

**К.И. Стосман¹, К.В. Сивак¹, Т.Н. Саватеева-Любимова¹,
А.Г. Александров¹, Н.В. Марченко², С.А. Копатько²,
И.В. Сычкова², Д.Р. Каргопольцева²**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ, ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ «ТЕТРАДЕРМ» И «ТРИДЕРМ»

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²АО «ВЕРТЕКС», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме. Цель исследования – проведение сравнительного экспериментального исследования регенерационных, противовоспалительных, антибактериальных и фунгицидных свойств комбинированных препаратов тетрадерм и тридерм. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 85 белых крысах самцах. Исследуемые лекарственные средства апплицировали на рану 2 раза в день в дозе 0,01 г/см². Для оценки влияния на каррагенин-индуцированное воспаление препараты применяли в профилактической (за 2 и 1 ч до индукции воспаления) и лечебной (через 1 ч после индукции воспаления) схемах в течение 7 дней. При моделировании термического ожога препараты наносили через 24 ч после травмы на пораженный участок кожи в течение 21 дня. Лечение линейных ран проводили в течение 7 дней через 24 ч после операции. В экспериментах *in vitro* оценивали антибактериальное и антигрибковое действие лекарственных средств. **Результаты.** При профилактической схеме применения препарат тетрадерм уменьшал величину отека конечности более чем на 50% по сравнению с препаратом тридерм. При нанесении лекарственных средств после индукции воспаления противовоспалительная активность обоих препаратов была сопоставима. Препарат тетрадерм обладал выраженной регенерирующей способностью и сокращал площадь ожога в 1,5 раз по сравнению с препаратом тридерм. Стимулирующее влияние препаратов тетрадерм и тридерм на заживление раневого дефекта кожи при линейной кожной ране было сходным. Антимикробная активность лекарственных средств была сопоставима. Тетрадерм проявлял выраженное фунгицидное действие на дрожжевые и плесневые грибы. Тридерм обладал только фунгистатическим действием на дрожжевые клетки *S. albicans*, но подавлял рост плесневого гриба *A. niger*. **Выводы.** Регенерационные и противовоспалительные свойства препарата тетрадерм в совокупности с его антибактериальной активностью создают благоприятные условия для заживления ран и ожогов. Регенерационные, антимикробные и фунгицидные свойства тетрадерма несколько превосходят эффект тридерма.

Ключевые слова: экссудативное воспаление, термический ожог, линейная рана, антимикробное и фунгицидное действие, крысы

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Стосман Кира Иосифовна

labtox6@rambler.ru

Дата поступления 15.02.2023

Образец цитирования:

Стосман К.И., Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Александров А.Г., Марченко Н.В., Копатько С.А., Сычкова И.В., Каргопольцева Д.Р. Экспериментальное исследование регенерационных, противовоспалительных и антимикробных свойств лекарственных средств «Тетрадерм» и «Тридерм».

Введение

Повреждение кожного покрова — достаточно распространенное явление в повседневной жизни и возникает вследствие ряда различных причин: ожоги, раны, царапины, порезы, проколы и эксфолиации. Термические ожоги кожи и глубокие раны вызывают патологические изменения в организме и сопровождаются развитием осложнений и инфицированием [1]. Длительное существование очагов инфекции приводит к задержке процесса заживления и способствует избыточному рубцеванию, которое продолжается в результате хронической стимуляции воспалительных клеток (нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и др.). При повреждении условно патогенные и патогенные микроорганизмы способны длительно колонизировать и инфицировать кожу, создавать риск развития инфекции мягких тканей и сепсиса, а также препятствовать эффективной регенерации [2].

В настоящее время для местного лечения ожоговых ран используют лекарственные средства (ЛС) в лекарственных формах для наружного применения как на водорастворимой (гели), так и на жировой (кремы, мази) основе. Многие из них не оказывают существенного влияния на процессы регенерации или ликвидацию патогенов. Поэтому новые возможности в данном направлении открывают комбинированные ЛС, обладающие не только антибактериальным и противогрибковым действием, но и ранозаживляющим эффектом.

Одним из таких ЛС, используемых при лечении гнойно-инфекционных и пораженных грибами (кандидомикоз) инфицированных ран и ожогов, а также для патогенетической терапии кожных проявлений аутоиммунной патологии (псориаз, системная красная волчанка, атопический дерматит) является препарат тетрадерм. В амфифильной основе крема тетрадерм содержатся компоненты с различным спектром фармакологической активности: аминогликозидный антибиотик гентамицина сульфат, антимикотическое средство эконазола нитрат, глюкокортикостероид (ГКС) для местного применения мометазона фуруат и стимулятор регенерации эпителия d(+)-пантенол. Тетрадерм обладает противовоспалительным, антибактериальным, противогрибковым и регенерирующим действием. Тридерм также является комбинированным препаратом с антибактериальной, противогрибковой и противовоспалительной активностью, в состав которого входят гентамицин, бетаметазон и клотримазол.

В настоящее время фармацевтический рынок в России претерпевает изменения, которые связаны с удорожанием ЛС импортных производителей. В связи с этим отечественные препараты, вероятнее всего, могут стать более предпочтительными для лечения инфицированных ран и ожогов.

