

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

Р. И. ДОВНАР  
С. М. СМОТРИН

**НАНОКОМПОЗИТНЫЕ  
ПЕРЕВЯЗОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ:  
ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ**

Монография

Гродно  
ГрГМУ  
2018

УДК 615.468.21:[546.59+546.57]-022.532:616-001-089

ББК 54.52+30.37

Д58

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ  
(протокол № 17 от 27 декабря 2017 г.).

Авторы: доц. 2-й каф. хирургических болезней ГрГМУ,  
канд. мед. наук Р. И. Довнар;  
проф. 2-й каф. хирургических болезней ГрГМУ,  
д-р мед. наук, проф. С. М. Смотрин.

Рецензенты: зав. каф. общей хирургии ГрГМУ,  
д-р мед. наук, проф. П. В. Гарелик;  
проф. каф. общей хирургии БГМУ,  
д-р мед. наук, проф. Г. П. Рычагов.

**Довнар, Р. И.**

**Д 58**

Нанокompозитные перевязочные материалы для лечения ран мягких тканей : обоснование применения : монография / Р. И. Довнар, С. М. Смотрин. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – 160 с. ISBN 978-985-558-954-0.

*В монографии отражены результаты экспериментального изучения антибактериального, противогрибкового эффекта нанокompозитных перевязочных материалов, содержащих наночастицы серебра или золота. Показано усиление этого эффекта при воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением соответствующей длины волны и времени воздействия. Продемонстрировано ускорение заживления экспериментальных асептических и контаминированных ран при использовании для их лечения предлагаемых перевязочных материалов. Авторы экспериментально доказали возможность применения вакуумного автоклавирования для стерилизации перевязочных материалов, содержащих наночастицы серебра или золота, а также продемонстрировали отсутствие токсического влияния данных материалов.*

*Монография предназначена для врачей-хирургов, интернов, клинических ординаторов, аспирантов, студентов всех факультетов учреждений, обеспечивающих получение высшего медицинского образования.*

УДК 615.468.21:[546.59+546.57]-022.532:616-001-089  
ББК 54.52+30.37

ISBN 978-985-558-954-0

© Довнар Р. И., Смотрин С. М., 2017  
© ГрГМУ, 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	5
ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1 ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ .....	11
1.1 Раны мягких тканей как общехирургическая проблема .....	11
1.2 Влияние микрофлоры на развитие раневой инфекции и заживление ран .....	14
1.3 Современные принципы и средства для местного лечения ран мягких тканей .....	18
1.4 Применение золота и серебра для лечения ран мягких тканей .....	26
1.5 Перспективы использования наночастиц золота и серебра для лечения ран мягких тканей .....	35
ГЛАВА 2 АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ И ПРОТИВОГРИБКОВЫЙ ЭФФЕКТ НАНОКОМПОЗИТНОГО ПЕРЕВЯЗОЧНОГО МАТЕРИАЛА IN VITRO .....	42
2.1 Антибактериальный и противогрибковый эффект in vitro бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота .....	45
2.2 Антибактериальный и противогрибковый эффект in vitro бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра .....	47
ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРАЛЬНЫХ ДИАПАЗОНОВ НА АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТНОГО ПЕРЕВЯЗОЧНОГО МАТЕРИАЛА .....	50
3.1 Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 470 нм in vitro на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра .....	51
3.2 Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 532 нм in vitro на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра .....	54

ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ РАН 60

4.1 Влияние бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной асептической раны ..... 65

4.2 Влияние бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной контаминированной раны ..... 86

4.3 Анализ токсического воздействия бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра ..... 103

ГЛАВА 5 ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЙ ИЗ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ, РЕКОМЕНДУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН ..... 110

5.1 Влияние автоклавирования на сохранность наночастиц золота или серебра в структуре бинта марлевого медицинского ..... 110

5.2 Характеристика изделий медицинского назначения из бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, рекомендуемых для клинического применения ..... 118

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ..... 124

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ..... 127

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КОЕ	– колониобразующая единица
РЭМ	– растровая электронная микроскопия
ФИ	– фагоцитарный индекс
ФЧ	– фагоцитарное число
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы
spp.	– («speciales» с лат. «виды») точный вид данного микроорганизма не установлен

Репозиторий ГРГМУ

## ВВЕДЕНИЕ

Многие современные достижения хирургии напрямую обусловлены успехами в профилактике и лечении хирургической инфекции [4, 25, 63]. Однако, несмотря на широкое применение антибиотиков, ряда других средств и методов, количество пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей и гнойными послеоперационными раневыми осложнениями не имеет существенной тенденции к снижению [18, 63, 114]. Более того, в последнее время наметилась тенденция к увеличению числа пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей [5].

В настоящее время пациенты с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей составляют до 35–40% от всех пациентов хирургического профиля [4, 63, 127]. Среди них в структуре госпитальной инфекции показатель нагноения ран колеблется от 2,7 до 37,8% [61, 231, 347]. Гнойно-воспалительные послеоперационные осложнения продолжают занимать первое место среди всех госпитальных осложнений и третье место среди основных причин летальности [115].

Сложившаяся ситуация обусловлена: 1) изменением структуры возбудителей гнойной хирургической инфекции; 2) увеличением спектра возбудителей инфекции мягких тканей за счёт сапрофитов, считавшихся ранее непатогенными; 3) сменой микрофлоры в очагах инфекции при неэффективности проводимого лечения; 4) увеличением числа случаев хирургической инфекции, вызванной ассоциациями бактериальных патогенов; 5) модификацией биологических свойств микроорганизмов с появлением штаммов микроорганизмов, устойчивых к воздействию антибактериальных препаратов; 6) изменением иммунологической реактивности организма, вызванным нерациональным применением антибиотиков [23, 100, 125, 130, 133].

Указанное свидетельствует о нерешённости проблемы гнойной инфекции в хирургии, которая приобретает всё большую социально-экономическую значимость и требует поиска новых методов лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей.

На современном этапе развития хирургии лечение гнойно-

воспалительных заболеваний мягких тканей осуществляется с учётом фаз течения раневого процесса. Основным принципом лечения гнойных ран после хирургической обработки гнойного очага является их ведение с использованием физико-химических противомикробных факторов [101, 124]. Чаще всего инфицированные и гнойные раны мягких тканей ведутся под повязкой из медицинской марли с применением различных лекарственных средств, которая экономически выгодна в любых условиях и отличается простотой и доступностью [4, 108]. Вместе с тем, использование в комплексном лечении ран таких лекарственных средств, как 3% раствор перекиси водорода, гипохлорит натрия, повидон-йодин, сопровождается нарушением процессов формирования коллагена [4]. Кроме того, эти лекарственные средства цитотоксичны и травмируют регенерирующий эпителий [4]. В то же время растворы фурацилина, риванола и этония практически полностью утратили свою антимикробную активность по отношению к основным возбудителям хирургической инфекции [136].

Для повышения эффективности лечения ран под повязкой из медицинской марли прибегают к её модификации различными биологически активными веществами: в частности, ферментами протеолиза и антисептиками [4, 130]. Раневым покрытиям на основе медицинской марли придаются пролонгированные антисептические свойства путём присоединения к ней методом физической сорбции или химическим присоединением низкомолекулярных антибиотиков (канамицин, мономицин, гентамицин, линкомицин, тетрациклин, олеандомицин) и катионных поверхностно-активных антисептиков (хлоргексидин, этоний, декаметоксин) [130]. Это позволяет значительно ускорить очищение гнойных ран от тканевого детрита и микроорганизмов, ослабить микроциркуляторные расстройства и воспалительные изменения, что способствует более раннему развитию репаративных процессов, проявляющихся в ускорении образования и созревания грануляционной ткани и эпителизации ран [4, 128].

Однако энзимотерапия гнойной инфекции не нашла достаточно широкого клинического применения и не стала доминирующим методом лечения гнойно-некротических процессов. Нативные протеиназы недостаточно стабильны,

подвергаются аутолизу, инактивируются ингибиторами крови и тканей, быстро выводятся из организма, обладая при этом антигенностью [128]. Кроме того, практическое использование нативных протеиназ ограничивается их особо высокой стоимостью [128]. В то же время, иммобилизованные антибиотики также не оправдали себя в полной мере, так как с их применением резко возросло количество устойчивой к антибиотикам микрофлоры [130, 184, 234].

В последние годы в связи с развитием нанонауки возобновилось внимание к антимикробным свойствам ряда металлов, прежде всего, к золоту и серебру, интерес к биологической активности которых угас в 40-е годы XX века вследствие открытия антибиотиков [243, 244]. Общеизвестно, что перевод металлов в наносостояние придаёт им новые уникальные физические, химические и биологические свойства, что создаёт огромный потенциал для их успешного применения в медицине [161, 174, 302].

В то же время, до настоящего времени не изучена возможность использования наночастиц золота и серебра в местном лечении ран, в том числе и при создании перевязочного материала на основе бинта марлевого медицинского в качестве нанокompозитов золото/бинт марлевый медицинский, серебро/бинт марлевый медицинский. Не установлена их возможная противомикробная активность, не выявлено их влияние на течение раневого процесса, а также вероятность развития под их воздействием токсических реакций.

В связи с вышеизложенным очевидно, что разработка перевязочного материала на основе бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, и применение его для лечения ран мягких тканей является актуальной задачей практической хирургии.

В данной монографии приведены результаты комплексного научного исследования выполненного на базе межвузовского договора о научном сотрудничестве (№ 01 от 17.07.2009 г.) УО «Гродненский государственный медицинский университет» и химического факультета Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, в рамках совместной НИР кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедры хирургических болезней № 2 с курсом урологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет» «Современные подходы к лечению гнойных осложнений ран и хирургической инфекции с применением перевязочного материала, содержащего наночастицы золота и серебра».

Тема научного исследования соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 гг. (Постановление Совета Министров РБ от 19 апреля 2010 г. № 585), а именно, «Междисциплинарные исследования. Перспективные зарождающиеся технологии: нанотехнологии для медицинских и биологических приложений».

Подготовка рукописи монографии осуществлена при консультативной помощи А. Ю. Василькова – к.х.н., ведущего научного сотрудника кафедры химии нефти и органического катализа химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова; А. И. Жмакина – к.м.н., доцента, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гродненский государственный медицинский университет»; П. Н. Граковича – к.т.н., ведущего научного сотрудника Института механики металлополимерных систем им. В. А. Белого НАН Беларуси (г. Гомель, Беларусь); С. С. Ануфрика – д.ф.-м.н., профессора, заведующего кафедрой лазерной физики и спектроскопии УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы», что отражено в совместных публикациях.

Операции на животных выполнялись в операционной кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет» (заведующий кафедрой, к.м.н., доцент Киселевский Ю. М.). Гистологические исследования проводились на кафедре патологической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет» к.м.н., доцентом Н. И. Прокопчиком. Исследование показателей общего, иммунологического анализ крови осуществлялось в Центральной научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет», показателей биохимического анализа крови – в лаборатории УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно». Электронные микрофотографии бинтов и рентгеновский энергодисперсионный

микроанализ выполнены на базе Института механики металлополимерных систем им. В. А. Белого НАН Беларуси.

Анализ полученных данных выполнен на персональном компьютере HP Pavilion dv 9560er (серийный номер CNF7330J60) с использованием пакета лицензионных программ Statistica 6.0.437.0 (серийный номер 31415926535897) и Microsoft Excel 2007 (12.0.4518.1014) (серийный номер 89388-707-1528066-65902).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием программы Statistica 10.0. Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку большинство количественных признаков не подчинялось нормальному распределению, то при сравнении использовались непараметрические методы. Поэтому в качестве описательной статистики выборочного распределения качественных признаков нами указывались медиана (Me) и интерквартильный интервал (25%-й и 75%-й процентиля), включающий 50% выборки. Различие между группами оценивалось с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Заданный уровень значимости 5%. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Сравнение трёх и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса. При  $p < 0,05$  осуществляли попарное сравнение групп с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Для изучения взаимосвязи между параметрами использовался непараметрический корреляционный анализ. Интенсивность корреляционной связи оценивали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена ( $r$ ) [102].

Авторы выражают свою искреннюю благодарность всем научным консультантам и с пониманием примут все критические замечания.

## ГЛАВА 1

### ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН МЯГКИХ ТКАНЕЙ

#### 1.1 Раны мягких тканей как общехирургическая проблема

В начале третьего тысячелетия, как и во все времена, одной из актуальнейших проблем хирургии продолжает оставаться поиск наиболее эффективных методов лечения ран [1, 17, 22, 66, 88]. Неизменный интерес к данной проблеме вызван тем, что число гнойно-воспалительных осложнений ран не уменьшается, а встречается у 3,1–33% пациентов, имеющих раны различной этиологии [113, 122]. Так, пациенты с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей составляют 28–40% пациентов хирургического профиля [2, 13, 52, 60, 140]. Ежегодно в странах СНГ регистрируется около 5 миллионов пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями [68]. Повсеместно, на протяжении последних 30–40 лет, отмечается рост числа хирургической инфекции и послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений [2, 54, 104, 116, 122], что является одной из сложнейших проблем хирургии.

Гнойные послеоперационные раневые осложнения со стороны мягких тканей развиваются у 2–70% пациентов в зависимости от характера заболевания [2, 13, 83, 96, 134].

Установлено, что даже при неукоснительном соблюдении принципов асептики и антисептики полностью избежать бактериального загрязнения хирургических ран во время операции не удастся [17, 59, 118, 206]. К концу оперативного вмешательства в 80–90% наблюдений раны обсеменены различной микрофлорой [70].

В абдоминальной хирургии нагноение ран встречается у 2–15% пациентов, перенесших холецистэктомию [82, 113, 311], у 9,4–44% – резекцию желудка [246, 291], у 2,2–17% – грыжесечение [48, 79, 81], у 7,9% – резекцию печени [94]. Даже после аппендэктомии послеоперационные нагноения ран могут достигать 30% при открытой методике удаления червеобразного

отростка и 15% при использовании лапароскопической техники [249].

В сосудистой хирургии гнойно-воспалительные осложнения со стороны мягких тканей развиваются, в частности, после реконструктивных операций на артериальном бедренно-подколенно-берцовом сегменте при его атеросклеротическом поражении у 1,1–21% пациентов, приводя к летальности в 16,8–62,8% случаев [24, 46, 64, 180, 281]. Раневая инфекция после общебедренно-подколенного шунтирования возникает в 2,5–14% случаев, в том числе поверхностная в 2/3, а глубокая – в 1/3 случаев [71, 216].

В торакальной хирургии гнойно-воспалительные осложнения со стороны мягких тканей грудной клетки диагностируются у 5,6–8,3% пациентов, перенёсших торакотомию [299, 348].

В кардиохирургии нагноение раны грудины после стернотомии развивается в 1,6–13,5% случаев [172, 183, 283, 294, 298].

Показатель нагноения послеоперационных ран после выполнения экстренных операций существенно выше, чем после плановых [15, 113, 145, 265]. Например, при выполнении экстренных операций, показанием к которым явились гнойно-деструктивные заболевания желчного пузыря или кишечника, перфорации полых органов, показатель нагноения колеблется от 16,2 до 41,8% и достигает 38–69% при операциях по поводу рака толстого кишечника [56, 118, 145]. Следует отметить, что особую актуальность в настоящее время приобретает профилактика гнойных осложнений у пациентов пожилого и старческого возраста [145], учитывая устойчивую тенденцию роста онкологической заболеваемости во всём мире на фоне повсеместного старения населения [47, 70, 72, 84]. Так, риск развития инфекционных раневых осложнений у онкологических пациентов составляет от 10 до 70% [70].

В 7% наблюдений причиной сепсиса становятся гнойные заболевания мягких тканей [47]. При наличии нагноения послеоперационной раны риск послеоперационной летальности возрастает в 2–11 раз [228].

