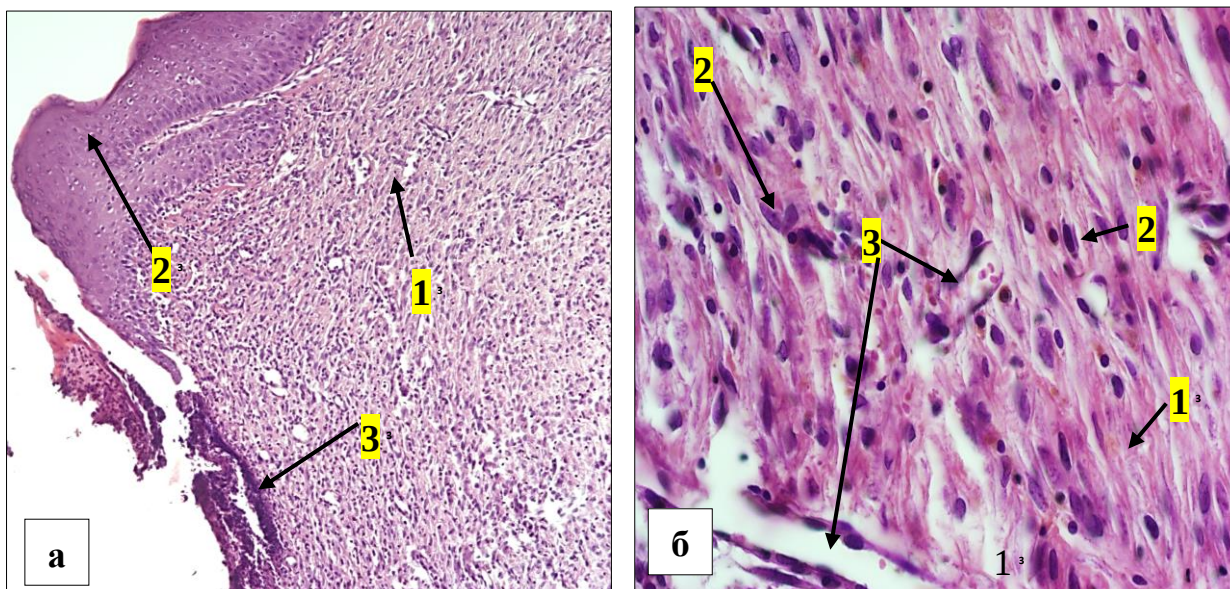


Рисунок 29 – Микрофото ожоговой раны группы с БЦ (1% хлоргексидин) на 28 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. а – ув.х100: 1 – грануляционная ткань с кровеносными сосудами, 2 – краевая эпителизация, 3 – воспалительная реакция; б – ув.х400: 1 – коллагеновые волокна, 2 – фибробласты, 3 – неососуды

По сравнению с 20 сутками плотность воспалительного инфильтрата при этом снизилась до  $30,5 \pm 1,8$  ( $p < 0,05$ ), количество нейтрофилов до  $28,1 \pm 1,1\%$  ( $p < 0,05$ ), лимфоцитов до  $17,5 \pm 0,7\%$  ( $p > 0,05$ ), плазматических клеток до  $8,6 \pm 0,04\%$  ( $p < 0,001$ ).

Количество фибробластов увеличилось до  $40,8 \pm 1,3\%$  ( $p < 0,01$ ), макрофагов –  $2,3 \pm 0,01\%$  ( $p < 0,001$ ). Число сосудов в 5 полях зрения увеличилось и составило  $15,2 \pm 0,4$  в абсолютных цифрах (табл. 12).

В итоге, к окончанию лечения по сравнению с 5 сутками плотность воспалительного инфильтрата уменьшилась на 45,1%, количество нейтрофилов снизилось на 49,6%, лимфоцитов на 24,6%. Количество плазматических клеток увеличилось на 83%, фибробластов на 60,5%, макрофагов на 70% и неососудов на 75%.

#### **4.2.4 Патоморфологические изменения ожоговых ран в группе с использованием в лечении мази Левомеколь на 5, 10, 20 и 28 сутки**

В группе животных, где использовалась открытое ведение ожоговых ран с применением в лечении мази Левомеколь на 5 сутки при патоморфологическом исследовании на поверхности раны регистрировались гнойно-некротические детритные массы с выраженной воспалительной реакцией (преимущественно нейтрофильной инфильтрацией) в глубоких слоях кожи, что свидетельствовало о более выраженном воспалении по сравнению с течением раневого процесса при использовании в лечении раневых покрытий на основе БЦ (рис.30).

Общая плотность воспалительного инфильтрата составила  $56,4 \pm 1,7$ . При рассмотрении процентного состава клеток количество нейтрофилов составило  $58,2 \pm 3,6\%$ , лимфоцитов  $21,7 \pm 1,0\%$ , плазматических клеток  $8,6 \pm 0,06\%$ , фибробластов  $10,6 \pm 1,1\%$ , макрофагов  $0,9 \pm 0,01\%$ . Число сосудов составило  $4,2 \pm 0,2$ .

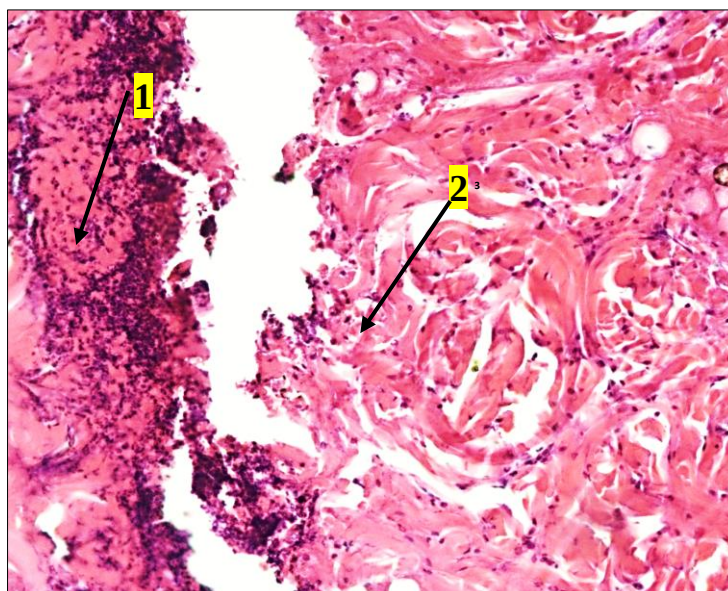


Рисунок 30 – Микрофото ожоговой раны группы с мазью Левомеколь на 5 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х400: 1 - гнойно-некротический детрит, 2 – воспалительная реакция в глубоких слоях раны

К 10 суткам происходит частичное отторжение гнойно-некротического детрита с поверхности раны (рис. 28а), однако в тканях сохраняется активная воспалительная реакция за счет лимфоцитов и макрофагов на фоне тканевого отека в дерме с минимальным формированием молодой грануляционной ткани (рис. 31б).

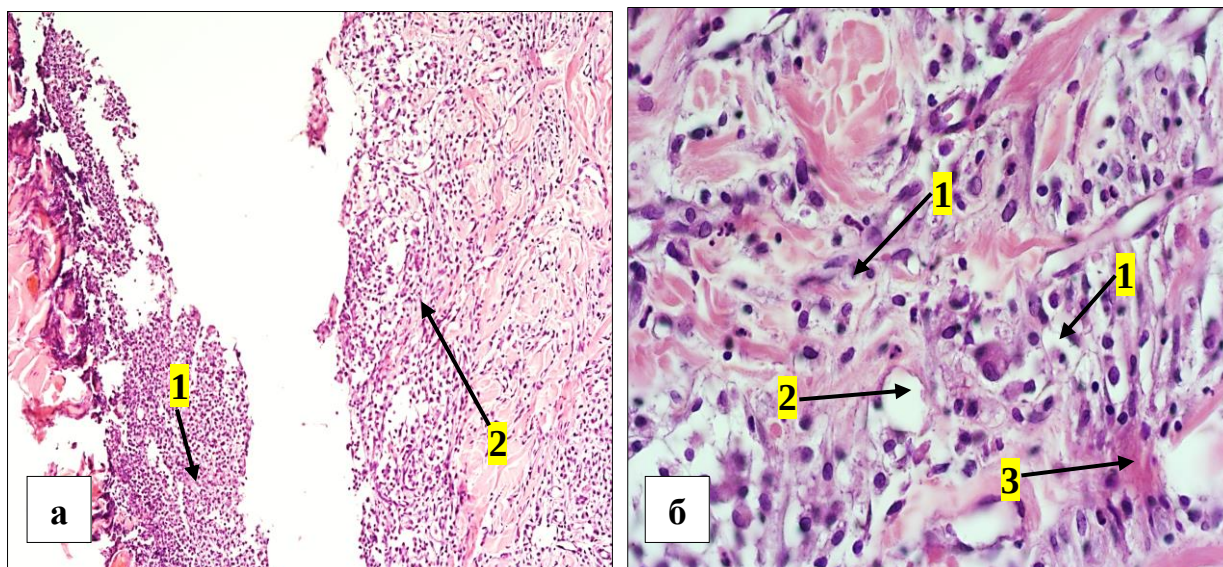


Рисунок 31 – Микрофото ожоговой раны группы с мазью Левомеколь на 10 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х400: 1 – отторжение гнойно-некротического детрита, 2 – воспалительная реакция в глубоких слоях; ув.х400: 1 – воспалительная инфильтрация, преимущественно лимфоцитами и макрофагами, 2 – тканевой отек, 3 – грануляционная ткань

По сравнению с 5 сутками общая плотность воспалительного инфильтрата на 10 сутки несколько снизилась, составив при этом  $55,1 \pm 2,2$ , однако достоверно не изменилась ( $p > 0,05$ ). Не отмечена значимость различий при снижении количества нейтрофилов до  $54,4 \pm 3,0\%$ , лимфоцитов до  $20,2 \pm 0,3\%$ , макрофагов до  $2,5 \pm 0,04\%$  ( $p > 0,05$ ). Зарегистрировано достоверное увеличение плазматических клеток до  $11,1 \pm 0,04\%$  ( $p < 0,001$ ), числа вновь образованных сосудов до  $7,6 \pm 0,5$  ( $p < 0,001$ ). Не отмечена значимость различий при увеличении фибробластов до  $12,0 \pm 2,6\%$  ( $p > 0,05$ ).

На 20 сутки в препаратах кожи выражена воспалительная инфильтрация дермы преимущественно плазматическими клетками, лимфоцитами и макрофагами. Отмечается снижение тканевого отека и явления формирования молодой грануляционной ткани. Развитие незрелой грануляционной ткани с реактивными фибробластами идет медленно. Сохраняется умеренный тканевой отек и значительная макрофагальная и нейтрофильная воспалительная инфильтрация (рис.32).

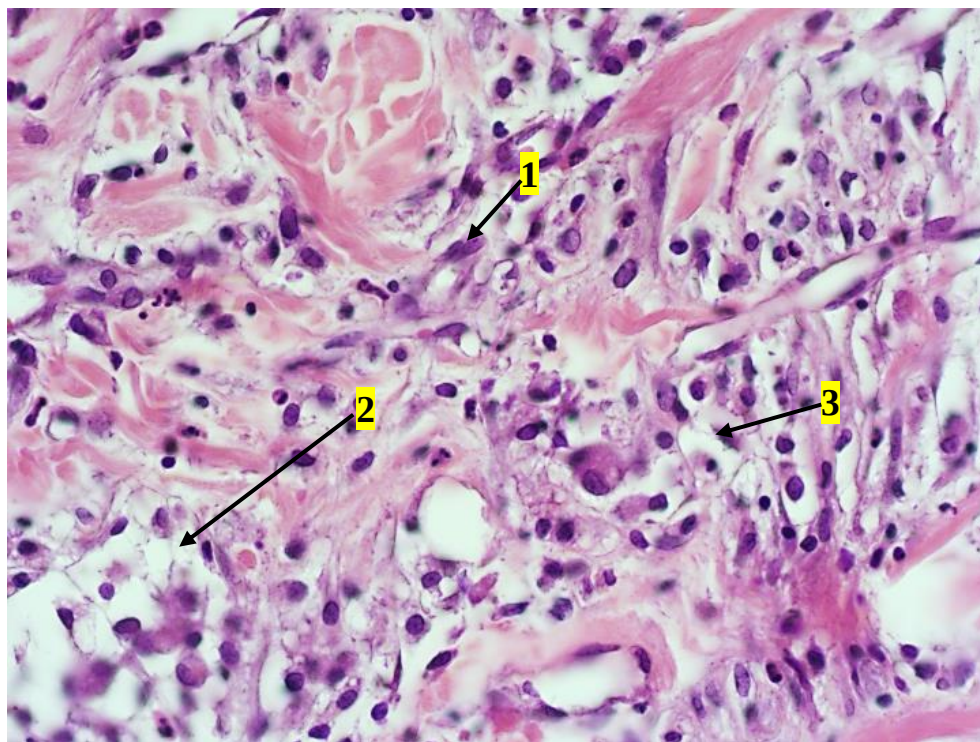


Рисунок 32 – Микрофото ожоговой раны группы с мазью Левомеколь на 20 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х400: 1 – реактивные фибробласты, 2 – отек, 4 – воспалительная инфильтрация

Воспалительная инфильтрация дермы преимущественно плазматическими клетками, лимфоцитами и макрофагами. По сравнению с 10 сутками плотность воспалительного инфильтрата снизилась до  $45,7 \pm 4,1$  ( $p > 0,05$ ); количество нейтрофилов  $40,1 \pm 2,4\%$  ( $p < 0,01$ ). Отмечалось значимое повышение процентного соотношения плазматических клеток до  $13,8 \pm 0,02\%$  ( $p < 0,001$ ), фибробластов до  $18,6 \pm 1,3\%$  ( $p < 0,05$ ), макрофагов до  $5,8 \pm 0,04\%$  ( $p < 0,001$ ), количество сосудов в 5 полях зрения до  $10,5 \pm 0,6$  ( $p < 0,01$ ), не значимое увеличение лимфоцитов до  $21,7 \pm 0,8\%$  ( $p > 0,05$ ),

На 28 сутки на месте ожога на поверхности раны отмечается сохранение детрита в виде тонкого струпа. Под струпом идет медленное развитие незрелой грануляционной ткани с реактивными фибробластами. В дерме сохранен умеренный отек, на фоне снижения макрофагальной воспалительной инфильтрации. Грануляционная ткань представлена умеренным количеством продольно расположенных эозинофильных коллагеновых волокон и реактивных фибробластов. Однако толщина этих коллагеновых волокон и плотность значительно меньше, чем в 1 и 2 группе, где использовались раневые покрытия на основе БЦ. Также здесь более выражена нейтрофильная воспалительная инфильтрация тканей и тканевой отек (рис.33).

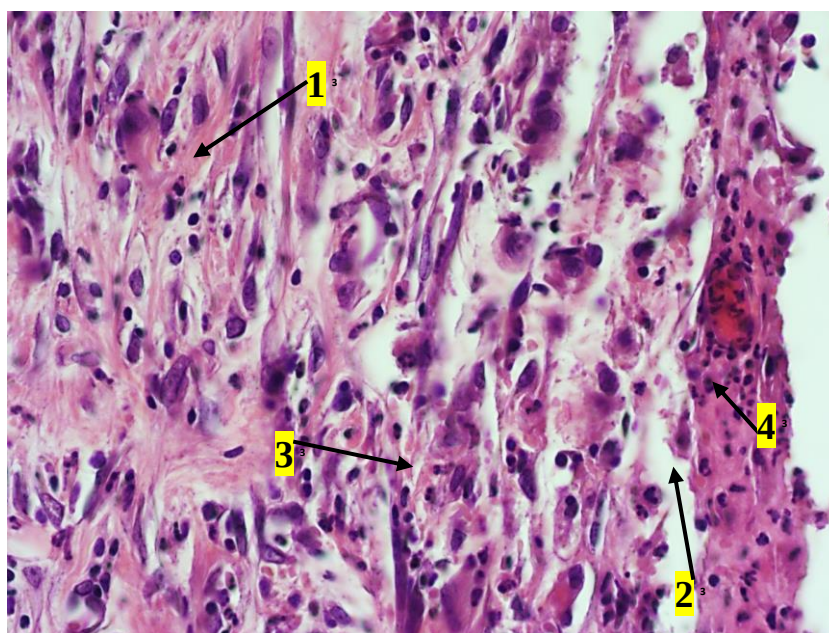


Рисунок 33 – Микрофото ожоговой раны группы с мазью Левомеколь на 28 сутки. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.х400: 1 – коллагеновые волокна, 2 – отек, 3 – воспалительная инфильтрация, 4 – детрит

По сравнению с 20 сутками плотность воспалительного инфильтрата на 28 сутки снизилась до  $38,5 \pm 1,9$ , однако достоверных различий выявлено не было ( $p > 0,05$ ). При рассмотрении процентного состава клеток количество нейтрофилов стало также меньше, составив  $35,3 \pm 1,9\%$ , уменьшилось и количество лимфоцитов до  $20,1 \pm 0,7\%$ , однако достоверных различий изменений этих клеток по сравнению с 20 сутками также выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Значимость различий отмечена по снижению количество плазматических клеток до  $10,5\% \pm 0,02\%$  ( $p < 0,001$ ), увеличению фибробластов до  $31,4 \pm 3,0\%$  ( $p < 0,001$ ), макрофагов до  $7,7 \pm 0,03\%$  ( $p < 0,001$ ). Число вновь образованных сосудов увеличилось до  $12,8 \pm 1,0$ , однако по сравнению с 20 сутками не изменилось (табл.7).

