



О. Ю. Бабченко,  
Л. А. Сахно, В. В. Сарнацкая,  
Л. А. Юшко, В. Г. Николаев

Институт экспериментальной  
патологии, онкологии  
и радиобиологии  
им. Р. Е. Кавецкого НАНУ,  
г. Киев

© Коллектив авторов

## НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ПОВЯЗКИ УГЛЕРОДНОЙ СОРБИРУЮЩЕЙ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ВОПРОСАМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ЛЕЧЕНИЯ РАН У КРЫС С КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

**Цель работы** — оценка адсорбционной активности повязки углеродной сорбирующей, в том числе в отношении микробных клеток клинических штаммов с высокой антимикробной резистентностью и изучение ее влияния на течение раневого процесса после удаления массивной опухоли у крыс с карциномой Герена.

**Материалы и методы.** Адсорбция микробных клеток изучалась *in vitro* относительно культур *S. aureus*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*. Для контроля состояния ран проводились планиметрия, фото-мониторинг, контроль запаха по вербальной рейтинговой шкале.

**Результаты:** 1-часовой контакт клеточных культур с повязкой углеродной сорбирующей обеспечивал снижение числа бактериальных клеток на 60,6–96,3 %. Применение повязки после удаления опухоли позволило быстро остановить капиллярное кровотечение, купировать/уменьшить травматический отек, снизить риск инфицирования ран в условиях рецидива роста карциномы и в 1,5 раза повысить среднюю продолжительность жизни животных.

**Вывод.** Повязка углеродная сорбирующая с высоким адсорбционным потенциалом может рассматриваться как перспективное аппликационное средство профилактики и лечения раневой инфекции.

**Ключевые слова:** повязка углеродная сорбирующая, адсорбция микробных клеток, карцинома Герена

### Введение

До сегодняшнего дня проблема профилактики и лечения раневой инфекции и послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений остается одной из самых злободневных в хирургии. По данным отечественной и зарубежной литературы частота инфицирования операционных ран варьирует от 3 до 15 % [1, 2]. В структуре послеоперационной летальности раневая инфекция составляет до 70 % [2]. Одной из определяющих причин сложившейся ситуации является резистентность антибактериальных препаратов (АБП) к широкому кругу микроорганизмов, используемых для борьбы с раневой инфекцией [3]. Так, в хирургических стационарах Украины 50 % *P. Aeruginosa* не чувствительны ко всем антимикробным препаратам, а резистентность *S. aureus* к метициллину составляет в среднем 43 % [4].

Многообразие биохимических механизмов антибиотикорезистентности, включает: модификацию мишени действия АБП; снижение/утрату способности мишени связываться с АБП; их инактивацию; эффлюкс АБП из микробной клетки; модуляцию проницаемости оболочки микробной клетки и резкое снижение эффективности транспорта АБП, и, наконец, способность бактерий синтезировать белки, предотвращающие связы-

вание АБП с мишенью [5, 6] и лежит в основе «системы быстрого реагирования» и появления новых устойчивых форм микроорганизмов [7]. Неуклонный рост лекарственно-устойчивых инфекций, высокая стоимость создания новых АБП и растущее нежелание фармацевтических компаний заниматься этим диктуют необходимость разработки новых антимикробных стратегий, одной из которых является разработка раневых покрытий, противомикробное действие которых носит неспецифический характер. Среди них заслуженным вниманием пользуются углеродные повязки на основе волокнистых сорбентов, способные связывать микробные клетки и помимо этого поглощать ряд биологически активных компонентов раневого содержимого, замедляющих процесс заживления раны [8, 9].

### Цель работы

Оценка адсорбционной активности образцов повязки углеродной сорбирующей (ПУС) в отношении маркеров различной молекулярной массы и химической природы, микробных клеток клинических штаммов с высокой антимикробной резистентностью, а также влияния высокоактивного ПУС на течение раневого процесса после удаления массивных опухолей у крыс с карциномой Герена.



### Материалы и методы исследований

В работе были использованы образцы ПУС на основе активированных углеродных волокнистых материалов АУВМ-«Днепр»-МН (АУВМ) и активированных углеродных тканей АУТ-М (АУТ), UA.TR.101, марля медицинская по ГОСТ 9412-9.