В Республике Беларусь, по данным Национального статистического комитета РБ [53], в 2010 году было выполнено в

амбулаторно-поликлинических организациях 904126, а в стационарах – 777170 операций. Из них 21619 пациентов оперировались по поводу острого аппендицита, 6416 – острого холецистита, 1850 – в связи с ущемлённой грыжей, 1729 – из-за наличия прободной язвы желудка или двенадцатиперстной кишки, 1629 – в связи с острой кишечной непроходимостью. Исходя из приведённых данных, очевидна актуальность проблемы лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей для нашей страны.

Лечение ран приобретает особую социально-экономическую значимость в связи с длительностью течения заболевания и существенными материальными затратами [63].

Согласно исследованиям П.И. Толстых с соавт. [67], очищение гнойных ран происходит в среднем за 6,5 дня, появление грануляций отмечается через 6,8 дня, начало краевой эпителизации – спустя 7,5 дней, а срок заживления таких ран составляет 26,0 дней.

Гнойные послеоперационные осложнения у хирургических пациентов удлиняют сроки их госпитального лечения в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации от 6 до 10 дней, а в отдельных профильных стационарах (травматология, кардиохирургия) – до 38 дней. В стационарах США этот срок составляет в среднем 7,4 дня, [55, 62]. Актуальность проблемы лечения гнойных ран мягких тканей для нашей страны подчёркивает и тот факт, что средняя стоимость одного койко-дня в профильном стационаре РБ в 2010 году составила 113643 белорусских (неденоминированных) рубля [142]. Одновременно, наличие у работающего пациента временной нетрудоспособности сопровождается недополучением страной валового внутреннего продукта, средний размер которого на одного занятого в экономике Беларуси в календарном дне в 2010 году составил 95689 белорусских (неденоминированных) рублей [142].

В США дополнительные затраты на лечение каждого пациента с гнойными послеоперационными осложнениями составляют в среднем 3152 доллара. В Европе гнойные послеоперационные осложнения в здравоохранении увеличивают ежегодную стоимость лечения на 1,47 миллиардов евро. Для США эта цифра составляет 10 миллиардов долларов в год [62, 70].

Недостаточная эффективность существующих методов

лечения инфекционных осложнений со стороны ран мягких тканей приводит к летальным исходам, которые в структуре общей летальности в хирургических стационарах достигают 40–60% [13, 16, 52, 100,]. У 7% умерших в стационаре они явились основной причиной смерти [68].

Развитие гнойно-воспалительного процесса в ранах мягких тканей представляет собой многофакторный процесс. Ведущая роль в нём принадлежит микрофлоре [66, 68].

## **1.2 Влияние микрофлоры на развитие раневой инфекции и заживление ран**

Основными условиями, определяющими возможность развития хирургической инфекции в ране, являются: 1) вирулентность возбудителя и его свойства; 2) состояние местной и общей резистентности организма; 3) состояния входных ворот инфекции [54, 68, 96, 139]. По мнению большинства авторов, ведущими в развитии инфекционного процесса в ранах мягких тканей являются факторы, связанные с характеристикой предполагаемых возбудителей хирургической инфекции: степень микробной обсеменённости тканей раны, качественный состав и вирулентность возбудителей, уровень их резистентности к антибиотикам [68, 117].

В настоящее время в зависимости от степени патогенности все микроорганизмы принято делить на 3 основные группы: патогенные, условно-патогенные и непатогенные [96]. Однако деление микроорганизмов на эти группы условно, так как все они потенциально являются патогенными [86]. Кроме того, условно патогенная флора переходит в категорию патогенной, если попадает: 1) в организм с изменённой реактивностью и ослабленными защитными реакциями вследствие тяжёлых общих заболеваний, облучения или старческого возраста; 2) в очаг обширного повреждения тканей типа размозжения или некроза [3, 117].

Так, *Pseudomonas aeruginosa* является условно патогенным микроорганизмом. Тем не менее, высокие адаптационные способности и множественная резистентность к антибиотикам привели к тому, что в настоящее время она является одним из доминирующих микроорганизмов, вызывающих тяжёлые

внутрибольничные инфекции в хирургических стационарах [21, 55, 257].

Для реализации инфекционного процесса в ране микроорганизмы должны обладать определёнными количественными (число попавших возбудителей в рану) и качественными (факторы инвазивности) характеристиками, которые находятся между собой в обратной зависимости [96]. Чем более активны механизмы агрессии микроорганизмов, тем меньшее их количество способно вызвать развитие инфекционного процесса в ране [117]. Вместе с тем, развитие инфицирования раны – это динамический процесс. Так, сравнительное изучение микрофлоры «свежих» травматических ран и этих же ран в случае развития в них нагноительного процесса показало [127], что возбудители гнойной инфекции в этих ранах отличны по своим характеристикам (видовой состав, патогенность, чувствительность к антибиотикам). Кроме того, по мере развития и течения местной гнойной инфекции состав микрофлоры, как правило, также меняется [68, 96, 117]. Возможны изменения, как в пределах отдельных видов бактерий, так и замена одного вида микроба другим [68, 137].

Частота встречаемости различных представителей микрофлоры при гнойно-воспалительных процессах, по данным литературы, различается.

Так, до начала эры использования антибиотиков основным возбудителем гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей и послеоперационных осложнений был  $\beta$ -гемолитический стрептококк [25, 127, 304]. Применение различных антибиотиков, к которым стрептококки высокочувствительны и практически не приобретают резистентности, обусловило то, что доминирующее положение к концу 60-х годов в структуре возбудителей гнойной хирургической инфекции занял стафилококк, являясь причиной нагноений в 60–70% случаев [127].

В последние десятилетия на фоне применения антибиотиков, часто необоснованного, произошли ещё более значимые изменения в видовом составе возбудителей гнойной хирургической инфекции: в большинстве случаев её причиной являются стафилококки (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), а также грамотрицательная флора. Характерно, что всё больший удельный вес в этиологии гнойной инфекции

приобретают условно-патогенные микроорганизмы: синегнойная и кишечная палочки, а также протей [60, 67, 68, 101, 139]. Практически все исследователи отмечают преобладание полирезистентных штаммов [76, 109, 129, 137]. В настоящее время резистентность выделенных из ран микроорганизмов к наиболее часто применяемым антибиотикам составляет 70–100% [65, 117]. Отмечается рост антибиотикорезистентности и к антибиотикам резерва. Так, уровень резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к карбапенемам составляет 30% [55].

По данным Е. П. Хлебникова [138] (ФГУ «Институт хирургии им. А. В. Вишневского Росмедтехнологий»), наиболее часто из отделяемого гнойных ран высеваются стафилококки (22,4%), *Pseudomonas aeruginosa* (17,8%), *Escherichia coli* (17,4%), и энтерококки (15,9%). Остальные микробы выявляются в меньшем количестве (менее 1%). Грамотрицательная микрофлора была высеяна в 50,7%, грамположительная – в 42,9%. Отмечается высокая частота высеваемости *Candida spp.* (6,4%).

В. В. Берещенко с соавт. [13] (Гомельский государственный медицинский университет) отмечают рост грамположительной флоры в 71,01% случаев, грамотрицательной – в 22,47%. Наиболее часто авторы высеивали *Staphylococcus aureus* (60,87%), который преобладал во всех формах хирургической инфекции, и *Escherichia coli* (13,04%). В 6,52% случаев была выявлена ассоциация микроорганизмов. В то же время, при остром парапроктите наблюдалось преобладание грамотрицательной микрофлоры (88,6%), главным образом *Escherichia coli* (97,8%). Из отделяемого трофических язв ассоциация микроорганизмов высеивалась в 10,3%. Из микроорганизмов чаще других встречались *Pseudomonas aeruginosa* (12,8%) и *Staphylococcus aureus* (43,6%).

В. М. Смирнов [109] среди наиболее частых возбудителей послеоперационных раневых госпитальных инфекций выделяет: *Pseudomonas aeruginosa* (14,2%) и *Acinetobacter baumannii* (17,65%). Реже встречаются *Klebsiella pneumoniae* (12,65%), *Escherichia coli* (4,41%), *Staphylococcus aureus* (10,29%).

В хронически протекающих гнойных ранах преобладают микробные ассоциации стафилококка с грамотрицательной флорой (37,5–52,2%) [13, 57, 338, 351].

В настоящее время в Республике Беларусь в этиологической

структуре гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей на долю грамотрицательных микробов приходится 42,07%. Лидирующие позиции среди них занимают *Proteus spp.* (2,3–9,2%), *Escherichia coli* (4,9–25,5%), *Klebsiella spp.* (4,5–23,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (7,7–9,0%) [51, 93, 129]. В группе грамположительных микроорганизмов преобладает *Staphylococcus aureus* (10,0–10,5%) [51, 93]. Данные микроорганизмы характеризуются высоким процентом штаммов, устойчивых к антибиотикам. Например, среди рода *Pseudomonas* 100% штаммов устойчивы к цефтазидиму, 70,7% – к гентамицину [129]. Ко всем  $\beta$ -лактамным антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам) резистентны 40% штаммов золотистого стафилококка, к макролидам – 45% [51]. Устойчивы к ципрофлоксацину 76% штаммов *Klebsiella pneumoniae*, к гентамицину – 68% штаммов, к цефотаксиму, цефуроксиму и цефазолину – более 80% [51].

В целом, при микробиологическом исследовании отделяемого из гнойных ран среди грамотрицательных бактерий выделяют *Pseudomonas aeruginosa* (1,6–25,3%), *Acinetobacter baumannii* (9,8%), *Escherichia coli* (3,0–19,3%), *Klebsiella pneumoniae* (2,7–18,9%), *Proteus mirabilis* (2,7–9,2%) [55, 97, 126]. Среди грамположительных микробов лидирующее место занимает *Staphylococcus aureus* (19,2–46,0%) [97, 117, 122, 126]. Миксты из грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов обнаруживаются в 16,7–55,6% случаев [122, 126, 239].

Как известно, микроорганизмы обладают высокой адаптационной способностью в зависимости от меняющихся условий внешней среды. Однако приспособительные способности у разных видов микробов различны. А. С. Хряков с соавт. [68] показали, что в процессе лечения изменяют чувствительность к антибиотикам 74,7% штаммов стафилококка, 56,3% стрептококка, 61,2% штаммов протей. Именно наличие адаптационной способности, по мнению Н. Н. Чура, обуславливает в настоящее время недостаточную эффективность антибиотикотерапии ран мягких тканей [139]. Развитие резистентности микробов к антибиотикам удлиняет сроки лечения ран мягких тканей и делает его неэффективным.

Кроме того, антибиотики, вызывая массовую гибель микроорганизмов, способствуют активизации грибковой

инфекции, где основное место занимают различные штаммы гриба *Candida* – 78% [2, 165]. В настоящее время грибок *Candida spp.* высевается с достаточно высокой частотой, достигающей 6,4% [138, 273].

Следует подчеркнуть, что попадание микроорганизмов в рану не всегда сопровождается развитием в ней инфекционного процесса. Инфекция в ране развивается лишь в условиях преодоления микробным фактором защитных реакций организма (вторая группа факторов развития гнойной хирургической инфекции) [59, 117, 118, 206].

Вторая группа факторов развития гнойной хирургической инфекции – защитные реакции организма, ответственные за сопротивляемость – включает состояние организма пациента (пострадавшего): возраст старше 60 лет, наличие тяжёлых травм (сочетанных или комбинированных механических повреждений), шока и выраженной кровопотери, сопутствующие заболевания (сахарный диабет, анемия, злокачественные новообразования и др.), очаги хронической инфекции, нарушение обмена веществ (ожирение, дистрофия), низкие показатели общего и местного иммунитета, применение стероидных гормонов или цитостатиков и др. [66, 114, 117, 296].

Третья группа факторов развития гнойной хирургической инфекции – состояние входных ворот инфекции – это, прежде всего, обширность повреждения мягких тканей, травматичность и длительность оперативного вмешательства, наличие в ране инородных тел, допущенные во время операции технические погрешности (расширение операционной раны по ходу операции, недостаточный гемостаз, неправильное дренирование операционной раны и др.) [66, 96, 117, 139].

Таким образом, комплексный подход к лечению ран мягких тканей требует уделять особое внимание ведущему фактору развития инфекционного процесса – микрофлоре.

### **1.3 Современные принципы и средства для местного лечения ран мягких тканей**

Лечение ран мягких тканей осуществляется комплексно. Оно предполагает воздействие на все звенья раневого процесса, который представляет собой сложный комплекс реакций,

развивающихся в организме в ответ на повреждение тканей. Течение раневого процесса условно подразделяется на три фазы [1, 101, 117, 143, 316]: 1) фаза воспаления, делящаяся на период сосудистых изменений и период очищения раны от некротических тканей; 2) фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани; 3) фаза реорганизации рубца и эпителизации.

На современном этапе развития хирургии лечение ран осуществляется соответственно фазе течения раневого процесса и включает местное воздействие на рану и общее – на организм пациента [1, 69, 117, 123]. Следует отметить, что в лечении ран мягких тканей основное внимание отводится местному воздействию на рану [54, 66, 143].

В первой фазе раневого процесса средства местного лечения ран должны оказывать антибактериальное воздействие на возбудителей инфекции, способствовать отторжению некротических тканей и обеспечивать отток экссудата из раны [1, 117, 143, 251].

Во второй фазе раневого процесса, наряду с защитой раны от вторичного инфицирования, используемые методы лечения направлены на подавление в ней оставшейся после хирургической обработки микрофлоры, создание оптимальных условий для роста грануляций и защиты их от вредного влияния внешней среды [117, 143, 240].

В третьей фазе раневого процесса главным является обеспечение оптимальных условий для регенерации [1, 117, 143, 200].

Основным методом лечения, позволяющим очистить рану от некротических тканей, полноценно её дренировать и создать условия для заживления, является адекватная хирургическая обработка раны, промывание её растворами антисептиков, дренирование раны и закрытие её оперативным путём [26, 69, 117, 123, 140]. В последнем случае могут быть применены первичные или вторичные швы, аутодермопластика или ведение раны под повязкой [1, 117, 143].

Лечение ран под повязкой является самым древним и наиболее распространённым методом, отличающимся простотой, доступностью и возможностью применения в любых условиях [1, 14, 105]. По меньшей мере, 25% пациентов, у которых

имеются раны, нуждаются только в исходном лечении повязками [117]. Обоснованность данного метода лечения ран связана с тем, что основная масса микробов локализуется в нежизнеспособных тканях раны, лишённых кровотока. В таких случаях любые дозы антибактериальных препаратов, вводимых в организм внутривенно и даже внутриаартериально (приводящая артерия), не достигают основных зон локализации микроорганизмов (некротические ткани). Исходя из этого, местное лечение ран под повязкой, содержащей различные медикаментозные препараты, имеет преимущество, так как обеспечивает более высокую концентрацию лекарств в очаге инфекции [127].

Общепринятой классификации раневых покрытий в настоящее время не существует [6, 345]. Применяемые перевязочные материалы могут быть классифицированы в соответствии с их конструкцией и функциональными свойствами. Они подразделяются на 1) неприлипающие ткани; 2) сорбционные повязки; 3) окклюзионные повязки: а) небиологические окклюзионные повязки (плёнки, гидроколлоиды, альгинаты и гидрогели), б) биологические окклюзионные повязки (аллотрансплантаты, ксенотрансплантаты, амнион, синтетические заменители кожи); 4) кремы, мази и растворы (антибактериальные, энзиматические и другие) [1, 6, 169, 346]. Каждая из приведённых выше повязок имеет свои преимущества и недостатки.

