

УДК 615.012.1

Лебедева С.Н. ², Очиров О.С. ¹, Стельмах С.А. ¹, Григорьева М.Н. ¹, Жамсаранова С.Д. ²,
Могнонов Д.М. ¹

РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГИДРОГЕЛЯ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН ГИДРОХЛОРИДА ПРИ ОЖОГАХ

¹ ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6)

² ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления»
Министерства образования и науки РФ (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40В)

В последние десятилетия было разработано множество материалов медицинского назначения на основе полимеров. Особое место среди них занимают гидрогели, перспективные для применения в качестве матриц-носителей лекарственных средств. Однако чаще всего гелеобразующие полимеры не имеют собственной антимикробной активности, что ограничивает их использование только в качестве носителя. Поэтому для создания более эффективного препарата актуально провести поиск такой полимерной основы, которая будет способна выступать в качестве одного из действующих компонентов препарата. К таким соединениям можно отнести полимеры гуанидинового ряда, используемые в составе многих дезинфекционных средств. Ранее нами был разработан способ получения гидрогелей полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, заключающийся в сшивании концевых аминогрупп разветвлённого полимера формальдегидом.

Исследование ранозаживляющего действия гидрогеля проводилось в условиях моделирования термического ожога на лабораторных крысах линии Wistar. В качестве препарата сравнения выступал ранозаживляющий гель «Левомеколь».

Установлено, что гидрогель оказывает влияние на течение раневого процесса, о чём свидетельствуют результаты вульнографии, показавшие, что суточное уменьшение площади раны в наибольшей степени выражено у группы «гидрогель», что также свидетельствует о выраженном репаративном действии. Определено, что при ожоге наблюдается резкое уменьшение суммарного содержания антиоксидантов и нарастание количества лейкоцитов. В динамике на 10-й, 17-й и 24-й день эксперимента уменьшение первого показателя составило 56,4 %, 33,8 % и 20,9 %, а увеличение второго показателя – соответственно на 27,7 %, 19,6 % и 6,2 % по отношению к норме. Применение гидрогеля, как и левомеколя, способствовало нормализации данных показателей.

Таким образом, на модели линейной кожно-мышечной раны и термического ожога установлено выраженное ранозаживляющее действие гидрогеля, о чём свидетельствуют результаты ранотензометрии, вульнографии и патоморфологических исследований. Отмечено, что гидрогель оказывает влияние на содержание в крови антиоксидантов и лейкоцитов, способствуя нормализации их количества.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, гидрогель, ожоги, ранозаживляющее действие

WOUND HEALING EFFECT OF POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE HYDROCHLORIDE HYDROGEL AT BURNS

Lebedeva S.N. ², Ochirov O.S. ¹, Stelmakh S.A. ¹, Grigoryeva M.N. ¹, Zhamsaranova S.D. ²,
Mogonov D.M. ¹

¹ Baikal Institute for Nature Management SB RAS

(670047, Ulan-Ude, ul. Sakhyanovoy, 6, Russian Federation)

² East-Siberian State University of Technology and Management

(670013, Ulan-Ude, ul. Klyuchevskaya, 40V, Russian Federation)

This article considers the wound-healing effect of a hydrogel based on polyhexamethyleneguanidine hydrochloride under conditions of thermal shock modeling.

The presence of gelling properties in combination with the high biocidal activity of polyguanidins opens the prospect of obtaining an effective single-component external agent, which is very important for antimicrobial chemotherapy of wounds and burns, as in their treatment there is a high probability of infecting the wound with microorganisms causing various infectious diseases. Previously, we developed a method for the preparation of a hydrogel based on polyhexamethyleneguanidine hydrochloride, which involves the cross-linking of the amino-end groups of the branched polymer with formaldehyde, resulting in a cross-linked polymer, which is a lump-like mass. The mechanical treatment of the hydrogel makes it possible to give the material an ointment form that is convenient for application to the skin. An experiment on the evaluation of the wound healing action of hydrogel was carried out under the conditions of modeling a thermal burn. The comparative preparation was multicomponent gel "Levomekol", in which polyethylene oxide was used as the basis. It was established that the hydrogel activates the growth of antioxidants and leukocytes in the blood of animals in dynamics on the 10th, 17th and 24th day of the experiment, amounting to 56.4 %, 33.8 % and 20.9 %, and of leukocytes – 27.7 %, 19.6 %; 6.2 % in relation to the norm. The method of contrast radiography of penetrating wounds showed that the daily reduction in the wound area is most pronounced in the hydrogel group, which indicates a pronounced reparative effect.