Цель работы — провести сравнительное экспериментальное исследование регенерационных, противовоспалительных, антибактериальных и фунгицидных свойств комбинированных препаратов тетрадерм и тридерм.

Методы исследования

Исследование было проведено в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией исследовательского учреждения (№24 от 10.08.2020 г). В работе использовано 85 лабораторных белых крыс самцов, полученных из НИЦ «Курчатовский институт» — «ПЛЖ» Рапполово.

В качестве объектов исследования было выбрано 2 ЛС: тетрадерм (АО «ВЕРТЕКС», Россия) и тридерм (Байер АГ, Германия). Крем тетрадерм содержит 4 активных компонента: гентамицин (в виде сульфата), эконазол (в виде нитрата), мометазон (в виде фуруата) и декспантенол. Активными компонентами крема тридерм являются гентамицин (в виде сульфата), бетаметазон (в виде дипропионата) и клотримазол. Контролем служила основа крема, состоящая из вспомогательных компонентов. ЛС и мазевую основу наносили животным эпикутанно (в области раны и околораневой поверхности) 2 раза в день в дозе 0,01 г/см².

До начала эксперимента животные были распределены на группы методом рандомизации с использованием сервиса Research Randomizer (Social Psychology Network). В качестве основного кри-

терия учитывали массу тела таким образом, чтобы индивидуальное значение данного показателя в группе не отклонялось от среднего значения более чем на $\pm 20\%$.

Дизайн исследования включал моделирование экссудативного воспаления, термического ожога и линейных ран. Острое экссудативное воспаление моделировали на крысах, которые были разделены на 5 групп ($n=5$): 1 – крысы, которым наносили основу (контроль), 2 – крысы, которым наносили тетрадерм за 2 ч и 1 ч (дважды) до индукции воспаления (профилактическая схема), 3 – крысы, которым наносили тридерм за 2 ч и 1 ч до индукции воспаления (профилактическая схема), 4 – крысы, которым наносили тетрадерм через 1 ч (однократно) после индукции воспаления (терапия), 5 – крысы, которым наносили тридерм через 1 ч после индукции воспаления (терапия). В качестве флогогенного вещества использовали 1% раствор каррагинина, который вводили под подошвенный апоневроз крысам в объеме 0,1 мл [3]. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 2, 4 и 24 ч. Индекс угнетения (ИУ) отека рассчитывали по формуле [4]:

$$\text{ИУ} = 100\% - \left(\frac{o-i}{i} (o) \div \frac{o-i}{i} (k) \right) \times 100\%$$

где o — масса лапы после введения каррагинина,
 i — масса лапы до введения каррагинина,
 (O) — животные из опытной группы,
 (K) — животные из контрольной группы.

При моделировании термического ожога и линейных ран животные были разделены на 3 группы ($n=10$ для каждой группы и модели): 1 — крысы, которым наносили основу (контроль), 2 — крысы, которым наносили тридерм, 3 — крысы, которым наносили тетрадерм.

Термический ожог создавали с помощью металлической пластины площадью 2 см², нагретой до 240°C, которую наносили на депилированную кожу бедра (15,0×30,0 мм) с экспозицией 10 с [3]. Анальгезию проводили предварительным введением кетамина гидрохлорида в дозе 100 мг/кг (внутримышечно). Эта доза ЛС обеспечивала профилактику посттравматического шока. Фармакологическое воздействие начинали через 24 ч после моделирования ожога и проводили его в течение 21 дня; на поверхность обожженной конечности 2 раза в день наносили указанные ЛС в дозе 0,01 г/см².

Для создания линейной раны животным под наркозом (золетил-100, подкожно 50 мг/кг) на спине делали разрез длиной 5 см в продольном направлении до собственной фасции [3]. Исследуемые ЛС и мазевую основу (в качестве плацебо) наносили на поврежденный участок через 24 ч после проведения операции и затем ежедневно в течение 7 дней 2 раза в день в дозе 0,01 г/см². На 8 день эксперимента животных подвергали плановой эвтаназии в CO₂-боксе (Vet Tech Solutions, Великобритания) и проводили тензиометрию для определения прочности образовавшегося рубца. Участок кожи (2×3 см) фиксировали одним концом к неподвижной части тензиометра, а другим — к каретке с грузом, массу которого увеличивали до достижения разрыва рубца. Репаративную активность (РА) в процентах вычисляли по формуле:

$$\text{РА} = \left(\frac{M_o - M_k}{M_k} \right) \times 100\%$$

где M_o — нагрузка, при которой расходился шов у крыс опытной группы, г/см; M_k — у крыс группы контроля см, г/.

Морфологическое исследование тканей кожного лоскута, взятого на границе повреждения и здорового участка, проводили стандартным способом. Образцы фиксировали 10% раствором забуференного формалина. Обработка тканей включала гистологическую проводку с заключением в парафиновые блоки, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, толуидиновым синим и по методу Ван Гизон. Гистологические препараты исследовали под микроскопом Leica DM1000 (Германия).

