

УДК 615. 281 [6:539] – 022.532

© И.В. Бабушкина

Влияние наночастиц металлов на регенерацию экспериментальных ран

И.В. БАБУШКИНА

Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, Саратов, Российская Федерация

Цель исследования Изучение влияния на регенерацию экспериментальной условно-асептической раны суспензий наночастиц меди и цинка при местном применении.

Материалы и методы Объектом исследования были 60 лабораторных белых крыс; нанопорошки меди, цинка, полученные с помощью плазменной технологии, в виде суспензий в изотоническом растворе натрия хлорида. Моделирование полнослойной условно-асептической раны проводилось в межлопаточной области, площадью 400 мм². В работе использовались экспериментальные, планиметрические, микробиологические и статистические методы исследования.

Результаты и их обсуждение Проведен анализ изменения площади условно-асептической раны у экспериментальных животных, скорости заживления условно-асептических ран (в мм²/сут.), суточного уменьшения площади экспериментальных ран (в %) в динамике. У животных опытной группы, получавших лечение суспензией наночастиц меди, происходило быстрое заживление раневой поверхности, во все сроки исследования более активное, чем в группе сравнения на фоне отсутствия вторичного инфицирования, что связано с выраженным антибактериальным действием наночастиц меди. Под влиянием суспензии наночастиц цинка также наблюдалась стимуляция регенерации раны, более раннее полное заживление, но у некоторых животных наблюдалось инфицирование раны, приводившее к увеличению раневой поверхности. Это подтверждает выраженное регенеративное действие наночастиц цинка на фоне отсутствия или слабовыраженного антисептического эффекта.

Выводы Анализ скорости заживления условно-асептических ран, суточного уменьшения площади экспериментальных ран в динамике подтверждает положительное влияние наночастиц меди и цинка в виде суспензии на регенерацию ран мягких тканей.

Ключевые слова Наночастицы, медь, цинк, экспериментальная рана, регенерации

Metal Nanoparticle Effect on Regeneration of Experimental Wounds

I. V. BABUSHKINA

Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Saratov, Russian Federation

The purpose of the study Effect of the suspensions of copper and zinc nanoparticles on regeneration of an experimental conditionally aseptic wound when applied locally.

Materials and methods The research object was 60 laboratory white rats; copper, zinc nanoparticles generated with the help of plasma technology as suspensions in isotonic sodium chloride solution. Modeling of a full-layer conditionally aseptic wound was carried out in the interscapular region with an area of 400 mm². In the work experimental, planimetric, microbiological and statistical research methods were used.

Results and their discussion The change of the area of the conditionally aseptic wound in experimental animals, conditionally aseptic wound healing rate (in mm²/day), diurnal reduction of the area of experimental wounds (in %) in dynamics are analysed. In animals of the experimental group taken the treatment by the suspension of copper nanoparticles a fast healing of the wound surface was observed. During the whole period of the research the healing of the wound surface of the animals of the experimental group was more active than in case of the comparison group because of the absence of the reinfection, that is connected to the evident antibacterial action of copper nanoparticles. Under the influence of the suspension of zinc nanoparticles stimulation of wound regeneration, earlier complete healing was observed as well, but some animals had wound infection resulted in expansion of the wound surface. It confirms the evident regenerative action of zinc nanoparticles in case of an absence or low-grade antiseptic effect.

Conclusion The analysis of healing rate of conditionally aseptic wounds, diurnal reduction of the area of experimental wounds in dynamics confirms the effect of copper and zinc nanoparticles as a suspension on soft tissue wound regeneration.

Key words Nanoparticles, copper, zinc, experimental wound, regeneration

Заживление повреждений мягких тканей, вызванных различными механическими, термическими и другими факторами (гноино-воспалительными процессами, дистрофическими и др.), остаётся актуальной научно-практической задачей. Для оптимизации лечения создаются модели экспериментальных ран у животных. Существуют различные варианты моделирования раны у лабораторных животных, отличающиеся

друг от друга локализацией раны, размерами раневого дефекта, инфицированностью раны [1, 5, 6].