**Неприлипающие ткани** производятся на основе повязки «tulle gras» – марли, пропитанной парафином, что обеспечивает их атравматическое удаление с поверхности раны [6, 58, 211]. Большинство из этих повязок выпускается с всевозможными добавками для усиления их окклюзионных свойств, снижения способности к прилипанию, повышения антибактериального эффекта [6]. Однако наличие парафина делает такие повязки неабсорбирующими, что требует применения второго слоя перевязочного материала [6].

**К сорбционным повязкам** относятся повязки на основе медицинской марли и пены. Отличительная их черта – удаление экссудата из раны [58, 117, 143]. Наибольшими сорбционными свойствами обладает широкая ячеистая медицинская марля. Однако способность марли к сорбции значительно снижается по мере увеличения срока нахождения её в ране [88, 143, 279].

Кроме того, недостатком медицинской марли является её способность к прилипанию к ране в случае непосредственного контакта с раневой поверхностью [143, 238].

Предложено несколько модификаций медицинской марли, в частности, на основе её импрегнации. Созданный при этом перевязочный материал сохраняет достоинства последней, одновременно приобретая ряд новых свойств. Так, например, марля импрегнированная 10% раствором повидон-йода, обладает противобактериальными и противовирусными свойствами [342]. Однако она должна с осторожностью применяться у пациентов с аллергией к повидон-йоду в анамнезе. Кроме того, установлена и цитотоксичность повидон-йода к вновь образованной или грануляционной ткани [150, 292].

Марля может также импрегнироваться антибиотиками или ферментами для повышения антибактериальных свойств или энзиматического очищения раны. Однако такое применение антибактериальных препаратов имеет ряд недостатков: 1) почти все местно применяемые антибиотики, особенно аминогликозидового ряда, могут вызывать контактную аллергию [117, 151, 203]; 2) при длительном применении возможно развитие бактериальной устойчивости [117, 184]; 3) замедление заживления раны вследствие ингибирования формирования грануляционной ткани или эпителизации раны [184]; 4) инактивация антибиотиков раной [1, 184].

Марля, импрегнированная ферментами, не нашла широкого применения вследствие высокой стоимости, недостаточной стабильности нативных протеиназ и их антигенностью [1, 69, 128].

**Пенные повязки** состоят из гидрофобной полиуретановой пенной основы [350]. Преимущество пенных повязок заключается в том, что они обладают свойством абсорбции, не прилипают к ране, могут расширяться, комфортно переносятся пациентом и легко удаляются при перевязке. К недостаткам традиционных пенных повязок относятся: 1) сложность в изготовлении; 2) ограниченная защита раны от бактериального загрязнения; 3) поглощение жидкости (влаги) из окружающей среды; 4) неспособность заполнить большую или необычную по форме рану; 5) низкая абсорбционная способность [58, 147, 332]. Кроме того, эпителизация раны под пенной повязкой происходит хуже, чем под окклюзионной [147].

**Окклюзионные повязки**, независимо от их типа, обеспечивают изоляцию раны, её механическую защиту, сохранность влаги и барьерную функцию против бактерий [6].

**Плёночные окклюзионные повязки** представлены, как правило, чистыми полиуретановыми мембранами с акриловым клеем на одной стороне для прилипания [332]. Они водонепроницаемы, но проницаемы для кислорода, диоксида углерода и водяного пара [6]. Основное преимущество данных повязок заключается в поддержании влажной среды в ране, что ускоряет её эпителизацию [6, 301].

К недостаткам плёночных повязок относятся: 1) неабсорбционность, что приводит к скоплению экссудата под ними, с последующим разрушением антибактериальной защиты, созданной повязкой, и микробной контаминацией; 2) необходимость наличия в окружности раны участка интактной кожи для закрепления повязки; 3) способность замедлять контракцию; 4) вероятность повреждения вновь образованного эпителия при удалении повязки [58, 332].

**Гидроколлоиды** (гидроколлоидные окклюзионные повязки в форме липких пластин, паст или порошков) содержат гидроколлоидный матрикс, состоящий из желатина, пектина и карбоксиметилцеллюлозы [6, 235, 332]. При контакте с раневым экссудатом матрикс поглощает воду, расплавляется и формирует влажный гель [1, 6, 58, 143]. *Гидроколлоиды* имеют низкую сорбционную способность, поэтому должны применяться на слабо и умеренно экссудующих ранах [6, 58], непроницаемы для бактерий [1, 143]. Вместе с тем, гидроколлоиды нельзя применять для перевязок инфицированных ран или ран у пациентов с повышенным риском их инфицирования [143, 213].

**Альгинатные окклюзионные повязки** состоят из мягких волокон полисахарида, аналогичного целлюлозе, полученного из кальциевой соли альгиновой кислоты, содержащейся в морской водоросли [6, 282, 289]. Эти повязки выпускаются в виде нитей (для заполнения полостей), лент (для узких ран или синусов) и подушечек (для поверхностных ран) [289, 295]. Показанием к их применению служат раны с наличием экссудата. При контакте с раневым экссудатом нерастворимый альгинат кальция частично переходит в растворимую натриевую соль, что приводит к образованию гидрофильного геля, плотно закрывающего рану

[6, 143, 154, 170]. К недостаткам альгинатных повязок можно отнести их фрагментируемость и высокую растворимость геля в раневом содержимом [6]. Фрагментируемость приводит к тому, что кусочки данной повязки могут оставаться в ране, а высокая растворимость геля способствует утрате последним своей волокнистой структуры и, как следствие, – снижению абсорбционных и дренажных свойств повязки [6].

**Гидрогелевые окклюзионные повязки (гидрогели)** состоят из крахмального полимера, такого как полиэтиленоксид или полимеркарбоксиметилцеллюлоза, образующих трёхмерную сеть, и воды от 60 до 78% в зависимости от типа гидрогеля [6, 318, 343]. Выпускаются в форме аморфных гидрогелей или гидрогелей в форме листов [245, 250, 330]. Из-за высокого содержания воды гидрогели поглощают небольшое количество раневого экссудата, что позволяет использовать их для перевязок сухих ран или ран с небольшим выделением экссудата [143, 318]. Однако многие аморфные гидрогели содержат пропиленгликоль, вещество, которое может приводить к аллергическим реакциям от лёгкой до средней степени тяжести в форме раздражения кожи, контактного дерматита или воспаления [155, 215, 331, 349]. Все гидрогели, как и альгинаты, требуют наложения дополнительной повязки для их фиксации в месте применения, что в некоторой степени усложняет их использование [6, 301].

**Биологические окклюзионные повязки** включают аллотрансплантант, ксенотрансплантант и амнион. Аллотрансплантант и ксенотрансплантант (свиная кожа) считаются временными окклюзионными повязками, так как оба отторгаются в случае длительного нахождения в ране [271]. Амнион, получаемый из человеческой плаценты, является достаточно эффективным биологическим раневым покрытием [156, 266]. Однако при его использовании имеется серьёзная опасность передачи ряда инфекций, таких, например, как сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С, цитомегаловирус человека [210, 218].

К синтетическим биологическим повязкам относятся *Biobran*, *TransCyte*, *Apligraf* и ряд других. *Biobran* состоит из силиконовой плёнки с нейлоновой тканью, представленной трёхфиламентной нитью, к которой химически прикреплен коллаген [58, 149, 178]. *TransCyte* включает человеческие

неонатальные фибробласты, выращенные на силиконовой мембране, связанной с нейлоновыми нитями *Biobran* [280]. *Apligraf* представляет собой биосинтетическую двуслойную повязку, содержащую матриксные протеины, и выделяет цитокины; однако она не содержит имеющиеся в коже меланоциты, клетки Лангерганса, макрофаги, лимфоциты или её придатки [208, 225]. Такие повязки, содержащие матриксные белки, ростовые факторы и живые клетки кожи, не получили широкого распространения в медицине из-за сложности их изготовления, малого срока годности и высокой стоимости [14].

К группе **кремов, мазей и растворов**, используемых для местного лечения ран, относится большая группа медикаментов, начиная от пасты оксида цинка до современных препаратов, содержащих факторы роста. Многие из кремов, мазей и растворов обладают антибактериальными свойствами [1]. Другие содержат энзиматические препараты (трипсин, фибринолизин, ДНКазу, бактериальную коллагеназу и др.) или факторы роста (эпидермальный фактор роста, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и др.), поглотители свободных радикалов (аллопуринол, диметилсульфоксид), препараты, уменьшающие агрегацию тромбоцитов (илопрост) или связывающие факторы роста (сукральфат) [1, 117, 277]. Широко применяемые ранее растворы фурацилина, риванола, этоний практически полностью утратили свою антимикробную активность по отношению к основным возбудителям хирургической инфекции [1, 117, 136]. С другой стороны, использование в комплексном лечении ран таких лекарственных средств, как 3% раствор перекиси водорода и гипохлорит натрия, сопровождается нарушением процессов формирования коллагена [1]. Известно, что эти лекарственные средства цитотоксичны и травмируют регенерирующий эпителий [1, 4].

В настоящее время в клинической практике для местного лечения ран широкое распространение получили различные мази, содержащие антибиотики. Общеизвестно, что мази, содержащие антибиотик, целесообразно использовать для минимизации инфицирования ран [308, 317]. Вместе с тем, по мнению ряда авторов, показания к применению антибактериальных мазей базируются на проведённых в 60-х, 70-х годах прошлого века

исследованиях, когда частота инфицирования ран колебалась от 12 до 40% [212, 259, 334].

Мази, содержащие антибиотик, легко наносятся на рану, приобретают форму раневой поверхности и являются окклюзионными по своей природе [1]. При нанесении на рану антибиотик доставляется непосредственно на раневую поверхность и ограничивает формирование струпа. Антибактериальная активность мази длится приблизительно 12 часов. Однако мази, являющиеся суспензиями воды в масле, не смешиваются с водой и рана с трудом очищается от них. Кроме того, эти мази имеют ограниченное применение после восстановления эпителия [1, 143]. Одновременно в связи с более частым употреблением антибиотиков значительно участились аллергические реакции. Так, аллергический контактный дерматит при применении мазей, содержащих антибиотики, встречается у 10–13% пациентов [220]. Кроме того, возрастает и частота высеваемости антибиотикорезистентной микрофлоры из таких ран [17, 159, 185]. Чувствительность госпитальных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Balantidium coli* к мазям на жировой основе не превышает 1–5% [117]. Ихтиоловая мазь и мазь Вишневского в настоящее время практически полностью утратили свою клиническую значимость [1].

Особая роль в лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей отводится лазерам. В медицине с этой целью в большинстве случаев применяется низкоинтенсивное лазерное излучение (мощность на выходе 5–30 мВт) [19]. Лазерная терапия обладает иммуномодулирующими, противовоспалительными, трофикорегенераторными свойствами [19, 114]. Показано, что использование лазеров в терапии гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей сопровождается ускорением эпителизации и сокращением сроков заживления ран [141]. В ходе дальнейшего развития способов применения лазерного излучения появилась фотодинамическая терапия – метод, основанный на избирательном накоплении клетками-мишенями фотосенсибилизатора с последующим облучением их лазерным излучением определённой интенсивности и длины волны, что приводило к гибели данных клеток [5, 135, 181, 288]. Фотодинамическая терапия, применяемая для лечения гнойных ран, обладает антибактериальным и противовоспалительным

эффектом [5]. Однако полностью её возможности не раскрыты.

Следовательно, большое разнообразие возбудителей воспалительных процессов в мягких тканях при различной их чувствительности к антибактериальным препаратам и развитию антибиотикорезистентности, в том числе полирезистентности, определяет необходимость разработки более эффективных средств местного лечения ран мягких тканей. Одним из главных условий такого лечения является эффективное подавление микробного возбудителя на основе использования средств, обладающих антибактериальным действием одновременно как на грамположительные, так и на грамотрицательные микроорганизмы и грибы, с исключением развития к ним резистентности. В связи с вышеизложенным, актуальной представляется разработка новых типов перевязочных материалов на основе нанотехнологий. В этом плане перспективными являются наноформы драгоценных металлов.

#### **1.4 Применение золота и серебра для лечения ран мягких тканей**

На протяжении длительного времени существования цивилизации медиками предпринимались попытки использования ряда драгоценных металлов в медицине и, в частности, в лечении ран. Среди них предпочтение отдавалось серебру и золоту.

##### **1.4.1 Медицинские эффекты серебра**

Серебро представляет собой белый, блестящий металлический элемент, занимающий 47-е место в таблице Д.И. Менделеева, с символом Ag, означающим argentum (с лат. серебро) [107, 305].

Тело человека содержит незначительное количество серебра: в мышечной ткани  $(0,009-0,28) \times 10^{-4}\%$ , в костной  $(0,01-0,44) \times 10^{-4}\%$ , в крови  $<0,003$  мг/л. В то же время содержание серебра в земной коре составляет  $0,07 \times 10^{-4}\%$  [107, 187]. Наиболее богаты серебром мозг, железы внутренней секреции, печень, почки и кости скелета [187, 214].

В медицине серебро использовалось и используется, прежде

всего, исходя из его дезинфицирующих свойств. Серебряный порошок, как полагал Гиппократ, обладает излечивающими свойствами, и рекомендовался им для лечения трофических язв. Александр Македонский (335 г. до н.э.) хранил и пил воду из серебряных сосудов во время своих многочисленных военных походов [267]. Серебро использовалось для очистки и хранения воды на борту космической станции «Мир» и космических кораблей НАСА [267].

Вместе с тем, в медицинскую практику вошли именно соединения серебра. Из них одним из первых был применён нитрат серебра. Первоначально он использовался в твёрдой (цельной) форме, известной под названием «ляпис», или «адский камень». Первое упоминание о его применении относится к 15 веку [244]. В 17–18 веках из-за своего прижигающего действия он считался эффективным средством в лечении бородавок, кондилом, хронических ран, язв, свищей и даже твёрдого шанкра [244, 264]. В 19 веке ляпис получил распространение для прижигания чрезмерных грануляций в ранах и лечения ожогов [188].

В начале 19 века в медицине для обработки гипертрофических грануляций стали использоваться растворы нитрата серебра: 3,4% раствор нитрата серебра и льняного масла, 8,4% раствор нитрата серебра [244]. Норс предложил 4,6% раствор нитрата серебра для обработки раны при подготовке к пересадке кожи [244, 267]. В это же время новым показанием к применению раствора нитрата серебра явилось его использование для лечения ран и раневой инфекции. Проводимые исследования, давшие положительные результаты, привели к тому, что соединения серебра стали одним из главных средств для лечения и профилактики раневой инфекции в Первую мировую войну [244].

В первые десятилетия 20 века при лечении ожогов и ран, в том числе ран с пересаженной кожей, стала применяться серебряная фольга [244]. Серебряная фольга уменьшала боль, обладала бактерицидными свойствами, стимулировала рост грануляционной ткани.

В связи с открытием в 1941 г. первого антибиотика, пенициллина, интерес к серебру, как противомикробному препарату, исчез почти на 40 лет [243, 244]. Однако появление

антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов, таких как, например, *Pseudomonas aeruginosa*, метициллин-резистентного штамма *Staphylococcus aureus*, обусловило поиск новых антибактериальных препаратов. Одним из них вновь оказался нитрат серебра. В 1965 г. Моер, проведя эксперименты *in vivo* и *in vitro*, установил, что 0,5% концентрация раствора нитрата серебра является той минимальной концентрацией, при которой ещё наблюдается антибактериальное действие в отношении золотистого и гемолитического стафилококка, синегнойной и кишечной палочки, стрептококков. При этом отсутствует токсический эффект на растущие эпидермальные клетки [337].