Определение антибактериального и антигрибкового действия ЛС *in vitro* проводили методом двукратных серийных разведений на жидких или плотных питательных средах. Основной раствор

препаратов содержал 10 мг готовой лекарственной формы в 1 мл стерильного физиологического раствора. Путем последовательных разбавлений жидкой питательной средой (мясо-пептонный бульон (МПБ) для бактерий и Сабуро — для грибов) постепенно снижали концентрацию действующих веществ с шагом в 2 раза. Питательные среды предварительно контролировали по ростовым свойствам и стерильности в соответствии с Фармакопейной статьей. В качестве тест-культур использовали *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P (*S. aureus*), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B. subtilis*), *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (*P. aeruginosa*), *Candida albicans* ATCC 885-653 (*C. albicans*), *Aspergillus niger* (*A. niger*) (коллекция микроорганизмов кафедры микробиологии Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета). Стандартные суспензии (10 ЕД мутности) разбавляли до величины посевной дозы 10^4 – 10^5 КОЕ/мл и 10^6 – 10^8 КОЕ/мл. Суспензию конидий плесневого гриба *Aspergillus niger* готовили в 0,5% растворе Твина-80. Микробные нагрузки вносили в объеме 0,2 мл во все пробирки. Для контроля роста тест-микроорганизмов клетки вносили в жидкую среду, не содержащую ЛС. Инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч.

Учет результатов проводили визуально по мутности среды инкубации [5]. Последняя прозрачная пробирка ряда соответствовала минимальной подавляющей концентрации (МПК). Активность препаратов сравнивали по величине минимальной микробицидной концентрации (МЦК), которую определяли путем высева из всех пробирок ряда на МБП и среду Сабуро [6]. Посевы инкубировали и отмечали минимальную концентрацию препарата, полностью подавляющую рост конкретной тест-культуры.

Обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism 7.0 (StatSoft Inc., США). Данные в таблицах представлены в виде среднего арифметического значения (Mean) и его ошибки (\pm SE). Для выявления различий между группами использовали непараметрические критерии Манна-Уитни (для попарного сравнения), Краскела-Уоллиса, Данна (для межгрупповых различий) и Фишера (для сравнения качественных признаков). Различия между группами считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Модель каррагенинового отека лапы у крыс позволила оценить антиэкссудативное действие исследуемых ЛС в I фазе воспалительного процесса (фазе альтерации). Было показано, что противовоспалительная активность тетрадерма и тридерма при нанесении препаратов за 1 ч и 2 ч до индукции воспаления и через 1 ч после введения флогогена была сопоставима практически на всех сроках наблюдения (табл. 1). Однако, в профилактической схеме через 24 ч после нанесения тетрадерма отмечали большую антиэкссудативную активность по сравнению с тридермом, что выражалось в уменьшении почти в 2 раза величины отека конечности и повышении процента угнетения отека ($p < 0,05$).

Местный противовоспалительный эффект обеспечивают ГКС, входящие в состав ЛС. Известно, что механизм противовоспалительного действия ГКС обусловлен тем, что они способны подавлять высвобождение медиаторов воспаления, ингибировать продукцию лейкотриенов, предупреждать краевое скопление нейтрофилов, что уменьшает объем воспалительного экссудата и продукцию лимфокинов, тормозит миграцию макрофагов, снижает интенсивность процессов инфильтрации и грануляции.

Можно предположить, что более выраженное фармакологическое действие тетрадерма обусловлено наличием в его составе мометазона, превосходящего по своей противовоспалительной активности бетаметазон, который является действующим компонентом тридерма [7].

Исследование способности ЛС стимулировать процесс регенерации во II фазе воспалительного процесса (фазе регенерации и созревания грануляционной ткани) на модели термического ожога кожи показало, что динамика заживления раны во всех экспериментальных группах в первые 12 дней, в целом, носила сходный характер. К 14-м суткам площадь ожога у крыс, которым наносили тетрадерм, уменьшилась в среднем на 60%, по сравнению с площадью ожога на 2 сутки, у контрольных животных — на 50% (табл. 2). На этом сроке у особей, получавших терапию обоими исследуемыми ЛС, наблюдалось существенное уменьшение размера раны по сравнению с крысами из контрольной группы. На 21 сутки тетрадерм оказывал более выраженное влияние на

заживление ожоговой раны: площадь раны уменьшилась на 55%, по сравнению с контролем и на 30% по сравнению с эффектом тридерма. Выявленные отличия, вероятнее всего, связаны с действием декспантенола, входящего в состав тетрадерма, который, как известно, оказывает не только противовоспалительное действие (наряду с мометазона фурилатом), но и стимулирует регенерацию, нормализует клеточный метаболизм, увеличивает прочность коллагеновых волокон. Сходный положительный эффект был показан при лечении ожогов II-III степени мазью «Пантенол» в экспериментах на крысах [8].