Исследование свойств наночастиц металлов показало их ранозаживляющую активность, регенерирующие и бактерицидные свойства, что делает перспективным их исследование в плане оптимизации регенерации повреждений мягких тканей. Немногочисленные работы свидетельствуют о значении физи-

ко-химических характеристик наночастиц в проявлении антибактериальных свойств и ранозаживляющей активности [2, 8]. Доказана возможность создания мягких лекарственных форм с наночастицами металлов на примере меди, с сохранением их высокореакционной активности в составе мази. Проведённые модельные эксперименты показали, что разработанные мази с наночастицами меди, различающимися по дисперсности и фазовому составу, обладают ранозаживляющим и антибактериальным действием, проявляя разную активность [7].

Использование местного лечения позволяет существенно повысить эффективность лечения трофических язв, ожогов и ран. Учитывая исключительную роль меди и цинка в жизнедеятельности организмов и катализирующее их влияние на процессы полноценной регенерации тканей, можно предположить, что эти элементы могут обладать ранозаживляющими свойствами, ускоряя репаративную регенерацию. Несмотря на несомненную перспективность исследований в данной области, в литературе имеются лишь отдельные данные по влиянию наночастиц меди и цинка на заживление ран [3, 4].

Актуальным является использование методики моделирования экспериментальной раны для апробации эффективности влияния суспензий наночастиц на регенерацию полнослойной раны мягких тканей.

Цель исследования: изучить влияние на регенерацию экспериментальной условно-асептической раны суспензий наночастиц меди и цинка при их местном применении.

Материалы и методы

Использовались наночастицы меди и цинка, полученные плазмохимическим методом. Навески наночастиц меди массой 1 мг вещества суспендировали в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия, готовили последовательные разведения препарата до 10^{-2} мг/мл. Экспериментальные исследования проведены на 60 белых крысах-самцах массой 180 ± 30 г. Все животные содержались в индивидуальных клетках. Режим содержания и питания животных был одинаков во всех группах опытов. Все исследования проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотром в 1983 г. на базе вивария ГБОУ ВПО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И.Разумовского».

Модель полнослойной раны была получена следующим образом [9]: после предварительной обработ-

ки кожи, в асептических условиях, под кратковременным ингаляционным эфирным 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. У всех животных были одинаковые по форме, площади и расположению раны, что являлось важным для дальнейшего их сравнения и последующего анализа динамики ранозаживления. Моделирование раны наиболее оправдано в межлопаточной области, так как эта анатомическая область более защищена не только от самого животного, но и от внешних воздействий, таких как, например, дополнительная контаминация раны микрофлорой на подстилочном материале. Рана в этой области более доступна для визуального осмотра, а также более удобна в плане дальнейшей терапии. Ярко выраженная картина местного воспалительного процесса в эксперименте наблюдалась нами через 72 часа, что согласуется с литературными данными по экспериментальному моделированию гнойной раны.

На раневую поверхность ежедневно, начиная с 3-х суток моделирования раны до 14-х суток исследования, накладывали стерильные салфетки, смоченные суспензией наночастиц меди, цинка в 1 мл изотонического раствора в концентрации 0,01 мг/мл.

Для комплексной оценки течения раневого процесса использовали методы планиметрического исследования ран, которое осуществляли на 3, 5, 7, 10 и 14-е сутки.

Использовали планиметрический метод Л.Н. Поповой, основанный на регистрации скорости уменьшения раневой поверхности во времени: на рану помещается стерильная пластинка полимера, на которую наносится контур раны. Контур раны переносили на прозрачные плёнки и сканировали на сканере HP Scanjet 3970 (Китай). Площадь раны рассчитывали с помощью компьютерной программы ImageJ. Процент уменьшения площади раны за сутки определяли по формуле:

$$\frac{(S - S_n) \cdot 100}{S \cdot t}$$

где S – площадь раны при предыдущем измерении; S_n – площадь раны при данном измерении; t – число дней между первым и последующим измерениями.