Вместе с тем, использование нитрата серебра в комбустиологии показало, что этот препарат обладает рядом недостатков, таких как метгемоглобинемия и необходимость частого смачивания. Это вынудило Бутчера с соавт. искать возможную ему альтернативу среди других солей серебра [204]. Выбор исследователей остановился на лактате серебра (содержит 0,43% ионов серебра) и ацетате серебра (0,35% ионов серебра) на основе гидрофильной мази. В 1968 г. Фокс представил сульфадиазин серебра [243]. Было установлено, что для гибели бактерий и грибов необходима, по крайней мере, 1% его мазь [214, 243, 267].

Для оценки возможного всасывания серебра проводились исследования с радиоактивным сульфадиазином серебра. У экспериментальных животных наличие серебра было продемонстрировано только в коже и отсутствовало в крови и в других органах [267].

В течение последних лет предлагались различные серебросодержащие повязки для лечения ран (silverlon, silvasorb, contreet-H, arglaes, aquacel-Ag и другие). Их появление объяснялось большей практичностью применения серебра на повязке, чем при использовании отдельно в виде раствора, соли или цельного вещества [171, 247, 274, 313].

Механизм действия серебра на микроорганизмы тщательно изучается, но полностью не раскрыт. В настоящее время общепризнано, что серебро является противомикробным средством с широким спектром действия, включающим воздействие не только на бактерии, как например метициллин-устойчивый золотистый стафилококк или ванкомицин-

устойчивые энтерококки, но и грибы [179]. Чистое металлическое серебро инертно и не реагирует с тканями человека или микроорганизмами до ионизации. Для проявления антибактериального действия оно должно быть ионизировано [315, 323]. Ион серебра является химически активным, легко связываясь с отрицательно заряженными белками, РНК, ДНК, ионами хлора и т.д. Именно это свойство лежит в основе антибактериального механизма действия. В то же время, оно может усложнять доставку ионов серебра к раневой поверхности в связи с лёгким связыванием данных ионов с белками раневого отделяемого [107, 171, 229, 274].

Антибактериальное действие серебра объясняется: 1) его воздействием на дыхательные ферменты и компоненты системы микробного транспорта электронов вследствие взаимодействия с тиоловыми группами [248]; 2) взаимодействием с основаниями ДНК, что приводит к ингибированию репликации последней и, соответственно, нарушению ряда её функций [267].

Установлено, что концентрация  $10^5$ – $10^7$  ионов серебра на бактериальную клетку является летальной [204]. Высказано предположение, что летальная концентрация ионов серебра в клетке эквивалентна количеству имеющихся бактериальных клеточных ферментов [204]. Антимикробное действие серебра проявляется практически мгновенно, как только оно достигнет микроорганизма [204].

Следует подчеркнуть, что в литературе описаны случаи появления устойчивых к серебру штаммов бактерий, главным образом в ожоговых отделениях, где нитрат и сульфадиазин серебра применяются для местного лечения ожогов [163, 202]. Существует две формы устойчивости микроорганизмов к серебру: 1) серебро связывается с клеткой в форме внутриклеточного комплекса; 2) серебро выводится из микроорганизма посредством клеточной системы выведения [201]. В лабораторных условиях было продемонстрировано, что устойчивость к серебру развивается при применении его в низких концентрациях [204]. Бактерицидные концентрации серебра не вызывают развитие устойчивости [230].

Изучение антимикробного эффекта серебра проводится наряду с рассмотрением вопросов его токсичности. Как и большинство тяжёлых металлов, серебро крайне медленно

выводится из организма и при постоянном поступлении накапливается [106]. Концентрация раствора нитрата серебра, превышающая 1%, является токсичной по отношению к тканям [337].

В настоящее время имеются исследования, свидетельствующие о том, что при применении серебра в лечении ран последнее попадает в системный кровоток и затем выводится [187]. Поглощение серебра увеличивается вследствие воспаления и клеточной пролиферации [267]. Однако сообщений о накоплении серебра в какой-либо ткани организма после его местного применения нет. В то же время в литературе имеется описание транзиторной острой лейкопении при лечении пациентов с ожогами сульфадиазином серебра [217, 219].

Вследствие длительного применения внутрь серебра либо его соединений может развиваться необратимая серо-голубая пигментация кожи и/или глаз – аргирия, или аргироз, из-за отложения серебра в мальпигиевом слое кожи и подкожно-жировой клетчатке, которая угрозы для жизни не представляет [227, 267]. Следует подчеркнуть, что описания данного осложнения при местном применении соединений серебра в литературе не встречается [106, 201].

При длительном применении внутрь солей серебра развивается жировая дегенерация печени и почек, происходят изменения клеток крови [199]. В то же время серебро в любой форме не является токсичным по отношению к сердечно-сосудистой, нервной, репродуктивной системам и не обладает канцерогенным эффектом [199].

Разовая доза 6,35 граммов чистого серебра является смертельной [106].

Таким образом, антимикробный эффект серебра и его соединений очевиден. Однако применение серебра в сублетальных для микроорганизмов концентрациях может приводить к развитию бактериальной устойчивости. Одновременно, несмотря на наличие выраженного антимикробного действия, серебро и его соединения не безвредны для организма при неконтролируемом использовании. Тем не менее, в настоящее время в медицине продолжается поиск наиболее эффективных способов применения серебра, прежде всего для быстрого и эффективного заживления как острых, так и

хронических ран. Вместе с тем, при местном применении серебра исследователи сталкиваются с рядом проблем, таких как низкий уровень высвобождения серебра, ограниченное число высвобождаемых ионов, отсутствие глубокого их проникновения в ткани и быстрое поглощение, наличие побочных продуктов в ране: нитратных оснований (при применении раствора нитрата серебра) или мази (при применении сульфадиазина серебра), которые отрицательно воздействуют на течение раневого процесса. В таком случае возможным вариантом местного применения серебра может стать использование серебрянных наночастиц на основе развития нанотехнологий.

#### 1.4.2 Медицинские эффекты золота

Золото – это мягкий, блестящий металлический элемент характерного жёлтого цвета, занимающий 79-е место в таблице Д. И. Менделеева, с символом Au [144]. В костной ткани тела человека содержится  $0,016 \times 10^{-4}\%$  золота, в крови –  $(0,1-4,2) \times 10^{-4}$  мг/л [144].

Свидетельства наиболее раннего медицинского использования золота, как «эликсира жизни», относятся к 2500 г. до н.э. в Китае [152, 157, 241, 255]. В это же время в Индии коллоидное красное золото («Swarna Bhasma»: Swarna означает золото, Bhasma – пепел) применялось для омоложения и ревитализации в пожилом возрасте [261, 262, 284], а киноварь золота («Makaradhwaја») использовалась как лекарство для восстановления энергетики организма [260]. Золотая проволока получила распространение в лечении переломов нижней челюсти (5 век до н.э.) [263]. Диоскорид, греческий врач, в 1 веке н.э. в своем труде «Materia Medica» упоминает, что золото в форме порошка может явиться антидотом при отравлении ртутью [320]. В первом столетии н.э. Плиний пишет о том, что золото излечивает свищи и геморрой. Он также приводит мнение энциклопедиста первого столетия до н.э. Маркуса Варро о целесообразности лечения бородавок растиранием золотом [162].

С расцветом Ислама на Ближнем Востоке исламская культура сохранила достижения медицины и результаты исследований алхимиков, продолжая и развивая их. Из исторических источников установлено, что известный

врачеватель востока Аль-Кинди около 870 года н.э. применял золото для покрытия пилюль как с целью улучшения их внешнего вида, так и для повышения лечебных свойств лекарств [256, 336].

Дальнейшие попытки применения золота в медицине были связаны с открытием эры питьевого золота, т.е. его растворов, пригодных для применения внутрь, в которых, как считалось в то время, содержится золото в растворимой форме [284]. Существовало мнение, что питьевое золото, принятое внутрь в малых дозах, излечивает все болезни, омолаживает тело и делает жизнь более продолжительной [275, 284, 319, 333].

В начале 17 столетия упоминания о золоте начали появляться в официальных сборниках лекарств (фармакопеях) в Германии и Англии [336, 340, 341]. К середине 17 столетия сторонники применения золота в медицине получили тщательно продуманное объяснение его медицинской эффективности. Большинство врачей говорили о «сердечности» золота, что означало его успокаивающий или целительный эффект на сердце [303, 319].

Обычные препараты медицинского золота с этого периода развития медицины разделились на три группы. Первую группу составили препараты коллоидного золота [287]. Вторая группа была представлена популярным препаратом фульминат золота (гремучее золото). Врачи предписывали ему потогонные, а также успокаивающие свойства [263, 287]. В третью группу вошли питьевые продукты золота [287]. Вместе с тем, к концу 17 столетия врачи пришли к заключению, что препараты золота оказались или слишком едкими (хлориды золота), или слишком опасными (гремучее золото), или инертными (коллоидные и препараты алхимиков). Одновременно развитие научной химии рассеяло утверждения алхимиков касательно целесообразности клинического применения медицинского золота. Это привело к тому, что медицинское использование золота в 18 веке практически прекратилось [263, 312]. Однако в 1811 году французский врач из Монпелье Чрестин опубликовал книгу, в которой раскрыл новые преимущества применения золота в медицине [336]. Чрестин экспериментировал с наружным применением медикаментов для лечения пузырей или волдырей на коже и языке. Он пришёл к выводу, что двойной хлорид золота

и натрия немного лучше ртути в лечении вторичного сифилиса и вызывает значительно меньше побочных эффектов. Несколько позднее он сообщил об эффективности этих же препаратов золота в лечении зоба и золотухи [336].

В течение второй половины 19 столетия европейские врачи продолжали использовать препараты золота по постоянно увеличивающимся показаниям [336]. В это же время американский врач Кили успешно лечил пациентов с хроническим алкоголизмом множественными инъекциями низких доз двойного хлорида золота и натрия [164, 168]. В конце 19 столетия наряду с двойным хлоридом золота и натрия в клинической медицине (лечение эпилепсии) в Европе и Америке стал применяться бромид золота. Врачи того времени предполагали, что это вещество объединило «питательные» силы золота с седативным эффектом бромида [309].

Таким образом, в 19 столетии препараты золота применялись в лечении сифилиса и алкоголизма, морфиновой наркомании, преждевременного старения, нефрита, анемии, неврастении, волчанки и даже хронической диспепсии [309]. Однако в большинстве вышеперечисленных случаев золото было только вторичным лекарством, поддержкой, если стандартное лечение оказывалось не эффективным [309].

Интенсивным применением золота в медицине охарактеризовалось 20 столетие. Начало этому было положено ещё в XIX веке открытием в 1890 году немецким бактериологом Робертом Кохом бактериостатического эффекта *in vitro* цианида золота по отношению к бацилле туберкулёза [242]. В конце 20-х годов 20 века золото применялось в лечении пациентов ревматоидным артритом, что обосновывалось врачами существующей теорией его туберкулёзного происхождения [222]. С конца 20-х годов 20 столетия препараты золота стали использоваться для лечения множества других ревматических заболеваний, включая псориатический артрит, ювенильный артрит, рецидивирующий ревматизм и дискоидную красную волчанку [173]. Обнадёживающие результаты были получены также при лечении различных воспалительных заболеваний кожи, таких как пузырчатка, крапивница и псориаз [286].

В 20 столетии в медицине стало применяться радиоактивное золото-198 в лечении злокачественных опухолей [314].

Установлена и противомаларийная активность препаратов золота [278]. Соединения золота эффективны при лечении бронхиальной астмы [329], болезни Чагаса [335]. Золото нашло применение и в лечении ВИЧ-инфекции [160].

Соединения золота обладают противогрибковым и противомикробным действием в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [253, 322]. В то же время механизм противомикробного действия не изучен.

Следует подчеркнуть, что точный механизм как лечебного, так и токсического действия применяемых в настоящее время препаратов золота (ауротиоглюкоза, ауротиомалат натрия, ауранофин) полностью не раскрыт. Остаются открытыми вопросы токсичности и побочного действия длительного применения или применения значительных доз препаратов данного металла.

Токсичность золота наиболее изучена на примере ауротиоглюкозы, ауротиомалата натрия и ауранофина. Побочные реакции при применении данных препаратов испытывают до 30% пациентов [166]. Более половины всех побочных эффектов составляют дерматологические проявления. Вторыми по частоте встречаемости являются гастроинтестинальные осложнения, прежде всего диарея и жидкий стул. Наиболее распространённым осложнением со стороны почек является протеинурия, полностью разрешающаяся после прекращения терапии в срок от нескольких недель до 2 лет [327]. Процесс выведения препаратов золота из организма занимает длительное время. Во время первой недели с мочой выделяется от 12 до 30% золота, к концу второй – 34% и 43% – к концу четвёртой недели [285].

В литературе встречается описание единичных случаев более серьёзных осложнений: лёгочный фиброз, энтероколит, нефротический синдром, апластическая анемия, тромбоцитопения, лейкопения, токсический эпидермальный некролиз [285]. При длительном применении высоких доз препаратов золота, когда суммарная доза за весь период лечения превышает 50 мг/кг [176], может развиваться хризиаз – изменение окраски кожных покровов от серо-синего до фиолетового [176].

Таким образом, в настоящее время хризотерапия (или

ауротерапия) – лечение препаратами, основанными на золоте (от греческого слова *chrysos* – золото и от латинского *augur* – золото) является признанной частью современной медицины. Положительный эффект препаратов золота доказан при лечении целого ряда заболеваний, отличающихся по причинам и механизму развития. Вместе с тем, остаются открытыми вопросы механизма их воздействия на организм пациента. До конца не изучены и возможные токсические воздействия препаратов золота, а, следовательно, и механизмы развития токсических реакций. Кроме того, противомикробные свойства соединений золота изучены и использованы недостаточно. Это является особо актуальным в последнее время в связи с появлением полиантибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Большие перспективы в данном научном проекте появляются в связи с интенсивно развивающимися в течение последних лет нанотехнологиями.

### **1.5 Перспективы использования наночастиц золота и серебра для лечения ран мягких тканей**

Научно-технологические достижения XX века предоставили возможность использовать нанотехнологии в различных сферах человеческой деятельности, в том числе и в медицине. В последнее десятилетие в мире происходит бурное развитие нанотехнологии в целом, и наномедицины, в частности [77, 87, 132, 158, 276]. Нанотехнология – это наука, изучающая получение, обработку и использование веществ и материалов в диапазоне размеров от 1 до 100 нм [78, 132, 146]. По определению Национальных институтов здоровья США, использование нанотехнологии для диагностики, мониторинга и лечения называется наномедициной [98, 132, 272]. В течение последних лет происходит активное исследование различных наноматериалов, среди которых лидирующее положение занимают наночастицы [87, 131, 132, 321].

Пристальное внимание исследователей всего мира к нанотехнологиям объясняется тем, что свойства наноразмерных материалов существенно отличаются от свойств этих же веществ в обычном (массивном) состоянии. Связано данное обстоятельство с двумя причинами: во-первых, с увеличением

относительной площади поверхности наночастицы в расчёте на единицу массы, и, во-вторых, с доминированием размерзависимых свойств наноформы вещества при приближении к наноразмерам [78, 98, 268]. Наночастицы золота и серебра привлекли внимание, прежде всего, в связи с их уникальными электронными, оптическими, термическими, химическими, биологическими свойствами и, соответственно, многообещающим применением в разных областях науки, включающих биологию, медицину, физику, химию, науку материалов и других междисциплинарных отраслях [78, 87, 146, 302, 344].