Таблица 1

Влияние тетрадерма и тридерма на объем конечности крыс на модели каррагенинового отека

(M±SE)

Table 1

Influence of tetraderm and triderm to limb volume on the carrageenan edema model (M±SE)

Группы, n=5/ Group, n=5	Прирост объема конечности, мл/ Increase of limb volume, ml			% угнетения отека/ % edema suppression		
	2ч/ 2h	4ч/ 4h	24ч/ 24h	2ч/ 2h	4 ч/ 4h	24ч/ 24h
Контроль/ Control	0,70±0,03	1,81±0,04	0,42±0,05	0	0	0
Тетрадерм, профилактика/ Tetraderm, prevention	0,44±0,04 ¹	0,90±0,03 ¹	0,12±0,02 ²	37,1	50,3	71,42
Тридерм, профилактика/ Triderm, prevention	0,43±0,05 ¹	0,83±0,04 ¹	0,22±0,03 ¹	38,6	54,2	47,6
Тетрадерм, лечение/ Tetraderm, treatment	0,60±0,03 ¹	1,04±0,05 ¹	0,11±0,04 ¹	14,2	42,5	73,8
Тридерм, лечение/ Triderm, treatment	0,61±0,02 ¹	1,11±0,03 ¹	0,10±0,05 ¹	12,8	38,7	76,2

Примечание ¹ — различия значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$; ² — различия значимы по сравнению с препаратом тридермом в аналогичные сроки при $p < 0,05$

Note ¹ — $p < 0,05$ compared to control; ² — $p < 0,05$ compared to Triderm

Таблица 2

Влияние тетрадерма и тридерма на площадь ожоговой травмы кожи бедра крыс (мм², M±SE)

Table 2

Influence of tetraderm and triderm to area of hip skin burn injury in rat (mm², Mean±SE)

День наблюдения/ Days	Группы, n=10/ Group, n=10		
	Контроль/ Control	Тетрадерм/ Tetraderm	Тридерм/ Triderm
2	511,0 ± 45,4	510,0 ± 52,1	508,0 ± 51,0
8	376,2 ± 48,4	289,8 ± 32,0	310,5 ± 19,2
14	272,0 ± 24,2	202,3 ± 19,2 ¹	210,1 ± 18,9 ¹
21	156,0 ± 22,0	69,0 ± 12,3 ^{1,2}	96,7 ± 10,5 ¹

Примечание ¹ — различия значимы по сравнению с контролем, $p < 0,05$; ² — различия значимы по сравнению с эффектом тридерма в те же сроки, $p < 0,05$

Note ¹ — $p < 0,05$ compared to control; ² — $p < 0,05$ compared to Triderm in the same day

При гистологическом исследовании у крыс из экспериментальных групп на следующий день после моделирования ожога был выявлен некроз всех слоев кожи. У животных из контрольной группы в 70% случаях грануляционная ткань была умеренно инфильтрирована лейкоцитами и отечна, в 30% — лейкоцитарная инфильтрация имела только в ее поверхностных отделах. Поверхность дефекта у всех особей была лишена эпидермиса. Отмечено «наполнение» клиньев новообразованного эпителия на края дефекта (в среднем менее 10% площади). У 4-х животных из контрольной группы были выявлены признаки вторично инфицированной раны. На 7 сутки отмечали частичное отторжение некротизированных тканей, наблюдалась выраженная лейкоцитарная инфильтрация. На 14 день исследования были выявлены очаги регенерации. К 21 суткам отмечался рост, как грануляционной ткани, так и созревание коллагеновых волокон, умеренная краевая эпителизация,

обильный лейкоцитарный инфильтрат и некротические массы на месте повреждения, выраженный акантоз и дистрофические изменения внутри эпителиального пласта. Новообразованный эпидермис превышал по толщине интактный в 7–10 раз за счёт клеток шиповатого слоя. У крыс, получавших тетрадерм, на 7 сутки наблюдалось частичное отторжение некротизированных тканей и выраженная лейкоцитарная инфильтрация. В конце 2 недели у всех животных происходило отторжение струпа и очищение раны, отмечалось умеренное количество фибринозного отделяемого, нагноений не обнаруживалось. На 21 день ожоговая поверхность кожи была заполнена грануляционной тканью, в которой наблюдалось увеличенное количество фибробластов и коллагеновых волокон. У крыс, получавших тетрадерм, отмечалось существенное уменьшение патологического врастания клеток шиповатого слоя (акантоз) по сравнению с эффектом тридерма (в 1,5 раза) и контролем (в 3 раза).

В целом можно отметить, что использование тетрадерма способствовало ограничению воспалительных изменений и усилению регенерации в ходе раневого процесса, что препятствовало развитию вторичного инфицирования ран. Действие тетрадерма в условиях проведенных нами экспериментов по совокупности проанализированных показателей превосходило эффект тридерма.

Изучение ранозаживляющих свойств ЛС в III фазе воспалительного процесса (фаза образования и реорганизации рубца) оценивали на модели линейных ран. В 1–3 сутки после нанесения раны у животных из всех групп отмечена гиперемия, локальное повышение температуры. На 4–7 сутки отечность спадала. У контрольных животных к 8 суткам эксперимента не происходило отторжения струпа, у 30% крыс регистрировалось наличие раневого отделяемого, у 20% особей рубец был сформирован из рыхлых коллагеновых волокон с признаками инфицирования. На фоне применения тетрадерма ни у одной особи не наблюдалось гнойно-фибринозного отделяемого из раны; примерно в 1,5 раза сократилось время смыкания краев раны и образования струпа (табл. 3). Все остальные изученные показатели (выраженность отека, кожная складка около раны, воспаление краев раны) были в 2–3 раза меньше, чем у контрольных животных. Сходный эффект оказал тридерм. Сравнение изучаемых препаратов между собой не выявило достоверных различий.