Скорость заживления раны определяли по формуле М.Г.Маркаряна и Г.Ц.Саркисяна:

Таблица 1

Распределение животных по группам в эксперименте

Группа	Метод лечения	Количество животных
1	Группа сравнения (животные с условно-асептической раной)	20
2	Опытная группа 1 (животные, леченые суспензией наночастиц меди)	20
3	Опытная группа 2 (животные, леченые суспензией наночастиц цинка)	20
	ВСЕГО	60

$$C3 = \frac{3 - 3_1}{n}$$

где C3 – скорость заживления площади раны в сутки; 3 – исходная площадь раны; 3₁ – площадь ее к моменту измерения; n – количество суток.

Ежедневно проводилось бактериологическое исследование раневого отделяемого, при выявлении возбудителя осуществлялась идентификация с использованием автоматического бактериологического анализатора BBL Crystal (США).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с вычислением средних величин количественных показателей, средних ошибок и коэффициента корреляции. Существенность различий средних величин оценивали по показателям Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Во всех экспериментальных группах в 1-е сутки после моделирования гнойной раны средняя площадь ран, по данным планиметрического исследования, составила 400 мм². Применение суспензий наночастиц металлов в изотоническом растворе приводило к изменению площади ран у экспериментальных животных (табл. 2).

Анализ изменения площади ран в динамике у экспериментальных животных показал, что суспензии наночастиц цинка и меди оказывают выраженное действие на регенерацию условно-асептической раны. У животных обеих опытных групп отмечалось достоверное (p<0,001) уменьшение площади ран во все сроки наблюдения.

В опытной группе под влиянием наночастиц цинка к 7-м суткам исследования площадь раны уменьшилась на 65%, к 14-м суткам у 12 животных отмечалось полное заживление раны. У трех животных на 5-е сутки исследования отмечено увеличение площади раны на 18-25% по отношению к исходным показателям. Края и дно раны – гиперемированы и отечны. При бактериологическом исследовании раневого отделяемого у данных экспериментальных животных идентифицировали *Escherichia coli* в количестве 3·10⁵ КОЕ/мл. Таким образом, наблюдалось инфицирование раны,

приводившее к увеличению раневой поверхности. Это подтверждает выраженное регенеративное действие наночастиц цинка на фоне отсутствия или слабовыраженного антисептического эффекта.

У всех животных опытной группы, получавших лечение суспензией наночастиц меди, происходило быстрое заживление раневой поверхности во все сроки исследования, достоверно (p<0,001) более активное, чем в группе сравнения, на фоне отсутствия вторичного инфицирования, что связано с выраженным антибактериальным действием меди. На 7-е сутки площадь раны уменьшилась на 58%, на 14-е сутки – на 85%. Полное заживление раны произошло у 3-х животных к 10-м суткам, к 14-м суткам – у 11 животных.

У животных группы сравнения площадь поверхности раны уменьшалась достоверно (p<0,001) медленнее, к 14-суткам она уменьшилась только на 42% по сравнению с первыми сутками.

Одной из важных планиметрических характеристик репаративной регенерации экспериментальной раны является скорость заживления ран (в мм²/сут.) (табл. 3).

Анализ данных таблицы 3 о суточном уменьшении площади раны под воздействием их суспензий наночастиц меди и цинка показывает позитивное воздействие на экспериментальную рану, достоверное (p<0,001) на всех сроках наблюдения по отношению к группе сравнения, при этом максимальная скорость заживления отмечалась под влиянием наночастиц цинка на 5-7-е сутки. Воздействие наночастиц меди также увеличивало скорость заживления в 2-2,5 раза по отношению к группе сравнения, в которой скорость заживления была значительно меньшей и несколько увеличивалась только к концу срока наблюдения. Снижение средней скорости заживления экспериментальных ран в обеих опытных группах к 10-14-м суткам связано с тем, что у 40-50% животных этих групп к данному сроку отмечалось полное заживление.