Сорбционная емкость по бензолу ( $V_s$ ) ПУС определяли по изменению веса опытных образцов после насыщения парами бензола в течение 24 часов. Адсорбционную активность ПУС определяли в отношении метиленового голубого и витамина  $B_{12}$ , (Sigma, США), человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) и неконъюгированного билирубина (Merck, Германия). Адсорбция проводилась в шуттельном режиме при комнатной температуре в течение 120 мин. Концентрацию метиленового голубого и витамина  $B_{12}$  определяли с помощью спектрофотометрического метода при длине волны 630 и 360 нм соответственно. Концентрацию ЧСА и билирубина определяли с помощью тест-наборов производства Bio Systems reagents & Instruments (Испания) и PLIVA-Lachema Diagnostika (Чехия), соответственно. Величину адсорбции рассчитывали по остаточной концентрации маркерного вещества в растворе после контакта с образцами ПУС.

Для оценки адсорбции микробных клеток образцами ПУС использовали клинические культуры микроорганизмов *Acinetobacter baumannii* (50), *Klebsiella pneumoniae* (4/6) и метициллин-резистентный штамм *Staphylococcus aureus* (22), выделенные из ран пациентов, находившихся на стационарном лечении в Главном военном клиническом госпитале МО Украины. Культуры разводили до концентрации 10 000 клеток/мл и высевали на чашки Петри с питательной средой *Nutrientagar*. Через 20 минут на поверхности газона размещали стерильный образец ПУС или марли размером (5×3) см<sup>2</sup>, смоченный физиологическим раствором. Чашки Петри инкубировали при 37 °С в течение 60 минут, после чего образцы удаляли, а чашки инкубировали при 37 °С в течение 24 часов. Количество оставшихся клеток представляли относительно площади образцов (клет./см<sup>2</sup>) и выражали в процентах от контроля.

Исследования влияния ПУС на раневой процесс проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой (270 ± 20) г разведки вивария Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины. Работу с животными осуществляли в соответствии с положениями «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Первым конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) и международными требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986).

Крысам в межлопаточную область была трансплантирована карцинома Герена Т8 путем подкожной инъекции 20 % суспензии опухолевых клеток в 0,9 % физиологическом растворе. Объем опухоли определяли по трем диаметрам ( $a$ ,  $b$  и  $c$ ) и рассчитывали по формуле:  $V = (a \times b \times c) \times 0,52$ . Удаление опухоли проводилось под общим ингаляционным эфирным наркозом после удаления кожного лоскута размером ~ 4 см<sup>2</sup>, расположенного над опухолью, для мониторинга динамики заживления раны. Животные содержались в индивидуальных клетках. Крысы были разделены на две группы: контрольная — марлевая повязка ( $n=9$ ) и опытная — ПУС ( $n=10$ ), смоченных раствором хлоргексидин биглюконата. перевязки проводились ежедневно до образования струпа (~ 5 суток). На протяжении эксперимента проводилась планиметрия ран, визуальный контроль с фото-мониторингом, контроль запаха по вербальной рейтинговой шкале. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Microsoft Excell».

### Результаты исследований и их обсуждение

«Визитной карточкой» углеродной повязки является ее адсорбционный потенциал. В связи с этим на начальном этапе работы были определены адсорбционные емкости образцов ПУС в отношении маркерных веществ различной молекулярной массы и химической природы. Данные представлены в таблице 1.

Адсорбционная емкость образцов ПУС в основном определяется общим объемом сорбционных пор ( $V_s$ ). Образцы ПУС на основе АУТ, имея самое низкое значение  $V_s$ , в несколько раз менее активны, чем образцы на основе АУВМ. Хочется заметить, что адсорбционная емкость последних многократно превышает таковую углеродных повязок известных зарубежных производителей. Так, у повязок Carbonet (Smith & Nephews, Англия) и Actisorb Plus (Johnson & Johnson, США) она более, чем в 30 раз ниже в отношении низкомолекулярного маркера метиленового голубого (11 и 13 мг/г соответственно) и на порядок — в отношении среднемолекулярного маркера  $B_{12}$  и белок-связанного билирубина (7 и 1,5 мг/г соответственно).