В итоге, по сравнению с 5 сутками, к окончанию лечения плотность воспалительного инфильтрата снизилась на 31,88%, количество нейтрофилов на 39,3%. Количество фибробластов увеличилось на 40,8%, плазмоцитов на 18,1%, макрофагов на 88,3%, неососудов на 67,2%.

Таким образом, при проведении морфометрических исследований было установлено, что, начиная с 5 суток и к окончанию лечения уменьшение воспалительного инфильтрата происходило в 1 (на 34,2%) и 2 группе (45,1%), тогда как в 3 группе он уменьшился на 31,8%. Снижение уровня нейтрофилов также более эффективно происходило в 1 (на 62,8%) и 2 группе (на 49,6%) по сравнению с 3 группой, где снижение составило 39,3%. Увеличение количество фибробластов также более значимо происходило в 1 (на 42,9%) и 2 группе (60,5%), а в 3 группе на 40,8%. К 28 суткам наблюдений количество образованных сосудов в 1 и 2 группе увеличилось на 72% и 75%, тогда как в группе сравнения на 67,2%.

Сравнительная характеристика процентного соотношения клеток воспаления при проведении морфометрических исследований представлена в таблицах 7-9.

Таблица 7. Изменения процентного состава клеток в ранах при использовании в лечении раневого покрытия на основе БЦ (физиологический раствор).

| Клетки ожоговой поверхности     | БЦ (физиологический раствор) |                           |                           |                           |
|---------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                 | 5 сутки (1)                  | 10 сутки (2)              | 20 сутки (3)              | 28 сутки (4)              |
| Общий воспалительный инфильтрат | 52,4±2,6 <sup>3,4</sup>      | 53,0±3,1 <sup>3,4</sup>   | 41,7±1,8 <sup>1,2,4</sup> | 34,5±2,8 <sup>1,2,3</sup> |
| Нейтрофилы (%)                  | 59,6±2,2 <sup>2,3,4</sup>    | 50,9±1,8 <sup>1,3,4</sup> | 38,4±3,5 <sup>1,2,4</sup> | 22,2±2,7 <sup>1,2,3</sup> |
| Лимфоциты (%)                   | 18,9±1,1 <sup>4</sup>        | 19,2±3,6                  | 20,7±2,4 <sup>4</sup>     | 26,5±0,9 <sup>1,3</sup>   |
| Плазмоциты (%)                  | 5,4±0,8 <sup>2,3,4</sup>     | 8,4±0,3 <sup>1,3,4</sup>  | 12,6±0,9 <sup>1,2,4</sup> | 13,5±0,5 <sup>1,2</sup>   |
| Фибробласты (%)                 | 15,6±2,7 <sup>3,4</sup>      | 19,7±4,1 <sup>4</sup>     | 25,1±3,0 <sup>1</sup>     | 33,1±1,3 <sup>1,2</sup>   |
| Макрофаги (%)                   | 0,5±0,01 <sup>2,3,4</sup>    | 1,8±0,03 <sup>1,3,4</sup> | 3,2±0,01 <sup>1,2,4</sup> | 5,7±0,04 <sup>1,2,3</sup> |
| Сосуды в 5 полях зрения (абс)   | 3,5±0,3 <sup>2,4</sup>       | 7,2±1,1 <sup>1,3,4</sup>  | 12,3±1,4 <sup>1,2</sup>   | 12,5±0,8 <sup>1,2</sup>   |

Примечание: 1- значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 5 сутками, 2 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 10 сутками, 3 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 20 сутками, 4 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 28 сутками

Таблица 8. Изменения процентного состава клеток в ранах при использовании в лечении раневого покрытия на основе БЦ+хлоргексидин

| Клетки ожоговой поверхности     | БЦ + хлоргексидин         |                           |                            |                           |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                 | 5 сутки (1)               | 10 сутки (2)              | 20 сутки (3)               | 28 сутки (4)              |
| Общий воспалительный инфильтрат | 55,4±1,3 <sup>1,3,4</sup> | 50,0±2,0 <sup>1,3,4</sup> | 41,7±2,5 <sup>1,2,4</sup>  | 30,5±1,8 <sup>1,2,3</sup> |
| Нейтрофилы (%)                  | 55,7±2,2 <sup>2,3,4</sup> | 46,8±3,5 <sup>1,3,4</sup> | 33,0±1,7 <sup>1,2,4</sup>  | 28,1±1,1 <sup>1,2,3</sup> |
| Лимфоциты (%)                   | 23,2±0,9                  | 25,1±1,2 <sup>4</sup>     | 20,7±2,1                   | 17,5±0,7 <sup>2</sup>     |
| Плазмоциты (%)                  | 4,7±0,03 <sup>2,3,4</sup> | 8,8±0,05 <sup>1,3,4</sup> | 11,8±0,05 <sup>1,2,4</sup> | 8,6±0,04 <sup>1,2,3</sup> |
| Фибробласты (%)                 | 16,1±1,8 <sup>3,4</sup>   | 18,4±3,3 <sup>3,4</sup>   | 31,5±2,7 <sup>1,2,4</sup>  | 40,8±1,3 <sup>1,2,3</sup> |
| Макрофаги (%)                   | 0,3±0,01 <sup>2,3,4</sup> | 0,9±0,02 <sup>1,3,4</sup> | 2,0±0,01 <sup>1,2,4</sup>  | 2,3±0,01 <sup>1,3,4</sup> |
| Сосуды в 5 полях зрения (абс)   | 3,8±0,3 <sup>2,3,4</sup>  | 9,5±0,8 <sup>1,3,4</sup>  | 14,6±0,2 <sup>1,2,4</sup>  | 15,2±0,2 <sup>1,2,3</sup> |

Примечание: 1- значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 5 сутками, 2 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 10 сутками, 3 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 20 сутками, 4 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 28 сутками

Таблица 9. Изменения процентного состава клеток в ранах при использовании в лечении мази Левомеколь

| Клетки ожоговой поверхности     | Левомеколь                 |                            |                            |                            |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                 | 5 сутки (1)                | 10 сутки (2)               | 20 сутки (3)               | 28 сутки (4)               |
| Общий воспалительный инфильтрат | 56,4±1,7 <sup>3,4</sup>    | 55,1 ±2,2 <sup>4</sup>     | 45,7±4,1 <sup>1</sup>      | 38,5±1,9 <sup>1,2</sup>    |
| Нейтрофилы (%)                  | 58,2±3,6 <sup>3</sup>      | 54,4±3,0 <sup>3,4</sup>    | 40,1±2,4 <sup>1,2</sup>    | 35,3±1,9 <sup>1,2</sup>    |
| Лимфоциты (%)                   | 21,7±1,0                   | 20,2±0,3                   | 21,7±0,8                   | 20,1±0,7                   |
| Плазмоциты (%)                  | 8,6±0,061 <sup>2,3,4</sup> | 11,1±0,04 <sup>1,3,4</sup> | 13,8±0,02 <sup>1,2,4</sup> | 10,5±0,02 <sup>1,2,3</sup> |
| Фибробласты (%)                 | 10,6±1,1 <sup>2,3,4</sup>  | 12,0±2,6 <sup>1,3,4</sup>  | 18,6±1,3 <sup>1,2,4</sup>  | 31,4±3,0 <sup>1,2,3</sup>  |
| Макрофаги (%)                   | 0,9±0,01 <sup>1,2,3</sup>  | 2,5±0,04 <sup>1,3,4</sup>  | 5,8±0,04 <sup>1,2,4</sup>  | 7,7±0,03 <sup>1,2,3</sup>  |
| Сосуды в 5 полях зрения (абс)   | 4,2±0,2 <sup>1,2,3</sup>   | 7,6±0,5 <sup>1,3,4</sup>   | 10,5±0,6 <sup>1,2</sup>    | 12,8±1,0 <sup>1,2</sup>    |

Примечание: 1- значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 5 сутками, 2 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 10 сутками, 3 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 20 сутками, 4 - значимость различий ( $p<0,05$ ) при сравнении с 28 сутками

Полученные данные гистологических срезов на протяжении 28 суток наблюдений позволили нам сформировать 4 критерия оценки скорости заживления ожоговых ран:

Критерий 1: Раны с минимальным скоплением клеток, отсутствием грануляционной ткани или эпителизации.

Критерий 2: Раны с тонкой и незрелой грануляционной тканью, с наличием воспалительных клеток, но с небольшим количеством фибробластов, капилляров, отложением коллагена и минимальной миграцией эпителия.

Критерий 3: Раны с грануляционной тканью средней толщины, заполненной преимущественно фибробластами с обширной неоваскуляризацией, умеренным отложением коллагена с миграцией эпителия от минимальной до умеренной.

Критерий 4: Раны с обильной грануляционной тканью, заполненной фибробластами с обширным отложением коллагена; отчетливые признаки неоваскуляризации, частичная или полная эпителизация. Для оценки скорости эпителизации ожоговых ран было проведено сравнение этих показателей в группах экспериментальных животных.

Таким образом, по результатам патоморфологических исследований при формировании ожогового струпа отмечался некроз эпидермиса и верхних слоев дермы с расплавлением, набуханием коллагеновых волокон и разрушением фибробластов. Отмечается расширение кровеносных сосудов, в большинстве своем не содержащих кровь с плотной диффузной воспалительной инфильтрацией глубоких слоев кожи нейтрофилами, лимфоцитами. На 5 сутки при использовании в лечении БЦ отмечалось ее пропитывание экссудатом и набухание в месте прилегания к раневой поверхности, что при высыхании способствовало формированию плотного струпа (критерий 1).

В дальнейшем, более выраженные воспалительные изменения (лейкоцитарная инфильтрация, нейтрофилез) на протяжении всего периода лечения зафиксированы в 3 группе экспериментальных животных, где в

качестве перевязочного средства использовалась мазь Левомеколь, что связано с открытым ведением ожоговой раны. В 1 и 2 группах эти изменения на 10, 15 и 20 сутки были выражены значительно меньше, по-видимому, обусловлено отсутствием условий для бактериальной контаминации при лечении этих ран в закрытой среде с помощью БЦ. К окончанию данного исследования установлено, что в 1 и 2 группе применения раневых покрытий на основе БЦ, в сравнении с 3 группой традиционного лечения на фоне более быстрого формирования молодой грануляционной ткани с появлением фибробластов и тонких коллагеновых волокон наблюдается увеличение количества тонкостенных гемокапилляров синусоидного типа. Это подтверждает тезис о том, что формируемая закрытая среда при использовании БЦ способна стимулировать процессы пролиферации и миграции эндотелиальных клеток за счет активации фактора роста эндотелия сосудов, что также способствует ускоренной реэпителизации ран. У животных экспериментальных групп наибольшая площадь грануляционной ткани наблюдалась в обеих группах с использованием раневых покрытий на основе БЦ. Стоит отметить наличие в грануляционной ткани около 45% гигантских многоядерных клеток типа инородных тел и Пирогова-Лангханса (критерий 2-3). К окончанию исследования, на 20 и 28 сутки, у животных 1 и 2 групп преобладали раны в хорошей (полной) стадии заживления. В этих группах из 20 особей у 18 (90%) раны были практически полностью эпителизированы, заполнены значительным количеством грануляционной ткани с увеличением количества фибробластов, образующих коллагеновые волокна разной степени зрелости с умеренно плотным их расположением и наличием формирующихся кровеносных сосудов. На этом фоне происходит снижение нейтрофильной инфильтрации (критерий 4). У 6 (60%) особей 3-й группы в этот период большинство ран находились в начальной или средней стадии заживления, были заполнены мелкой, незрелой или умеренной грануляционной тканью, умеренным количеством воспалительных клеток нейтрофильного и макрофагального ряда, небольшим количеством капилляров и фибробластов

(критерий 2 и 3) и лишь в 4 (40%) наблюдениях раны были полностью эпителизированы. В итоге стоит отметить, что в течение первых 10 суток отмечалась активная воспалительная реакция в тканях, преимущественно за счет нейтрофилов и лимфоцитов, то есть возникало смешанное воспаление. В основных группах воспалительный экссудат пропитывал целлюлозу, и отмечалось ее набухание. В дальнейшем в группах, где помимо чистой БЦ использовалась БЦ с антисептиком, к 20 дню отмечалось снижение воспаления, преобладание макрофагов, появление гистиоцитов и единичных плазматических клеток. Также регистрировалось снижение отека, появление молодой грануляционной ткани с большим количеством реактивных фибробластов, часто мигрирующих в волокна целлюлозы. Однако, явления уменьшения отека и развития грануляционной ткани проявлялись в группах с БЦ быстрее. В группах, где использовали БЦ в чистом виде и БЦ с антисептиком морфологическая картина имела схожий вид. При сравнении критериев частоты заживления ожоговых ран была обнаружена разница между группами (табл. 10). Так, достоверная значимость различий по критерию заживления 4 отмечена в сравнении между группами 1 и 3 и 2 и 3 за счет большего количества эпителизированных ран в основных группах ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция отмечена при сравнении частоты заживления между группами по совокупности критериев 2 и 3 ( $p < 0,05$ ).

Таблица 10 – Частота заживления экспериментальных ожоговых ран в исследуемых группах к окончанию исследования согласно критериям заживления на основе гистологических срезов

| Группа   | Критерии заживления |                   |                   |                   |
|----------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|          | 1 (5 сутки, n=5)    | 2 (15 сутки, n=5) | 3 (20 сутки, n=5) | 4 (28 сутки, n=5) |
| 1 (n=20) | 0 (0%)              | 4 (80%)           | 5 (100%)          | 5 (100%)          |
| 2 (n=20) | 0 (0%)              | 3 (60%)           | 4 (80%)           | 4 (80%)           |
| 3 (n=20) | 0 (0%)              | 1 (20%)           | 2 (40%)           | 2 (40%)           |

Примечание: 1 - отсутствие грануляционной ткани; 2 - тонкая и незрелая грануляционная ткань, минимальная эпителизация; 3 - умеренная грануляционная ткань, неоваскуляризация и умеренная эпителизация; 4 - обильная и васкуляризированная грануляционная ткань, от частичной до полной эпителизации.

Полученные данные подтверждают вывод о формирующихся каркасных свойствах повязок на основе бактериальной целлюлозы, поскольку они легко прикрепляются к ложу раны и остаются на месте до тех пор, пока участок раны в закрытой среде не заживет должным образом. Достоверных различий по скорости заживления ожоговых ран между 1 и 2 группами не выявлено, т.е. нет разницы при использовании раневых покрытий на основе нативной БЦ (физиологический раствор) и БЦ с экспозицией в 1% растворе хлоргексидина.

Также при оценке морфологических изменений установлено, что у 90% животных 1 и 2 группы, где использовались раневые покрытия на основе БЦ заживление ожоговых ран находилось в стадии частичной или полной эпителизации. В группе сравнения, где использовалось традиционное лечение с помощью ежедневных перевязок с мазью Левомеколь, закрытие ран к окончанию исследований удалось достигнуть в 40% случаев.

Эффективность применения БЦ в качестве раневых покрытий достигается формированием закрытой раневой среды с отказом от ежедневных перевязок, которые повреждают раневое ложе, травмируют на его поверхности формирующуюся грануляционную ткань и новые клеточные структуры (фибробласты, коллаген).

### **Клинические исследования**

В клинических исследованиях, у 5 пациентов с инфицированными ранами мягких тканей было проведено морфологическое исследование раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы с длительностью экспозиции в ране от 3 до 5 суток. При проведении морфологических исследований в первые 3 суток нахождения БЦ в ране на фоне значительной бактериальной контаминации присутствует инфильтративная фаза воспаления (рис. 34а). Раневое покрытие за счет структурных особенностей бактериальной целлюлозы сорбирует между нанофибрилл воспалительную жидкость и экссудат, формируя тканевой отек. В дальнейшем, как и любое инородное тело покрывается валом из лейкоцитов, нейтрофилов и

лимфоцитов, разрушение которых способствует образованию на поверхности пленки детритных масс (рис. 34б).

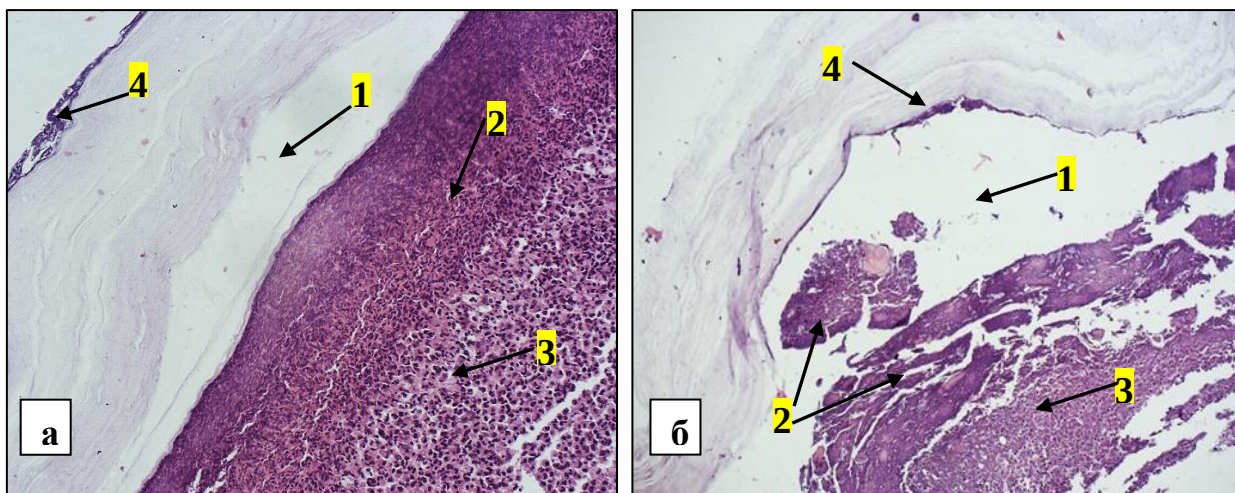


Рисунок 31 – Бактериальная целлюлоза, удаленная из раны на 3 сутки (а, б): тканевой отек (1), лейкоцитарная инфильтрация БЦ с разрушенными лейкоцитами (2) и сегментоядерными нейтрофилами обычного строения (3), инфильтрация БЦ (4). Окраска гематоксилин-эозин. а – увеличение 10х10, б – увеличение 10х20

При наличии в ране значительного гнойно - воспалительного процесса, повышенной экссудации, быстрого разрушения лейкоцитов и формирования детритных масс идет лизис и ускоренная фрагментация бактериальной целлюлозы (рис. 35).