Таблица 3

Влияние тетрадерма и тридерма на параметры заживления линейных ран у крыс (M±SE)

Table 3

Influence of tetraderm and triderm to the healing parameters of linear wounds in rats (M±SE)

Показатели/ Parametrs	Группы, n=10/		
	Контроль/ Control	Тетрадерм/ Tetraderm	Тридерм/ Triderm
Время смыкания краев раны, сутки/ Time of closing the edges of the wound, day	5,40±0,16	2,80±0,13 ¹	3,80±0,13 ¹
Наличие раневого отделяемого, количество особей/ The presence of wound discharge, number of animals	3/10	0/10	0/10
Выраженность отека, баллы/ Severity of edema, scores	2,90±0,10	1,20±0,13 ¹	1,30±0,15 ¹
Время образования струпа, сутки/ Scab formation time, day	6,90±0,10	4,80±0,13 ¹	4,9±0,10 ¹
Утолщение околораневой кожной складки, мм/ Thickening of the near-wound skin fold, mm	9,01±2,03	3,04±1,02 ¹	5,03±1,04 ¹
Воспаление краев раны, баллы/ Inflammation of the wound edges, scores	2,90±0,10	1,30±0,15 ¹	1,40±0,16 ¹

Примечание ¹ — различия значимы по сравнению с контролем, p<0,05

Note ¹ — p<0,05 compared to control

Применение обоих изучаемых ЛС способствовало формированию более прочного рубца, почти в 2 раза по сравнению с крысами контрольной группы (235,1±34,2 г/см — прочность рубца у крыс из контрольной группы; 434,5±25,2 г/см — для тетрадерма; 418,3±30,4 г/см — для тридерма). Выраженность репаративного действия тетрадерма и тридерма составила 85% и 78%, соответственно.

Оценка противомикробной активности показала, что при высоких концентрациях посевного ма-

териала чувствительность *S. aureus* к действию обоих ЛС практически не различалась. МЦК составило 1,25 мг/мл в пересчете на препарат. В диапазоне концентраций 0,6–0,3 мг/мл проявлялась бактериостатическое действие ЛС, в высевах обнаруживались жизнеспособные клетки. При снижении микробной нагрузки с 10^7 до 10^5 КОЕ/мл чувствительность *S. aureus* увеличивалась. При снижении микробной нагрузки с 10^7 до 10^5 КОЕ/мл чувствительность золотистого стафилококка увеличивалась, причем бактерицидный эффект был более выражен у тетрадерма, чем у тридерма. МЦК составила 0,08 и 0,31 мг/мл, соответственно.

Клетки спорообразующей бактерии *B. subtilis* также оказались чувствительными к препаратам. Полное подавление суспензии 10^7 КОЕ/мл наблюдалось в пробирке с содержанием тетрадерма 0,31 мг/мл, а тридерма — 0,62 мг/мл. Антимикробную активность ЛС можно считать сопоставимой.

Грамотрицательные бактерии оказались менее чувствительны к действию изучаемых ЛС, чем грамположительные. Антимикробные вещества, входящие в состав ЛС, ингибировали рост *E. coli*. Величина МЦК тетрадерма практически не зависела от микробной нагрузки в пределах 10^5 – 10^7 КОЕ/мл и составила 12,5 мг/мл. Бактериостатическое действие выявлялось в присутствии ЛС в концентрации 3,12–6,25 мг/мл при низких микробных нагрузках. Тридерм действовал аналогично, его активность при малых микробных нагрузках была в 2 раза выше, чем у тетрадерма.

P. aeruginosa была не чувствительна к действию ЛС, подавления роста не наблюдалось.

Противомикробная активность изученных ЛС была обусловлена входящим в их состав активным компонентом гентамицином сульфатом. Этот антибиотик, относящийся к группе аминогликозидов, обладает широким спектром действия в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

При определении фунгицидного действия на дрожжи *C. albicans* начальная концентрация ЛС составляла 10 мг/мл, что соответствует содержанию противогрибкового вещества эконазола нитрата 100 мкг/мл. Наблюдалась сравнительно низкая чувствительность тест-культуры дрожжей к ЛС в указанных концентрациях. При высоких микробных нагрузках тетрадерм полностью инактивировал клетки только в первой пробирке; во всех остальных пробах обнаруживались единичные колонии в высевах на чашке. Концентрированные суспензии *C. albicans* полностью инактивировались при содержании препарата 6,25 мг/мл. При уменьшении числа клеток в посевном материале наблюдалась их инактивация. МЦК тетрадерма составило 0,62 мг/мл. Тридерм оказывал только фунгистатическое действие. Во всех пробах обнаруживались жизнеспособные клетки, даже при повышении концентрации препарата до 50 мг/мл.