Эффективность адсорбции микробных клеток образцами ПУС была изучена в экспериментах с использованием в качестве тест-культур трех клинических бактериальных штаммов грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, являющихся высокорезистентными возбудителями, типичными для раневых инфекций, включая боевые ранения [10]. Выживаемость микробных клеток после контакта с образцами ПУС представлена в таблице 2.

Все образцы ПУС продемонстрировали высокий уровень адсорбции бактериальных клеток

Таблиця 1

Адсорбционная емкость образцов повязки углеродной сорбирующей

№ п/п	Образец ПУС	Vs, см <sup>3</sup> /г	Адсорбционная емкость, мг маркерного вещества/г			
			Метиленовый голубой (MM 374 Da)	Витамин В12 (MM1355 Da)	Билирубин (белок-связанный)	ЧСА (MM1355 Da)
1	АУВМ	1,47	433	264	11,9	0,42
2	АУВМ	1,20	405	122	14,2	0,74
3	АУВМ	0,89	292	83	2,5	0,09
4	АУТ	0,42	121	36	0,5	0,02

Таблиця 2

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ), оставшихся на поверхности питательной среды после одночасового контакта с образцами в процентах от контроля (интактная культура)

№ п/п	Образцы углеродных материалов	Рост после экспозиции, %		
		<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>
	Контроль	100	100	100
1	АУВМ (Vs=1,47 см <sup>3</sup> /г)	17,8	34,4	14,4
2	АУВМ (Vs=1,2 см <sup>3</sup> /г)	3,7	39,4	5,8
3	АУВМ (Vs=0,89 см <sup>3</sup> /г)	12,4	37,1	12,6
4	АУТ (Vs=0,42 см <sup>3</sup> /г)	31,7	34,1	9,5

изучаемых тест-культур (60,6-96,3 %). Наименее выраженный сорбирующий эффект наблюдался в отношении *K. pneumoniae* (60,6–65,9 %), что может быть обусловлено особенностями взаимодействия сорбционной поверхности с бактерией палочковидной формы [12].

Способность адсорбировать живые бактериальные клетки не всегда коррелировала с адсорбционной емкостью образцов ПУС, что связано, по-видимому, с зависимостью этого процесса не только от свойств адсорбентов, но и физиологических особенностей микроорганизмов.

Выбранное в ходе эксперимента оптимальное время контакта ПУС с бактериальными культурами (1 час) согласуется с результатами, полученными при изучении взаимодействия бактериальных клеток с волокнами АУТ: прочное прикрепление немногочисленных бактерий к поверхности сорбента в первые минуты в течение часа заканчивается формированием рыхлых, но устойчивых скоплений бактериальных клеток рядом с поверхностью [11]. Совокупность данных является основанием, в случае инфицированных ран, использовать одночасовой интервал между сменами повязок.

Другой фрагмент работы лежит в области экспериментальной онкологии, и заключался в оценке влияния ПУС на течение раневого процесса после удаления массивных опухолей у крыс с карциномой Герена. С учетом высокого риска микробного обсеменения операционной раны с участием устойчивых к антибиотикам грамотрицательных бактерий [12] в наших исследованиях был использован образец ПУС на основе АУВМ (Vs=1,2 см<sup>3</sup>/г), после контакта с которым клеточных культур *S. aureus*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae* число бактери-

альных клеток снижалось на 96,3, 94,2 и 60,6% соответственно (табл. 1, рис. 1). Операция по удалению опухоли проводилась на 11 сутки после перевивки карциномы Герена, когда объем опухоли в контрольной и опытной группах уже достиг (6,11±1,41) и (7,50±2,72) см<sup>3</sup>, а массы опухоли (6,0±1,7) и (5,8±3,4) г соответственно. Применение ПУС позволило быстро остановить капиллярное кровотечение, неизбежное при прорастании опухоли в окружающие ткани. Результаты сравнительной оценки изменения площади ран после удаления опухоли у крыс с карциномой Герена при использовании марлевой повязки и ПУС представлены на рис. 2.