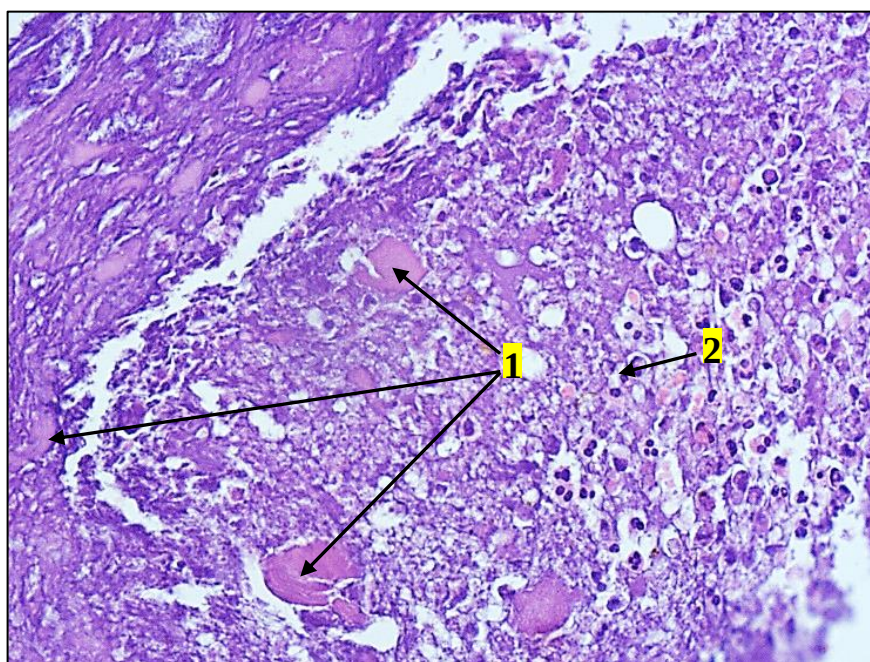


Рисунок 35 – Фрагментация бактериальной целлюлозы: 1 – фрагменты БЦ, 2 – сегментоядерный нейтрофильный лейкоцит обычного строения. Окраска гематоксилин-эозин. а – увеличение 10х40

При снижении бактериальной контаминации и более длительном нахождении бактериальной целлюлозы в ране (более 7 суток) образуется более тесный контакт раневой поверхности и покрытия, с образованием на фоне нейтрофильной лейкоцитарной инфильтрации БЦ сосудистых «щелей» в которых отсутствует эндотелиальный слой. Эти щели заполнены эритроцитами, лейкоцитами, т.е. наблюдается формирование новых сосудов «лакунарного типа» (рис. 36).

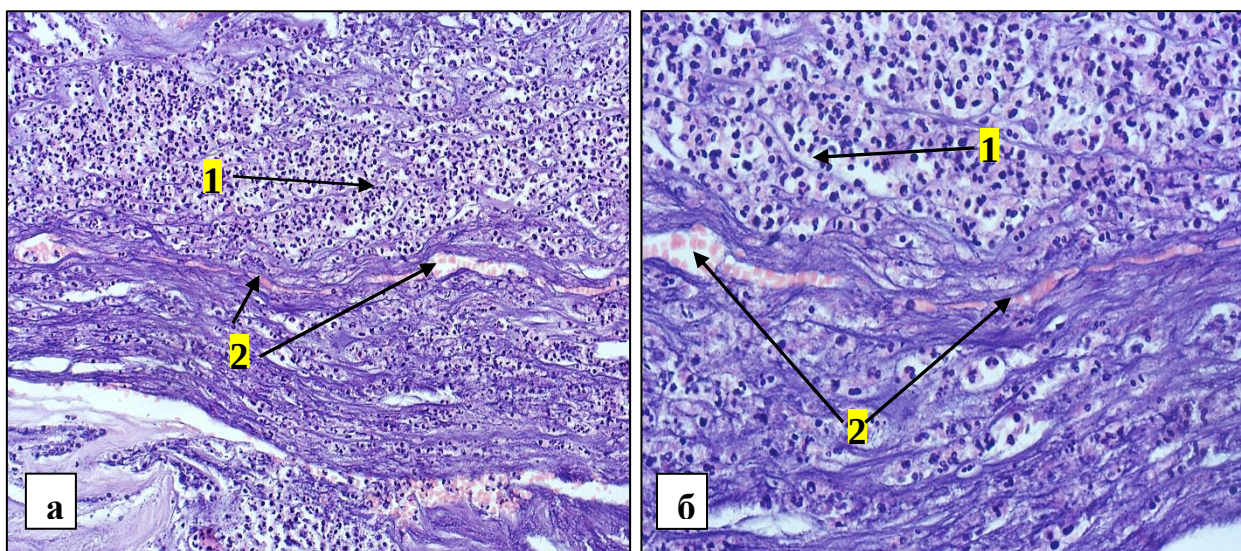


Рисунок 36 – Бактериальная целлюлоза, удаленная из раны на 7 суток. На фоне нейтрофильной лейкоцитарной инфильтрации БЦ (1) наблюдается формирование сосудистых щелей лакунарного типа (2). Окраска гематоксилин-эозин. а – увеличение 10х40, б – увеличение 10х60

У всех пациентов отмечена положительная динамика заживления ран при использовании раневых покрытий на основе БЦ, что позволило уменьшить количество перевязок, снизить болевой синдром и экссудацию ран.

#### **4.3 Динамика лабораторных показателей крови при лечении экспериментальных ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы**

Изучение реакции системы периферической крови (табл. 11) в группах показало, что уровень эритроцитов в крови основных групп и группы сравнения на 5 сутки были выше контрольных значений, более значимых в 1

группе ( $p_{\text{контр}}=0,037$ ), достигая  $7,6 \times 10^9$ ,  $8,1 \times 10^{12}/\text{л}$  и  $7,9 \times 10^{12}/\text{л}$ . На 10 сутки отмечена тенденция их к повышению на 18,3% ( $9,3 \times 10^{12}/\text{л}$ ) в группе БЦ+физраствор ( $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), на 11,3% ( $9,1 \times 10^{12}/\text{л}$ ) в группе БЦ+хлоргексидин ( $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ) и на 8,1% ( $8,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ) в группе с Левомколем ( $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). На 20 сутки отмечено снижение количества эритроцитов в 1 группе на 10,8% ( $9,3 \times 10^{12}/\text{л}$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), во 2 группе на 11% ( $9,3 \times 10^{12}/\text{л}$ ,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), тогда как в 3 группе отмечалось некоторое увеличение эритроцитов на 8,5% ( $9,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). К 28 суткам происходит снижение количества эритроцитов в 1 группе на 7% до  $7,8 \times 10^{12}/\text{л}$  ( $p_{\text{контр}}=0,037$ ), во второй группе он практически не изменился, составив  $8,2 \times 10^{12}/\text{л}$ , тогда как в третьей его снижение произошло значительно на 20,2% ( $p_{\text{хлор}}=0,021$ ,  $p_{\text{физ}}=0,011$ ), составив  $7,5 \times 10^{12}/\text{л}$ .

Аналогичная тенденция отмечена с уровнем гематокрита. На 5 сутки исследований его значения были выше контроля, приближаясь к показателям интактных животных. На 10 сутки отмечается его рост, более выраженный в 1 и 2 группе. Так, в группе БЦ+физраствор он увеличился на 11,6% (42,1%,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), в группе БЦ+хлоргексидин на 12,9% (42,1%,  $p_{\text{инт}}=0,028$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). В группе с мазью Левомеколь достоверного роста этого показателя не отмечено (39,2%,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). К 20 суткам происходит снижение гематокрита в 1 группе на 4,3% (40,3%,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), во второй группе на 4% (40,4%,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), тогда как в 3 группе продолжился его рост на 10,5% (43,8%,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). К окончанию исследования в группах продолжается снижение гематокрита, уровень которого приближается к контрольным значениям. В группе БЦ+физраствор снижение произошло на 9,4% (36,5%,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), в группе БЦ+хлоргексидин на 2% (39,6%) и в группе с мазью Левомеколь на 17,7% (36,5%).

Во всех группах на 5 сутки наблюдений отмечался умеренно высокий уровень гемоглобина по сравнению с контролем, от 138 до 145 г/л. На 10 сутки отмечается его рост на 10,9% в 1 группе (156 г/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ), на 10,4% во второй группе (154 г/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), а в 3 группе на 2,7% (149 г/л,

$p_{\text{контр}}=0,037$ ). На 20 сутки в 1 и 2 группе происходит некоторое незначительное снижение уровня гемоглобина (153 и 150 г/л), значение которого по-прежнему остается выше показателей контрольной группы ( $p_{\text{контр}}=0,037$ ), а в 3 группе наблюдается рост этого показателя на 10,2% (166 г/л). К окончанию исследования, на 28 сутки в 1 и 2 группе отмечается снижение гемоглобина на 11,8% (135 г/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ) и 4,7% (143 г/л) соответственно, а в группе с Левомеколем на 21,7%, достигая 130 г/л.

На протяжении всего периода наблюдений во всех группах отмечен высокий уровень тромбоцитов по сравнению с контролем ( $659 \times 10^9$ ,  $834 \times 10^9$  и  $707 \times 10^9$ ,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ). Начиная с 20 суток наблюдается снижение этого показателя. По сравнению с 5 сутками в 1 группе он уменьшился на 50,8%, во второй группе на 23,4% и в третьей на 34,2%. К 28 суткам в 1 и 2 группе отмечается рост уровня тромбоцитов по сравнению с 20 сутками. В группе БЦ+физраствор он составил 41% ( $549 \times 10^9$ ), в группе БЦ+хлоргексидин – 20,6% ( $805 \times 10^9$ ), а в группе с мазью Левомеколь наоборот отмечено падение на 20% ( $324 \times 10^9$ ), что также ниже интактной группы ( $688 \times 10^9$ ,  $p_{\text{инт}}=0,020$ ).

Течение раневого процесса во всех группах животных не характеризовалось наличием высокого лейкоцитоза. К 10 суткам отмечено повышение уровня лейкоцитов во всех по сравнению с контролем (1 группа,  $6,3 \times 10^9$  – на 34,4%; 2 группа,  $5,3 \times 10^9$  – на 24,5%; 3 группа,  $5,0 \times 10^9$  – на 22%. К 28-м суткам эксперимента по сравнению с 10 сутками в 1 и 2 группе отмечали значимое снижение показателей лейкоцитов: 1 группа,  $4,9 \times 10^9$  – на 23,5%, 2 группа,  $4,5 \times 10^9$  – на 15,1%, однако в 3 группе наоборот отмечено их повышение на 26,5% до  $6,8 \times 10^9$  ( $p < 0,001$ ).

Таблица 11 – Изменения основных показателей периферической крови в группах экспериментальных животных на фоне лечения ожоговых ран на протяжении 28 суток наблюдений

| Группы           | Лейкоциты,<br>10*9/л | Эритроциты,<br>10*12/л | Гемоглобин,<br>г/л | Гематокрит,<br>%    | Тромбоциты,<br>10*9/л |
|------------------|----------------------|------------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|
| <b>Интактные</b> | 6,2<br>(3,2;6,6)     | 7,4<br>(7,3;7,4)       | 140<br>(128;141)   | 37,0<br>(34,6;37,1) | 688<br>(652;694)      |
| <b>Контроль</b>  | 3,4<br>(1,1;3,5)     | 6,2<br>(1,8;6,2)       | 108<br>(31;110)    | 28,3<br>(8,3;28,6)  | 102<br>(99;143)       |

|                                           |                                                    |                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                      |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                           |                                                    | <b>p<sub>инт</sub>=0,036</b>                                                       | <b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                                         | <b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                                          | <b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                                                                         |
| <b>5 дней</b>                             |                                                    |                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                      |
| <b>1 группа<br/>БЦ +<br/>физраствор</b>   | 4,2<br>(4,0;6,8)                                   | 7,6<br>(7,1;8,4)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 139<br>(138;147)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 37,2<br>(35,8;39,3)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 659<br>(657;826)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>2 группа<br/>БЦ +<br/>хлоргексидин</b> | 4,0<br>(4,0;6,6)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,036</b> | 8,1<br>(6,7;8,2)                                                                   | 138<br>(136;157)                                                                     | 37,0<br>(34,5;38,5)                                                                   | 834<br>(815;840)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   |
| <b>3 группа<br/>Левомеколь</b>            | 3,9<br>(3,7;4,6)                                   | 7,9<br>(7,4;8,5)                                                                   | 145<br>(136;150)                                                                     | 39,5<br>(37,4;40,4)                                                                   | 707<br>(661;781)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>10 дней</b>                            |                                                    |                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                      |
| <b>1 группа<br/>БЦ +<br/>физраствор</b>   | 6,4<br>(4,4;6,5)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 9,3<br>(8,5;9,6)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 156<br>(147;159)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,036</b>   | 42,1<br>(41,1;44,2)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 700<br>(684;846)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>2 группа<br/>БЦ +<br/>хлоргексидин</b> | 5,3<br>(3,2;5,6)                                   | 9,1<br>(8,0;9,7)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 154<br>(147;171)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 42,1<br>(39,4;46,4)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,028</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 647<br>(517;758)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>3 группа<br/>Левомеколь</b>            | 5,0<br>(4,3;5,5)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 8,6<br>(7,8;8,8)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,021</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 149<br>(141;153)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 39,2<br>(37,0;40,7)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 621<br>(578;735)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>20 дней</b>                            |                                                    |                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                      |
| <b>1 группа<br/>БЦ +<br/>физраствор</b>   | 6,3<br>(5,6;7,4)                                   | 8,3<br>(8,1;9,3)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 153<br>(148;159)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 40,3<br>(40,1;42,4)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 324<br>(259;593)                                                                                                     |
| <b>2 группа<br/>БЦ +<br/>хлоргексидин</b> | 4,8<br>(2,8;6,7)                                   | 8,1<br>(7,7;8,8)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 150<br>(142;156)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 40,4<br>(36,8;41,2)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 639<br>(581;834)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>1 группа<br/>Левомеколь</b>            | 4,0<br>(4,0;4,7)                                   | 9,4<br>(8,3;9,7)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 166<br>(147;170)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 43,8<br>(39,7;44,6)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 465<br>(375;635)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>лев</sub>=0,030</b>                                   |
| <b>28 дней</b>                            |                                                    |                                                                                    |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                      |
| <b>1 группа<br/>БЦ +<br/>физраствор</b>   | 4,9<br>(3,3;5,0)                                   | 7,8<br>(7,4;10,1)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                | 135<br>(128;169)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                   | 36,5<br>(35,9;45,8)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                 | 549<br>(316;624)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b>                                                                   |
| <b>2 группа<br/>БЦ +<br/>хлоргексидин</b> | 4,5<br>(2,1;6,4)                                   | 8,2<br>(7,5;8,9)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                   | 143<br>(136;148)                                                                     | 39,6<br>(37,5;41,2)                                                                   | 805<br>(701;903)                                                                                                     |
| <b>3 группа<br/>Левомеколь</b>            | 6,8<br>(4,0;7,0)                                   | 7,5<br>(6,7;7,9)<br><b>p<sub>хлор</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>физ</sub>=0,037</b>  | 130<br>(111;135)<br><b>p<sub>бц+хл</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>бц+фр</sub>=0,020</b> | 36,5<br>(31,0;38,0)                                                                   | 372<br>(104;586)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,020</b><br><b>p<sub>бц+хл</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>бц+фр</sub>=0,020</b> |

Примечание: p<0,05 – значимость различий между группами

При исследовании биохимических показателей крови (табл. 12) в течение всего периода наблюдений достоверно значимых изменений уровня креатинина не наблюдалось. Максимальный уровень его в 1 группе достигал 64,5 мкмоль/л (10 сутки), во 2 группе – 62,1 мкмоль/л (5 сутки), в 3 группе – 62,1 мкмоль/л (20 сутки).

Уровень глюкозы на 5 сутки был достоверно ниже по сравнению с контролем на 15,6% в группе БЦ+физраствор (8,1 ммоль/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ) и на 16,7% в группе БЦ+хлоргексидин (8,0 ммоль/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), на 18,8% в группе с мазью Левомеколь (7,8 ммоль/л). На 10 сутки достоверно низкий уровень глюкозы отмечен только группе БЦ+физраствор по сравнению с контролем на 29,2% (6,8 ммоль/л,  $p_{\text{контр}}=0,037$ ), тогда как в группе с Левомеколем наоборот отмечено повышение уровня глюкозы на 22,6% ( $p_{\text{конт}}=0,012$ ), содержание которого достигало 12,4 ммоль/л. По сравнению с 10 сутками на 20 сутки содержание глюкозы увеличивается в 1 и 2 группе (1 группа – на 32%, 10,0 ммоль/л; 2 группа – на 19,9%, 9,5 ммоль/л) при снижении в группе с Левомеколем на 21,8% (9,7 ммоль/л), но значимых различий с контролем и между группами не отмечено ( $p>0,05$ ). К 28 суткам уровень глюкозы снижается, составляя в группах в среднем 8,7 ммоль, 8,8 ммоль/л и 9,0 ммоль/л, однако также значимости различий выявлено не было ( $p>0,05$ ).