Key words: polyhexamethyleneguanidine hydrochloride, hydrogel, burns, wound-healing effect

В настоящее время частота термических поражений имеет тенденцию к росту, но при этом, несмотря на широкий спектр противоожоговых средств, не

существует препаратов, которые бы смогли полностью восстановить структуру повреждённого участка кожи или другой ткани. По данным ВОЗ, ожоги зани-

мают третье место среди травм. В России ежегодно регистрируется более 600 тыс. случаев ожоговой травмы, при этом у 60–80 % обожжённых имеются поверхностные и пограничные ожоги II–IIIА степени, не требующие оперативного вмешательства [7]. Это обуславливает необходимость поиска и разработки новых лекарственных средств – стимуляторов регенераторных и репаративных процессов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка ранозаживляющего действия гидрогеля, синтезированного на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГГх).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования. Изучение противоожогового действия ПГМГГ-геля проводили на модели термического ожога [6]. За сутки до моделирования ожога на боковой поверхности тела крысы осуществляли депиляцию участков кожи (4×4 см) путём выбривания безопасной бритвой. При нанесении ожогов пустую стеклянную пробирку с внутренним диаметром 22 мм (площадь сечения 4 см²) и длиной 20–25 см заполняли горячей водой, помещали её вертикально в кипящую воду (100 °С) на 2/3 высоты, прогревали в течение 1 мин. и в вертикальном положении приводили в плотный контакт с оголённым участком кожи на 10 сек. Образующиеся в результате ожога III степени имели округлую форму, дно ран было ярко-красным. Вокруг раны отмечалась зона гиперемии шириной 0,5–0,8 см.

Моделирование ожога осуществляли под лёгким эфирным наркозом, согласно требованиям Международного этического комитета по экспериментам на лабораторных животных [1].

Все крысы были разделены на 3 группы по 8 особей в каждой: 1-я – контрольная (животным после моделирования ожога рану ежедневно однократно обрабатывали 0,9% раствором NaCl); 2-я – опытная (животным после моделирования ожога раны в аналогичном контроле режиме обрабатывали гидрогелем); 3-я – группа сравнения, у которой для обработки раны животных использовалась мазь «Левомеколь». Гидрогель был синтезирован на основе полигексаметиленгуанидинхлорида (ПГМГГх) в лаборатории

Химии полимеров Байкальского института природопользования СО РАН.

Определялись показатели заживления ран (методом вульнографии с измерением площади раны), суммарного содержания антиоксидантов в сыворотке крови, содержания лейкоцитов в крови.

Измерение площади раны проводили на 2-е сутки эксперимента (0 точка). Для этого на образовавшуюся ожоговую рану накладывали прозрачный трафарет, переносили контуры ран и вычисляли их площадь. Среднюю площадь ран оценивали на 3, 5, 10 и 14-е сутки эксперимента. Кроме того, о темпах заживления ожоговых повреждений судили по суточному уменьшению площади раны, которое вычисляли по формуле:

$$S = (S - S_n) \times 100 / S \times t,$$

где: S – величина площади раны при первом измерении;

S_n – величина площади раны при последующем измерении;

t – число дней между первым и последующим измерением.

Фиксировали также процент животных с зарубцевавшимися ранами.

Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) в сыворотке крови животных определяли на 10-е, 17-е и 24-е сутки эксперимента на жидкостном хроматографе «Цвет-Яуза-01-АА» амперометрическим методом. Массовую концентрацию водорастворимых антиоксидантов измеряли, используя градуировочный график зависимости выхода сигнала от концентрации кверцетина [8].