Характерным отличием динамики изменения площади послеоперационных ран у крыс после наложения ПУС является отсутствие увеличения их размеров в первые трое суток после операции, что наблюдалось в контрольной группе животных (марля). Так, через 1 сутки площадь ран в контроле увеличилась в среднем на 12,6 %, тогда как у животных, которым сразу после операции накладывали ПУС уменьшилась на 19,2 %. Через трое суток площадь ран под марлевой повязкой на 4,1 % превышала исходную, а под ПУС уменьшилась на 25,5 %. Через неделю средняя площадь ран у крыс опытной группы (ПУС) уменьшилась не менее чем на 52 % и не более чем на 21 % у контрольных животных. Визуально в течение первых 3–5 дней у контрольных животных наблюдался отек краев раны, практически отсутствующий после перевязок с использованием ПУС, что видно на рис. 3 и 4, на которых представлены характерные примеры динамики изменения состояния ран под марлевыми и углеродными повязками. В первом случае имело место течение раневого процесса без рецидивов опухоли, закан-

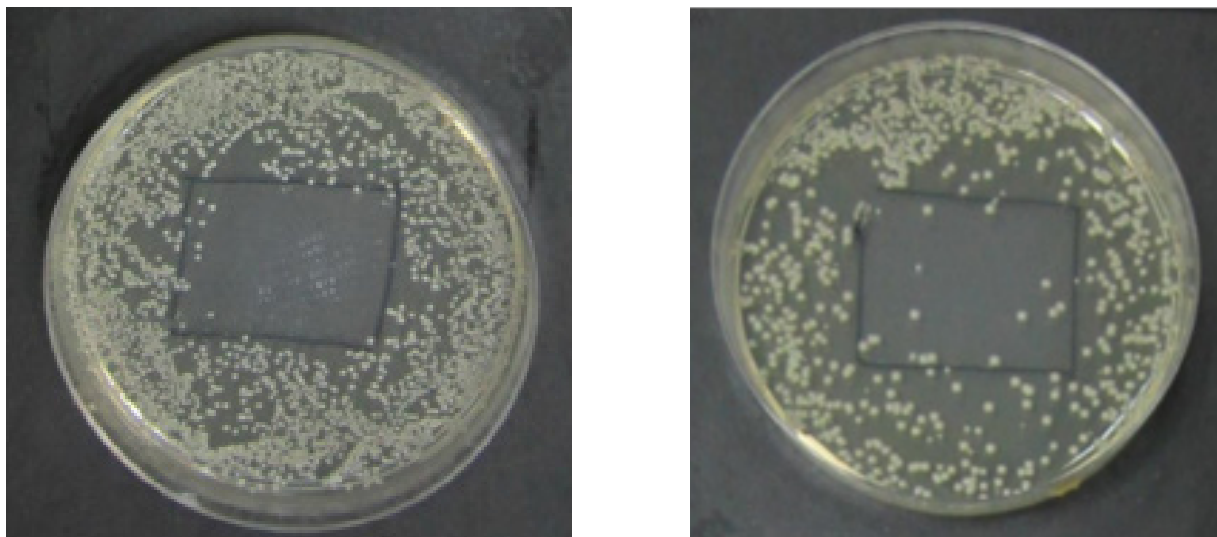


Рис. 1. Рост тест-культур *Staphylococcus aureus* - А и *Acinetobacter baumannii* – Б после 1-часового контакта с ПУС на основе АУВМ ( $V_s=1,2 \text{ см}^3/\text{г}$ )