На 5 сутки в группе БЦ+физраствор уровень общего белка был ниже на 14,8% (56,2 г/л) по сравнению с интактной группой ( $p_{\text{инт}}=0,012$ ) и на 17,4% с группой БЦ+хлоргексидин ( $p_{\text{контр}}=0,037$ ). К 10 суткам по сравнению с 5 сутками в группе БЦ+физраствор имеется достоверное повышение уровня общего до 66,5г/л на 15,5%, значимость различий которого наблюдается только по сравнению с контролем ( $p_{\text{контр}}=0,037$ ). В этот период в группе БЦ+хлоргексидин его уровень снизился на 5,3% (64,4 г/л,  $p>0,05$ ), а в группе с Левомеколем рост общего белка составил 8,5% (62,6г/л). На 20 сутки тенденция к снижению общего белка в 1 и 2 группе сохраняется и отмечается увеличением его количества на 8,2% в 3 группе, однако значимых различий между группами не выявлено. Наибольшее повышение уровня общего белка

прослежено на 28 сутки в группе БЦ+хлоргексидин, где он достигает 71,4 г/л, что на 7,6% достоверно выше по сравнению с интактной группой ( $p_{\text{инт}}=0,037$ ).

На 5 сутки обращает на себя внимание низкие показатели АЛТ во всех группах по сравнению с интактными значениями, наиболее достоверно это отмечено в группах БЦ+хлоргексидин (50,3 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ) и Левомеколь (52,7 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,037$ ). На 10 сутки этот показатель достоверно снизился на 7,5% только в группе БЦ + физраствор (45,6 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,037$ ). На 28 сутки показатели АЛТ в основных группах достоверно снизились, из них в 1 группе на 51,5% (47,1 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,012$ ,  $p_{\text{лев}}=0,020$ ), во 2 группе на 27,3% (49,2 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,020$ ), тогда как в 3 группе отмечен рост АЛТ на 8,5% (67,2 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,020$ ). Также к окончанию лечения в основных группах отмечаются достоверно низкие показатели АСТ по сравнению с контролем на 43% в группе БЦ+физраствор (26,6 Ед/л,  $p_{\text{контр}}=0,012$ ) и на 46,3% в группе БЦ+хлоргексидин (25,1 Ед/л,  $p_{\text{инт}}=0,020$ ) по сравнению с интактной группой.

Таблица 12 – Изменения основных биохимических показателей крови в группах экспериментальных животных на фоне лечения ожоговых ран в контроле и на 5, 10, 20, 28 сутки

| Группа                                    | Креатинин,<br>мкмоль/л | Глюкоза,<br>ммоль/л                                                                                        | Общий<br>белок, г/л                                                                                          | АСТ,<br>Ед/л                                                    | АЛТ,<br>Ед/л                                                    |
|-------------------------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>Интактные</b>                          | 52,2<br>(52,2;57,2)    | 9,1<br>(8,9;9,1)                                                                                           | 66,0<br>(65,5;66,0)                                                                                          | 5,5<br>(3,5;5,8)                                                | 65,0<br>(64,0;65,2)                                             |
| <b>Контроль</b>                           | 59,6<br>(55,9;62,1)    | 9,6<br>(9,6;9,8)                                                                                           | 54,0<br>(53,9;59,2)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,036</math></b>                                              | 45,9<br>(45,1;46,9)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,037</math></b> | 72,1<br>(41,0;72,1)                                             |
| <b>5 дней</b>                             |                        |                                                                                                            |                                                                                                              |                                                                 |                                                                 |
| <b>1 группа<br/>БЦ + физ<br/>раствор</b>  | 52,2<br>(51,2;54,7)    | 8,1<br>(7,1;8,7)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,016</math></b><br><b><math>p_{\text{контр}}=0,037</math></b> | 56,2<br>(54,6;58,4)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,012</math></b><br><b><math>p_{\text{ц+хл}}=0,037</math></b> | 36,2<br>(34,6;50,1)<br><b><math>P_{\text{инт}}=0,037</math></b> | 49,3<br>(48,9;60,1)                                             |
| <b>2 группа<br/>БЦ +<br/>хлоргексидин</b> | 62,1<br>(59,6;75,6)    | 8,0<br>(7,6;9,0)<br><b><math>p_{\text{контр}}=0,037</math></b>                                             | 68,0<br>(61,5;68,5)                                                                                          | 14,5<br>(2,5;34,3)<br><b><math>p_{\text{лев}}=0,037</math></b>  | 50,3<br>(23,3;51,7)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,012</math></b> |
| <b>3 группа<br/>Левомеколь</b>            | 57,2<br>(57,2;60,8)    | 7,8<br>(7,7;9,9)                                                                                           | 56,9<br>(56,1;62,6)                                                                                          | 59,6<br>(58,6;62,6)<br><b><math>P_{\text{инт}}=0,037</math></b> | 52,7<br>(44,4;53,0)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,037</math></b> |
| <b>10 дней</b>                            |                        |                                                                                                            |                                                                                                              |                                                                 |                                                                 |
| <b>1 группа<br/>БЦ +<br/>физраствор</b>   | 64,5<br>(54,7;65,8)    | 6,8<br>(6,7;7,0)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,012</math></b>                                               | 66,5<br>(65,8;67,7)<br><b><math>p_{\text{контр}}=0,037</math></b>                                            | 64,4<br>(40,3;70,4)<br><b><math>P_{\text{инт}}=0,037</math></b> | 45,6<br>(42,7;53,9)<br><b><math>p_{\text{инт}}=0,037</math></b> |

|                                                       |                     |                                                                |                                                       |                                                                                                                       |                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                       |                     | <b>p<sub>контр</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>лев</sub>=0,012</b> |                                                       |                                                                                                                       |                                                                                                                         |
| <b>2 группа</b><br><b>БЦ +</b><br><b>хлоргексидин</b> | 54,7<br>(48,6;58,4) | 7,7<br>(6,5;9,4)                                               | 64,4<br>(60,0;71,6)                                   | 58,6<br>(58,1;63,4)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>лев</sub>=0,012</b> | 55,2<br>(53,0;69,6)                                                                                                     |
| <b>3 группа</b><br><b>Левомеколь</b>                  | 58,4<br>(57,2;59,6) | 12,4<br>(9,0;12,6)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,012</b>           | 62,2<br>(59,1;63,1)                                   | 37,6<br>(35,8;53,6)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                                                   | 60,8<br>(57,4;68,4)                                                                                                     |
| <b>20 дней</b>                                        |                     |                                                                |                                                       |                                                                                                                       |                                                                                                                         |
| <b>1 группа</b><br><b>БЦ +</b><br><b>физраствор</b>   | 58,4<br>(52,2;58,4) | 10,0<br>(8,3;11,4)                                             | 62,8<br>(59,9;64,1)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 19,0<br>(0,8;23,3)                                                                                                    | 97,1<br>(29,9;99,1)                                                                                                     |
| <b>2 группа</b><br><b>БЦ +</b><br><b>хлоргексидин</b> | 53,5<br>(53,5;58,4) | 9,5<br>(9,0;9,7)                                               | 61,3<br>(60,8;62,3)                                   | 51,4<br>(26,6;60,1)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                                                   | 67,7<br>(62,0;78,2)<br><b>p<sub>лев</sub>=0,046</b>                                                                     |
| <b>3 группа</b><br><b>Левомеколь</b>                  | 62,1<br>(55,9;65,8) | 9,7<br>(9,3;11,2)                                              | 67,0<br>(63,1;67,2)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,037</b> | 32,3<br>(21,1;40,6)                                                                                                   | 44,6<br>(43,2;59,3)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b>                                                                     |
| <b>28 дней</b>                                        |                     |                                                                |                                                       |                                                                                                                       |                                                                                                                         |
| <b>1 группа</b><br><b>БЦ +</b><br><b>физраствор</b>   | 59,6<br>(58,4;69,5) | 8,7<br>(8,6;9,5)                                               | 59,9<br>(58,0;65,3)                                   | 26,6<br>(20,5;27,8)<br><b>p<sub>контр</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>                                 | 47,1<br>(32,9;49,0)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,012</b><br><b>p<sub>лев</sub>=0,020</b>                                     |
| <b>2 группа</b><br><b>БЦ +</b><br><b>хлоргексидин</b> | 57,8<br>(51,0;70,1) | 8,8<br>(8,2;9,6)                                               | 71,4<br>(68,2;72,8)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b>   | 25,1<br>(9,8;36,7)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,020</b>                                                                    | 49,2<br>(28,3;60,5)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,020</b>                                                                     |
| <b>3 группа</b><br><b>Левомеколь</b>                  | 54,7<br>(51,6;58,4) | 9,0<br>(8,1;9,7)                                               | 60,7<br>(59,9;64,2)                                   | 37,5<br>(29,3;44,9)<br><b>p<sub>бц+хг</sub>=0,020</b><br><b>p<sub>бц+фр</sub>=0,020</b>                               | 67,2<br>(62,9;73,1)<br><b>p<sub>инт</sub>=0,037</b><br><b>p<sub>бц+хг</sub>=0,020</b><br><b>p<sub>бц+фр</sub>=0,035</b> |

Примечание: p<0,05 – значимость различий между группами

В результате проведенных исследований было установлено, что заживление экспериментальных ожоговых ран в закрытой среде с использованием различных раневых покрытий на основе БЦ сопровождается повышением уровня гемоглобина, гематокрита, количества эритроцитов и тромбоцитов, отсутствием лейкоцитоза, снижением количества общего белка, увеличением АЛТ, АСТ. На 28 сутки эксперимента отмечены достоверно худшие лабораторные показатели в группе с традиционным лечением по сравнению с 1 и 2 группой: по количеству тромбоцитов (меньше на 32,2% и 53,8%, p<0,001); количеству лейкоцитов (больше на 27,9% и 33,8%, p<0,001),

уровню гемоглобина (ниже 3,7% и 9,1%,  $p<0,05$ ), уровню АЛТ (выше на 29,1% и 33,1%,  $p<0,001$ ), уровню АСТ (выше на 29,9% и 26,8%,  $p<0,001$ ). К 28 суткам наблюдений заживление ран основных групп достоверно превосходило по скорости эпителизации раны группы сравнения, в среднем на 18,2% ( $p<0,05$ ).

## РЕЗЮМЕ

Таким образом, на основе проведенных патоморфологических и морфометрических исследований установлено что плотность воспалительного инфильтрата, возникающего после первых суток ожоговой травмы при использовании в 1 группе снизилась с 5-го дня к концу эксперимента в 1,5 раза, в группе БЦ + хлоргексидин в 1,8 раз и в группе Левомеколь в 1,46 раз. Количество фибробластов и кровеносных сосудов в связи с развитием грануляционной ткани возрастало к концу эксперимента, максимальные значения отмечались также в группе при использовании БЦ и хлоргексидином (критерий 4). При этом количество фибробластов увеличилось в 2,5 раз, кровеносных сосудов 3,6 раз. Самые медленные регенеративные процессы отмечались в группе при использовании препарата «Левомеколь» (критерий 2 и 3). При исследовании показателей крови крыс породы Wistar на протяжении 28 сутки экспериментов по лечению глубоких ожогов кожи с помощью раневых покрытий на основе БЦ в сравнении с традиционным подходом во всех группах на 10 сутки отмечено повышение уровня гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов, что может свидетельствовать о сгущении крови вследствие ожоговой травмы. К окончанию лечения регистрируется умеренное снижение этих показателей в 1 и 2 группе, тогда как в 3 группе эта тенденция была выражена на 5-10% сильнее. Также в начале лечения в 1 и 2 группе отмечен высокий уровень тромбоцитов со снижением их к середине наблюдений и ростом к окончанию лечения, однако в группе с мазью Левомеколь наоборот было отмечено падение на 20% ( $324 \times 10^9$ ), что также ниже показателя интактной группы животных. Это могло указывать на процесс потребления при открытом ведении инфицированной ожоговой раны

в процессе ежедневных перевязок. Течение всего периода наблюдений не характеризовалось наличием лейкоцитоза, при этом лейкоциты регистрировались в пределах референтных значений. На 10 сутки отмечено некоторое повышение уровня лейкоцитов во всех группах по сравнению с контролем. К 28 суткам в 1 и 2 группе животных наблюдается снижение этого показателя, однако в 3 группе уровень лейкоцитов наоборот вырос на 26,5%. В процессе наблюдений критических изменений уровня общего белка также не отмечено. Установлено, что на 5 сутки в группах имелись более низкие показатели общего белка по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о первой реакции организма на ожоговую травму. К окончанию наблюдений во всех группах отмечено умеренное восстановление этого показателя, значения которого приближаются к показателям контрольной и интактной группы животных. Более значимый рост уровня общего белка отмечен во 2 группе, где он равнялся 71,4 г/л. Достоверно значимых изменений уровня креатинина в группах не наблюдалось, показатели находились в пределах нормальных значений, что свидетельствовало об отсутствии почечного повреждения в результате течения смоделированной ожоговой травмы. При исследовании содержания глюкозы отмечено, что в группах на 5 сутки ее уровень достоверно ниже по сравнению с контролем. К 10 суткам отмечен достоверный рост этого показателя, наиболее выраженный в 3 группе, где сахар крови достиг 12,4 ммоль/л. В целом к окончанию лечения происходит медленное снижение содержания глюкозы во всех группах без каких-либо значимых различий. При оценке функции печени отмечается, что на 28 сутки показатели АЛТ в основных группах достоверно снизились, из них в 1 группе на 51,5%, во 2 группе на 27,3%, тогда как в 3 группе отмечен рост аланиновой трансаминазы на 8,5%, что достоверно выше интактных значений. Аналогичные изменения отмечены в динамике АСТ, что в целом может свидетельствовать о возможных нарушениях ферментообразующей функции печени при открытом ведении ожоговой раны.

Материалы данной главы изложены в следующих публикациях:

1. Жариков А.Н. Морфологические свойства и безопасность накового применения бактериальной целлюлозы / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Н.М. Семенихина // Сибирское медицинское обозрение. – 2023. – №4. – С.68-75.
2. Жариков А.Н. Результаты заживления ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в эксперименте / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Н.М. Семенихина // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – Т.31. – №3. – С.19-29.
3. Жариков А.Н. Оценка эффективности лечения экспериментальных ожоговых ран по результатам лабораторных и морфологических исследований / А.Н. Жариков, А.Р. Алиев, О.В. Орлова, Л.Г. Дворникова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, В.В. Прокопьев, Н.М. Семенихина // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – Т.31. - №3. – С.65-73.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время существует множество способов лечения ран различного генеза, включающие медикаментозную терапию, умные повязки, гидрогелевые повязки и терапия ран отрицательным давлением [17, 175, 198, 227, 230] однако каждый из них имеет свои плюсы и минусы. В виду разнообразия и сложности ран их местное лечение представляет собой определенные трудности, в основном в части поиска и расходования перевязочных средств. В арсенале хирурга имеется много обычных материалов для лечения ран, таких как пластыри, ватные тампоны, марля, бинты. Однако, многие из них нужны они лишь просто для закрытия раны с целью для достижения быстрого гемостаза [222]. Другие, уже сложные композитные раневые покрытия наделены экстраординарными функциями, заключающиеся в обеспечении комфортной влажной среды для раны, предотвращении бактериальной инфекции, протеолитического действия и абсорбции раневого экссудата, создании в ране антибактериального и противовоспалительного эффекта [179, 180, 181].

В мировой практике для лечения ран широко используются природные полимеры, полученные из растений, животных или микроорганизмов, такие как БЦ, гиалуроновая кислота, желатин, хитозан, крахмал и белок. На сегодняшний день БЦ привлекает особое внимание хирургов из-за ее высокой гидратации, большой площади поверхности, чистоты и кристалличности, регулируемой трехмерной сетчатой структуры и пористости, что является идеальным носителем для терапевтических агентов, включая лекарства, наночастицы, противораковые препараты, цитокины и факторы роста [58, 64, 66]. Как внеклеточный природный полимер, БЦ достаточно безопасна в биологической системе и, хотя по своей природе не является антимикробной, она может быть комбинирована с другими антисептическими и антибактериальными агентами для достижения эффекта сопротивления патогенным бактериям [24, 26, 184, 224].

Интерес к БЦ для лечения кожных ран различного генеза появился благодаря ее биосовместимости, пластичности, влажности и теперь ее изучение уже входит в сферу исследований по регенеративной медицине и биотехнологиям [63, 67, 70]. Однако, остается до конца не ясным вопрос биосовместимости БЦ при использовании ее в лечении ожоговых ран, влияние этого биологического материала на показатели периферической крови, биохимические процессы в структуре гомеостаза, регенеративные изменения в ране по данным динамического исследования ее морфологической структуры в процессе заживления [65]. Несмотря на то, что различные эксперименты показали, что биоматериалы на основе БЦ не являются генотоксичными, канцерогенными или репродуктивными токсикантами, исследования токсичности, биосовместимости и биоразлагаемости все еще недостаточны [23, 44, 54, 102, 111, 192, 206].

В работе была поставлена цель экспериментального обоснования разработки новой биомедицинской технологии, включающей применение биологических раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы в хирургии ожоговых ран. В соответствии с поставленной целью и задачами были определён дизайн и два этапа исследования.

Первый этап включал проведение экспериментальных исследований по определению безопасности БЦ, как потенциального кандидата для создания раневых покрытий. На данном этапе изучалась острая токсичность при накожном применении БЦ и ее цитотоксичность при взаимодействии с дермальными фибробластами человека. При определении острого токсического действия за сутки до нанесения БЦ на кожу животным основной группы (n=10) выстригали шерстный покров в области спины размером 5x5 см. Местное раздражающее действие на кожу оценивали при нанесении кусочка БЦ размером 2,5x2,5 см. БЦ наносили однократно, равномерно распределив по всей поверхности участка и слегка втирая в кожу. В контрольной группе (n=10) использовали марлевую повязку размером 2,5x2,5см, смоченную в растворе хлорида натрия 0,9% (изотонический).