В настоящее время наночастицы золота и серебра применяются во многих областях медицины. Так, они могут быть носителями или переносчиками различных молекул, таких как молекулы лекарств, больших биомолекул, как белки, ДНК и РНК, двухатомных терапевтических препаратов, таких как синглетный кислород или оксид азота [175, 182, 290, 306, 339]. Покрытые специфическими антителами, наночастицы золота являются многообещающей альтернативой в качестве проб для определения антигенов на поверхности клеток [207, 209, 236, 237]. ДНК-функционализированные наночастицы золота нашли применение в определении токсических металлов, таких как ртуть, в человеческом теле и в окружающей среде (реки, озёра, океаны) [252]. Наночастицы золота могут использоваться как очень эффективные детекторы токсинов, бактерий, и вирусов [297, 310, 325]. Конъюгированные с антибиотиками, в частности, с ципрофлоксацином, стрептомицином, гентамицином, неомицином, ампициллином, канамицином, ванкомицином и рядом других, наночастицы золота повышают антибактериальные свойства последних [177, 224, 232, 293, 300]. Исходя из этого, учитывая наличие у серебра и золота антибактериальных свойств, можно предположить, что их наночастицы также будут обладать данными свойствами.

В то же время, наночастицы золота и серебра являются несколько обособленным классом веществ, поэтому целесообразно изучить не только их антибактериальные, но и токсические свойства, их влияние на заживление экспериментальной асептической или контаминированной ран мягких тканей.

Следует подчеркнуть, что данных о влиянии лазеров на антимикробные эффекты наночастиц, в том числе и драгоценных металлов, в анализируемой доступной литературе нами не встречено. Не исследовано и изменение антимикробных свойств наночастиц золота и наночастиц серебра с учётом эффекта плазмонного резонанса. Плазмонный резонанс (англ. *plasmon resonance*) – возбуждение поверхностного плазмона на его резонансной частоте внешней электромагнитной волной (в случае наноразмерных металлических структур называется локальным плазмонным резонансом) [307, 328]. При воздействии электромагнитным излучением определённой длины волны (соответствующей частоте локального плазмонного резонанса) на наночастицы металла делокализованные электроны проводимости металла будут возбуждаться и коллективно колебаться относительно кристаллической решётки положительно заряжённых ядер с частотой падающего света. Этот процесс может быть разделён на два типа взаимодействия: рассеяние, при котором падающий свет переизлучается при той же длине волны во всех направлениях, и поглощение, при котором энергия трансформируется в вибрации кристаллической решётки (т.е. фононов), типично наблюдаемой как тепло [221, 233]. Схема локального плазмонного резонанса представлена на рисунке 1.1 [221].

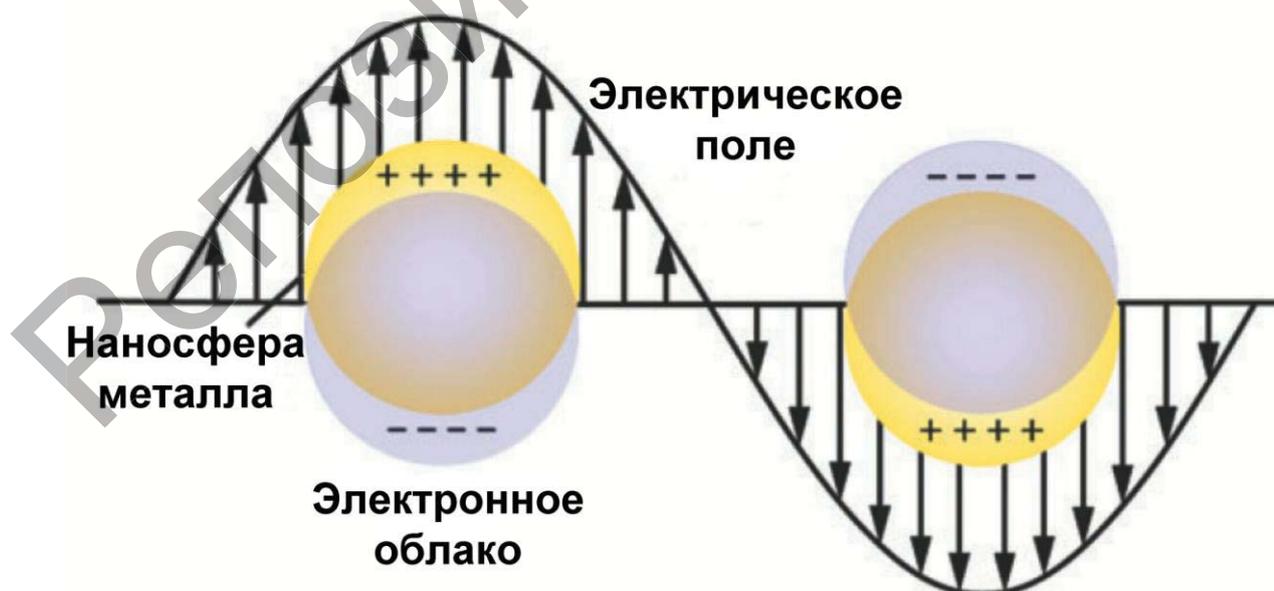


Рисунок 1.1 – Схема локального плазмонного резонанса

В соответствии с рисунком 1.1, локальный поверхностный плазмонный резонанс возникает вследствие коллективного колебания делокализованных электронов в ответ на внешнее электрическое поле.

Необходимо отметить, что в литературе сведений о влиянии нанокompозитного перевязочного материала с наночастицами золота и серебра на заживление ран нами не встречено. В связи с этим возникает необходимость изучения влияния данных перевязочных материалов на заживление экспериментальных ран мягких тканей, микрофлору раневого процесса и состояние гомеостаза организма экспериментальных животных.

Таким образом, на основании вышеизложенного обзора литературы можно заключить, что 1) в настоящее время гнойно-воспалительные осложнения ран встречаются у 3,1–33% пациентов с ранами различной этиологии; 2) антибиотикорезистентность микрофлоры ран достигает 70–100%; 3) несмотря на наличие различных типов повязок, совместить все свойства «идеальной повязки» в одной не удалось; 4) физико-химические и биологические свойства наночастиц золота и серебра позволяют рассматривать новые нанокompозитные перевязочные материалы как перспективное направление в лечении ран мягких тканей.

В связи с вышеизложенным нами проведено исследование с целью обоснования применения, доказательства эффективности и предложения медицинских изделий из нанокompозитных перевязочных материалов, содержащих наночастицы золота или серебра, для лечения ран мягких тканей.

Задачами исследования явились:

1. Определение антимикробной и противогрибковой эффективности бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, и установление её изменения под влиянием лазерного излучения.

2. Выяснение влияния перевязочного материала из бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на течение раневого процесса в экспериментальных ранах.

3. Изучения влияние бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на некоторые показатели гомеостаза организма экспериментальных животных в процессе лечения ран.

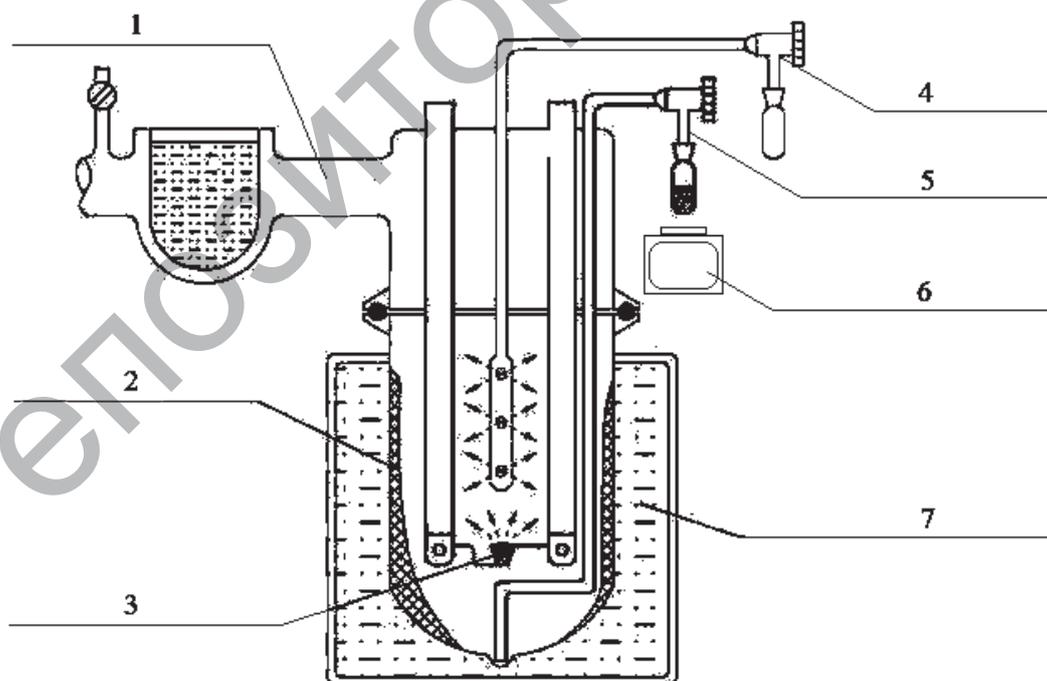
4. Разработка рекомендации по изготовлению, стерилизации и применению изделий из нанокompозитных перевязочных материалов для лечения ран мягких тканей.

Объект исследования включал: бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота или серебра, штаммы микроорганизмов, лабораторные белые крысы.

Предметом исследования явились количество КОЕ микроорганизмов, раны, гистологические препараты ран, печени, почек, сердца, общие, биохимические, иммунологические показатели крови животных, площадь экспериментальных ран.

В выполненном нами исследовании использовался отечественный бинт марлевый медицинский (ГОСТ 1172-93) производства ООО «Фарма-маркет», г. Минск, РБ, в качестве контроля и опыта. Опытные экземпляры бинта марлевого медицинского были представлены бинтом, содержащим наночастицы золота или серебра, размерами от 4 до 30 нм, контрольные – данным бинтом без модификации.

Наночастицы металлов получались методом металлопарового синтеза. На рисунке 1.2 представлена принципиальная схема реактора установки металлопарового синтеза.



1 – вакуумная линия; 2 – матрица низкотемпературного соконденсата; 3 – резистивный испаритель с образцом металла; 4 – линия подачи органического реагента; 5 – линия сифонирования продуктов; 6 – магнитная мешалка; 7 – ёмкость с жидким азотом

**Рисунок 1.2 – Схема реактора установки металлопарового синтеза**

Внешний вид применяемой установки металло-парового синтеза для получения наночастиц золота или серебра представлен на рисунке 1.3.



**Рисунок 1.3 – Установка для получения наночастиц золота или серебра металло-паровым синтезом**

В ходе синтеза золото (99,99%) в виде фольги испарялось с вольфрамового прутка диаметром 1,5 мм. Серебро (99,99%) в виде кусочков испарялось из танталовой лодочки резистивным нагревом.

При получении органозоля золота в качестве органической дисперсионной среды использовался триэтиламин, а для серебра – изопропанол. Изопропанол (Fluka, 99,8%) и триэтиламин (Aldrich, 99,2%) перед синтезом дегазировались в вакууме путём чередования циклов замораживание-размораживание.

Предварительно изопропанол кипятился над цеолитами 4 Å и перегонялся в атмосфере аргона. Триэтиламин кипятился над натрием и перегонялся в атмосфере аргона.

В процессе синтеза в установке с реактором из кварцевого стекла (рисунок 1.2) объёмом 5 л поддерживался вакуум не выше  $10^{-4}$  мм рт. ст. при использовании высоковакуумного поста.

В типичном эксперименте в синтезе использовалось

120–150 мл органического реагента и испарялось 0,1–0,12 граммов металла.

Подача органического реагента регулировалась краном тонкой регулировки.

Перед началом синтеза стеклянная колба реактора погружалась в сосуд с жидким азотом, после чего подавался органический реагент (изопропанол или триэтиламин), который конденсировался на охлаждаемых стенках реактора совместно с парами металла примерно 1,5 часа.

После окончания синтеза охлаждение убиралось, реактор с помощью шибера отсекался от вакуумного поста. В реактор подавался аргон; соконденсат металла и органики разогревался до температуры плавления. Полученным коллоидным раствором металлов пропитывался бинт марлевый медицинский, который находился до модифицирования в вакуумированной колбе.

Избыток органозоля удалялся сушкой в вакууме ( $10^{-1}$  мм рт.ст.) при температуре  $80^{\circ}\text{C}$ .

Стерилизация контрольного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра, осуществлялась в вакуумном автоклаве Клиниклав-25 в течение 16 минут при температуре  $121^{\circ}\text{C}$ .

Представленные в данной монографии данные показывают, что метод металло-парового синтеза позволяет получить качественный нанокompозитный перевязочный материал для экспериментального тестирования и обоснования его клинического применения.

## ГЛАВА 2

### АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ И ПРОТИВОГРИБКОВЫЙ ЭФФЕКТ НАНОКОМПОЗИТНОГО ПЕРЕВЯЗОЧНОГО МАТЕРИАЛА IN VITRO

Для изучения антибактериального и противогрибкового эффекта *in vitro* бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы металлов, использовались штаммы грамотрицательных (*Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella spp.*), грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemoliticus*) и грибы рода *Candida* (*Candida spp.*). Все они были получены из гнойных ран у пациентов хирургических отделений лечебных учреждений г. Гродно и проявляли высокую антибиотикоустойчивость.

Забор отделяемого для микробиологического исследования производился у пациентов с гнойными ранами с использованием стандартных одноразовых стерильных тампонов фирмы Heinz Herenz. В течение часа материал доставлялся в микробиологическую лабораторию, где осуществлялись выделение чистой культуры микроба, идентификация её с помощью прибора BioMerieux Vitek. Производилось определение антибиотикочувствительности каждого микроорганизма, а для гриба *Candida spp.* устанавливалась чувствительность к противогрибковым препаратам.

Определение антибактериальной и противогрибковой чувствительности осуществлялось методом диффузии в агар с использованием дисков.

Чувствительность бактерий к шести наиболее часто применяемым в хирургических стационарах Беларуси антибиотикам (амоксциллин (АКЦ), цефазолин (ЦЗ), цефалексин (ЦФЛ), ципрофлоксацин (ЦИП), гентамицин (ГЕН), эритромицин (ЭРИ)) представлена в таблице 2.1.

Таблица 2.1 - Антибактериальная чувствительность видов микроорганизмов, использованных в исследовании

Вид микроорганизма	Антибиотики					
	АКЦ	ЦЗ	ЦФЛ	ЦИП	ГЕН	ЭРИ
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	S	R
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	S	R	S	S	S
<i>Salmonella enteritidis</i>	R	R	R	S	I	R
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	I	S	S	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Klebsiella pneumonia</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	R	S	S	S	S	R
<i>Acinetobacter baumannii</i>	R	R	I	S	S	S
<i>Moraxella spp.</i>	R	R	R	R	R	I

Примечания –

1 S – микроорганизм чувствителен к данному антибиотику;

2 I – наблюдается умеренная устойчивость микроорганизма к представленному антибиотику;

3 R – микроорганизм устойчив к данному антибиотику.

Чувствительность гриба *Candida spp.* к противогрибковым препаратам отражена в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Чувствительность гриба *Candida spp.*, использованного в исследовании, к противогрибковым препаратам

Вид гриба	Противогрибковые препараты				
	амфотерицин В	флуконазол	итраконазол	нистатин	кетоконазол
<i>Candida spp.</i>	S	S	R	R	R

Примечания –

1 S – гриб чувствителен к данному препарату;

2 R – гриб устойчив к данному препарату.

Эксперименты проводились с соблюдением всех правил и норм при работе с микроорганизмами 3 и 4 групп патогенности [103].