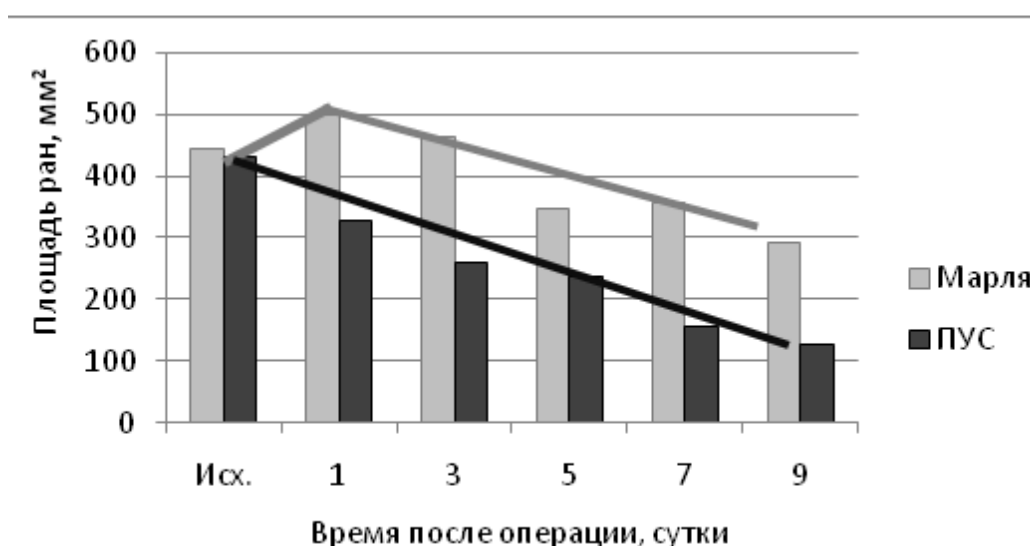


Рис 2 Влияние ПУС на динамику изменения площади послеоперационных ран у крыс с карциномой Герена

чивающееся заживлением ран у одной из 9 крыс в контрольной группе через 20 суток и у двух из 10 в опытной — через 14 и 16 суток. Через 7–11 суток после удаления карциномы у большинства крыс наблюдалось возобновление роста опухоли под раной или рядом с ней (рис. 4). Рана, защищенная сухим образованным ПУС струпом, некоторое время продолжала уменьшаться в размерах, но растущая опухоль приподнимала либо сдвигала его, мешая заживлению раны.

В то же время бугристый с сукровичными выделениями струп наблюдался у большинства контрольных животных, у которых, при этом, в 78 % случаев был зафиксирован неприятный запах, соответствующий согласно вербальной рейтинговой шкале определению «заметный» (58%) и «едва заметный» (42%), что может свидетельство-

вать о присоединении бактериальной инфекции. В опытной группе «едва заметный» запах был зафиксирован только у 20% крыс и на более поздних сроках роста опухоли. Средняя продолжительность жизни (СПЖ) после операции у крыс контрольной и опытной групп составляла  $(23 \pm 9)$  и  $(34 \pm 7)$  суток соответственно ( $p > 0,05$ ). Недостовверная разница в показателях СПЖ обусловлена большим разбросом данных по причине вариабельности объема не удаленных в процессе операции опухолевых клеток.

### Выводы

1. ПУС обладают высокой адсорбционной емкостью в отношении микробных клеток, что показано в экспериментах *in vitro*: одночасовой контакт культур с ПУС на основе АУВМ ( $V_s=1,2 \text{ см}^3/\text{г}$ )