Первичную реакцию кожи оценивали сразу после нанесения, далее через 1, 2, 24, 48 и 72 ч. Оценивали состояние кожи, обращая особое внимание на возможность ее покраснения, отечность, наличие трещин, изъязвлений, кровоизлияний, появления сухой корки. Массу тела животных определяли перед нанесением БЦ, а затем в течение всего периода наблюдения. Оценку общего состояния животных проводили с учетом изменения поведенческих реакций (двигательная активность, число дыхательных движений, температура, груминг, акт приема корма, воды, акт дефекации). Оценка цитотоксичности *in vitro* проводили методом экстракции. При этом заливали каждый образец площадью 2 см<sup>2</sup> полной ростовой средой (DMEM/F12, 10% FBS (Gibco), Anti-Anti (Gibco)) в количестве по 5 мл и выдерживали на протяжении 24 часов при 37 °C в CO<sub>2</sub>инкубаторе (Binder, Германия). В исследовании использовался 5-й пассаж линии клеток дермальных фибробластов, выделенных из кожи человека ранее по своей усовершенствованной методике с оценкой общей морфологии, вакуолизации, расщепления, лизиса клеток, целостность клеточных мембран.

На первом этапе исследований установлено, что при накожном применении биопокрытия из БЦ не проявляются явлений острого токсического воздействия на организм животного. Это подтверждалось отсутствием изменений температуры, отсутствием увеличения частоты дыхательных движений, масса тела животных на протяжении эксперимента только увеличивалась. Летальных исходов не отмечалось. Данный вывод согласуется с исследованиями Roman M. et al. (2015), Петрухина И.Ю. соавт. (2016), Pinto F.C. et al. (2016), Dourado F. et al. (2017) [23, 102, 192]. Дополнительно в эксперименте было установлено отсутствие цитотоксичности при контакте БЦ с дермальными фибробластами человека.

Второй этап заключался в оценке заживления экспериментальных ожоговых ран с помощью раневых покрытий на основе БЦ по сравнению с их традиционным местным лечением на основе клинических, лабораторных, микробиологических, морфологических показателей. В качестве

потенциальных кандидатов для создания экспериментальных раневых покрытий были использованы образцы гель-пленки БЦ, которые получены в лаборатории биоконверсии ИПХЭТ СО РАН (г. Бийск). Синтез БЦ осуществлялся путем микробной трансформации простых сахаров в полимерную влажную волокнистую структуру. Всего в экспериментальных исследованиях было использовано 100 крыс типа Wistar.

Исследование применения БЦ в качестве биологического раневого покрытия при лечении ожоговых ран проводилось на модели гранулирующих ран после формирования глубоких ожогов II-III степени и соответствовало условиям эксперимента [17, 18]. Для создания тяжелой термической травмы у животных (60 беспородных крыс-самцов, массой 200–240 г.) выстригалась шерсть в зоне нанесения ожога. Под однокомпонентным внутрибрюшным наркозом (раствор Телазола в концентрации 1 мг/кг) в межлопаточном пространстве спины крысы линии Wistar, весом 230–300 после предварительно нагревания металлической пластины формировался глубокий ожог путем плотного соприкосновения кожи животного с нагретой поверхностью металлической пластины. Биопокрытия с БЦ после некрэктомии укладывались на раневую поверхность на 3–5 суток, после чего по мере высыхания и изменения цвета на серо-желтый во время повязки заменялись на новые. Критериями эффективности служили: скорость заживления, сроки полного заживления, микробный пейзаж, лабораторные показатели (развернутый анализ крови, общий белок, АЛТ, АСТ, креатинин), макроскопическая картина ран, морфологические свойства на 5, 10, 20, 28-е сутки. Исследование проводилось в 4 группах животных (всего 80 беспородных крыс обеих полов линии Wistar, массой 200–240 гр.), по 20 особей в каждой: 1 группа (основная, n=20) – лечение с помощью раневых покрытий на основе пластин влажной БЦ, находящихся в физиологическом растворе, 2 группа (основная, n=20) – лечение с помощью раневых покрытий на основе влажной БЦ с адсорбцией антисептика (экспозиция в 1% растворе хлоргексидина), 3 группа (группа сравнения, n=20) – традиционное лечение

экспериментальных ожоговых ран с использованием мази Левомеколь и 4 группа (n=20) контрольная.

Спустя 3 суток после нанесения на рану БЦ, материал во 1 и 2 группе высыхал, плотно фиксируясь на ожоговой поверхности и кожных краях в виде струпа коричневого цвета, что препятствовало прилипанию марли вторичной повязки к ране. Струп во время перевязок не убирали, что позволяло ему находиться на поверхности раны до 5-10 суток. При макроскопической оценке бактериальные целлюлозные мембраны оказались более эффективными в скорости заживления ожоговых ран. Так, на 5 сутки сухие пластины БЦ (группа с физиологическим раствором и группа с раствором хлоргексидина) были уже хорошо фиксированы к ране, однако под ними имелся небольшой серозный экссудат и эпителизации раны еще не отмечалось, тогда как на 10 сутки после удаления пластины отмечалось заживление раны почти на половину, а к 20 суткам практически более чем на 2/3 площади раны. На 5 сутки в группе животных, где использовались перевязки с мазью Левомеколь (3 группа, сравнения) марля была приклеена непосредственно к ложу ожоговой поверхности, где имелся мокнущий раневой детрит с признаками воспаления, наличием серозно-геморрагического экссудата. Ежедневное снятие марли в 3 группе приводило к небольшому повреждению и легкому эрозивному кровотечению из ран, а также к дискомфорту у крыс. Сокращение размеров термической раны и ее эпителизация на 5 и 10 сутки шли в этой группе медленно. В результате проведенных исследований установлено, что достоверное ( $p \leq 0,001$ ) снижение площади ожоговой поверхности к 15 суткам наблюдений происходило во всех трех группах крыс, однако более эффективнее оно наблюдалось при применении раневых покрытий из БЦ в 1 группе – на  $47,3 \pm 1,8\%$  и во 2 группе – на  $44,5 \pm 2,1\%$ , тогда как в 3 группе – на  $38,0 \pm 1,2\%$  ( $p < 0,05$ ). В дальнейшем улучшение заживления ожоговых ран во всех группах сохранялось, однако в 1 и 2 группе оно имело более интенсивную динамику.

В целом, на основании проведенных исследований были установлены доказательства достоверного увеличения скорости заживления ожоговых ран в основных группах с использованием раневых покрытий на основе БЦ (группа 1 и 2), проявляющееся полноценной эпителизацией площади ожогового дефекта у большинства животных к 28 суткам, отсутствием признаков воспаления по отношению к группе сравнения. Патоморфологические особенности заживления экспериментальных ожоговых ран при лечении с помощью раневых покрытий на основе БЦ по сравнению с традиционным открытым ведением к 28 суткам наблюдений отличались более эффективным уменьшением плотности воспалительного инфильтрата; меньшей выраженностью нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрации; более плотным расположением фибробластов, коллагеновых волокон; образованием большего количества новых сосудов капиллярного типа. Установлено, что при глубоком ожоге 2-3 степени у крыс достаточно двух- трехкратного применения раневого покрытия на основе БЦ, которое формирует плотный ожоговый струп, который отторгается в ряде случаев в среднем через 10 суток или после полной эпителизации раны. На модели экспериментальных термических ожогов были выявлены положительные свойства раневых покрытий из БЦ: формирование закрытой среды, обеспечение барьера между раной и окружающей средой, защита раны от механических воздействий и травматизации раневой поверхности, уменьшение экссудации, отсутствие инфицирования ран по данным бактериологического мониторинга, что согласуется с исследованиями Винника Ю.С. с соавт. (2016), Зиновьев Е.В. с соавт. (2019), Черниговой С.В. с соавт. (2021), Lupascu R.E. et al. (2021), [10, 22, 32, 53].

Динамика заживления ожоговых ран и изучение реакции системы периферической крови в группах показало, что в группах с использованием различных раневых покрытий на основе БЦ на 10 сутки отмечено повышение уровня гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов, что может свидетельствовать о сгущении крови вследствие ожоговой травмы. К

окончанию лечения регистрируется умеренное снижение этих показателей в 1 и 2 группе, тогда как в 3 группе эта тенденция была выражена на 5-10% сильнее. В начале лечения в 1 и 2 группе отмечен высокий уровень тромбоцитов со снижением их к середине наблюдений и ростом к окончанию лечения, однако в группе с мазью Левомеколь наоборот было отмечено падение на 20% ( $324 \times 10^9$ ), что также ниже показателя интактной группы животных. Это могло означать процесс потребления при открытом ведении инфицированной ожоговой раны в процессе ежедневных перевязок. Течение всего периода наблюдений не характеризовалось наличием лейкоцитоза, при этом лейкоциты регистрировались в пределах референтных значений. На 10 сутки отмечено некоторое повышение уровня лейкоцитов во всех группах по сравнению с контролем. К 28 суткам в 1 и 2 группе животных наблюдается снижение этого показателя, однако в 3 группе уровень лейкоцитов наоборот вырос на 26,5%. В процессе наблюдений критических изменений уровня общего белка также не отмечено. Установлено, что на 5 сутки в группах имелись более низкие показатели общего белка по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о первой реакции организма на ожоговую травму. К окончанию наблюдений во всех группах отмечено умеренное восстановление этого показателя, значения которого приближаются к показателям контрольной и интактной группы животных. Более значимый рост уровня общего белка отмечен в группе БЦ+хлоргексидин, где он равнялся 71,4 г/л. Достоверно значимых изменений уровня креатинина в группах не наблюдалось, показатели находились в пределах нормальных значений, что свидетельствовало об отсутствии почечного повреждения в результате течения смоделированной ожоговой травмы. При исследовании содержания глюкозы отмечено, что в группах на 5 сутки ее уровень достоверно ниже по сравнению с контролем. К 10 суткам отмечен достоверный рост этого показателя, наиболее выраженный в 3 группе, где сахар крови достиг 12,4 ммоль/л. В целом к окончанию лечения происходит медленное снижение содержания глюкозы во всех группах без каких-либо значимых различий. При

оценке функции печени отмечается, что на 28 сутки показатели АЛТ в основных группах достоверно снизились, из них в 1 группе на 51,5%, во 2 группе на 27,3%, тогда как в 3 группе отмечен рост аланиновой трансаминазы на 8,5%, что достоверно выше интактных значений и свидетельствует о возможных нарушениях ферментообразующей функции печени при открытом ведении ожоговой раны. Положительные изменения лабораторных показателей при использовании в лечении ожоговых ран БЦ соответствуют исследованиям Тюхтевой Н.М. с соавт. (2021), Каабак В.А. с соавт. (2022), Шарко А.А. с соав. (2022), Aditya T. et al. и др. [11, 27, 33, 45].

В целом проведенные экспериментальные исследования с разработкой новой бионанотехнологии заживления ран, возникающих при глубоких ожогах кожи с использованием новых биологических раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы, показали высокую эффективность. Были получены обнадеживающие результаты успешного лечения ран в закрытой среде. В этой связи открываются новые терапевтические горизонты в области лечения ожоговых ран и других различных раневых процессов, возникающих в клинической практике, и поэтому применение БЦ в этом направлении может явиться одним из перспективных биологических продуктов.

## ВЫВОДЫ

1. Экспериментальная биотехнология лечения глубоких ожоговых ран кожи животных с помощью влажных раневых биопокрытий на основе БЦ, накладываемых в ранние сроки, направлена на формирование над раневой поверхностью защитного механического барьера, препятствующего повреждению образующихся в ране новых клеточных элементов, способствующего снижению ее экссудации за счет сорбционных свойств материала, микробной контаминации, улучшающего процессы микроциркуляции, что в итоге при уменьшении количества перевязок ускоряет заживление ран в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с открытым ведением.
2. На основе экспериментальных клинических наблюдений установлена безопасность раневых биопокрытий на основе БЦ при накожном применении, что подтверждается отсутствием повышения температуры тела и увеличения частоты дыхания животных в период 72 часов ( $p > 0,05$ ), достоверным увеличением их массы в течение 14 суток на 4,4% ( $p < 0,05$ ), отсутствием аллергических и токсических реакций. Образцы БЦ не обладают цитотоксичностью, что определяется отсутствием изменений *in vitro* в дермальных фибробластах человека при сравнении с контрольной группой (расположение, форма клеток и ядра, количество и размер ядрышек, вакуолей в цитоплазме).
3. Патоморфологические особенности заживления экспериментальных ожоговых ран при лечении с помощью раневых биопокрытий на основе БЦ по сравнению с традиционным открытым ведением к 28 суткам наблюдений отличаются более эффективным уменьшением плотности воспалительного инфильтрата; меньшей выраженностью нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрации; более плотным расположением фибробластов, коллагеновых волокон; образованием большего количества новых сосудов капиллярного типа. По результатам гистологических срезов к 28 суткам у

более 90% животных основных групп раневые поверхности достигли окончательных патоморфологических критериев заживления, тогда как в группе сравнения это удалось только у 60% особей, что превосходит в среднем на 18,2% ( $p<0,05$ ).

4. Процесс заживления экспериментальных ожоговых ран в закрытой среде с использованием различных раневых биопокрытий на основе БЦ сопровождается повышением уровня гемоглобина, гематокрита, количества эритроцитов и тромбоцитов, отсутствием лейкоцитоза, снижением количества общего белка, увеличением АЛТ, АСТ. На 28 сутки эксперимента отмечены достоверно худшие лабораторные показатели в группе с традиционным лечением по сравнению с 1 и 2 группой: по количеству тромбоцитов (меньше на 32,2% и 53,8%,  $p<0,001$ ); количеству лейкоцитов (больше на 27,9% и 33,8%,  $p<0,001$ ), уровню гемоглобина (ниже 3,7% и 9,1%,  $p<0,05$ ), уровню АЛТ (выше на 29,1% и 33,1%,  $p<0,001$ ), уровню АСТ (выше на 29,9% и 26,8%,  $p<0,001$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Влажные биопластины бактериальной целлюлозы при накожном применении у экспериментальных животных и *in vitro* при контакте с дермальными фибробластами человека не приводят к развитию острой токсичности, цитотоксичности, что позволяет их относить к 4 классу безопасности материалов.
2. Использование раневых биопокровов на основе БЦ позволяет лечить в ожоговую рану в закрытой среде, уменьшить риск бактериальной контаминации, одновременно снизить количество перевязок и повысить скорость заживления.
3. Полученные положительные экспериментальные результаты лечения глубоких ожогов кожи с помощью раневых биопокровов на основе бактериальной целлюлозы позволяют обосновать их клиническое применение в комбустиологии.

## СОКРАЩЕНИЯ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БЦ – бактериальная целлюлоза

ДНК – дизоксирибонуклеиновая кислота

ИЛ – интерлейкины

КОЕ – колониеобразующие единицы

ММП – матриксные металлопротеиназы

ФЗ – физиологический раствор

ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли

ХГ – хлоргексидин

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, А.А. Анализ и особенности работы ожоговых стационаров в России в 2022 году / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, Н.Б. Малютина, К.А. Филимонов // Комбустиология (электронный журнал). – 2023. – № 69-70.
2. Алексеев, А.А. Лечение поверхностных и пограничных ожоговых ран с применением современных раневых повязок / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, С.Н. Хунафин // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – № 8(3). – С. 25-30.
3. Алексеев, А.А. Местное консервативное лечение ожогов (Учебно-методическое пособие) / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников // М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2015. – 144 с.
4. Алексеев, А.А. Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни / А.А. Алексеев // Комбустиология. – 1999. – № 1. – С.1-9.
5. Алексеев, А.А. Экстренная и неотложная медицинская помощь после ожоговой травмы /А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, Н.Б. Малютина // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 2 – № 15. – С. 6-12.
6. Бактериальная целлюлоза, синтезируемая *GLUCONACETOBACTER HANSENII*, для использования в медицине / Т.И. Громовых, Т.С. Садыкова, С.В. Луценко [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53. – № 1. – С. 69-75.
7. Бобровников, А.Э. Новые возможности и эффективность антимикробного лечения ожоговых ран / А.Э. Бобровников, А.А. Алексеев, М.Г. Лагвилава // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Современные аспекты лечения термической травмы». СПб, 2011. – С. 23-25.

8. Бобровников, А.Э. Персонализированные технологии местного консервативного лечения ожоговых ран / А.Э. Бобровников, А.А. Алексеев // Лечение и профилактика. – 2017. – Т.23. – № 3. – С. 75-83.
9. Борисов, Д.Н. Контроль за состоянием здоровья военнослужащих в ходе проведения лечебно-эвакуационного обеспечения войск (сил) с использованием современных средств информатизации / Д.Н. Борисов, Р.Н. Лемешкин, В.О. Хилько // Военная мысль. – 2017. – № 4. – С. 47-55.
10. Винник, Ю.С. Применение раневого покрытия на основе целлюлозы у больных с гнойными заболеваниями мягких тканей / Ю.С. Винник, Н.М. Маркелова, Е.И. Шишацкая [и др.] // Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. – 2016. – № 9. – С. 121-128.
11. Гемостатическое покрытие на основе модифицированной бактериальной целлюлозы: структура и свойства / В.А. Кабак, Д.Ю. Бычичко, А.Р. Лемперт, [и др.] // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2022. – Т. 64. – № 1. – С. 1-122.
12. Евдокимов, В.И. Генезис научных статей по ожоговой травме (анализ отечественных журнальных статей в 2005–2017 гг.) / В.И. Евдокимов, А.С. Коуров // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2018. – № 4. – С. 108-120.
13. Зиновьев, Е.В. К вопросу о тангенциальной некрэктомии в хирургии ожогов (обзор литературы) / Е.В. Зиновьев, В.В. Солошенко, А.С. Коуров, С.Г. Шаповалов // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2020. – № 3. – С. 24-35.
14. Изучение депонирования гентамицина в составе целлюлозы с альбумином / Т.Е. Миронова, В.Н. Афонюшкин, Н.А. Сигарева [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2019. – Т. 49. – № 5. – С. 61-66.