Выделенная культура микроба заседалась на скошенный мясопептонный агар. После суточного культивирования осуществлялись смыв стерильным 0,85% раствором NaCl (5 мл) и разведение до нужной концентрации этим же раствором путём последовательного засева на чашки Петри с агаром разных концентраций микроорганизма. Нужная концентрация соответствовала формированию после засева чашки Петри мерной пипеткой 0,1 мл суспензии микроба и суточного термостатирования при 37,0°C порядка 100 КОЕ. В исследовании использовались следующие посевные концентрации микроорганизмов:  $0,5 \times 10^{-5}$  для *Staphylococcus haemolyticus* и

*Acinetobacter baumannii*,  $10^{-5}$  для *Candida spp.*,  $0,5 \times 10^{-6}$  для *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia* и *Escherichia coli*, для *Moraxella spp.*  $10^{-6}$  и для *Pseudomonas aeruginosa*  $10^{-7}$ .

Производился засев 0,1 мл полученной взвеси микроорганизмов на чашку Петри с мясопептонным агаром. Затем на каждую чашку помещалось по 2 полоски бинта марлевого медицинского, размерами 1,5×4 см. В качестве контроля использовался стандартный бинт марлевый медицинский, в опытных группах применялся бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота или серебра. После этого все чашки Петри помещались в термостат при температуре 37,0°C. Через 24 часа осуществлялся подсчёт КОЕ в обе стороны от края бинта на расстоянии от края, равном диаметру одной колонии *ad oculus* и с использованием бинокулярной лупы.

Бактерии культивировались на мясопептонном агаре «Pronadisa» производства Laboratorios Conda, S.A., который готовился и стерилизовался согласно инструкции фирмы-производителя. Для культивирования гриба *Candida spp.* к этой среде добавлялась глюкоза из расчёта 10 граммов на 1 литр среды.

Для сопоставления экспериментальных данных, полученных нами в разное время, абстрагировались от конкретных цифр количества КОЕ и переводили их в уменьшение количества КОЕ по отношению к соответствующему контролю, который брался за 100%. После чего статистически обрабатывались данные с использованием процентной величины как совокупной контрольной группы, так и процентных величин экспериментальных групп. Для сравнения противомикробного действия бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, вычислялось уменьшение количества КОЕ по отношению к контролю по формуле [153]:

$$\text{Уменьшение количества КОЕ (\%)} = 100 \cdot \frac{A - B}{A} \quad (2.1)$$

где:

A – среднее значение количества КОЕ по краю бинта в группах контроля;

B – среднее значение количества КОЕ в группах с бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы золота или серебра.

## 2.1 Антибактериальный и противогрибковый эффект *in vitro* бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота

Результаты исследования *in vitro* противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, представлены в таблице 2.3. Количество КОЕ изучаемых микроорганизмов вместе с уровнем статистической значимости отражены в виде  $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$ , где  $Me$  – медиана,  $V_{0,25}$  – нижний квартиль,  $V_{0,75}$  – верхний квартиль.

Таблица 2.3 - Количество колониеобразующих единиц исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, на расстоянии в обе стороны от края, равном диаметру одной колонии ( $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$ )

<i>Вид микроорганизма</i>	<i>Контроль (обычный бинт)</i>	<i>Бинт, содержащий наночастицы золота</i>	<i>p</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11,0 (7,5; 14,5)	3,5 (2,0; 4,5)	0,002
<i>Proteus mirabilis</i>	5,0 (5,0; 6,0)	4,0 (3,0; 5,0)	0,03
<i>Moraxella spp.</i>	8,0 (5,0; 8,5)	2,5 (1,5; 4,5)	0,002
<i>Escherichia coli</i>	16,0 (13,5; 17,5)	7,5 (7,0; 8,5)	<0,001
<i>Klebsiella pneumonia</i>	6,5 (6,0; 7,0)	4,0 (3,0; 4,0)	<0,001
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10,0 (7,0; 11,0)	5,0 (3,5; 6,5)	0,004
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,0 (6,0; 8,0)	5,0 (4,0; 6,0)	0,01
<i>Salmonella enteritidis</i>	16,0 (16,0; 18,0)	15,0 (14,0; 16,0)	0,03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,0 (5,0; 6,0)	1,5 (1,0; 2,0)	<0,001
<i>Candida spp.</i>	16,5 (13,5; 19,0)	1,0 (0,0; 1,0)	0,004

*Примечание* –  $p$  – уровень статистической значимости между группами контроля и марлей с наночастицами золота.

Из данных, представленных в таблице 2.3, следует, что бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота, обладает антибактериальным действием по отношению ко всем использованным в исследовании как грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам, так и грибу рода *Candida*.

Вследствие того, что данные, приведённые в таблице 2.3, не дают возможность сравнить силу противобактериального действия данного бинта по отношению к исследуемым видам микроорганизмов между собой, нами было вычислено уменьшение количества КОЕ по отношению к контролю по формуле (2.1). Одновременно мы проанализировали наличие связи между резистентностью исследуемых микроорганизмов к антибиотикам и их резистентностью к наночастицам золота.

В таблице 2.4 представлены результаты подсчёта уменьшения количества КОЕ по отношению к контролю, количества антибиотиков, к которым устойчив каждый вид (таблица 2.1) и вычислен коэффициент корреляции между данными значениями для бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота.

Таблица 2.4 – Уменьшение количества колониеобразующих единиц бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, по отношению к контролю и количество антибиотиков, к которым устойчив вид

Вид микроорганизма	Уменьшение количества КОЕ бинта, содержащего наночастицы золота, по отношению к контролю, %	Количество антибиотиков, к которым устойчив вид, штук
<i>Candida spp.*</i>	95*	3*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	69	6
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	67	2
<i>Moraxella spp.</i>	58	5
<i>Escherichia coli</i>	49	2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	45	2
<i>Klebsiella pneumonia</i>	44	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	1
<i>Proteus mirabilis</i>	25	3
<i>Salmonella enteritidis</i>	15	4

Примечание – \* – вид *Candida spp.* не учитывался при вычислении коэффициента корреляции, т.к. он относится к грибам. Коэффициент корреляции между количеством антибиотиков, к которым устойчив вид, и уменьшением количества КОЕ по отношению к контролю бинта, содержащего наночастицы золота, равен  $r=0,18$ ,  $p=0,65$ .

Анализ данных, представленных в таблице 2.4, показал, что антимикробное и противогрибковое действие бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, неоднозначно по отношению к различным видам микроорганизмов. Так, максимальное значение уменьшения количества КОЕ по отношению к контролю, а, следовательно, и максимальное противомикробное действие бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, наблюдалось в отношении *Candida spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus haemolyticus* (>67%). Наиболее слабый эффект проявлялся в отношении *Proteus mirabilis* и *Salmonella enteritidis* (<26%).

Приведённые в таблице 2.4 данные указывают на отсутствие связи между резистентностью исследуемых микроорганизмов к антибиотикам и их резистентностью к наночастицам золота. Это

подтверждается тем, что: 1) только 3 вида микроорганизмов обладали устойчивостью к пяти антибиотикам (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Moraxella spp.*) и эти виды не заняли крайних мест в таблице 3.2; 2) значение коэффициента корреляции между уменьшением количества КОЕ по отношению к контролю и количеством антибиотиков, к которым были устойчивы виды, оказалось ближе к 0, чем к 1 (0,18).

## **2.2 Антибактериальный и противогрибковый эффект in vitro бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра**

Результаты исследования in vitro противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, представлены в таблице 2.5. Полученные значения количества КОЕ отражены в виде  $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$  вместе с уровнем статистической значимости, где  $Me$  – медиана,  $V_{0,25}$  – нижний квартиль,  $V_{0,75}$  верхний квартиль.

Из данных, представленных в таблице 2.5, следует, что бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы серебра, обладает выраженным противомикробным и противогрибковым действием. Установленный эффект наблюдается в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов.

Однако данные, приведённые в таблице 2.5, не дают возможность сравнить противомикробное действие бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, по отношению к различным видам микроорганизмов. В связи с этим было произведено вычисление уменьшения количества КОЕ изучаемых микроорганизмов по отношению к контролю по формуле (2.1). Одновременно мы изучили наличие возможной связи между антибиотикоустойчивостью микроорганизмов и их устойчивостью к действию наночастиц серебра.

С этой целью вычислялся коэффициент корреляции между количеством антибиотиков, к которым был устойчив каждый вид (таблица 2.1) и значениями уменьшения по отношению к контролю количества КОЕ изучаемых микроорганизмов.

Таблица 2.5 - Количество колониеобразующих единиц исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, на расстоянии в обе стороны от края, равном диаметру одной колонии (Me ( $V_{0,25}$ ;  $V_{0,75}$ ))

Вид микроорганизма	Контроль (обычный бинт)	Бинт, содержащий наночастицы серебра	p
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,0 (6,0; 8,0)	0,0 (0,0; 1,0)	<0,001
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11,0 (7,5; 14,5)	7,5 (6,0; 8,0)	0,049
<i>Salmonella enteritidis</i>	16,0 (16,0; 18,0)	1,0 (0,0; 1,0)	<0,001
<i>Proteus mirabilis</i>	5,0 (5,0; 6,0)	1,0 (1,0; 1,0)	<0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,0 (5,0; 6,0)	2,0 (1,0; 3,0)	<0,001
<i>Klebsiella pneumonia</i>	6,5 (6,0; 7,0)	2,0 (1,0; 3,0)	<0,001
<i>Escherichia coli</i>	16,0 (13,5; 17,5)	6,0 (4,0; 7,0)	<0,001
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10,0 (7,0; 11,0)	5,0 (4,0; 6,5)	0,005
<i>Moraxella spp.</i>	8,0 (5,0; 8,5)	3,0 (2,5; 4,0)	0,002
<i>Candida spp.</i>	16,5 (13,5; 19,0)	2,5 (1,5; 3,0)	0,004

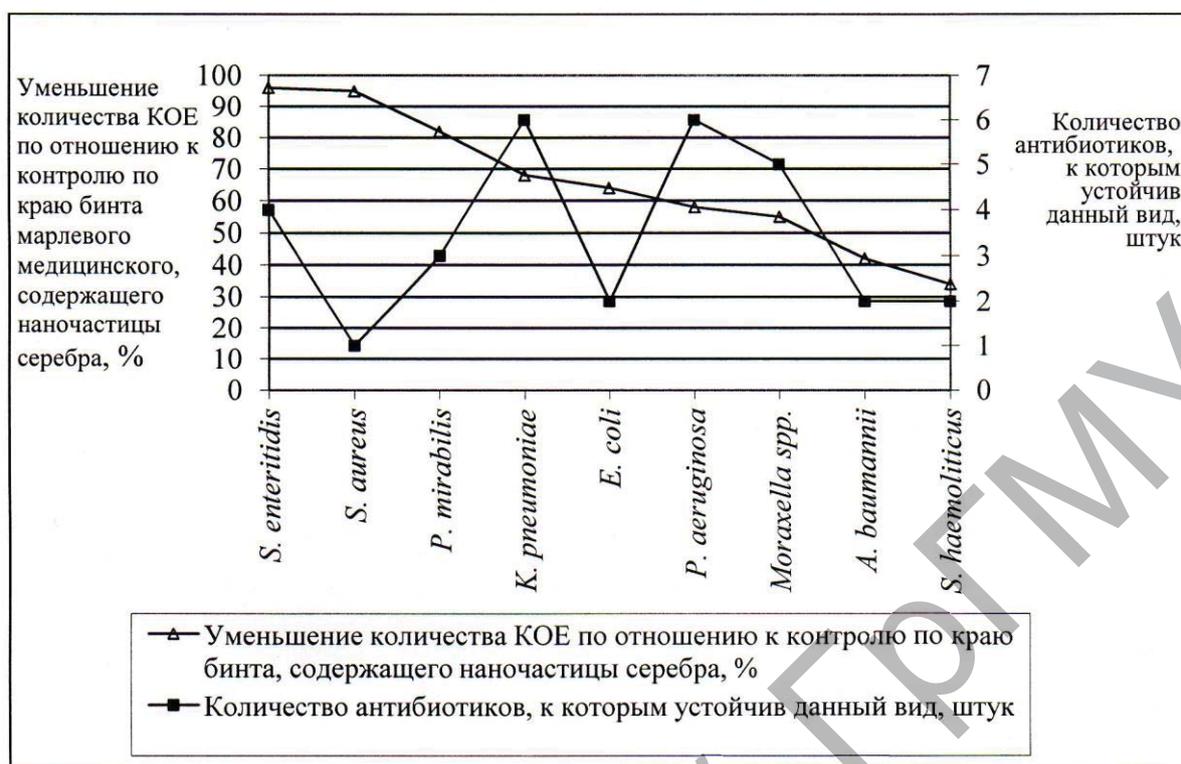
Примечание – p – уровень статистической значимости между группами контроля и марлей с наночастицами серебра.

Результаты исследований представлены на рисунке 2.1.

Данные рисунка 2.1 показывают, что максимальное значение уменьшения количества КОЕ по отношению к контролю, а, следовательно, и максимальное противобактериальное действие наблюдалось по отношению к видам *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* и *Proteus mirabilis* (>81%), наиболее слабое действие – по отношению к *Acinetobacter baumannii* и *Staphylococcus haemolyticus* (<43%).

Проведённый корреляционный анализ кривых уменьшения количества КОЕ по отношению к контролю и количества антибиотиков, к которым устойчив вид, показал, что статистически достоверной корреляции между ними не имеется (коэффициент корреляции равен  $r=0,03$ ,  $p=0,93$ ). Следовательно, связи между резистентностью микроорганизмов к антибиотикам и резистентностью к наночастицам серебра не наблюдается.

Уменьшение количества КОЕ по отношению к контролю для *Candida spp.* составило 86%. Эти данные говорят о том, что бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы серебра, проявляет также выраженные противогрибковые свойства по отношению к грибу рода *Candida*.



**Рисунок 2.1 – Уменьшение количества КОЕ по отношению к контролю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, и количество антибиотиков, к которым устойчив данный вид**

Таким образом, на основании выполненных исследований можно заключить, что:

1. Бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота, и бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы серебра, обладают антибактериальной активностью в отношении как грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*), так и грамотрицательных (*Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella spp.*) бактерий и противогрибковой активностью в отношении *Candida spp.* Выраженность антибактериального эффекта зависит от вида микроорганизма.

2. Резистентность использованных в выполненном исследовании бактерий: *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Moraxella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* к антибиотикам, и гриба рода *Candida* (*Candida spp.*) к противогрибковым препаратам не обуславливает развитие у них устойчивости к наночастицам золота или серебра.

## ГЛАВА 3

### ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРАЛЬНЫХ ДИАПАЗОНОВ НА АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА НАНОКОМПОЗИТНОГО ПЕРЕВЯЗОЧНОГО МАТЕРИАЛА

Лазерное облучение обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра, производилось второй гармоникой Nd:YAG лазера LS-2147, фирмы «LOTIS ТП» (Беларусь) длиной волны 532 нм в дозе 0,6 Дж/см<sup>2</sup> и аппаратом лазерным терапевтическим «Родник-1» научно-производственного кооператива «Люзар» (Беларусь), длиной волны 470±30 нм (синяя область спектра) в дозе 0,4 Дж/см<sup>2</sup>.

Выбранная в исследовании длина волны лазерного облучения определяется частотой локального плазмонного резонанса наночастиц золота и серебра [226, 258].

Чашка Петри засеивалась суспензией (0,1 мл) изучаемого микроорганизма. Стерильный бинт: обычный в контрольной группе или содержащий наночастицы золота или серебра в опытной, помещался на данную чашку Петри. Через 2 и 4 часа после этого производилось его облучение низкоинтенсивным лазерным излучением с описанными выше параметрами. После этого все чашки Петри помещались в термостат при температуре 37,0°С на 24 часа. После суточного культивирования осуществлялся подсчёт количества КОЕ в обе стороны от края бинта на расстоянии от края, равном диаметру одной колонии *ad oculus* и с использованием бинокулярной лупы.