Суточное уменьшение площади раны (в %) также характеризует состояние репаративной регенерации (рис. 1). Анализ суточного уменьшения площади ран в динамике у экспериментальных животных показал, что максимальное уменьшение площади экспериментальной раны (p<0,01) происходит под действи-

Таблица 2

Изменение площади условно-асептической раны у экспериментальных животных, мм² (M±m)

Сутки	Группы животных		
	Группа сравнения, n=20	Применение наночастиц меди (0,01мг/мл), n=20	Применение наночастиц цинка (0,01мг/мл), n=20
3-и	394,9±7,1	316,9±5,6***	349,4±9,3***
5-е	379,7±9,7	265,4±6,4***	265,6±16,6***
7-е	347,3±8,3	179,3±12,2***	161,5±18,8***
10-е	299,3±10,3	68,3±8,1***	65,0±16,5***
14-е	214,8±6,7	12,3±3,4***	20,3±8,9***

Примечание – p – уровень достоверности различий показателей опытных групп по отношению к группе сравнения, ***-p<0,001

Скорость заживления условно-асептических ран (в мм²/сут.) у экспериментальных животных (M±m)

Сутки	Группы животных		
	Группа сравнения	Применение наночастиц меди (0,01мг/мл)	Применение наночастиц цинка (0,01мг/мл)
3-5-е	7,6±5,4	25,8±2,8***	41,9±6,3***
5-7-е	16,2±3,1	43,1±4,3***	52,1±6,5***
7-10-е	15,9±1,7	37,0±3,2***	32,1±2,8***
10-14-е	21,1±2,6	14,0±1,8***	11,2±1,9***

Примечание – p – уровень достоверности различий показателей опытных групп по отношению к группе сравнения, ***-p<0,001.

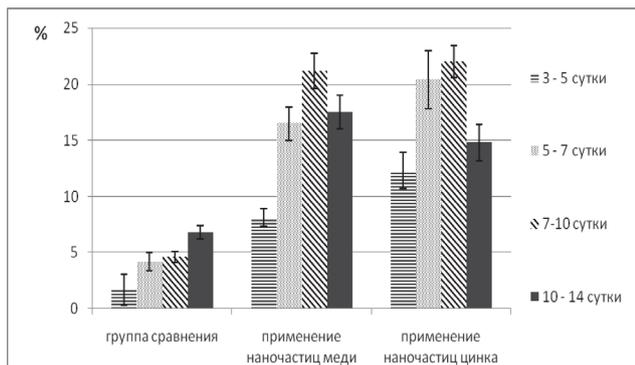


Рис. 1. Суточное уменьшение площади экспериментальных ран у (в %) в динамике, (M±m).

ем суспензии наночастиц меди на 7-10-е сутки после моделирования раны – 21%, затем среднее суточное уменьшение площади ран несколько снижается до 17%, что связано с тем, что у части животных наблюдается полное заживление ран. Применение наночастиц цинка имеет такую же динамику суточного уменьшения площади экспериментальной раны, с максимальным суточным уменьшением площади 22% в сутки и со снижением к 10-14-м суткам до 14%, связанным с полным заживлением ран у части животных. Уменьшение площади экспериментальных ран в опытных

группах на всех сроках было достоверно выше, чем в группе сравнения, где суточное уменьшение площади ран имело достоверно меньшие значения (p<0,01), не превышало 6,8% в сутки, и имело тенденцию к повышению к концу срока наблюдения, так как полного заживления ран у экспериментальных животных не наблюдалось.

Выводы

1. Анализ данных об уменьшении площади раны под воздействием взвесей наночастиц металлов показывает их позитивное воздействие на процесс заживления экспериментальной условно-асептической раны. Наночастицы меди, помимо регенерирующего, обладают антимикробным действием и препятствуют инфицированию раны.

2. Изучение показателей планиметрии и сроков заживления показали высокую ранозаживляющую активность при использовании суспензий наночастиц меди и цинка, превосходящую скорость заживления в группе сравнения.