Тетрадерм проявлял выраженное фунгицидное действие не только на дрожжевые, но и на мицелиарные грибы. Концентрированные суспензии *A. niger* полностью инактивировались при содержании препарата 0,78 мг/мл. Тридерм также подавлял рост этих грибов, однако его МЦК была значительно ниже — 12,5 мг/мл. Чувствительность низкоконцентрированных суспензий посевного материала *A. niger* возрастала в 4 раза. МЦК составляло 0,19 и 3,12 мг/мл для тетрадерма и тридерма, соответственно. Для сравнения противомикробной и фунгицидной активности препаратов в таблице 5 приведены величины микробицидных концентраций.

Установлено, что для полного подавления роста клеток *S. aureus* достаточно содержания тетрадерма в 0,08–1,25 мг/мл при разных микробных нагрузках, а тридерма — 0,31–1,25 КОЕ/мл. По отношению к *E. coli* величины МЦК составили 12,5 мг/мл независимо от числа вносимых клеток.

При определении фунгицидного действия на дрожжи *C. albicans* показано, что при высоких микробных нагрузках тетрадерм полностью инактивировал клетки только в первой пробирке, во всех остальных пробах обнаруживались единичные колонии в высевах на чашке. Тридерм не оказал антимикотического действия. При уменьшении числа клеток в посевном материале наблюдалась их инактивация, МЦК тетрадерма составила 0,62 мг/мл. *C. albicans* была не чувствительна к тридерму даже при повышении концентрации до 50 мг/мл (сохранялись единичные жизнеспособные клетки). Дрожжи *C. albicans* оказались более устойчивыми к действию этого ЛС, чем плесневые грибы. Так, тридерм подавлял рост данных грибов, однако его МЦК была значительно ниже — 12,5 мг/мл. Чувствительность низкоконцентрированных суспензий посевного материала *A. niger* возрастала в 4 раза, МЦК составило 0,20 и 3,12 мг/мл для тетрадерма и тридерма, соответственно. Для полного подавления роста *A. niger* тетрадермом достаточно концентрации 0,19–0,78 мг/мл в зависимости от числа клеток. Для достижения аналогичного эффекта тридермом требуется концентрация в 16 раз больше.

Чувствительность тест-культур бактерий и грибов к действию тетрадерма и тридерма (МЦК)

Table 5

Sensitivity of bacteria and fungi test-cultures to tetraderm and triderm (MMC)

Название культуры/ Test-cultures	Тетрадерм/ Tetraderm		Тридерм/ Triderm	
	МЦК, мг/мл, микробная нагрузка 10 ⁵ КОЕ/мл/ ММС, mg/ml, microbial load 10 ⁵ CFU/ml	МЦК, мг/мл, микробная нагрузка 10 ⁷ КОЕ/мл/ ММС, mg/ml, microbial load 10 ⁷ CFU/ml	МЦК, мг/мл, микробная нагрузка 10 ⁵ КОЕ/мл/ ММС, mg/ml, microbial load 10 ⁵ CFU/ml	МЦК, мг/мл, микробная нагрузка 10 ⁷ КОЕ/мл/ ММС, mg/ml, microbial load 10 ⁷ CFU/ml
<i>S. aureus</i>	0,08	1,25	0,31	1,25
<i>B. subtilis</i>	-	0,31	-	0,62
<i>E. coli</i>	12,50	12,50	6,25	12,50
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	0,62	6,25	Фунгистатическая активность/ Fungistatic activity	
<i>A. niger</i>	0,20	0,78	3,12	12,50

Различие противогрибковой активности у изучаемых нами ЛС с однонаправленным спектром действия может быть связано с тем, что разные виды как дрожжевых, так и мицелиарных грибов проявляют индивидуальную чувствительность по отношению к антимикотическим препаратам. Так, например, в экспериментах *in vitro* показано, что ЛС, принадлежащие к одной фармакологической группе (азолы), и в одинаковой дозе обладают разной фунгицидной активностью. После 48 ч инкубации штамма 601 *C. albicans* и препаратов продемонстрировано, что зоны торможения роста (полное подавление роста колоний) были достоверно больше (в 1,2–2,5 раза) при воздействии кетоконазолом (32,2 мм), чем клотримазолом (26,2 мм), эконазолом (18,6 мм), итраконазолом (13,8 мм) [9]. При исследовании чувствительности *Aspergillus flavus*, выделенных от пациентов с кератитами, к эконазолу и клотримазолу показано, что их минимальная ингибирующая концентрация (МИК90) различалась и составила 4 мкг/мл и 2 мкг/мл, соответственно [10].

Выводы

1. Противовоспалительная активность тетрадерма и тридерма при локальном применении на модели экссудативного воспаления сопоставима. При профилактической схеме применения тетрадерм почти в 2 раза превосходит тридерм.
2. Тетрадерм оказывает более выраженное позитивное влияние на заживление ожогового повреждения кожи, вызывая уменьшение площади раны, акантоза в среднем в 1,4 раза по сравнению с тридермом в аналогичных дозах.
3. Стимулирующее влияние на заживление раневого дефекта кожи на модели линейной кожной раны у тетрадерма и тридерма по выраженности сопоставимо.
4. Тетрадерм превосходит по своей антимикробной активности тридерм. При микробной нагрузке *S. aureus* 10⁵ КОЕ/мл МЦК тетрадерма в 4 раза меньше, чем у тридерма (0,08 и 0,31 мг/мл, соответственно).
5. Тетрадерм проявляет выраженное фунгицидное действие на дрожжевые (МЦК — 0,62 мг/мл) и плесневые (МЦК — 0,2 мг/мл) грибы. Тридерм обладает фунгистатическим действием на дрожжевые клетки *C. albicans*, но подавляет рост плесневого гриба *A. niger* (МЦК — 3,12 мг/мл).