В группах микроорганизмов, где использовалось лазерное излучение, для оценки степени повышения антибактериального эффекта вычислялась разность между уменьшением количества КОЕ по отношению к контролю в группе, где использовался бинт, содержащий наночастицы золота или серебра, без лазерного облучения, и уменьшением количества КОЕ в группе с лазерным облучением через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта по формуле:

$$\text{Разность уменьшения количества КОЕ (\%)} = 100 \cdot \left( \frac{A-B}{A} - \frac{A-C}{A} \right) \quad (3.1)$$

где:

A – среднее значение количества КОЕ по краю бинта в группе контроля (обычный бинт марлевый медицинский без лазерного облучения);

B – среднее значение количества КОЕ в группе с бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы золота или серебра, с лазерным облучением через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта;

C – среднее значение количества КОЕ в группе с бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы золота или серебра, без лазерного облучения.

### **3.1 Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 470 нм *in vitro* на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра**

Для изучения влияния лазерного излучения, близкого по частоте к частоте локального плазмонного резонанса наночастиц серебра, на антимикробные свойства изучаемых бинтов марлевых медицинских нами было использовано излучение лазера длиной волны  $470 \pm 30$  нм в дозе  $0,4 \text{ Дж/см}^2$ . Облучение лазером осуществляли через 2 и через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта. Результаты исследования изменения антибактериальных свойств обычного бинта марлевого медицинского под влиянием использованных параметров лазерного излучения представлены в таблице 3.1. Количество КОЕ изучаемых микроорганизмов вместе с уровнем статистической значимости отражены в виде Me ( $V_{0,25}; V_{0,75}$ ), где Me – медиана,  $V_{0,25}$  – нижний квартиль,  $V_{0,75}$  – верхний квартиль.

Полученные результаты (таблица 3.1) показывают, что каких-либо статистически достоверных изменений в показателях количества КОЕ при применении обычного бинта марлевого медицинского совместно с лазерным облучением или без такового, не происходит. Это свидетельствует об отсутствии влияния лазерного излучения с длиной волны 470 нм в дозе  $0,4 \text{ Дж/см}^2$  на антибактериальные свойства обычного бинта

марлевого медицинского через 2 и 4 часа после помещения его на засеянные микроорганизмами чашки Петри.

Таблица 3.1 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 470 нм на количество колониобразующих единиц исследуемых микроорганизмов по краю обычного бинта марлевого медицинского ( $M_e (V_{0,25}; V_{0,75})$ )

Вид микроорганизма	Контроль (обычный бинт)				
	Группа 1	Группа 2	$p_1$	Группа 3	$p_2$
	без лазерного облучения	лазерное облучение через 2 часа		лазерное облучение через 4 часа	
Staphylococcus haemolyticus	6,5 (5,5; 8,0)	7,0 (6,0; 8,0)	0,681	6,0 (4,0; 9,5)	0,620
Moraxella spp.	7,0 (4,0; 8,0)	6,5 (4,5; 8,0)	0,930	6,0 (5,0; 8,5)	0,838
Escherichia coli	10,0 (9,0; 10,5)	10,0 (8,0; 12,0)	0,861	11,0 (8,5; 11,5)	0,380
Klebsiella pneumonia	5,0 (3,0; 5,0)	5,0 (4,0; 7,0)	0,223	4,0 (4,0; 5,0)	0,862
Pseudomonas aeruginosa	14,0 (11,5; 15,5)	14,0 (13,0; 15,5)	0,861	14,5 (13,0; 16,5)	0,620

Примечания –

$p_1$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

$p_2$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

При исследовании противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, под влиянием лазерного излучения  $\lambda=470$  нм в дозе  $0,4 \text{ Дж/см}^2$  (таблица 3.2) установлено отсутствие повышения антибактериального эффекта данного бинта. Возможно, это связано с наличием у наночастиц золота более низкой частоты локального плазмонного резонанса по сравнению с применяемой длиной волны лазерного излучения [226].

Результаты изменения противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, в зависимости от наличия или отсутствия воздействия лазером с описанными выше параметрами и времени, через которое оно осуществлялось, представлены в таблице 3.3.

Согласно полученным данным (таблица 3.3), лазерное излучение синей области спектра не оказывает статистически достоверного влияния на антибактериальный эффект бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, при облучении через 2 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта. Однако при воздействии лазером через 4 часа после

засева чашки и помещения на неё бинта, содержащего наночастицы серебра, наблюдается достоверное повышение антибактериального эффекта указанного бинта по отношению ко всем исследованным микроорганизмам.

Таблица 3.2 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 470 нм на количество колониеобразующих единиц исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота ( $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$ )

Вид микроорганизма	Бинт, содержащий наночастицы золота				
	Группа 1	Группа 2	$p_1$	Группа 3	$p_2$
	без лазерного облучения	лазерное облучение через 2 часа		лазерное облучение через 4 часа	
Staphylococcus haemolyticus	6,0 (5,0; 6,5)	6,5 (5,0; 8,0)	0,386	5,5 (4,0; 6,0)	0,326
Moraxella spp.	2,5 (2,0; 4,5)	4,0 (2,5; 4,5)	0,427	3,0 (3,0; 3,0)	0,952
Escherichia coli	7,5 (6,5; 8,0)	6,5 (6,0; 7,0)	0,174	6,0 (5,5; 8,5)	0,295
Klebsiella pneumonia	3,0 (1,5; 4,0)	2,0 (2,0; 3,0)	0,614	3,0 (1,0; 4,0)	0,976
Pseudomonas aeruginosa	6,5 (5,0; 8,0)	7,5 (5,0; 11,5)	0,364	7,5 (5,0; 9,0)	0,382

Примечания –

$p_1$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

$p_2$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

Таблица 3.3 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 470 нм на количество колониеобразующих единиц исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра ( $Me (V_{0,25}; V_{0,75})$ )

Вид микроорганизма	Бинт, содержащий наночастицы серебра				
	Группа 1	Группа 2	$p_1$	Группа 3	$p_2$
	без лазерного облучения	лазерное облучение через 2 часа		лазерное облучение через 4 часа	
Staphylococcus haemolyticus	5,0 (4,0; 6,0)	5,5 (2,5; 6,5)	0,861	4,0 (2,5; 4,5)	0,011
Moraxella spp.	3,5 (2,0; 4,0)	3,0 (2,0; 4,0)	0,723	2,0 (1,0; 3,0)	0,039
Escherichia coli	6,5 (6,0; 7,0)	7,0 (5,5; 8,0)	0,727	5,0 (4,5; 6,0)	0,024
Klebsiella pneumonia	2,0 (1,5; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	0,903	1,0 (1,0; 1,5)	0,016
Pseudomonas aeruginosa	7,0 (5,5; 8,0)	6,0 (5,0; 7,5)	0,250	4,0 (2,5; 5,0)	<0,001

Примечания –

$p_1$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

$p_2$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

Данные таблицы 3.4 показывают разность уменьшения количества КОЕ между группой, где использовался бинт, содержащий наночастицы серебра, без лазерного облучения, и группой с лазерным облучением через 4 часа, вычисленную по формуле (3.1), т.е., на сколько процентов повысился с помощью лазерного излучения антибактериальный эффект бинта, содержащего наночастицы серебра.

Таблица 3.4 – Разность уменьшения количества КОЕ между группой, где использовался бинт, содержащий наночастицы серебра, без низкоинтенсивного лазерного облучения, и группой с лазерным облучением с длиной волны 470 нм через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта

<i>Вид микроорганизма</i>	<i>Разность уменьшения количества КОЕ, %</i>
Staphylococcus haemolyticus	24
Pseudomonas aeruginosa	22
Klebsiella pneumonia	22
Moraxella spp.	19
Escherichia coli	15

Как следует из данных, представленных в таблице 3.4, лазерное излучение при воздействии через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, позволяет повысить антибактериальные свойства последнего на 15–24% в зависимости от вида микроорганизма [120].

По-видимому, наблюдаемый в представленном исследовании статистически достоверный эффект усиления антибактериальных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, при воздействии лазерным излучением обусловлен лазерным фототермолизом бактерий.

### **3.2 Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 532 нм *in vitro* на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра**

Для изучения влияния лазерного излучения, близкого по частоте к частоте локального плазмонного резонанса наночастиц золота на антимикробные свойства изучаемых бинтов марлевых

медицинских, нами было использовано облучение лазером длиной волны 532 нм в дозе 0,6 Дж/см<sup>2</sup>. Облучение осуществлялось через 2 и через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта.

Результаты исследования изменения антибактериальных свойств обычного бинта марлевого медицинского под влиянием использованных параметров лазерного излучения представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 532 нм на количество КОЕ исследуемых микроорганизмов по краю обычного бинта марлевого медицинского (Me (V<sub>0,25</sub>; V<sub>0,75</sub>))

Вид микроорганизма	Контроль (обычный бинт)			p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
	Группа 1 без лазерного облучения	Группа 2 лазерное облучение через 2 часа	Группа 3 лазерное облучение через 4 часа		
Escherichia coli	10,5 (9,0; 13,0)	12,0 (10,0; 15,5)	11,0 (9,5; 12,5)	0,403	0,773
Staphylococcus haemolyticus	12,5 (10,5; 14,0)	11,5 (10,0; 12,0)	13,5 (12,0; 15,0)	0,248	0,247
Staphylococcus aureus	10,0 (8,0; 15,0)	10,0 (8,5; 11,5)	11,0 (8,5; 12,0)	0,840	0,665
Klebsiella pneumonia	11,5 (10,0; 12,0)	10,0 (8,5; 11,5)	12,0 (9,5; 13,0)	0,133	0,644
Pseudomonas aeruginosa	10,5 (9,5; 12,5)	9,5 (9,0; 11,0)	11,0 (9,5; 11,5)	0,157	0,728

Примечания –

p<sub>1</sub> – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

p<sub>2</sub> – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

Результаты исследования (таблица 3.5) показывают, что отсутствует достоверная разница в количестве КОЕ исследуемых микроорганизмов по краю обычного бинта марлевого медицинского без лазерного облучения и после него. Исходя из полученных данных, можно заключить, что лазерное излучение с указанными выше параметрами не оказывает влияния на антибактериальные свойства обычного бинта марлевого медицинского.

В таблице 3.6 представлены данные об изменении противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота под влиянием лазерного излучения.

Таблица 3.6 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 532 нм на количество КОЕ исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота (Me ( $V_{0,25}$ ;  $V_{0,75}$ ))

Вид микроорганизма	Бинт, содержащий наночастицы золота				
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	$p_1$	$p_2$
	без лазерного облучения	лазерное облучение через 2 часа	лазерное облучение через 4 часа		
Escherichia coli	7,0 (5,0; 8,0)	5,0 (5,0; 7,0)	5,0 (4,0; 6,0)	0,106	0,019
Staphylococcus haemolyticus	10,0 (8,5; 11,0)	9,0 (8,0; 10,5)	8,5 (8,0; 9,0)	0,544	0,046
Staphylococcus aureus	9,0 (7,0; 9,5)	8,0 (6,0; 9,0)	6,5 (5,0; 7,5)	0,488	0,014
Klebsiella pneumonia	6,5 (4,0; 7,0)	5,5 (5,0; 6,5)	4,0 (3,5; 5,0)	0,564	0,040
Pseudomonas aeruginosa	6,5 (5,5; 8,0)	6,0 (5,0; 7,0)	5,0 (4,0; 6,5)	0,386	0,038

Примечания –

$p_1$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

$p_2$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

Результаты, представленные в таблице 3.6, показывают, что лазерное облучение с описанными выше параметрами, осуществляемое через 2 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, статистически достоверно не изменяет антибактериальные свойства данного бинта. В то же время, при воздействии данным лазерным облучением через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта, содержащего наночастицы золота, противомикробные свойства последнего значительно повышаются ( $p < 0,05$ ).

Отсутствие данного эффекта при воздействии лазером через 2 часа после засева чашки Петри и помещения бинта, по всей видимости, связано с недостаточным временем для проникновения наночастиц золота в окружающую среду (агар) и/или в бактериальную клетку.

Результаты изменения противомикробных свойств бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, в зависимости от наличия или отсутствия воздействия лазером длиной волны 532 нм в дозе  $0,6 \text{ Дж/см}^2$  и времени, через которое оно осуществлялось, представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 532 нм на количество КОЕ исследуемых микроорганизмов по краю бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра (Me ( $V_{0,25}$ ;  $V_{0,75}$ ))

Вид микроорганизма	Бинт, содержащий наночастицы серебра				
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	$p_1$	$p_2$
	без лазерного облучения	лазерное облучение через 2 часа	лазерное облучение через 4 часа		
Escherichia coli	4,5 (3,5; 6,5)	5,5 (4,0; 7,0)	5,5 (4,5; 6,5)	0,773	0,371
Staphylococcus haemolyticus	8,5 (7,0; 9,5)	9,0 (8,0; 10,0)	9,0 (7,5; 11,0)	0,356	0,386
Staphylococcus aureus	7,0 (6,0; 8,0)	7,5 (6,0; 8,5)	7,0 (5,5; 7,5)	0,751	0,624
Klebsiella pneumonia	4,5 (3,0; 5,5)	5,0 (4,0; 5,0)	5,5 (3,5; 6,5)	0,707	0,299
Pseudomonas aeruginosa	3,5 (2,0; 4,0)	3,0 (2,0; 4,0)	2,5 (2,0; 3,0)	0,840	0,106

Примечания –

$p_1$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 2;

$p_2$  – уровень статистической значимости между группами 1 и 3.

Из полученных данных (таблица 3.7) следует, что лазерное излучение длиной волны 532 нм в дозе 0,6 Дж/см<sup>2</sup> при воздействии через 2 и через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта не оказывает влияния на антимикробные свойства бинта, содержащего наночастицы серебра.

Отсутствие эффекта повышения антибактериального действия у бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, при воздействии лазерным излучением с описанными выше параметрами, вероятно, связано с наличием у последнего более высокой частоты локального плазмонного резонанса, по сравнению с частотой локального плазмонного резонанса наночастиц золота.

В таблице 3.8 приведены данные разности уменьшения количества КОЕ между группой, где использовался бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота, без низкоинтенсивного лазерного облучения с длиной волны 532 нм, и группой с таким же лазерным облучением через 4 часа, т.е. на сколько процентов повысился с помощью лазерного излучения антибактериальный эффект бинта, содержащего наночастицы золота.

Таблица 3.8 – Разность уменьшения количества колониеобразующих единиц между группой, где использовался бинт, содержащий наночастицы золота, без низкоинтенсивного лазерного облучения с длиной волны 532 нм, и группой с лазерным облучением через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта

<i>Вид микроорганизма</i>	<i>Разность уменьшения количества КОЕ, %</i>
Staphylococcus aureus	17
Escherichia coli	16
Klebsiella pneumonia	14
Pseudomonas aeruginosa	13
Staphylococcus haemolyticus	10

Согласно полученным данным (таблица 3.8), лазерное облучение, осуществляемое через 4 часа после засева чашки Петри и помещения на неё бинта, содержащего наночастицы золота, повышает антимикробные свойства последнего на 10–17% в зависимости от вида микроорганизма [121]. Учитывая факт расположения в таблице грамположительных и грамотрицательных бактерий без какой-либо закономерности, это свидетельствует о сложном механизме действия наночастиц золота, который, очевидно, не ограничивается влиянием на клеточную стенку.

Следовательно из представленных выше результатов исследования следует, что:

1. Лазерное излучение с длиной волны 470 нм в дозе  $0,4 \text{ Дж/см}^2$  повышает антимикробные свойства бинта, содержащего наночастицы серебра, в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий на 15–24% после предварительной 4-часовой экспозиции контакта бинта с видом микроорганизма.

