УДК 615.281:616-07(082)

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПОРОШКООБРАЗНОГО ПРЕПАРАТА

Бабушкина И.В., Гладкова Е.В., Пучиньян Д.М.

ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России, Саратов, e-mail: puchinyan@mail.ru

В статье представлены результаты изучения влияния комплексного препарата на основе наночастиц меди и серебра, а также порошкообразной основы в виде крахмала на репаративную регенерацию экспериментальной раны. Анализ данных планиметрических исследований (изменение площади раны в динамике, скорость заживления раны, суточное изменение площади раны) показал высокую ранозаживляющую активность препарата, статистически достоверно превосходящую показатели в группе сравнения. Наночастицы меди и серебра, помимо регенерирующего, обладают антимикробным действием и препятствуют вторичной контаминации раны, что также способствует полноценной репаративной регенерации. Доказано, что местное применение препарата у животных с экспериментальными условно-асептическими ранами обеспечивает выраженный регенерирующий и антибактериальный эффекты. Данный препарат может быть использован для лечения повреждений кожи и мягких тканей различной этиологии.

Ключевые слова: наночастицы, медь, серебро, крахмал, регенерация, экспериментальная рана.

REGENERATIVE CAPABILITY OF COMPLEX POWDER MEDICATION

Babushkina I.V., Gladkova E.V., Puchinyan D.M.

FSBI "Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopedics" of the Ministry of Health of Russian Federation, Saratov, e-mail: puchinyan@mail.ru

The article has the research results of the influence of complex medication with copper and silver nanoparticles on the reparative regeneration of an experimental wound. Planimetric data (dynamic changes in wound surface, the rate of wound healing, daily changes in wound surface) indicate that the medication has high wound-healing capability which statistically significantly surpasses the indexes in the comparison group. Copper and silver nanoparticles have antimicrobial effect as well as regenerative one and inhibit secondary wound contamination which also contributes to the full-featured reparative regeneration. Local application in animals with experimental arbitrary aceptic wounds has been proved to provide stable regenerative and antimicrobial effect. This medication can be used for the treatment of skin and soft tissue wounds of different etiology.

Keywords: nanoparticles, copper, silver, amylum, regeneration, experimental wound.

Оптимизация процессов репаративной регенерации повреждений кожи и мягких тканей, вызванных различными механическими, термическими и другими факторами (гнойно-воспалительные процессы, дистрофические и др.), остается актуальной научно-практической задачей.

Перспективным направлением создания новых лекарственных препаратов, обладающих ранозаживляющим действием, является использование наноматериалов. Наночастицы металлов обладают физико-химическими свойствами, отличающимися как от свойств массивных металлических объектов, так и от свойств отдельных атомов. При попадании в живые организмы наноразмерные частицы металлов вызывают биологический ответ, отличающийся от действия традиционной ионной формы элементов [3].

Для местного лечения применяют препараты на основе наночастиц металлов для местного применения (мази на водорастворимой основе, сорбенты, ферменты, пено- и пленкообразующие аэрозоли, гидроколлоиды, альгинаты, раневые покрытия и др.) [5; 6].

Исследование свойств наночастиц металлов показало их ранозаживляющую активность, регенерирующие и бактерицидные свойства, что делает перспективным их использование для лечения гнойно-воспалительных осложнений [1; 4].

Ультрадисперсное серебро имеет выраженный антибактериальный эффект, ионы серебра, освобождающиеся с поверхности наночастиц, ингибируют действие дыхательных ферментов, что приводит к активации свободного кислорода и повреждению бактериальной клетки [7].

Вспомогательный порошкообразный компонент активно абсорбирует кровь и раневой экссудат, являющиеся питательной средой для бактерий [2]. В отличие от регенерирующих и антибактериальных кремов и мазей, препараты на порошкообразной основе не создают плёнки на ране, что обеспечивает свободный доступ кислорода к повреждённым клеткам тканей, ускоряя естественные процессы заживления. Препараты обладают выраженным дренирующим и дезодорирующим действием, за счёт снятия внутрикожного давления, благодаря его сорбционным свойствам, происходит обезболивание повреждённых участков кожи [8].

Актуальной представляется оценка влияния местного применения наночастиц меди и серебра в комплексе с крахмалом на динамику заживления экспериментальной полнослойной раны.