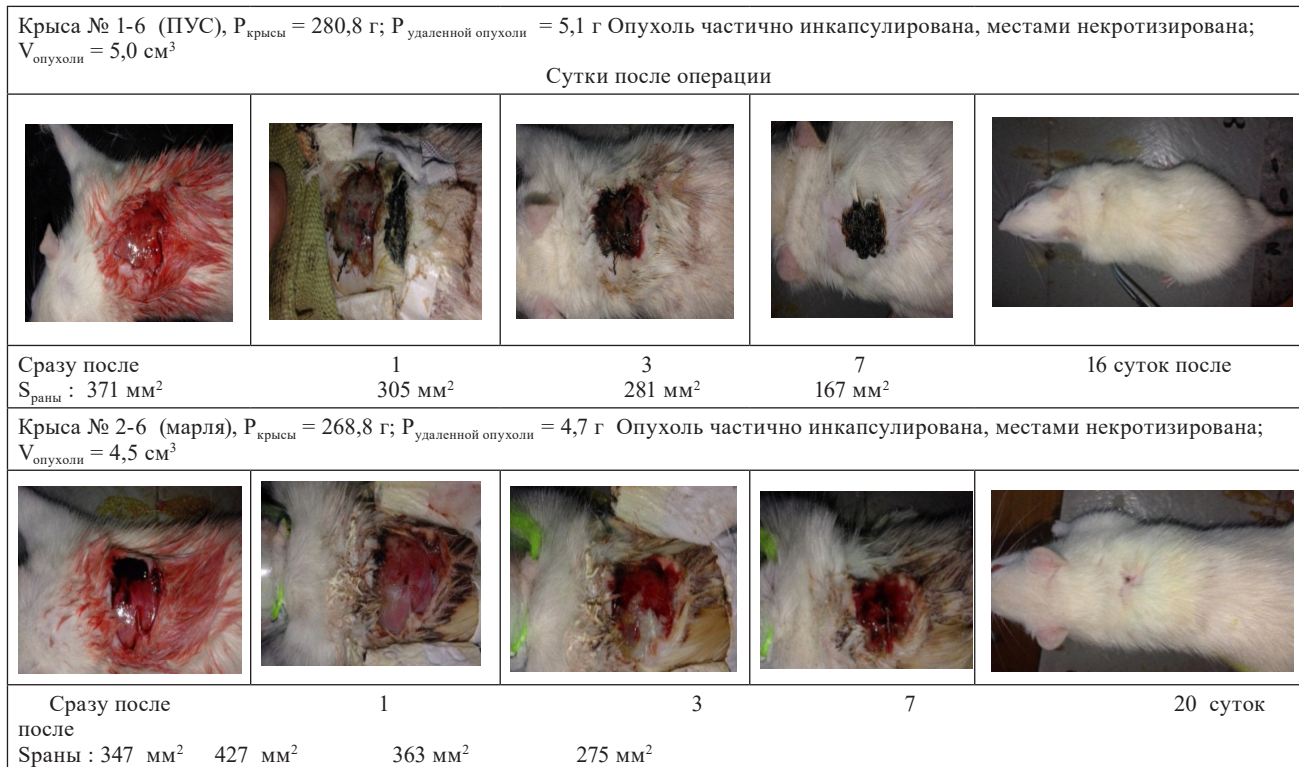


Рис. 3. Влияние ПУС на динамику изменения состояния ран после удаления опухоли у крыс с карциномой Герена в отсутствие рецидива