3. Взвеси наночастиц меди и цинка в изотоническом растворе оказывают выраженное стимулирующее действие на репаративную регенерацию мягких тканей и могут быть использованы при разных типах

Список литературы

1. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. Ростов-на-Дону: Феникс, 2006; 427
2. Глуценко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов Химическая физика. 2002; 21(4): 79-85.
3. Глуценко Н.Н., Варламов В.П., Байтукалов О.А. и др. Наночастицы меди и наночастицы хитозана в составе ранозаживляющих средств. Микроэлементы в медицине. 2008; 9: 12: 51.
4. Глуценко Н.Н., Скальный А.В. Токсичность наночастиц цинка и его биологические свойства Актуал. вопросы трансп. медицины. 2010; 3(21): 118-121.
5. Гостищев В.К. Инфекции в хирургии. Москва ГЭОТАР-Медиа, 2007; 768.
6. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция М.: Медицина, 1990; 592.
7. Рахметова А.А., Богословская О.А., Ольховская И.П., Алексеева Т.П., Лейтунский И.О., Глуценко Н.Н. Ранозаживляющие свойства нового поколения на основе наночастиц меди. Сборник трудов X Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке: инновационные технологии в биологии и медицине, 2009». Москва 2009; 299-300.
8. Рахметова А.А., Алексеева Т.П., Богословская О.А. и др., Ранозаживляющие свойства наночастиц меди в зависимости от их физико-химических характеристик Российские нанотехнологии. 2009; 3-4: 102-108.
9. Даценко Б.М. Теория и практика местного лечения гнойных ран. (Проблемы лекарственной терапии). Киев: «Здоров'я», 1995; 383.

Поступила 14.03.2013 г.

References

1. Abaev Iu.K. *Spravochnik khirurga. Rany i ranevaia infektsiia* [Directory of the surgeon. Wounds and wound infection]. Rostov-na-Donu, Feniks, 2006. 427. – (In Russian).
2. Glushchenko N.N., Bogoslovskaja O.A., Ol'khovskaia I.P. Physical and chemical laws of biological effects highly dispersed powders of metals. *Khimicheskaja fizika*, 2002; 21(4): 79-85. – (In Russian).
3. Glushchenko N.N., Varlamov V.P., Baitukalov O.A. Copper nanoparticles and nanoparticles of chitosan in the wound-healing agents. *Mikroelementy v meditsine*, 2008; 9: 12: 51. – (In Russian).
4. Glushchenko N.N., Skal'nyi A.V. The toxicity of zinc nanoparticles and its biological properties. *Aktual'nye voprosy transportnoi meditsiny*, 2010; 3(21): 118-121. – (In Russian).
5. Gostishchev V.K. *Infektsii v khirurgii* [Infection in surgery]. Moscow, GEOTAR-Media, 2007. 768. – (In Russian).
6. Kuzin M.I., Kostiuchenok B.M. *Rany i ranevaia infektsiia* [Wounds and wound infection] . Moscow, Meditsina, 1990. 592. – (In Russian).
7. Rakhmetova A.A., Bogoslovskaja O.A., Ol'khovskaia I.P., Alekseeva T.P., Leipunskii I.O., Glushchenko N.N. [Wound healing properties of the new generation on the basis of copper nanoparticles]. *Sbornik trudov Kh Mezhdunarodnogo kongressa «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke: innovatsionnye tekhnologii v biologii i meditsine, 2009»* [Collection of works of X International Congress "Health and Education in the XXI Century: Innovative Technologies in Biology and Medicine, 2009"]. Moscow 2009; 299-300. – (In Russian).
8. Rakhmetova A.A., Alekseeva T.P., Bogoslovskaja O.A. Wound healing properties of copper nanoparticles, depending on their physical and chemical characteristics of the. *Rossiiskie nanotekhnologii*, 2009; 3-4: 102-108. – (In Russian).
9. Datsenko B.M. *Teoriia i praktika mestnogo lecheniia gnoinykh ran. (Problemy lekarstvennoi terapii)* [Theory and practice of local treatment of purulent wounds. (Problems of drug therapy)]. Kiev, "Zdorov'ja", 1995. 383 p. – (In Russian).

Recieved 14.03.2013

Сведения об авторе

1. Бабушкина Ирина Владимировна – к.м.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований Саратовского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии

Information about the Author

1. Babushkina I. – Ph.D., Senior Research Assistant of the Department of Fundamental and Clinical Experimental Research of Federal Government-Financed Institution "Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics" of Ministry of Public Health of the Russian Federation