Общее содержание лейкоцитов в крови на 10-е, 17-е и 24-е сутки эксперимента определяли путём подсчёта в камере Горяева при разведении крови 3% уксусной кислотой, подкрашенной метиленовым синим [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в работе [4] был получен гидрогель на основе полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и формальдегида (гидрогель ПГМГГх/ф), благодаря антимикробным свойствам которого становится возможным создание мазевой лекарственной формы для терапии повреждений кожных покровов. Результаты исследования ранозаживляющего действия пре-

Таблица 1
Влияние гидрогеля ПГМГГх/ф и «Левомеколя» на динамику заживления ран у крыс при термическом ожоге

День опыта	Контроль			Гидрогель ПГМГГх/ф			Мазь «Левомеколь»		
	S, см ²	S, %	% жив. с корост.	S, см ²	S, %	% жив. с корост.	S, см ²	S, %	% жив. с корост.
0	3,26 ± 0,17	–	100	3,26 ± 0,17	–	100	3,26 ± 0,17	–	100
3	2,78 ± 0,23	4,91	100	2,25 ± 0,10	10,33	100	2,52 ± 0,13	7,57	100
5	2,56 ± 0,14	4,29	100	2,01 ± 0,11	7,67	100	2,34 ± 0,11	5,64	100
10	1,82 ± 0,10	4,42	100	1,52 ± 0,06*	5,34	100	1,67 ± 0,06*	4,88	100
14	1,27 ± 0,13	4,36	60	1,15 ± 0,11	4,62	60	0,92 ± 0,06*	5,13	40
17	–	–	40	–	–	40	–	–	20

Примечание. * – отклонение достоверно по отношению к контролю (p ≤ 0,05).

паратов на модели ожоговой раны представлены в таблице 1 и рисунках 1 и 2.

Из представленных в таблице 1 результатов видно, что площадь ран у животных группы «гидрогель ПГМГгх/ф» и «Левомеколь», начиная с 10-го дня опыта, достоверно отличается от результатов контрольной группы. При этом суточное уменьшение площади раны в наибольшей степени выражено у группы животных «гидрогель ПГМГгх/ф». Это свидетельствует о выраженном репаративном действии гидрогеля ПГМГгх/ф, сравнимым с мазью «Левомеколь». Причём окончательное и полное заживление ожоговых ран у крыс, пролеченных гидрогелем ПГМГгх/ф и «Левомеколем», наступало к 21–23-му дню, а у контрольной группы – к 23–27-му дню.

Следует отметить, что снижение антиоксидантной активности (АОА) играет важную роль в патогенезе ожоговой болезни. При ожогах в мембранах эритроцитов и в сыворотке крови значительно снижается АОА, что является косвенным подтверждением уменьшения уровня эндогенных антиоксидантов в организме [3].

Суммарное содержание антиоксидантов в сыворотке крови крыс при исследовании представлено на рисунке 1.

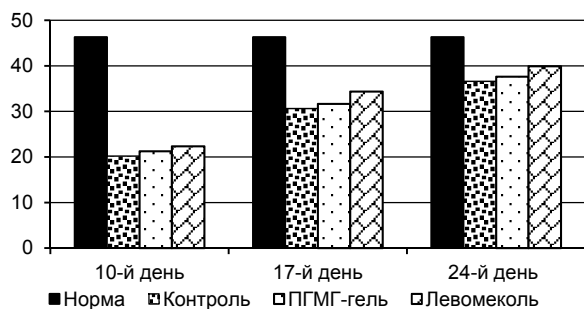


Рис. 1. Влияние ПГМГгх/ф и «Левомеколя» на суммарное содержание антиоксидантов (мг/100 мл) в крови крыс при термическом ожоге.

Как следует из представленных данных, при ожоге (контрольная группа) наблюдается резкое уменьшение суммарного содержания антиоксидантов (ССА). В динамике, на 10-е, 17-е и 24-е сутки эксперимента оно составило 56,4 %, 33,8 % и 20,9 % по отношению к норме ($p \leq 0,05$). Применение же гидрогеля ПГМГгх/ф и «Левомеколя» при лечении способствовало увеличению ССА.