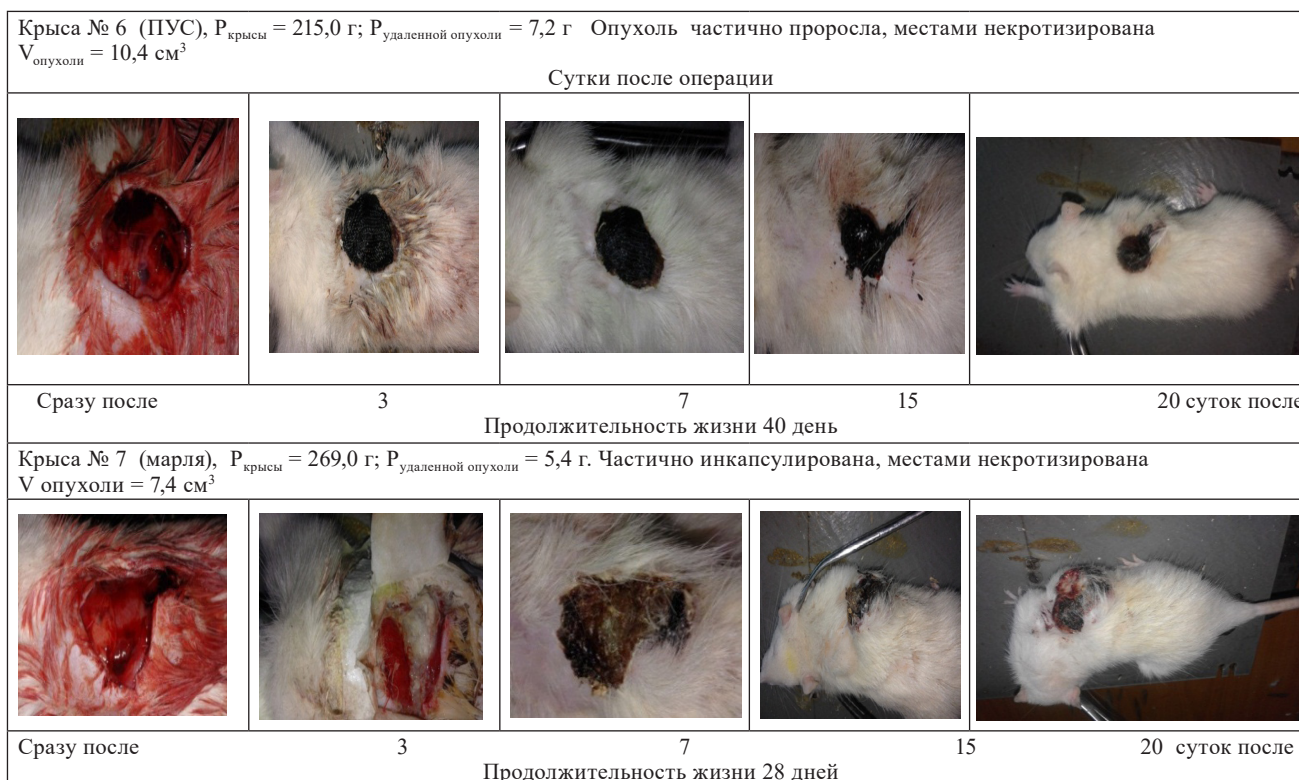


Рис. 4. Влияние ПУС на динамику изменения состояния ран после удаления опухоли у крыс с карциномой Герена в условиях рецидива роста опухоли



обеспечивает снижение числа бактериальных клеток *S. aureus*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* на 96,3, 94,2 и 60,6 %.

2. Применение ПУС непосредственно после удаления массивных опухолей у крыс с карциномой Герена позволяет: быстро остановить капиллярное кровотечение во время операции и уменьшить травматический отек; снизить риск

инфекционных осложнений послеоперационных ран в условиях рецидивного роста карциномы и, в результате, повысить среднюю продолжительность жизни животных в 1,5 раза.

3. ПУС может рассматриваться как перспективное аппликационное средство профилактики и лечения раневой инфекции и гнойно-септических осложнений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Guo Z, Zhang J, Gong Z, Jing S. Correlation of factors associated with postoperative infection in patients with malignant oral and maxillofacial tumours: a logistic regression analysis. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2019 Apr 18. pii: S0266-4356(19)30123-8. doi: 10.1016/j.bjoms.2019.04.003.
2. Деллинджер Э. П. Профилактическое применение антибиотиков в хирургии / Э. П. Деллинджер // Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия. – 2001. – №3. – Т. 3., – С. 260–65.
3. Белобородов В.Б. Актуальные вопросы антимикробной терапии хирургических инфекций. *Инфекции в хирургии.* – 2003. – № 1. – Т. 1., – С. 28–30.
4. Салманов А.Г. Антибіотикорезистентність в хірургії : Монографія /А. Г. Салманов, В. Ф. Марієвський, В. В. Бойко, І. В. Іоффе, І. А.Тарабан, Хорків : НТМТ. – 2012. – 456 с.
5. Сидоренко С. В., Тишков В. И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам / С. В. Сидоренко, В. И. Тишков // Успехи биологической химии. – 2004, – Т. 44, – С. 263–306.
6. Emily M. Eichenberger and Joshua T. Thaden Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Extensively Drug Resistant Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics.* – 2019, – V.8(2), – P.37.
7. Yin J, Wang G, Cheng D, Fu J, Qiu J, Yu Z. Inactivation of polymyxin by hydrolytic mechanism. *Antimicrob Agents Chemother.* – 2019 Apr 1. pii: AAC.02378-18. doi: 10.1128/AAC.02378-18.
8. Kerihuel JC. Effect of activated charcoal dressings on healing outcomes of chronic wounds. *J Wound Care.* – 2010, – V. 19(5). – P. 208, 210-212, 214-219.
9. Nikolaev V.G., Samsonov V.A. Analysis of medical use of carbon adsorbents in China and additional possibilities in this field achieved in Ukraine. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* – 2014. – V. 42(1). – P.1-5. doi:10.3109/21691401.2013.856017.
10. Йовенко І. А., Криштафор Д. А., Кобеляцкий Ю. Ю., Мынка В. Ю., Царев А. В., Кузьмова Е. А., Дубовская Л. Л., Белоцерковец О. В. Бактериальный контроль при тяжелой огнестрельной ране // Медицина неотложных состояний. – 2015. – № 2, Т. 65. – С. 171-175.
11. Зинин-Бермес Н. Н., Шишлянникова Н. Ю., Квартун В. П. Медицина в Кузбассе. Механизм взаимодействия бактерий с волокнистыми углеродными материалами по данным фазово-контрастной микроскопии. – 2004. – № 3. – С. 23-25.
12. Perez F, Adachi J, Bonomo R. Antibiotic-resistant gram-negative bacterial infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis.* – 2014. – 59(Suppl 5): S335–S339. doi: 10.1093/cid/ciu612