Материалы и методы

В работе использовали наночастицы меди и серебра, полученные с помощью плазменной технологии. На их основе разработан препарат для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом, имеющий порошкообразную форму и содержащий наночастицы меди и серебра, а также стерильный крахмал в качестве порошкообразной основы.

Эксперимент проводился на 40 белых беспородных крысах массой 170±20 г. Исследования проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотром в 1983 г. Модель полнослойной раны была получена следующим образом: после предварительной обработки кожи, в асептических условиях, под наркозом, на выбритом от шерсти участке в межлопаточной области у крыс иссекалась кожа с подкожной клетчаткой в виде квадрата 2×2 см (400 мм^2) по контуру, предварительно нанесенным трафаретом. Раневую поверхность опытной группы однократно обрабатывали 300 мг комплексного порошкообразного препарата с наночастицами меди и серебра.

Внешний вид раны с нанесенным комплексным препаратом представлен на рисунке 1.

Рис. 1. Модель полнослойной раны с нанесенным комплексным препаратом на основе наночастиц меди и серебра (1-е сутки)

Статистический анализ позволил подтвердить достоверность полученных результатов. Проверку нормальности распределения количественных показателей выполняли с использованием критерия Колмогорова – Смирнова, коэффициентов асимметрии и эксцесса. Оценку различий между выборками проводили с использованием t-критерия Стьюдента, так как переменные соответствовали нормальному распределению. В анализе использованы следующие статистические показатели: n – число наблюдений; M – среднее арифметическое значение; m – среднеквадратическая ошибка; p – коэффициент достоверности. Достоверным считали результаты при $p<0,05$, что соответствует требованиям, предъявляемым к медико-биологическим исследованиям.

Целью работы являлась оценка влияния комплексного препарата, состоящего из наночастиц меди, серебра и вспомогательного порошкообразного компонента, на репаративную регенерацию экспериментальной раны.

Результаты

Проведен анализ данных планиметрических исследований (динамики площади раны, скорости заживления раны, суточного уменьшения площади раны), отражающих активность репаративной регенерации экспериментальной раны.

Изучение динамики площади условно-асептической раны у экспериментальных животных приведено в табл. 1.

Таблица 1

Изменение площади раневой поверхности у экспериментальных животных

Сутки	Площадь условно-асептической раны у экспериментальных животных, М, мм^2	
	Группа сравнения, n=20	Опытная группа, n =20
1-е	425,1±11,3	412,8±21,6
3-и	395,3±10,7	211,4±17,3*** p<0,01
5-е	438,7±15,3	74,3±8,4*** p<0,001
7-е	218,4±9,3	36,8 ±3,2*** p<0,001
10-е	156,1±7,3	0,0±0,0*** p<0,001
14-е	22,9±7,3	0,0±0,0*** p<0,001

Примечание: р – уровень достоверности различий показателей по отношению к группе сравнения.

Применение комплексного препарата оказало выраженное влияние на регенерацию раны во все сроки проведения контрольных измерений, к 10-м суткам исследования в опытной группе наблюдалось полное заживления раны, в то время как в группе сравнения процент заживления составил 61,2%.

У пяти животных группы сравнения отмечено увеличение площади раны на 30-35% по отношению к исходным показателям на 5-е сутки исследования. При бактериологическом исследовании у данных животных из раневого отделяемого выделена и идентифицирована *E. coli* в количестве $7 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Таким образом, наблюдалось вторичное инфицирование раны аутофлорой кишечника, приводящее к увеличению раневой поверхности и замедлению репаративной регенерации раны.

У всех животных группы, получавших лечение порошкообразным препаратом на основе наночастиц меди и серебра, происходило динамичное заживление экспериментальной раны на фоне отсутствия вторичного инфицирования раны.

Проведен анализ суточного уменьшения площади экспериментальной раны у животных опытной группы и группы сравнения, результаты которого представлены на

рисунке 2.