Ожоговая травма характеризуется нарастанием количества лейкоцитов (лейкоцитозом). Причём в литературе описаны две волны лейкоцитоза. Общее количество лейкоцитов достигает максимума уже в первые 6–12 часов после травмы и сохраняется в течение 3 суток с последующим спадом. Вторая волна начинается на 5–10-е сутки после ожога и длится 3–8 дней. Максимальные цифры количества лейкоцитов при вторичной волне обычно ниже, чем при первичной [5].

Нами определено содержание лейкоцитов в крови экспериментальных животных на 10-е, 17-е и 24-е сутки эксперимента (рис. 2). Увеличение количества

лейкоцитов в контрольной группе при этом составило 27,7 % ($p \leq 0,05$), 19,6 % ($p \leq 0,05$) и 6,2 % по отношению к норме. Применение гидрогеля ПГМГгх/ф и «Левомеколя» при лечении способствовало нормализации количества лейкоцитов в периферической крови крыс.

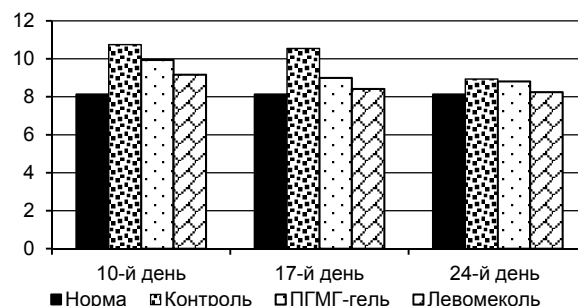


Рис. 2. Влияние ПГМГгх/ф и «Левомеколя» на содержание лейкоцитов в крови крыс ($\times 10^9/\text{л}$) при термическом ожоге.

Таким образом, исследованием установлено выраженное ранозаживляющее действие гидрогеля ПГМГгх/ф. Кроме того, отмечено, что гидрогель ПГМГгх/ф оказывает влияние на содержание в крови антиоксидантов и лейкоцитов, способствуя нормализации их количества.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- Каркищенко Н.Н. Лабораторные животные (положение и руководство). – М.: Межакадемическое издательство «ВПК», 2003. – 138 с.
Karkishchenko NN. (2003). Laboratory animals (statute and guidance) [Laboratornye zhyvotnye (polozhenie i rukovodstvo)]. Moskva, 138 p.
- Методы клинических лабораторных исследований; 8-е изд. / Под ред. В.С. Камышникова. – М.: ООО «МЕДпресс-информ», 2015. – 736 с.
Kamyshnikov VS (ed.). (2015). Methods of clinical laboratory research [Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy]. Moskva, 736 p.
- Михальчик Е.В., Титкова С.М., Ануров М.В., Пеньков Л.Ю., Коркина Л.Г. Антиоксидантные ферменты кожи при экспериментальных ожогах // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, Вып. 6. – С. 576–586.
Mikhalkhik EV, Titkova SM, Anurov MV, Penkov LY, Korkina LG. (2006). Antioxidant skin enzymes at experimental burns [Antioksidantnye fermenty kozhi pri eksperimental'nykh ozhogakh]. Biomeditsinskaya khimiya, 52 (2), 576-578.
- Очиров О.С., Стельмах С.А., Могнонов Д.М. Гидрогели на основе полиалкилгуанидинов и альдегидов // Высокомолекулярное соединение. Серия Б. – 2016. – Т. 58, № 3. – С. 262–268.
Ochirov OS, Stelmakh SA, Mogonov DM (2016). Hydrogels based on polyalkylguanidines and aldehydes [Gidrogeli na osnove polialkilguanidinov i al'degidov]. Vysokomol. soedineniya. Seriya B, 58 (3), 262-268.
- Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: Руководство для врачей. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 480 с.

Paramonov BA, Porembsky YaO, Yablonsky VG. (2000). Burns: A guide for doctors [*Ozhogi: Rukovodstvo dlya vrachej*]. Sankt-Peterburg, 480 p.