15. Карякин, Н.Н. Технологии лечения ожогов в условиях влажной среды / Н.Н. Карякин, И.А. Клеменова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 9. – С. 495-499.
16. Кобелев, К.С. Современное состояние проблемы местного консервативного лечения поверхностных и пограничных ожогов / К.С. Кобелев, В.И. Мидленко // Ульяновский медико - биологический журнал. – 2017. – № 4. – С. 8-19.
17. Ковальчук, А.О. Морфометрические показатели кожи животных с экспериментальной ожоговой травмой при проведении раннего хирургического лечения с использованием гидрогелевых повязок и полиуретановых адсорбентов / А.О Ковальчук // Новости хирургии. – 2016. – Т. 24 – № 2. – С. 109-119.
18. Моделирование ожоговой травмы в эксперименте на лабораторных животных / А.Л. Адмакин, В.А. Максюта, В.С. Кутырин [и др.] / Сборник научных работ IV съезда комбустиологов России. – Комбустиология (электронный журнал). – 2013. – № 49-50.
19. Морфологическая оценка влияния коллагеновой повязки на заживление ожоговых ран IIIa степени / Е.Г. Колокольчикова, М.В. Сычевский, Е.А. Жиркова [и др.] // Трансплантология. – 2010. – № 3-4. – С. 64-67.
20. Определение показателей лечебно-эвакуационной характеристики и оценка их влияния на организацию оказания медицинской помощи раненым (больным) хирургического профиля в военной полевой медицинской организации / А.М. Шелепов, И.М. Самохвалов, В.Г. Миронов [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии – 2015. – № 1. – С. 173-177.
21. Организация оказания медицинской помощи пострадавшим от ожогов в мирное и военное время / А.А. Алексеев, А.Э Бобровников, М.Б. Малютина [и др.] // Материалы XV съезда хирургов России совместно с IX конгрессом московских хирургов. – 2023. – С. 115.

22. Оценка эффективности раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы с фукоиданом при ожогах кожи / Е.В. Зиновьев, С.А. Лукьянов [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2019. – Т. 65. – № 1. – С. 148-152.
23. Петрухин, И.Ю. Оценка цитотоксичности бактериальной целлюлозы, синтезируемой штаммом *Gluconacetobacter hansenii* / И.Ю. Петрухин, А.Г. Демченко, В.В. Каширин // Медицинский академический журнал. – 2016. – Т. 16. - № 4. – С. 227-228.
24. Погорелова, Н.А. Морфологические особенности строения бактериальной целлюлозы и нанокompозитов на ее основе для изготовления современных раневых покрытий / Н.А. Погорелова, С.В. Чернигова, Е.А. Рогачев // Вестник Омского ГАУ. – 2019. – Т. 4. – № 36. – С. 131-141.
25. Подойницына, М.Г. Применение физических методов при лечении ожогов кожи / М.Г. Подойницына, В.Л. Цепелев, А.В. Степанов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5.
26. Регенеративная терапия тканевыми протекторными цитокинами в составе раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы / Н.Г. Венгерович, А.К. Хрипунов, Э.А. Рузанова [и др.] // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина. – 2016. – № 1. – С. 37-46.
27. Результаты применения раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы, нагруженной наночастицами серебра, у больных с длительно незаживающими трофическими язвами на фоне хронической венозной недостаточности / Н.М. Тюхтева, Ю.С. Винник, Н.С. Соловьева [и др.] // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2021. – Т. 14. – № 4. – С. 526-532.
28. Современные взгляды на проблему местного лечения ожоговых ран / Д.А. Рузимуратов, А.Д. Фаязов, У.Р. Камилов [и др.]// Вестник экстренной медицины. 2022. – Т. 5(15). – С. 90-98.

29. Состояние и перспективы совершенствования способов получения и использования бактериальной целлюлозы (обзор) / Е.А. Рогова, Ю.Д. Алашкевич, В.А. Кожухов [и др.] // Химия растительного сырья. – 2022. – № 4. – С. 27-46.
30. Харченко, А.В. Бактериальная наноцеллюлоза как пластический материал для закрытия дефектов твердой мозговой оболочки: обзор литературы / А.В. Харченко, В.В. Ступак // Хирургия позвоночника. – 2019. – Т. 16. – № 3. – С. 62-73.
31. Хирургическое лечение пострадавших от ожогов: клинические рекомендации / А.А. Алексеев, М.Г. Крутиков, И.В. Шлык [и др.] // Общероссийская общественная организация «Объединение комбустиологов «Мир без ожогов». – Москва, 2015. – 12 с.
32. Чернигова, С.В. Нанопокрывание в местном лечении ожоговых ран / С.В. Чернигова, Н.В. Зубкова, Е.С. Дочилова // Вестник Омского ГАУ. – 2021. – Т. 44. – № 4. – С. 173-179.
33. Шарко, А.А. Антибактериальные свойства композитов на основе гелевых плёнок бактериальной целлюлозы с добавлением хлоргексидина / А.А. Шарко, Н.А. Клёнова // Universum: химия и биология. 2020: электронный научный журнал. – 2020. – Т. 73. – № 7.
34. Шидловский, И.П. Свойства композитов бактериальной целлюлозы и наночастиц серебра / И.П. Шидловский, А.А. Шумилова, Е.И. Шишацкая, Т.Г. Волова // Биофизика. – 2018. – Т. 63. – № 4. – С. 669-676.
35. 3D bioprinting of functional human skin: Production and in vivo analysis / N. Cubo, M. Garcia, J. Del Canizo [et al.] // Biofabrication. – 2016. – Vol. 9. – P. 015006.
36. Aki, D. 3D printing of PVA/hexagonal boron nitride/bacterial cellulose composite scaffolds for bone tissue engineering / D. Aki, S. Ulag, S. Unal [et al.] // Mater Des. – 2020. – Vol. 196. – P. 109094.

37. A covalently cross-linked hyaluronic acid/bacterial cellulose composite hydrogel for potential biological applications / S. Tang, K. Chi, H. Xu, Q. Yong [et al.] // Carbohydr Polym. – 2021. – Vol. 252. – P. 117123.
38. A new glioblastoma cell trap for implantation after surgical resection / L. Autier, A. Clavreul, M.L. Cacicedo [et al.] // Acta Biomater. – 2019. – Vol. 84. – P. 268-279.
39. A Novel Small-Caliber Bacterial Cellulose Vascular Prosthesis: Production, Characterization, and Preliminary In Vivo Testing / A.F. Leitão, M.A. Faria, A.M.R. Faustino [et al.] // Macromol. Biosci. – 2016. – Vol. 16 – P. 139-50.
40. A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression / J.W. Shupp, T.J. Nasabzadeh, D.S. Rosenthal [et al.] // J Burn Care Res. – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 849-873.
41. A Technology for Pilot Production of Bacterial Cellulose from Oat Hulls / E.A. Skiba, V.V. Budaeva, E.V. Ovchinnikova [et al.] // Chemical Engineering Journal. – 2020. – Vol. 383. – P. 123128.
42. A wet dressing for male genital surgery: A phase II clinical trial / F.D.O. Vilar, F.C.M. Pinto, A.V. Albuquerque [et al.] // Int. Braz. J Urol. – 2016. – Vol. 42. – P. 1220-1227.
43. Abeer, M.M. Synthesis of a novel acrylated abietic acid-g-bacterial cellulose hydrogel by gamma irradiation / M.M. Abeer, M.C.I.M. Amin, A.M. Lazim, M. Pandey et al. // Carbohydr Polym. – 2014. – Vol. 110(38). – P. 505-12.
44. Acute toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxic effects of a cellulosic exopolysaccharide obtained from sugarcane molasses / F.C. Pinto, A.C. De-Oliveira, R.R. De-Carvalho [et al.] // Carbohydr. Polym. – 2016. – Vol. 137. – P. 556-60.
45. Aditya, T. Surface modification of bacterial cellulose for biomedical applications / T. Aditya, J.P. Allain, C. Jaramillo, A.M. Restrepo // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23(2). – P. 610.

46. Advanced materials from fungal mycelium: Fabrication and tuning of physical properties / M. Haneef, L. Ceseracciu, C. Canale [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 41292156.
47. Advanced smart biomaterials and constructs for hard tissue engineering and regeneration / K. Zhang, S. Wang, C. Zhou [et al.] // *Bone Res.* – 2018. – Vol. 6. – P. 31.
48. Advances in skin regeneration using tissue engineering / K. Vig, A. Chaudhari, S. Tripathi [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18. – P. 789.
49. Ai, F.-F. Experimental Study of a New Original Mesh Developed for Pelvic Floor Reconstructive Surgery / F.-F. Ai, M. Mao, Y. Zhang, J. Kang, L. Zhu // *Int. Urogynecol. J.* – 2020. – Vol. 31, № 1. – P. 79-89.
50. Aligned electrospun cellulose scaffolds coated with rhBMP-2 for both in vitro and in vivo bone tissue engineering / X. Zhang, C. Wang, M. Liao [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2019. – Vol. 213. – P. 27-38.
51. Allenet, B. Cost-effectiveness modeling of dermagraft for the treatment of diabetic foot ulcers in the french context / B. Allenet, F. Paree, T. Lebrun, L. Carr // *Diabetes & Metabolism.* – 2000. – Vol. 26(2). – P. 125-132.
52. Alleviating neuropathy of diabetic foot ulcer by co-delivery of venlafaxine and matrix metalloproteinase drug-loaded cellulose nanofiber sheets: production, in vitro characterization and clinical trial / R. Meamar, S. Chegini, J. Varshosaz [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2021. – Vol. 73. – P. 806-819.
53. An overview regarding microbial aspects of production and applications of bacterial cellulose / R.E. Lupascu, M.V. Ghica, C.E. Dinu-Pirvu [et al.] // *Appl Microbiol Mater.* – 2021. – Vol. 15, №2. – P.676.
54. Antibacterial Films Made of Bacterial Cellulose / Z. Sun, X. Li, Z. Tang [et al.] // *Polymers (Basel).* – 2022. – Vol. 14, № 16. – P. 3306.
55. Anti-inflammatory effect of stromal vascular fraction cells in fat transplantation / M. Zhu, J. Xue, S. Lu [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2019. – Vol. 17. – P. 1435-1439.

56. Antimicrobial hydrogels: Key considerations and engineering strategies for biomedical applications / K.J. Navare, L. Eggeermont, Z.J. Rogers [et al.] // *Racing Surf.* – 2020. – P. 511-542.
57. Application of Bacterial Cellulose in Skin and Bone Tissue Engineering / M. Pang, Y. Huang, F. Meng [et al.] // *Eur. Polym. J.* – 2020. – Vol. 122. – P. 109365.
58. Ashrafi, Z. Bioengineering tunable porosity in bacterial nanocellulose matrices / Z. Ashrafi, L. Lucia, W. Krause // *Soft Matter.* - 2019. – Vol. 15. – P. 9359-9367.
59. Assessment of the Usefulness of Bacterial Cellulose Produced by *Gluconacetobacter Xylinus* E25 as a New Biological Implant / M. Kołaczowska, P. Siondalski, M.M. Kowalik [et al.] // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2019. – Vol. 97. – P. 302-312.
60. Atalay, S. Stromal vascular fraction improves deep thickness burn wound healing / S. Atalay, A. Coruh, K. Deniz // *Burns.* – 2014. – Vol. 40. – P. 1375-1383.
61. Augmentation of diabetic wound healing and enhancement of collagen content using nanofibrous Glucophage-loaded collagen/PLGA scaffold membranes / C.H. Lee, S.H. Chang, W.J. Chen [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 2015. – Vol. 439. – P. 88-98.
62. Auger, C. Biochemical alterations underlying post-burn hypermetabolism / C. Auger, O. Samadi, M.G Jeschke // *Biochem. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* – 2017. – Vol. 1863. – P. 2633-2644.
63. Bacterial cellulose and its applications / S.M. Choi, K.M. Rao, S.M. Zo [et al.] // *Polymer.* – 2022. – Vol. 14, №6. – P. 1080.
64. Bacterial cellulose hydrogel loaded with lipid nanoparticles for localized cancer treatment / M.L. Cacicedo, G.A. Islan, I.E. León [et al.] // *Colloids and Surffaces. B: Biointerfaces.* – 2018. – Vol. 170. – № 1. – P. 596-608.

65. Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter* sp. A10 for burn wound dressing applications / M.H. Kwak, J.E. Kim, J. Go [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2015. – Vol. 122. – P. 387-398.
66. Bacterial Cellulose Membranes as Transdermal Delivery Systems for Diclofenac: *In Vitro* Dissolution and Permeation Studies / N.H.C.S. Silva, A.F. Rodrigues, I.F. Almeida [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2014. – Vol. 106. – P. 264-269.
67. Bacterial Cellulose Properties Fulfilling Requirements for a Biomaterial of Choice in Reconstructive Surgery and Wound Healing / J. Jankau, A. Błażyńska-Spychalska, K. Kubiak [et al.] // *Front Bioeng Biotechnol.* – 2022. – Vol. 9. – P. 805053.
68. Bacterial cellulose tubes as a nerve conduit for repairing complete facial nerve transection in a rat model / A. Binnetoglu, B. Demir, D. Akakin [et al.] // *European archives of oto-rhino-laryngology.* – 2020. – Vol. 277, № 1. – P. 277-283.
69. Bacterial Cellulose: Long-Term Biocompatibility Studies / R.A. Pértile, S. Moreira, R.M. Gil da Costa [et al.] // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* – 2012. – Vol. 23. – P. 1339-1354.
70. Bacterial Cellulose-Based Composite Scaffolds for Biomedical Applications: A Review / W. Liu, H. Du, M. Zhang [et al.] // *ACS Sustainable Chemistry & Engineering.* – 2020. – Vol. 8, № 20. – P. 7536-7562.
71. Bacterial cellulose-lactoferrin as an antimicrobial edible packaging / J. Padrão, S. Gonçalves, J.P. Silva [et al.] // *Food Hydrocoll.* – 2016. – Vol. 58. – P. 126-140.
72. Bacterial infections after burn injuries: Impact of multidrug resistance / A.M. Lachiewicz, C.G. Hauck, D.J. Weber [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 65. – P. 2130-2136.
73. Bacterial nanocellulose as a corneal bandage material: A comparison with amniotic membrane / I. Anton-Sales, J.C. D'Antin, J. Fernández-Engroba [et al.] // *Biomater. Sci.* – 2020. – Vol. 8. – P. 2921-2930.

74. Bacterial nanocellulose-hyaluronic acid microneedle patches for skin applications: In vitro and in vivo evaluation / D.F.S. Fonseca, C. Vilela, R.J.B. Pinto [et al.] // Mater. Sci. Eng. – 2021. – Vol. 118. – P. 111350.
75. Bacterial cellulose and its potential for biomedical application / F. Wahid, L.H. Huang, X.Q. Zhao [et al.] // Biotechnol Adv. – 2021. – Vol. 53. – P. 107856.
76. Bacterial Cellulose as a Versatile Biomaterial for Wound Dressing Application / J.D.P. de Amorim, C.J.G. da Silva Junior, A.D.M. de Medeiros [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, № 17. – P. 5580.
77. Bacterial cellulose-based biomaterials: From fabrication to application / C. Chen, W. Ding, H. Zhang [et al.] // Carbohydr Polym. – 2022. – Vol. 278. – P. 118995.
78. Bactericidal and antioxidant bacterial cellulose hydrogels doped with chitosan as potential urinary tract infection biomedical agent / D.Z. Zmejkoski, Z.M. Marković, N.M. Zdravković [et al.] // RSCAdv. – 2012. – Vol. 11. – P. 8559-8568.
79. Barrère, F. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions / F. Barrère, T.A. Mahmood, K. de Groot, C.A. van Blitterswijk // Materials Science and Engineering: R: Reports. – 2008. – Vol. 59. – P. 38-71.
80. Bayazidi, P. Immobilization of lysozyme on bacterial cellulose nanofibers: Characteristics, antimicrobial activity and morphological properties / P. Bayazidi, H. Almasi, A.K. Asl // Int. J. Biol. Macromolecules. – 2018. – Vol. 107. – P. 2544-2551.
81. Biocompatible Bacterial Cellulose Membrane in Dural Defect Repair of Rat / F.d.M.T.d. Lima, F.C. M. Pinto, B.L.d.S. Andrade-da-Costa [et al.] // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2017. – Vol. 28, № 3. – P. 37.
82. BIO-NAIL: a Bacterial Cellulose Dressing as a New Alternative to Preserve the Nail Bed after Avulsion / M.H. Oliveira, F.C.M. Pinto, R.S. Ferraz-Carvalho [et al.] // Mater. Sci. Mater. Med. – 2020. – Vol. 31, № 12. – P. 121.