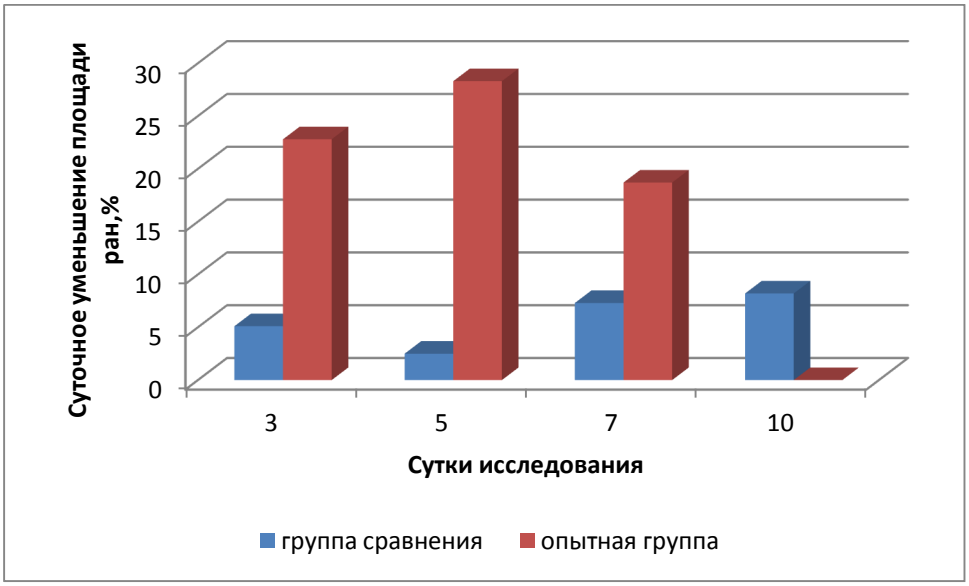


Рис. 2. Суточное уменьшение площади экспериментальных ран (в %)

Анализ суточного уменьшения площади ран в динамике у экспериментальных животных показал, что максимальное уменьшение площади экспериментальной раны ($p<0,001$) происходило под действием комплексного препарата на 3-5-е сутки после моделирования раны – 28,3±3,9%, затем на 5-7-е сутки среднее суточное уменьшение площади ран несколько снижалось до 18,7±2,8%, что связано с тем, что у части животных наблюдалось полное заживление ран. Суточное уменьшение площади экспериментальных ран в опытной группе на всех сроках было достоверно выше, чем в группе сравнения, где показатели имели достоверно меньшие значения ($p<0,01$), не превышало 8,2 ±1,2% в сутки и имело тенденцию к повышению к концу сроку наблюдения.

Одной из планиметрических характеристик репаративной регенерации экспериментальной раны является скорость заживления ран (мм/сут). Скорость заживления условно-асептической раны при лечении комплексным препаратом существенно превышает аналогичные показатели ($p<0,001$) в группе сравнения, что отражено в табл. 2.

Таблица 2

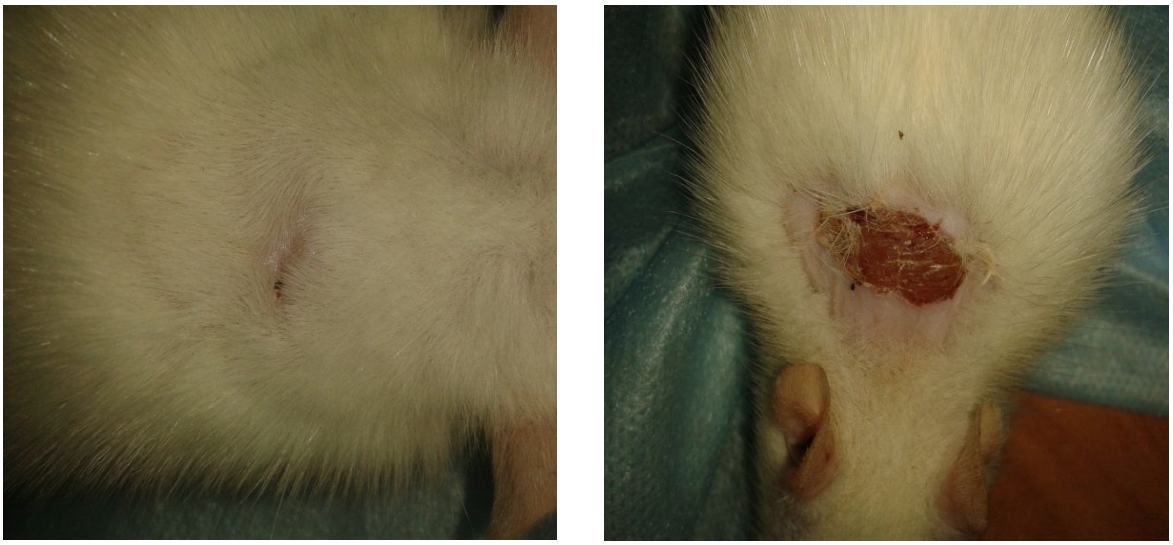
Скорость заживления условно-асептических ран (мм/сут.) у экспериментальных животных (M ± m)