6. Парамонов Б.А., Чеботарев В.Ю. Методы моделирования термических ожогов кожи при разработке препаратов для местного лечения // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 11. – С. 593–597.

Paramonov BA, Chebotarev VY. (2002). Methods for modeling thermal skin burns in the development of drugs for topical treatment [Metody modelirovaniya termicheskikh ozhogov kozhi pri razrabotke preparatov dlya mestnogo lecheniya]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*, 134 (11), 593-597.

7. Попов Н.С., Демидова М.А., Шестакова В.Г., Елисеева Т.И., Казиашвили Ю.Г. Морфологические

изменения в коже крыс при наружном применении экстракта пиявки медицинской при термическом ожоге // Верхневолжский медицинский журнал. – 2014. – Т. 12, Вып. 2. – С. 45–50.

Popov NS, Demidova MA, Shestakova VG, Eliseeva TI, Kaziashvili YG. (2014). Morphological changes in the skin of rats with external application of medical leech extract for thermal burn [Morfologicheskie izmeneniya v kozhe krysv pri naruzhnom primenenii ekstrakta piyavki meditsinskoj pri termicheskom ozhoge]. *Verkhnevolzhskiy meditsinskiy zhurnal*, 12 (2), 45-50.

8. Yashin YaI, Nemzer BV, Ryzhnev VYu, Yashin YaA, Chernousova NI, Fedina PA. (2010). Creation of databank for content of antioxidants in food products by an amperometric method. *Molecules*, 15, 7450-7466.

Сведения об авторах

Information about the authors

Лебедева Светлана Николаевна – доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии Института прикладной инженерии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства образования и науки РФ (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40В; тел. (3012) 41-71-46; e-mail: lebedeva1959@mail.ru)

Lebedeva Svetlana Nikolaevna – Doctor of Biological Sciences, Professor at the Department of Biotechnology of the Institute of Applied Engineering and Biotechnology of East Siberian State University of Technology and Management (670013, Ulan-Ude, ul. Klyuchevskaya, 40V; tel. (3012) 41-71-46; e-mail: lebedeva1959@mail.ru)

Очилов Олег Сергеевич – инженер лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальского института природопользования СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; e-mail: olegoch@rambler.ru)

Ochirov Oleg Sergeevich – Engineer at the Laboratory of Polymer Chemistry of Baikal Institute of Nature Management SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhyanova, 6; e-mail: olegoch@rambler.ru)

Стельмах Сергей Александрович – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальского института природопользования СО РАН, старший преподаватель химического факультета ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет» (e-mail: s_stelmakh@bk.ru)

Stelmakh Sergey Aleksandrovich – Candidate of Chemical Sciences, Research Officer at the Laboratory of Polymer Chemistry of the Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Senior Lecturer at the Faculty of Chemistry of the Buryat State University (e-mail: s_stelmakh@bk.ru)

Григорьева Мария Николаевна – инженер лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальского института природопользования СО РАН (e-mail: gmn_07@bk.ru)

Grigoryeva Maria Nikolaevna – Engineer at the Laboratory of Polymer Chemistry of the Baikal Institute of Nature Management SB RAS (e-mail: gmn_07@bk.ru)

Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна – доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии института прикладной инженерии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства образования и науки РФ (e-mail: zhamsarans@mail.ru)

Zhamsaranova Sesegma Dashievna – Doctor of Biological Sciences, Professor at the Department of Biotechnology of the Institute of Applied Engineering and Biotechnology of East Siberian State University of Technology and Management (e-mail: zhamsarans@mail.ru)

Могнонов Дмитрий Маркович – доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальского института природопользования СО РАН, профессор химического факультета ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет» (e-mail: dmog@binm.ru)

Mogonov Dmitry Markovich – Doctor of Chemical Sciences, Chief Research Officer at the Laboratory of Polymer Chemistry of the Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Professor at the Chemistry Faculty of the Buryat State University (e-mail: dmog@binm.ru)