ЛИТЕРАТУРА

1. Guillory A.N., Clayton R.P., Herndon D.N. Cardiovascular dysfunction following burn injury: what we have learned from rat and mouse models. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016; 17: 53; DOI:10.3390/ijms17010053.
2. Левчук И.П., Костюченко М.В. Антибактериальные препараты для местной терапии ранений различной этиологии. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2018; 3; I: 1 – 6.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть пер-

вая, А.Н. Миронов (ред.). Москва: Гриф и К.; 2012.

4. Новиков В.Е., Пожилова Е.В., Илюхин С.А. Влияние антигипоксантов на развитие острого формалинового отека. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2015; 13; 1: 41 – 44.

5. ОФС.1.2.1.0007.15 Прозрачность и степень мутности жидкостей, Государственная фармакопея РФ, 13-е изд., Министерство здравоохранения Российской Федерации. Москва; 2015.

6. ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар, Государственная фармакопея РФ, 13-е изд., Министерство здравоохранения Российской Федерации. Москва; 2015.

7. Сухарев А.В., Патрушев А.В., Назаров Р.Н., Гутка В.О. Современные топические глюкокортикоиды при лечении атопического дерматита. *Consilium Medicum.* 2014; 16; 6: 98–100.

8. Островский Н.В., Быстрова А.С., Мусацкова М.В. Исследование эффективности применения геля «Пантолен» для местного лечения ожогов в эксперименте. *Журнал «Неотложная хирургия им. И.И. Джанелидзе».* 2021; 1: 30 – 33.

9. Касихина Е.И., Заславская М.И., Мухина И.В. Сравнительный анализ фунгицидного действия интравагинальных антимикотиков на грибы рода *candida in vitro*. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2012; 11; 2: 11–16.

10. Manikandan P., Abdel-hadi A., Babu Singh Y.R., Revathi R., Anita R., Banawas S., et al. Fungal keratitis: epidemiology, rapid detection, and antifungal susceptibilities of fusarium and aspergillus isolates from corneal scrapings. *BioMed Research International.* 2019; Article ID 6395840: 9; DOI: 10.1155/2019/6395840.

Авторы

Стосман Кира Иосифовна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кандидат биологических наук

Старший научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств

labtox6@rambler.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Сивак Константин Владимирович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кандидат биологических наук

Заведующий отделом доклинических исследований

kvsivak@gmail.com

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук, профессор

Ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств

drugs_safety@mail.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Александров Андрей Георгиевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кандидат биологических наук

Научный сотрудник, лаборатории безопасности лекарственных средств

forphchemistry@gmail.com

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Марченко Наталья Владимировна

АО «ВЕРТЕКС»

Кандидат фармацевтических наук, доцент

Директор по науке и клиническим исследованиям

NMarchenko@vertex.spb.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Копатько Светлана Александровна

АО «ВЕРТЕКС»

заместитель генерального директора по продуктовому портфелю

SKopatko@vertex.spb.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Сычкова Ирина Викторовна

АО «ВЕРТЕКС»

ведущий фармаколог

ISychkova@vertex.spb.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

Каргопольцева Динара Рафаэлевна

АО «ВЕРТЕКС»

ведущий фармаколог

DKargopoltseva@vertex.spb.ru

Санкт-Петербург, Российская Федерация

***K.I.Stosman¹, K.V. Sivak¹, T.N. Savateeva-Lyubimova¹, A.G. Aleksandrov¹,
N.V. Marchenko², S.A. Kopatko², I.V. Sychkova², D.R. Kargopoltseva²***

COMPARATIVE EXPERIMENTAL STUDY OF REGENERATIVE, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF TETRADERM PREPARATIONS AND TRIDERM

¹Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza» of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

²JSC «WERTEKS», St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. *The aim* of study was to conduct the comparative regenerative, anti-inflammatory and antimicrobial properties of tetraderm and triderm in experiment. **Materials and methods.** Experiment was performed on 85 white male rats. Investigational medicines were applied 2 times a day at a dose of 0.01 g/cm². The pharmaceuticals were applied in prophylactic scheme (2 and 1 hours before the induction of inflammation) and therapeutic scheme (1 hour after the induction of inflammation) for 7 days for the treatment of carrageenan-induced inflammation. Tetraderm and triderm were applied 24 hours after the thermal burn to the affected area of the skin during 21 days. Treatment of linear wounds was performed for 7 days 24 hours after surgery. The antibacterial and antifungal effects of drugs were evaluated *in vitro*. **Results.** Tetraderm reduced the limb edema by more than 50% in a prophylactic scheme compared with triderm. The anti-inflammatory effect of pharmaceuticals was comparable. Tetraderm shown pronounced regenerative ability and reduced the burn area by 1,5 times compared with triderm. The stimulating healing effect of tetraderm on the skin wound of the linear skin wound model was similar to that of triderm. The antimicrobial activity of the tetraderm and triderm was comparable. Tetraderm showed a fungicidal effect against yeast and mold fungi. Triderm had only a fungistatic effect against yeast *C. albicans* and

suppressed of the growth of *A. Niger*. **Conclusions.** The regenerative and anti-inflammatory effect of tetraderm with antibacterial activity shows auspicious conditions for healing wounds and burns. The regenerative, antibacterial and fungicidal effects of tetraderm are slightly superior to the triderm effect.