83. Biotech nanocellulose: A review on progress in product design and today's state of technical and medical applications / D. Klemm, K. Petzold-Welcke, F. Kramer [et al.] // Carbohydr. Polym. – 2021. – Vol. 254. – P. 117313.
84. Burn wound infections: A serious threat of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* / K. Junaidi, A.U. Mustafa, S. Arshadm [et al.] // Pak. J. Med. Health Sci. – 2019. – Vol. 13, № 3. – P. 804.
85. Catanzano, O. Wound dressings as growth factor delivery platforms for chronic wound healing / O. Catanzano, F. Quaglia, J.S. Boateng // Expert Opin. Drug Deliv. – 2021. – Vol. 18. – P. 737-759.
86. Characterization and cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluations of bacterial cellulose membranes incorporated with ciprofloxacin: A potential material for use as therapeutic contact lens / M. Cavicchioli, C.T. Corso, F. Coelho [et al.] // World J Pharm Sci. – 2015. – Vol. 4, № 7. – P. 1626-47.
87. Chitosan-bacterial cellulose patch of ciprofloxacin for wound dressing: Preparation and characterization studies / M.L. Cacicedo, G. Pacheco, G.A. Islan [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 147. – P. 1136-1145.
88. Choi, S.M. The nanofication and functionalization of bacterial cellulose and its applications / S.M. Choi, E.J. Shin // Nanomaterials. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 406
89. Ciolacu, D.E. Cellulose-based Hydrogels as Sustained Drug-Delivery Systems / D.E. Ciolacu, R. Nicu, F. Ciolacu // Materials. – 2020. – Vol. 13, № 22. – P. 5270.
90. Comparable effect of adipose-derived stromal vascular fraction and mesenchymal stem cells for wound healing: An in vitro study / K. Karina, I. Rosadi, S. Sobariah [et al.] // Biomed. Res. Ther. – 2019. – Vol. 6. – P. 3412-3421.
91. Construction of Small-Diameter Vascular Graft by Shape-Memory and Self-Rolling Bacterial Cellulose Membrane / Y. Li, K. Jiang, J. Feng [et al.] // Adv. Healthcare Mater. – 2017. – Vol. 6. – P. 1601343.

92. Controlled Release and Antibacterial Activity of Tetracycline Hydrochloride-Loaded Bacterial Cellulose Composite Membranes / W. Shao, H. Liu, S. Wang [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2016. – Vol. 145. – P. 114-120.
93. Costa, A.F.S. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources / A.F.S. Costa, F.C.G. Almeida, G.M. Vinhas, L.A. Sarubbo // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 2027.
94. Crystal and Supramolecular Structure of Bacterial Cellulose Hydrolyzed by Cellobiohydrolase from *Scytalidium Candidum* 3C: A Basis for Development of Biodegradable Wound Dressings / L.A. Ivanova, K.B. Ustinovich, T.V. Khamova [et al.] // *Materials.* – 2020. – Vol. 13. – № 9. – P. 2087.
95. Cytotoxicity, blood compatibility and antimicrobial activity of two cyanoacrylate glues for surgical use / L. Montanaro, C.R. Arciola, E. Cenni [et al.] // *Biomaterials.* – 2000. – Vol. 22, № 1. – P. 59-66.
96. Czaja, W. Biomedical Applications of Microbial Cellulose in Burn Wound Recovery / W. Czaja, A. Krystynowicz, M. Kawecki [et al.]. – 2020. – Chapter 17.
97. Czaja, W., Kawecki M., Krystynowicz A., Wysota K., Sakiel S., Wroblewski P. et al. CELL 157 - Application of Bacterial Cellulose in Treatment of Second and Third Degree burns. 227th ACS Natl. Meet. Anaheim, CA . 2004. Available.
98. De novo strategy with engineering a multifunctional bacterial cellulose based dressing for rapid healing of infected wounds / C. Zhou, Z. Yang, X. Xun [et al.] // *Bioact Mater.* – 2022. – Vol. 13. – P. 212-22.
99. Del Valle, L.J. Hydrogels for Biomedical Applications: Cellulose, Chitosan, and Protein/Peptide Derivatives / L.J. Del Valle, A. Díaz, J. Puiggali // *Gels.* – 2017. – Vol. 3, № 3. – P. 27.
100. Demidova-Rice, T.N. Wound healing angiogenesis: Innovations and challenges in acute and chronic wound healing / T.N. Demidova-Rice, J.T. Durham, I.M. Herman // *Adv. Wound Care.* – 2012, № 1. – P. 17-22.

101. Development of threedimensional bacterial cellulose/chitosan scaffolds: Analysis of cell-scaffold interaction for potential application in the diagnosis of ovarian cancer / M. Ul-Islam, F. Subhan, S.U. Islam [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – Vol. 137. – P. 1050-1059
102. Dourado, F. A Review on the toxicology and dietetic role of bacterial cellulose / F. Dourado, M. Gama, A.C. Rodrigues // *Toxicol Rep.* – 2017. – Vol. 4. – P. 543-553.
103. Doxorubicin Embedded into Nanofibrillated Bacterial Cellulose (NFBC) Produces a Promising Therapeutic Outcome for Peritoneally Metastatic Gastric Cancer in Mice Models via Intraperitoneal Direct Injection / H. Ando, T. Mochizuki, A.S.A. Lila [et al.] // *Nanomaterials.* – 2021. – Vol. 11, № 7. – P. 1697.
104. Elbadawy, A.K. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings / A.K. Elbadawy, S.K. El-Refaie, C.Xin C // *J. Adv. Res.* – 2017. – Vol. 8. – P. 217-233.
105. Emre Oz, Y. A Review of Functionalised Bacterial Cellulose for Targeted Biomedical fields / Y. Emre Oz, Z. Keskin-Erdogan, N. Safa, E. Esin Hames Tuna // *J. Biomater. Appl.* – 2021. – Vol. 36, № 4. – P. 648-681.
106. Evaluation of donor site pain after fractional autologous full-thickness skin grafting / J.A. Jaller, I. Herskovits, L.J. Borda [et al.] // *Adv. Wound Care.* – 2018. – Vol. 7. – P. 309-314.
107. Evaluation of radiosterilized glycerolated amniotic membranes as a substrate for cultured human epithelial cells / A.O. Paggiaro, M.B. Mathor, W.R. Teodoro [et al.] // *Organogenesis.* – 2020. – Vol. 16. – P. 27-41.
108. Ex vivo and in vivo Biocompatibility Assessment (bloodandtissue) of Three-Dimensional Bacterial Nanocellulose Biomaterials for Soft Tissue Implants / M. Osorio, A. Cañas, J. Puerta [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 10553.
109. Fabrication of bacterial cellulose-based wound dressings with improved performance by impregnation with alginate / I. Sulaeva, H. Hettegger, A.

- Bergen [et al.] // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2020. – Vol. 110. – P.110619.
110. Fabrication of bacterial cellulose-collagen composite scaffolds and their osteogenic effect on human mesenchymal stem cells / Y.K. Noh, A. Dos Santos Da Costa, Y.S. Park [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2019. – Vol. 219. – P. 210-218.
  111. Fabrication of cell penetrating peptide-conjugated bacterial cellulose nanofibrils with remarkable skin adhesion and water retention performance / S. Kim, J.Y. Kang, W.C. Balance [et al.] // *Int J Pharm.* – 2021. – Vol. 600. – P. 120476.
  112. Farahani, M. Wound Healing: From Passive to Smart Dressings / M. Farahani, A. Shafiee // *Adv. Healthc. Mater.* – 2021. – Vol. 10. – P. 2100477.
  113. Fathke, C. Contribution of bone marrow-derived cells to skin: Collagen deposition and wound repair / C. Fathke // *Stem Cells.* – 2004. – Vol. 22. – P. 813-822.
  114. Flexible Bicolorimetric Polyacrylamide/Chitosan Hydrogels for Smart Real-Time Monitoring and Promotion of Wound Healing / K. Zheng, Y. Tong, S. Zhang [et al.] // *Advanced Functional Materials.* – 2021. – Vol. 31, № 34. – P. 2102599.
  115. Formation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Fullthickness Scald Burn Wounds in Rats / K.S. Brandenburg, A.J. Jr. Weaver, S.L.R. Karna [et al.] // *Scientific reports.* – 2019. – Vol. 9. – P. 13627.
  116. Frailty: An independent predictor of burns mortality following in patient admission / J. Ward, G. Philips, I. Radotra [et al.] // *Burns.* – 2018. – Vol. 44. – P. 1895-1902.
  117. Frisman, I. Nanostructuring of PEG-fibrinogen polymeric scaffolds / I. Frisman, D. Seliktar, H. Bianco-Peled // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6. – P. 2518-2524.

118. From Residues to Added-Value Bacterial Biopolymers as Nanomaterials for Biomedical Applications / F.G. Blanco, N. Hernández, V. Rivero-Buceta [et al.] // *Nanomaterials*. – 2021. – Vol. 11, № 6. – P. 1492.
119. Frykberg, R.G.C., Banks J. Challenges in the treatment of chronic wounds / R.G.C. Frykberg, J. Banks // *Adv. Wound Care*. – 2015. – Vol. 4. – P. 560-582.
120. Functionalized Magnetic Bacterial Cellulose Beads as Carrier for Lecitase Ultra Immobilization / R. Drozd, M. Szymańska, R. Rakoczy [et al.]// *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2019. – V.187, № 1. – P.176-193.
121. Goodwin, N.S. The efficacy of hydrogel dressings as a first aid measure for burn wound management in the pre-hospital setting: A systematic review of the literature / N.S. Goodwin, A. Spinks, J. Wasiak // *Int. Wound J.* – 2015. – Vol. 3. – P. 519-525.
122. Gorgieva, S. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications / S. Gorgieva, J. Trček // *Nanomaterials*. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 1352.
123. Greenhalgh, D.G. Management of Burns / D.G. Greenhalgh // *N. Eng. J. Med.* – 2019. – Vol. 380. – P. 2349-2359.
124. Gupta, D.K. *Mikroskin Grafting for Vitiligo*. Springer; London, UK: 2009. Thin and ultra-thin split thickness skin grafts (STSG-UT, STSG-T) pp. 15-18.
125. Han, D. Long-term antimicrobial effect of nisin released from electrospun triaxial fiber membranes // D. Han, S. Sherman, S. Filocamo, A.J. Steckl // *Acta Biomater.* – 2017. – Vol. 53. – P. 242-249.
126. Hauck, S. Collagen/hyaluronan based hydrogels releasing sulfated hyaluronan improve dermal wound healing in diabetic mice via reducing inflammatory macrophage activity / S. Hauck, P. Zager, N. Halfter [et al.] // *Bioact Mater.* – 2021. – Vol. 6, № 12. – P. 4342-4359.
127. Highly Stretchable, Adhesive, Biocompatible, and Antibacterial Hydrogel Dressings for Wound Healing / Z. Yang, R. Huang, B. Zheng [et al.] // *Adv. Sci.* – 2021. – Vol. 8, № 8. – P. 2003627.

128. Huang, J. Chitin-based double network hydrogel as potential superficial soft tissue repairing material / J. Huang, M. Frauenlob, Y. Shibata [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2020. – Vol. 21. – P. 4220-4230.
129. Hyalomatrix: A temporary epidermal barrier, hyaluronan delivery and neodermis induction system for keratinocyte stem cell therapy / S. Myers, V. Partha, C. Soranzo [et al.] // *Tissue Eng.* – 2007. – Vol. 13. – P. 2733-2741.
130. Immunological challenges associated with artificial skin grafts: Available solutions and stem cells in future design of synthetic skin / S. Dixit, D.R. Baganizi, R. Sahu [et al.] // *J. Biol. Eng.* – 2017. – Vol. 11. – P. 1-23140.
131. Immunomodulatory Effects of Adipose Stromal Vascular Fraction Cells Promote Alternative Activation Macrophages to Repair Tissue Damage / A.C. Bowles, R.M. Wise, B.Y. Gerstein [et al.] // *Stem Cells*. – 2017. – Vol. 35, № 10. – P. 2198-2207.
132. Implantation of Air-Dried Bacterial Nanocellulose Conduits in a Small-Caliber Vascular Prosthesis Rabbit Model / L. Bao, F.F. Hong, G. Li [et al.] // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2021. – Vol. 122. – P. 111922.
133. Improved thermostability and cytocompatibility of bacterial cellulose/collagen composite by collagen fibrillogenesis / L. Dai, J. Nan, X. Tu [et al.] // *Cellulose*. – 2019. – Vol. 26, № 11. – P. 6713-24.
134. In Situ Synthesized Selenium Nanoparticles-Decorated Bacterial Cellulose/Gelatin Hydrogel with Enhanced Antibacterial, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Capabilities for Facilitating Skin Wound Healing / L. Mao, L. Wang, M. Zhang [et al.] // *Adv. Healthcare Mater.* – 2021. – Vol. 10. – P. 2100402.
135. In Situ controllable Fabrication of Porous Bacterial Cellulose / H. Zhang, X. Xu, C. Chen [et al.] // *Mater. Lett.* – 2019. – Vol. 249. – P. 104-107.
136. In vitro analysis of the potential cartilage implant bacterial nanocellulose using the bovine cartilage punch model / V. Horbert, P. Foehr, F. Kramer [et al.] // *Cellulose*. – 2019. – Vol. 26. – P. 631-645.

137. In vitro hemo- and cytocompatibility of bacterial nanocellulose small diameter vascular grafts: Impact of fabrication and surface characteristics / M. Wacker, V. Kießwetter, I. Iottosch [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, № 6. – P. e0235168.
138. In vivo soft tissue reinforcement with bacterial nanocellulose / I. Anton-Sales, S. Roig-Sanchez, K. Traeger [et al.] // Biomater. Sci. – 2021. – Vol. 9. – P. 3040-3050.
139. Inselman, D.W. Bacterially derived medical devices: How commercialization of bacterial nanocellulose and other biofabricated products requires challenging of standard industrial practices / D.W. Inselman, C.J. Medberry, W.K. Czaja // J Biomed Mater Res B Appl Biomater. – 2021. – Vol. 109, № 11. – P. 1953-195.
140. Investigation on artificial blood vessels prepared from bacterial cellulose / S. Zang, R. Zhang, H. Chen [et al.] // Mater Sci Eng C. – 2015. – Vol. 46. – P. 111-7.
141. Jiji, S. Bacterial cellulose matrix with in situ impregnation of silver nanoparticles via catecholic redox chemistry for third degree burn wound healing / S. Jiji, S. Udhayakumar, K. Maharajan [et al.] // Carbohydr Polym. – 2020. – Vol. 245. – P. 116573.
142. Kaur, A. Functional skin grafts: Where biomaterials meet stem cells / A. Kaur, S. Midha, S. Giri, S. Mohanty // Stem Cell Int. – 2019. – 2019. – P. 1286054.
143. Kazimierczak, P. Novel chitosan/agarose/hydroxyapatite nanocomposite scaffold for bone tissue engineering applications: Comprehensive of biocompatibility and osteoinductivity with the use of osteoblasts and mesenchymal stem cells / P. Kazimierczak, A. Benko, M. Nocun, A. Przekora // Int. J. Nanomed. – 2019. – Vol. 14. – P. 6615-6630.
144. Khurshid, A. Acellular fish skin grafts for management of split thickness donor sites and partial thickness burns: A case series / A. Khurshid, S.L.A. Steven // Mil. Med. – 2019. – Vol. 184. – P. 16-20.

145. Kim, H. Production of Conductive Bacterial Cellulose-Polyaniline Membranes in the Presence of Metal Salts / H. Kim, J. Eun Song, C. Silva, H.R. Kim // *Textile Res. J.* – 2020. – Vol. 90. – P. 1517-1526.
146. Kocik, J., Udział cytokin i innych mediatorów w procesie gojenia rany / J. Kocik // *Postępy Biol. Komórki.* – 1996. – Vol. 23. – P. 63-92.
147. Komagataeibacter rhaeticus grown in sugarcane molasses-supplemented culture medium as a strategy for enhancing bacterial cellulose production / R.T.A. Machado, A.B. Meneguín, R.M. Sabio [et al.] // *Ind Crops Prod.* – 2018. – Vol. 122 – P. 637-46.
148. Kumar, R.J. Treatment of partial-thickness burns: A prospective, randomized trial using transcyte / R.J. Kumar, R.M. Kimble, R. Boots, S.R. Pegg // *ANZ J. Surg.* – 2004. – Vol. 74. – P. 622-626.
149. Kushwaha, A. Nanomaterial-based therapy for wound healing / A. Kushwaha, L. Goswami, B.S. Kim // *Nanomater.* – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. 618.
150. Larouche, J. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets / J. Larouche, S. Sheoran, K. Maruyama, M.M. Martino // *Adv. Wound Care.* – 2018. – Vol. 7. – P. 209-231.
151. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems and tissue engineering / T. Carvalho, G. Guedes, F.L. Sousa [et al.] // *Biotechnology J.* – 2019. – Vol. 14, № 12. – P. e1900059.
152. Lee, K.-Y. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites / K.-Y. Lee, G. Buldum, A. Mantalaris, A. Bismarck // *Macromol Biosci.* – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 10-32.
153. Mandour, Y.M.H. Bacterial cellulose graft versus fat graft in closure of tympanic membrane perforation / Y.M.H. Mandour, S. Mohammed, M.o.A. // *Am. J. Otolaryngol.* – 2019. – Vol. 40. – P. 168-172.
154. Mechanical Evaluation of Bacterial Nanocellulose as an Implant Material for Ear Cartilage Replacement / L. Nimeskern, H. Martínez Ávila, J. Sundberg [et al.] // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2013. – Vol. 22. – P. 12-21.