ДЕЯКІ ВЛАСТИВОСТІ  
ПОВ'ЯЗКИ ВУГЛЕЦЕВОЇ  
СОРБУЮЧОЇ  
ЩОДО ПИТАНЬ  
ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО  
ЛІКУВАННЯ РАН У ЩУРІВ  
ІЗ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

*О. Ю. Бабченко, Л. О. Сахно,  
В.В. Сарнацька, Л. О. Юшко,  
В. Г. Ніколаєв*

**Мета.** Оцінка адсорбційної активності пов'язки вуглецевої сорбуючою, в тому числі щодо мікробних клітин клінічних штамів з високою антимікробною резистентністю, та її впливу на перебіг ранового процесу після видалення масивної пухлини у щурів з карциномою Герена.

**Матеріали і методи.** Адсорбція мікробних клітин вивчали *in vitro* щодо культур *S. aureus*, *A. baumannii* та *K. pneumoniae*. Для контролю стану ран проводились планиметрія ран, фото-моніторинг, контроль запаху за вербальною рейтинговою шкалою.

**Результати.** Одногодинний контакт клітинних культур із пов'язкою вуглецевої сорбуючою забезпечував зниження числа бактеріальних клітин на 60,6-96,3 %. Застосування пов'язки після видалення пухлини дозволило швидко зупинити капілярну кровотечу, купірувати/зменшити травматичний набряк, знизити ризик інфікування ран в умовах рецидиву росту карциноми і в 1,5 разу підвищити середню тривалість життя тварин.

**Висново.** Пов'язка вуглецева сорбуюча з високим адсорбційним потенціалом може розглядатися як перспективний аплікаційний засіб профілактики і лікування ранової інфекції.

**Ключові слова:** пов'язка вуглецева сорбуюча, адсорбція мікробних клітин, карцинома Герена.

SOME PROPERTIES OF  
ADSORPTIVE CARBON  
DRESSING APPLICABLE  
TO QUESTIONS OF  
POSTOPERATIVE  
TREATMENT OF WOUNDS  
IN RATS WITH GUERIN  
CARCINOMA

*O. Yu. Babchenko,  
L. A. Sakhno,  
V. V. Sarnatskaya,  
L. A. Yushko, V. G. Nikolaev*

**Aim.** Evaluation of the adsorptive potential of carbon dressing, including its activity towards microbial cells of clinical strains with high antimicrobial resistance, and its effect on the course of wound process after removing a massive tumor in Guerin's rats.

**Materials and Methods.** Microbial cell adsorption of *S. aureus*, *A. baumannii* and *K. Pneumoniae* cultures were studied *in vitro*. Wound planimetry, photo-monitoring, and odor control on a verbal rating scale were carried out to control the state of wounds.

**Results.** 1-hour contact of cell cultures with adsorptive carbon dressing ensured the decrease in the number of bacterial cells by 60.6-96.3 %. The use of dressing after removing the tumor permitted to stop quickly capillary bleeding, stop/reduce traumatic edema, lower the risk of infecting the wounds under recurrence of carcinoma growth and increase the average lifespan of animals by 1.5 times.

**Conclusion:** adsorptive carbon dressing with high adsorption potential can be considered as a promising application means for the prevention and treatment of wound infection.

**Key words:** adsorptive carbon dressings, adsorption of microbial cells, Guerin's carcinoma