Keywords: exudative inflammation, thermal burn, linear wound, antimicrobial and fungicidal effect, rats

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Kira I. Stosman

labtox6@rambler.ru

Received 15.02.2023г

For citation:

Stosman K.I., Sivak K.V., Savateeva-Lyubimova T.N., Aleksandrov A.G., Marchenko N.V., Kopatko S.A., Sychkova I.V., Kargopol'tseva D.R. Comparative experimental study of regenerative, anti-inflammatory and antimicrobial properties of Tetraderm preparations and Triderm. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2023, Vol. 20, no. 1-2, pp. 63–74. DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-1-63-74 (In Russ)

REFERENCES

1. Guillory A.N., Clayton R.P., Herndon D.N. Cardiovascular dysfunction following burn injury: what we have learned from rat and mouse models. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016; 17: 53; DOI:10.3390/ijms17010053.
2. Levchuk I.P., Kostjuchenko M.V. Antibacterials for local treatment of wounds of various etiologies. *RMJ. Medical Review*. 2018; 3; I: 1 - 6 (in Russia).
3. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part One, A.N. Mironov (ed.). Moscow: Grif & K; 2012 (in Russia).
4. Novikov V.E., Pozhilova E.V., Iljulin S.A. Effect of antihypoxant drugs on the development of acute formalin oedema. *Clinical pharmacology and drug therapy reviews*. 2015; 13; 1: 41 – 44 (in Russia) .
5. OPA.1.2.1.0007.15 Transparency and turbidity of liquids, State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition, Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow; 2015 (in Russia).
6. OPA.1.2.4.0010.15 Determination of the antimicrobial activity of antibiotics by the agar diffusion method, State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition, Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow; 2015 (in Russia) .
7. Suharev A.V., Patrushev A.V., Nazarov R.N., Gutka V.O. Modern topical glucocorticosteroids in the treatment of atopic dermatitis. *Consilium Medicum*. 2014; 16; 6: 98–100 (in Russia) .
8. Ostrovskij N.V., Bystrova A.S., Musackova M.V. A study of the efficacy of Pantolene gel for the local treatment of burns in experiment. *Journal of Emergency Surgery named after I. I. Janedze*. 2021; 1: 30 – 33 (in Russia) .
9. Kasihina E.I., Zaslavskaja M.I., Muhina I.V. Comparative analysis of the fungicidal effect of intravaginal antimycotics on *Candida* fungi in vitro. *Issues of gynaecology, obstetrics and perinatology*. 2012; 11; 2: 11–16 (in Russia) .
10. Manikandan P., Abdel-hadi A., Babu Singh Y.R., Revathi R., Anita R., Banawas S., et al. Fungal keratitis: epidemiology, rapid detection, and antifungal susceptibilities of fusarium and aspergillus isolates from corneal scrapings. *BioMed Research International*. 2019; Article ID 6395840: 9; DOI: 10.1155/2019/6395840.

Authors

Kira I. Stosman

Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza» of the Ministry of Health of the Russian Federation

Candidate of biological science

Senior Researcher, Drug Safety Laboratory

labtox6@rambler.ru
St. Petersburg, Russian Federation

Konstantin V. Sivak
Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza» of
the Ministry of Health of the Russian Federation
Candidate of biological science
Head of Preclinical Research Department
kvsivak@gmail.com
St. Petersburg, Russian Federation

Tatiana N. Savateeva-Lyubimova
Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza» of
the Ministry of Health of the Russian Federation
Doctor of medical science, Professor
Lead Researcher, Drug Safety Laboratory
drugs_safety@mail.ru
St. Petersburg, Russian Federation

Andrey G. Aleksandrov
Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Institute of Influenza» of
the Ministry of Health of the Russian Federation
Candidate of biological science
Researcher, Drug Safety Laboratory
forphchemistry@gmail.com
St. Petersburg, Russian Federation

Natalia V. Marchenko
Vertex JSC
Candidate of biological science, Associate Professor
Director of Science and Clinical Research
NMarchenko@vertex.spb.ru
St. Petersburg, Russian Federation

Svetlana A. Kopatko
Vertex JSC
Deputy director general for the product portfolio
SKopatko@vertex.spb.ru
St. Petersburg, Russian Federation

Irina V. Sychkova
Vertex JSC
Senior pharmacologist
ISychkova@vertex.spb.ru
St. Petersburg, Russian Federation

Dinara R. Kargopoltseva
Vertex JSC
Senior pharmacologist
DKargopoltseva@vertex.spb.ru
St. Petersburg, Russian Federation