Сутки	Скорость заживления условно-асептических ран (мм/сут.) у экспериментальных животных (M ± m)	
	Группа сравнения, n=20	Опытная группа, n=20

3-и	23,3±3,6	54,3±7,1** p<0,01
5-е	14,1±8,3	85,2±2,4** p<0,001
7-е	12,3±3,5	39,6±4,4** p<0,001
10-е	21,2±6,7	0 p<0,001

Примечание: р – уровень достоверности различий показателей по отношению к группе сравнения.

Анализ скорости заживления площади раны статистически достоверно демонстрирует различие между группами животных (р<0,001) на всех сроках наблюдения, что доказывает положительное влияние на репаративную регенерацию комплексного препарата (рис. 3).



А) Б)

Рис. 3. Экспериментальная рана животного опытной группы (А) и группы сравнения (Б) на 10-е сутки исследования

Изучение показателей планиметрии: динамики площади раны, скорости заживления раны, суточного уменьшения площади раны - показали высокую ранозаживляющую активность разработанного комплексного препарата. Наночастицы меди и серебра, входящие в состав препарата, помимо регенерирующего, обладают антимикробным действием и препятствуют инфицированию раны, что является важным для полноценной репаративной регенерации. Препарат не требует травмирующего рану удаления с раневой поверхности, создает оптимальные условия для действия основных лечебных компонентов - наночастиц

меди и серебра, обуславливая их суммарный эффект, превышающий активность исходных компонентов. Выбор комплексного препарата при лечении инфицированных и гнойных ран считается этиологически и патогенетически оправданным благодаря его активности при высоком уровне бактериальной контаминации антибиотикорезистентными грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами.

Разработанный препарат на основе наночастиц меди и серебра оказывает выраженное стимулирующее действие на репаративную регенерацию мягких тканей и может быть использован при разных типах повреждений покровных тканей. Использование препарата для местного лечения ран на всех этапах комплексного лечения позволяет сократить сроки системной антимикробной терапии, избежать развития побочных явлений, значительно уменьшить расходы на дорогостоящие антибактериальные препараты, избежать формирования резистентности микрофлоры к используемым системным антибиотикам.

Список литературы

1. Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Гладкова Е.В. Этиологическая роль возбудителей хронического остеомиелита и влияние наночастиц меди на клинические штаммы Staphylococcus aureus // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. - 2014. - № 2. - С. 52-56.
2. Богданец Л.И., Березина С.С., Гельфанд Е.Б. Место и эффективность антимикробных средств в лечении трофических язв у больных с венозной недостаточностью нижних конечностей // Инфекции в хирургии. - 2007. - № 2. - С. 39-42.
3. Изучение физических свойств и биологической активности наночастиц меди / Мамонова И.А., Матасов М.Д., Бабушкина И.В. [и др.] // Российские нанотехнологии. - 2013. - Т. 8. - № 5-6. - С. 25-29.
4. Изучение влияния наночастиц металлов на чувствительность к антибиотикам клинических штаммов микроорганизмов / Бабушкина И.В., Чеботарева Е.Г., Бородулина Е.В. [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - Т. 18. - № 3. - С. 258-260.
5. Исследование механизмов антибактериальной активности наночастиц меди в тестах на люминесцирующих штаммах Escherichia coli / Д.Г. Дерябин, Е.С. Алешина, Т.Д. Васильченко [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2013. – Т. 8, № 5-6. - С. 113-118.
6. Мамонова И.А., Бабушкина И.В. Экспериментальное исследование антибактериального действия наночастиц никеля на клинические штаммы Pseudomonas aeruginosa // Фундаментальные исследования. - 2012. - № 2-1. - С. 174-178.

7. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria / H.H. Lara, V.A. Nilda, L.C.I. Turrent, C.R. Padilla // World J. Microbiol Biotechnol. – 2010. – V. 26, Issue 4. - P. 615–621.
8. Клинический опыт применения препарата «Банеоцин» в наружной терапии бактериальных инфекций кожи / О.А. Притуло, Д.В. Прохоров, М.Б. Испирьян // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. - 2008. - № 2. - С. 62-64.