155. Mezzana, P. Clinical efficacy of new chitin nanofibrils-based gel in wound healing / P. Mezzana // *Acta Chir. Plast.* – 2008. – Vol. 50. – P.81-84103.
156. Microbiology and antibiotic resistance in severe burns patients: A 5-year review in an adult burn's unit / I.A. Bahemia, A. Muganza, R. Moore [et al.] // *Burns.* – 2015. – Vol. 41. – P. 1536-1542.
157. Mihai M.M. Nanomaterials for wound healing and infection control / M.M. Mihai, M.B. Dima, B. Dima, A.M. Holban // *Materials.* – 2019. – Vol. 12, № 13. – P. 2176.
158. Milstone, L.M. Growth factor expression, healing and structural characteristics of graftskin (Apligraf®) / L.M. Milstone, M.M. Asgari, P.M.Schwartz // *Wounds.* – 2000. – Vol. 12. – P. 12A-19A.
159. Modification of Bacterial Cellulose with Quaternary Ammonium Compounds Based on Fatty Acids and Amino Acids and the Effect on Antimicrobial Activity / A. Zywicka, K. Fijalkowski, A.F. Junka [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2018. – Vol. 19, № 5. – 1461. – P. 1528-1538.
160. Muangman, P. Efficiency of microbial cellulose dressing in partial-thickness burn wounds / P. Muangman, S. Opananon, S. Suwanchot, O. Thangthed // *J. Am. College Certified Wound Specialists.* – 2011. – Vol. 3. – P. 16-19.
161. Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment / T. Hakkarainen, R. Koivuniemi, M. Kosonen [et al.] // *Journal of Controlled Release.* – 2016. – Vol. 244. – P. 292-301.
162. Nathoo, R. Skin substitutes: An overview of the key players in wound management / R. Nathoo, N. Howe, G. Cohen // *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* – 2014. – Vol. 7. – P. 44-48.
163. Naturally-occurring Bacterial Cellulose-Hyperbranched Cationic Polysaccharide derivative/MMP-9 siRNA Composite Dressing for Wound Healing Enhancement in Diabetic Rats / N. Li, L. Yang, C. Pan [et al.] // *Acta Biomater.* – 2020. – Vol. 02. – P. 298-314.

164. Nechita, P. Xylan Hemicellulose: a Renewable material with potential properties for food packaging applications /P. Nechita, R. Mirela, F. Ciolacu // Sustainability. – 2021 –Vol. 13, №24. – P. 13504.
165. Nessler, M. Możliwości zastosowania ksenogenicznych substytutów skóry w leczeniu oparzeń–przegląd piśmiennictwa / M. Nessler, A. Chrapusta // Leczenie Ran. – 2013. – № 10. – P. 47-52.
166. New Methods Modified Bacterial Cellulose Tubes for Regeneration of Damaged Peripheral Nerves / K. Kowalska-Ludwicka, J. Cala, B. Grobelski [et al.] // Arch Med Sci. – 2013. – Vol. 3. – P. 527-534.
167. Niculescu A-G. An up-to-date review of biomaterials application in wound management / A-G. Niculescu, A.M. Grumezescu // Polymer. – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. 421.
168. Novel bilayer bacterial nanocellulose scaffold supports neocartilage formation in vitro and in vivo / H. Martínez Ávila, E.-M. Feldmann, M.M. Pleumeekers [et al.] // Biomaterials. – 2015. – Vol. 44. – P.122-133.
169. Nowe drogi w leczeniu ran przewlekłych – jednocześnie zastosowanie terapii podciśnieniowej i ozonoterapii z wykorzystaniem uniwersalnego portu – opis przypadku / A. Białomyzy, T. Banasiewicz, T. Niewęglowski [et al.] // Forum Leczenia Ran. – 2020. – Vol. 1, № 2. – P. 87-94.
170. Opportunities of Bacterial Cellulose to Treat Epithelial Tissues / I. Anton-Sales, U. Beekmann, A. Laromaine [et al.] // Curr Drug Targets. – 2019. – Vol. 20. № 8. – P. 808-822.
171. Park, J.B. Healing of extraction socket grafted with deproteinized bovine bone and acellular dermal matrix: histomorphometric evaluation / J.B. Park // Implant Dent. – 2010. – Vol. 19, № 4. – P. 307-313.
172. Patency and in vivo compatibility of bacterial nanocellulose grafts as small-diameter vascular substitute / C. Weber, S. Reinhardt, K. Eghbalzadeh [et al.] // J. Vascul. Surg. – 2018. – Vol. 68. – P. 177S-1879.

173. Patterning of Bacterial Cellulose Hydrogel and its Modification with Gelatin and Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering / W. Jing, Y. Chunxi, W. Yizao [et al.] // *Soft Mater.* – 2013. – Vol. 11. – P. 173-180.
174. Patterson, C.W. Regeneration and expansion of autologous full-thickness skin through a self-propagating autologous skin graft technology / C.W. Patterson, M. Stark, S. Sharma, G.S. Munding // *Clin. Case Rep.* – 2019. – Vol. 7. – P. 2449-2455137.
175. Pawlica, P. Zastosowanie terapii podciśnieniowej w leczeniu ran / P. Pawlica, M. Całka // *Piel. Zdr. Publ.* – 2020. – Vol. 10. – P. 127-132.
176. Performance improvements of the BNC tubes from unique double-silicone-tube bioreactors by introducing chitosan and heparin for application as small-diameter artificial blood vessels / X. Li, J. Tang, L. Bao [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2017. – Vol. 178. – P. 394-405.
177. pH- and electro-response characteristics of bacterial cellulose nanofiber/sodium alginate hybrid hydrogels for dual controlled drug delivery/ X. Shi, Y. Zheng, G. Wang [et al.] // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4. – P. 47056–47065.
178. Piśula, M. Komórki macierzyste i czynniki wzrostu w gojeniu ran / M. Piśula, P. Langa, P. Kosikowska, P. Trzonkowski // *Postępy Hig. Med. Dosw.* – 2015. – Vol. 69. – P. 874-885.
179. Poddar, M.K. Recent Development in Bacterial Cellulose Production and Synthesis of Cellulose Based Conductive Polymer Nanocomposites / M.K. Poddar, P.K. Dikshit // *Nano Select.* – 2021. – Vol. 2. – P. 1605-1628.
180. Poonguzhali, R. Synthesis and characterization of chitosan/poly(vinylpyrrolidone) biocomposite for biomedical application / R. Poonguzhali, B. Khaleel, K. Sugantha // *Polymer Bulletin.* – 2017. – Vol. 74, № 6. – P. 2185-2201.
181. Popa, L. Bacterial cellulose –A remarkable polymer as a source for biomaterials tailoring / L. Popa, M.V. Ghica, E-E. Tudoroiu, D-G. Ionescu, C.E. Dinu-Pirvu // *Mater.* – 2022. – Vol. 15, №3. – P. 1054.

182. Portela R. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications / R. Portela, C.R. Leal, P.L. Almeida, R.G. Sobral // *Microb Biotechnol.* – 2019. – Vol. 12, № 4. – P. 586-610.
183. Potential Applications of Bacterial Cellulose and its Composites for Cancer Treatment / S.U. Islam, M. Ul-Islam, H. Ahsan [et al.] // *Int. J. Biol. Macromolecules.* – 2021. – Vol. 168. – P. 301-309.
184. Preparation, characterization and in-vitro evaluation of bacterial cellulose matrices for oral drug delivery / M. Badshah, H. Ullah, S.A. Khan [et al.] // *Cellulose.* – 2017. – Vol. 24. – P. 5041-5052.
185. Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications / M.L. Cacicedo, M.C. Castro, I. Servetas [et al.] // *Bioresource Technology.* – 2016. – Vol. 213. – P. 172-180.
186. Przekora, A. A concise review on tissue engineered artificial skin grafts for chronic wound treatment: Can we reconstruct functional skin tissue in vitro? / A. Przekora // *Cells.* – 2020. – Vol. 9. – P. 1622.
187. Qiu, Y. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-vaccarin membranes for wound healing / Y. Qiu, L. Qiu, J. Cui, Q. Wei // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2016. – Vol. 59. – P. 303-309.
188. Ramirez, T. Inflammatory potential of monospecies biofilm matrix components / T. Ramirez, A. Shrestha, A. Kishen // *Int. Endod. J.* – 2019. – Vol. 52. – P. 1020-1027.
189. Ramirez-Blanco, C.E. Infection in burn patients in a referral center in Columbia / C.E. Ramirez-Blanco, C.E. Ramirez-Rivero, L.A. Diaz-Martinez, L.M. Sosa-Avila // *Burns.* – 2017. – Vol. 43, № 03. – P. 642-653.
190. Recent advances and applications of bacterial cellulose in biomedicine / S. Swinger, A. Gupta, H. Gibson [et al.] // *Polymer.* – 2021. – Vol. 13, № 3. – P. 412.
191. Regeneration of skin tissue promoted by mesenchymal stem cells seeded in nanostructured membrane / C.M.C.O. Souza, L.A.F. Mesquita, D. Souza [et al.] // *Transplantation Proceedings.* – 2014. – Vol. 46. – P. 1882-1886.

192. Roman, M. Toxicity of cellulose nanocrystals: a review / M. Roman // Industrial Biotechnology. – 2015. – Vol. 11, № 1. – P. 25-33.
193. Safety testing of a new medical device / S. Ramakrishna, L. Tian, C. Wang [et al.] // Woodhead Publishing, Sawston. – 2015. – P. 137-153.
194. Savoji, H., Godau B., Hassani M.S., Akbari M. Skin tissue substitutes and biomaterial risk assessment and testing / H. Savoji, B. Godau, M.S. Hassani, M. Akbari // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2018. – Vol. 6. – P. 86.
195. Schwacha, M.G. Impact of thermal injury on wound infiltration and the dermal inflammatory response / M.G. Schwacha, B.M. Thobe, T. Daniel, W.J. Hubbard // Journal of Surgical Research. – 2010. – Vol. 158, № 1. – P. 112-120.
196. Second-degree burns with six etiologies treated with autologous noncultured cell-spray grafting / R. Esteban-Vives, M.T. Choi, V.T. Young [et al.] // Second-degree burns with six etiologies treated with autologous noncultured cell-spray grafting // Burns. – 2016. – Vol. 42, № 7. – P. 99-106.
197. Silylation of bacterial cellulose to design membranes with intrinsic anti-bacterial properties / G. Chantereau, N. Brown, M-A. Dourges [et al.] // Carbohydr Polym. – 2019. – Vol. 220, №18. – P. 71-78.
198. Singh, R. Chitin, and chitosan: Biopolymers for wound management / R. Singh, K. Shitiz, A. Singh // Int. Wound J. – 2017. – Vol. 14. – P. 1276-1289.
199. Sriplai, N. Bacterial cellulose-based magnetic nanocomposites: A review / N. Sriplai, S. Pinitsoontorn // Carbohydr. Polym. – 2021. – Vol. 254. – P. 117228.
200. Stanisławska, A. The effect of dehydration/rehydration of bacterial nanocellulose on its tensile strength and physicochemical properties / A. Stanisławska, H. Staroszczyk, M. Szkodo // Carbohydr Polym. – 2020. – Vol. 236. – P. 116023.
201. Stem cell therapy chronic skin wounds in the era of personalized medicine: From bench to bedside / E. Coalson, E. Bishop, W. Liu [et al.] // Genes Dis. – 2019. – Vol. 6. – P. 342-358.

202. Stone, R. Accelerated wound closure of deep partial thickness burns with acellular fish skin graft / R. Stone, E.C. Saathoff, D.S. Larson [et al.]// *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22. – P. 1590.
203. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes / C. Castro, R. Zuluaga, J-L. Putaux [et al.] / *Carbohydrate Polymers.* – 2011. – Vol. 84, № 1. – P. 96-102.
204. Studies on bacterial cellulose/poly(vinyl alcohol) hydrogel composites as tissue-engineered corneal stroma / Y. Han, C. Li, Q. Cai [et al.] // *Biomed Mater.* – 2020. – Vol. 15, № 3. – P. 035022.
205. Stumpf, T.R. In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* / T.R Stumpf, X. Yang, J. Zhang, X. Cao // 2018. – Vol. 82. – P. 372-383.
206. Sulaeva, I. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications A review /I. Sulaeva, U. Henniges, T. Rosenau, A. Potthast // *Biotechnol Adv.* – 2015. – Vol. 33, № 8. – P. 1547-71.
207. Sultan, S. 3D Printing of Nano-Cellulosic Biomaterials for Medical Applications / S. Sultan, G. Siqueira, T. Zimmermann, A.P. Mathew // *Curr. Opin. Biomed. Eng.* – 2017. – Vol. 2. – P. 29-34.
208. Synergistic Photodynamic and Photothermal Antibacterial Activity of In Situ Grown Bacterial Cellulose/MoS<sub>2</sub>-Chitosan Nanocomposite Materials with Visible Light Illumination / H. Shen, C. Jiang, W. Li [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces.* – 2021. – Vol. 13, № 26. – P. 31193-31205.
209. Szymański, K. Potencjalne możliwości leczenia i regeneracji skóry w rozległych ranach oparzeniowych przy zastosowaniu substytutów regenerujących skórę / K. Szymański, J. Waś // *Leczenie Ran.* – 2014. – Vol. 11. – P. 11-20.
210. The morphology and application of stem cells in digestive system surgery / M. Puculek, J. Baj, P. Portincasa [et al.] // *Folia Morphol.* – 2020. – Vol. 80, № 3. – P. 13-19.

211. The role of vitamin C in the gene expression of oxidative stress markers in fibroblasts from burn patients / J. Bonucci, A. Gragnani, M.M. Tricado [et al.] // *Acta cirúrgica brasileira*. – 2018. – Vol. 33, №38. – P. 703-712.
212. Three dimensional bioprinting of a vascularized and perfusable skin graft using human keratinocytes, fibroblasts, pericytes and endothelial cells / T. Baltazar, J. Merola, C. Catarino [et al.] // *Tissue Eng. Part A*. – 2019. – Vol. 26. – P. 227-238.
213. Three-dimensional electrospun silk-fibroin nanofiber for skin tissue engineering / Y.R. Park, H.W. Ju, J.M. Lee [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2016. – Vol. 93. – P. 1567-1574.
214. Topical Drug Delivery Systems Based on Bacterial Nanocellulose: Accelerated Stability Testing / N.H.C.S. Silva, J.P. Mota, T.S. Almeida [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 1262.
215. Topical treatment for facial burns / C.J. Hoogewerf, M.E. Van Baar, M.J. Hop [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2020. – Vol. 7, № 7. – P. CD008058.
216. Torres, F.G. Bacterial cellulose nanocomposites: an all-nano type of material / F.G. Torres, J.J. Arroyo, O.P. Troncoso // *Mater Sci Eng C*. – 2019. – Vol. 98. – P. 1277-93.
217. Toxicologic evaluation of bacterial synthesized cellulose in endothelial cells and animals / S.I. Jeong, S.E. Lee, H. Yang [et al.] // *Mol. Cell. Toxicol.* – 2010. – Vol. 6. – P. 370-377.
218. Treatment of Tympanic Membrane Perforation Using Bacterial Cellulose: A Randomized Controlled Trial / F.C.A. Silveira, F.C.M. Pinto, S.d.s. Caldas Neto [et al.] // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* – 2016. – Vol. 82. – P. 203-208.
219. Troncoso, O.P., Torres F.G. Bacterial Cellulose-Graphene Based Nanocomposites / O.P. Troncoso, F.G. Torres // *Ijms*. – 2020. – Vol. 21, № 18. – P. 1-17.
220. Ullah, H. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery / H. Ullah. H.A. Santos, T. Khan // *Cellulose*. – 2016. – Vol. 23. – P. 2291-314.

221. Use of gene-modified keratinocytes and fibroblasts to enhance regeneration in a full skin defect / J.A. Lohmeyer, F. Liu, S. Krüger [et al.] // *Langenbecks Arch Surg.* – 2011. – Vol. 2, № 3. – P. 76-79.
222. Valachova, K. Skin wound healing with composite biomembranes loaded by troponin or captopril / K. Valachova, K. Svik, C. Biro, L. Soltes // *J. Biotechnol.* – 2020. – Vol. 310. – P. 49-53.
223. Varkey, M. Advances in skin substitutes—potential of tissue engineered skin for facilitating antifibrotic healing / M. Varkey, J. Ding, E. Tredget // *J. Funct. Biomater.* – 2015. – Vol. 6. – P. 547-563.
224. Visual Multifunctional Aggregation-Induced Emission-Based Bacterial Cellulose for Killing of Multidrug-Resistant Bacteria / Z. Shen, W. Zhu, Y. Huang [et al.] // *Advanced Healthcare Materials.* – 2023. – P. 2300045.
225. Wang, B. Urethra-inspired Biomimetic Scaffold: A Therapeutic Strategy to Promote Angiogenesis for Urethral Regeneration in a Rabbit Model / B. Wang, X. Lv, Z. Li, M. Zhang, J. Yao, N. Sheng et al. // *Acta Biomater.* – 2020. – Vol. 102. – P. 247-258.
226. Wang, J. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – a review / J. Wang, J. Tavakoli, Y. Tang // *Carbohydr Polym.* – 2019. – Vol. 219. – P. 63-76.
227. Witkowski, W. Wykorzystanie opatrunków hydrożelowych w leczeniu wojennych ran oparzeniowych / W. Witkowski // *Chir. Plast. I Oparzenia.* – 2019. – Vol. 7. – P. 37-41.
228. Wu, S.-C. Novel Process for Immobilizing an Enzyme on a Bacterial Cellulose Membrane through Repeated Absorption / S.-C. Wu S.-M. Wu, F.-M. Su // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 2017. – Vol. 92. – P. 109-114.
229. Zastosowanie larw *Lucilla sericata* w oczyszczaniu ran przewlekłych—opis trzech przypadków / D. Bazaliński, M. Karnas, M. Wołkiewicz [et al.] // *Leczenie Ran.* – 2018. – Vol. 15. – P. 153-159

230. Zastosowanie terapii podciśnieniowej w leczeniu rozległej rany oparzeniowej– opis przypadku / E. Kozłowska, Z. Banaszkiewicz, K. Cierzniakowska [et al.] // Leczenie Ran. – 2018. – Vol. 15. – P. 141-145105.
231. Zhu, J. Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering / J. Zhu // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – P. 4639-4656.