2. Лазерное излучение с длиной волны 470 нм в дозе  $0,4 \text{ Дж/см}^2$  не оказывает влияния на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота, независимо от времени воздействия.

3. Лазерное излучение с длиной волны 532 нм в дозе  $0,6 \text{ Дж/см}^2$  при облучении микроорганизмов, засеянных на чашки Петри, с помещённым на них обычным бинтом марлевым медицинским, не обладает антибактериальным действием независимо от времени воздействия после засева микроорганизма.

4. Лазерное излучение с длиной волны 532 нм в дозе 0,6 Дж/см<sup>2</sup> не повышает антимикробные свойства бинта марлевого медицинского содержащего наночастицы золота, который в течение 2 часов контактировал с видами микроорганизмов.

5. Лазерное излучение с описанными выше параметрами при воздействии через 4 часа после засева чашек Петри и помещения на них бинта, содержащего наночастицы золота, повышает антимикробные свойства последнего на 10–17% в зависимости от вида микроорганизма. Данный эффект наблюдается в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

6. Лазерное излучение с длиной волны 532 нм в дозе 0,6 Дж/см<sup>2</sup> не оказывает влияния на антимикробные свойства бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы серебра, независимо от времени воздействия.

## ГЛАВА 4

### ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ПЕРЕВЯЗОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ РАН

Изучение эффекта нанокompозитных перевязочных материалов на заживление ран проведено на 144 половозрелых нелинейных белых крысах-самцах массой 200–250 г, полученных из вивария УО «Гродненский государственный медицинский университет». Всем им создавалась модель полнослойной плоскостной асептической кожной раны. Перед проведением эксперимента все животные тщательно осматривались на наличие видимой патологии и признаков болезни. Животные с выявленной патологией выбраковывались и в эксперимент не включались.

Все этапы эксперимента выполнены в условиях адекватной анестезии с разрешения Этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет», а также в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Операции и перевязки животных выполнялись в асептических условиях в операционной кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Животные были разделены на 3 группы, по 24 особи отдельно для асептической, и отдельно для контаминированной раны: «контроль» – крысы, в лечении которых использовался обычный бинт марлевый медицинский; «опыт-1» – крысы, у которых применялся бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота, и «опыт-2» – животные, в лечении которых использован бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы серебра. В каждой группе выводили по 6 животных на 3-й, 7-й, 14-й и 21-й день эксперимента.

Крысы содержались при естественной смене дня и ночи, были синхронизированы по питанию, в стандартных условиях вивария в индивидуальных клетках, что исключало их травмирование со стороны других особей, в том числе и перегрызание фиксирующих нитей.

С целью определения эффективности лечения раны на 3-и,

7-е, 14-е и 21-е сутки от начала эксперимента проводился забор материала для исследования с одновременным выведением крыс из эксперимента (по 6 особей) из каждой группы. Выведение животных из эксперимента осуществлялось путём декапитации. При этом производился забор участка раны, кровь, а у животных с асептической раной, выведенных из эксперимента на 14-е сутки, дополнительно – образцы ткани печени, почек и сердца.

Дополнительно восемь интактных животных, у которых не производились какие-либо манипуляции, были выведены из эксперимента с целью забора крови в качестве контроля.

За основу моделей полнослойной асептической и контаминированной плоскостных ран нами была взята модель В. А. Гинюка [23] в нашей модификации. Первоначально под внутримышечным кетаминным наркозом (0,5 мл 5% раствора) на спине животных в межлопаточной области по позвоночной линии выбривалась шерсть. После обработки области манипуляции дважды антисептиком «Инол» в данной области подшивалась предварительно простерилизованная предохранительная камера с крышечкой с целью создания герметизма, предупреждения вероятного травмирования раны и обсеменения окружающими микроорганизмами, а также для фиксации перевязочного материала [95].

Предохранительная камера представляла собой основание цилиндрической формы, имеющее отверстия для шовных нитей, крышечку и фиксатор. На нижнем крае основания цилиндра друг напротив друга имелись пологие вырезки по форме спины крысы, отверстия для шовных нитей. Высота бортика кольца составляла 1,2 см. Диаметр кольца равнялся 2,0 см, превышая на 0,5 см диаметр раневого дефекта. Пластмассовое кольцо закрывалось крышечкой, которая прикреплялась к бортику кольца с помощью фиксатора. Крышечка на внутренней поверхности имела упорное приспособление для предупреждения смещения перевязочного материала и крепилась к основанию с помощью фиксатора.

Затем на стерильный пластиковый поршень диаметром 1,5 см и площадью 1,77 см<sup>2</sup> наносился йод и поршнем отпечатывался контур будущей раны – окружность, которую иссекали скальпелем в пределах кожи, подкожной клетчатки и поверхностной фасции в обозначенных границах раны.

Раневая поверхность находилась в созданном таким образом

изолирующем от внешней среды кольце до завершения эксперимента с животными.

Методика моделирования контаминированной раны на первоначальном этапе аналогична методике моделирования асептической раны [23]. После создания последней края раны по всей её окружности и мышечное дно травмировались зубчатым зажимом в течение 4 минут.

Инфицирование экспериментальной раны осуществлялось путём обсеменения её дна и краёв 24-часовой взвесью следующих микробов: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Взвесь содержала в  $1 \text{ мм}^3$   $1 \times 10^9$  микробных тел (концентрация определялась по стандарту мутности). Объём вводимой взвеси микробов составил 2 мл.

Сразу же после создания модели асептической раны в подшитую в области её расположения предохранительную камеру у животных помещался стерильный медицинский бинт, укрывающий всю раневую поверхность с заступлением за края раны на 0,5 см: в контрольной группе – обычный бинт марлевый медицинский, в опытных группах – бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота или наночастицы серебра.

Перевязки животных осуществлялись ежедневно под кетаминным наркозом, в ходе которых выполнялись извлечение медицинского бинта, фотографирование раны и замена бинта на новый стерильный бинт.

У животных с экспериментальной контаминированной раной перевязки начинались производиться спустя 48 часов с момента создания модели, а с экспериментальной асептической раной – спустя 24 часа. В процессе эксперимента для оценки эффективности лечения проводилось тщательное динамическое наблюдение за общим состоянием животных, местным течением раневого процесса, ходом заживления раны.

Для морфологического исследования у выведенных из эксперимента животных иссекался участок раны размером  $0,5 \times 1,0 \times 0,5$  см, включающий прилежащий участок здоровой кожи, край раны и её центральную часть. Одновременно производился забор кусочков печени, почек, сердца, которые фиксировались в 10% растворе забуференного формалина, обезживались проведением в батарее спиртов восходящей концентрации, заливались в парафин, а затем использовались для

изготовления срезов толщиной 5 мкм [85].

Гистологические изменения изучались в световом микроскопе на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону [85].

Для определения площади раневой поверхности раны последнюю фотографировали цифровой фотокамерой. Изображение переносилось на компьютер, калибровалось с последующим измерением площади раневого поражения с помощью программы Scion Image 4.0 (NIH, USA) [75]. Результаты выражались в процентах от исходной площади раны. День нанесения ран считался нулевым днём эксперимента.

Забор крови у крыс производился в количестве 4–5 мл в отдельные пробирки с раствором гепарина в расчёте 100 ЕД в 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида на 4–5 мл крови.

Определение содержания в крови лейкоцитов и количественная оценка основных типов клеток (лейкоцитарная формула крови) осуществлялись с применением микроскопического исследования. Количество лейкоцитов крови определялось с использованием счётной камеры Горяева по общепринятой методике. Лейкоцитарная формула подсчитывалась в мазках крови, окрашенных по Романовскому [73].

Дополнительно определялись индекс сдвига лейкоцитов по Ябучинскому и лейкоинтоксикационный индекс по следующим формулам:

$$\text{Индекс сдвига лейкоцитов по Ябучинскому} = \frac{\text{Э} + \text{Б} + \text{П} + \text{С}}{\text{Л} + \text{М}} \quad (4.1)$$

$$\text{Лейкоинтоксикационный индекс} = \frac{\text{Ми} + \text{Ю} + \text{Пл} + \text{П} + \text{С}}{\text{Э} + \text{Б} + \text{Л} + \text{М}} \quad (4.2)$$

где:

Э – количество эозинофилов;

Б – количество базофилов;

П – количество палочкоядерных нейтрофилов;

С – количество сегментоядерных нейтрофилов;

Л – количество лимфоцитов;

М – количество моноцитов;

Ми – количество миелоцитов;

Ю – количество юных нейтрофилов;

Пл – количество плазматических клеток.

Для проведения биохимического анализа забиралось 0,5 мл сыворотки крови, после чего на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i проводилось определение в ней основных биохимических показателей: АЛТ (метод IFCC 37°), АСТ (метод IFCC 37°), мочевины (уреазный метод), креатинина (метод Яффе), общего белка (биуретовый метод), билирубина (модифицированный метод Индрашека), глюкозы (глюкозооксидазный метод) [74].

Для оценки функциональной активности нейтрофилов крови крыс воспроизводилась модель фагоцитоза. Тест-объектом служил штамм *Staphylococcus aureus* 209P, полученный из коллекции музейных штаммов кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «ГрГМУ». Из 18–24-часовой культуры *Staphylococcus aureus* 209P готовилась взвесь в 0,85% растворе хлорида натрия. Реакция проводилась в круглодонных иммунологических планшетах. Гепаринизированная кровь (25 Ед/мл) в количестве 0,05 мл инкубировалась с 0,05 мл суспензии культуры *Staphylococcus aureus* 209P в течение 1 часа при 37°C, затем центрифугировалась 5 мин. при 1000 об/мин. Надосадочная жидкость сливалась. Из отмытого осадка делались мазки. Фиксировались метанолом, окрашивались по Романовскому. Определялись следующие фагоцитарные показатели: ФИ – количество активно фагоцитирующих нейтрофилов (показатель выражался в процентах); ФЧ – среднее число поглощённых микробных клеток одним фагоцитирующим нейтрофилом (показатель выражался в абсолютных числах) [80].

Уровень ЦИК определялся с помощью иммуноферментного анализатора Sunrise TECAN (Австрия) с использованием светофильтра 450 нм. Вычислялась разность показателей сыворотки крови с полиэтиленгликолем (опытная лунка) и сыворотки с буфером (контрольная лунка) и умножалась на 100, что и является величиной ЦИК, выраженной в единицах оптической плотности [186].

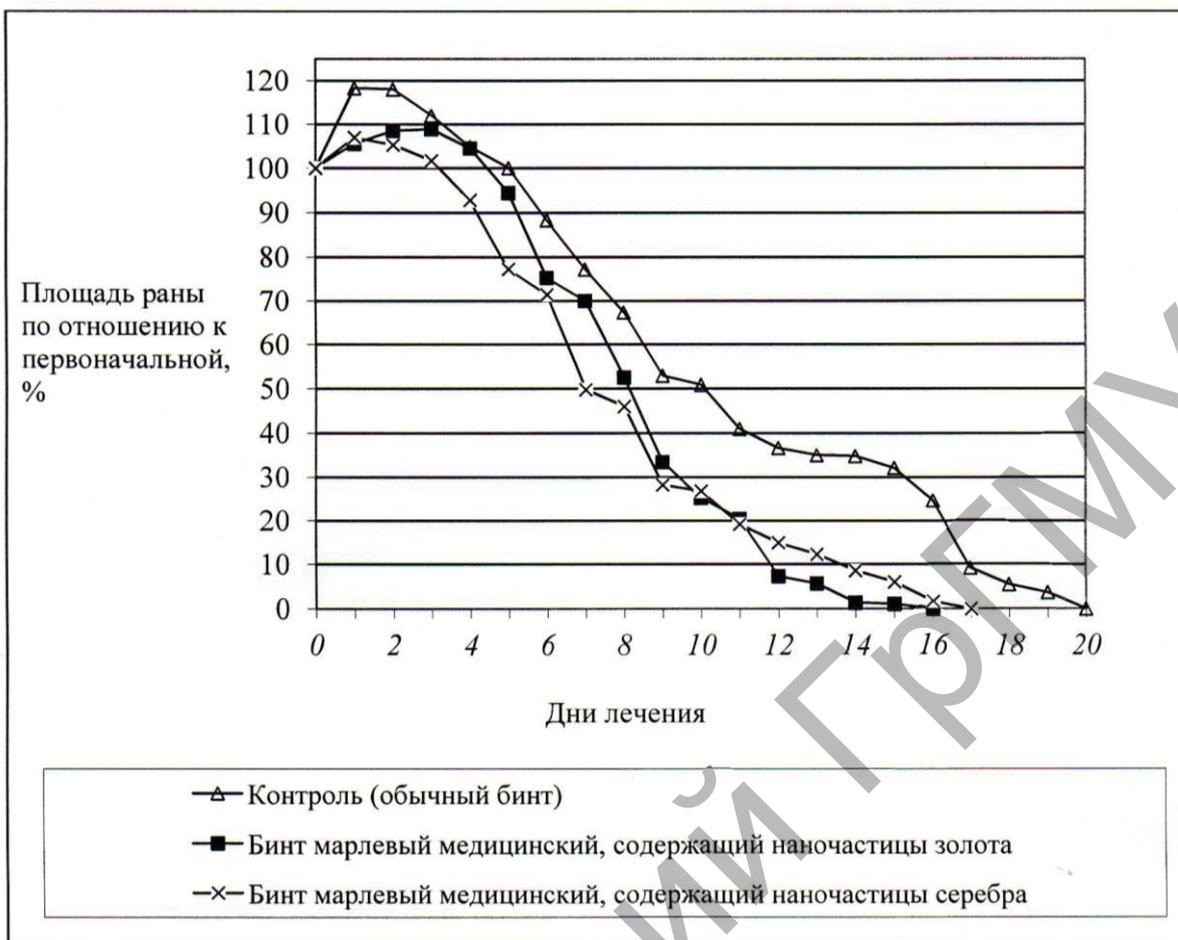
## **4.1 Влияние бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной асептической раны**

### **4.1.1 Динамика изменения площади асептической раны**

При изучении изменения площади экспериментальной асептической раны под влиянием обычного бинта марлевого медицинского и бинтов, содержащих наночастицы золота или серебра, было установлено, что в первые 4 суток эксперимента наблюдается увеличение площади раны по отношению к первоначальной у животных всех групп. Однако если в группе животных, которым на рану помещали обычный бинт марлевый медицинский, площадь раны увеличилась на 18%, то в группе с применением бинта, содержащего наночастицы золота, рана увеличилась на 9%, а наименее значительно – в группе животных, перевязываемых бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы серебра, – на 7% (рисунок 4.1). В последующие дни лечения, вплоть до полного заживления, уменьшение площади раны по отношению к первоначальной в опытных группах (бинт с наночастицами золота или серебра) происходит более интенсивно по сравнению с контрольной группой животных ( $p < 0,05$ ). До 10-х суток заживление ран, перевязываемых бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы серебра, происходит активнее, в сравнении с группой, где использован бинт с наночастицами золота. На 10-е сутки наблюдается выравнивание площадей ран в обеих группах, а в последующие дни площадь ран, в лечении которых применялся бинт, содержащий наночастицы золота, уменьшается быстрее.

Экспериментальная асептическая рана в группе животных, перевязки которых осуществлялись обычным бинтом марлевым медицинским (контроль) зажила на ( $M \pm \sigma$ )  $19,5 \pm 0,8$  сутки эксперимента, в группе с бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы серебра – на  $16,2 \pm 1,0$  сутки и в группе с бинтом, содержащим наночастицами золота, – на  $15,7 \pm 0,5$  сутки.

Динамика изменения площади асептической раны по отношению к первоначальной, при применении в качестве перевязочного материала различных бинтов марлевых медицинских во времени, отображена на рисунке 4.1.



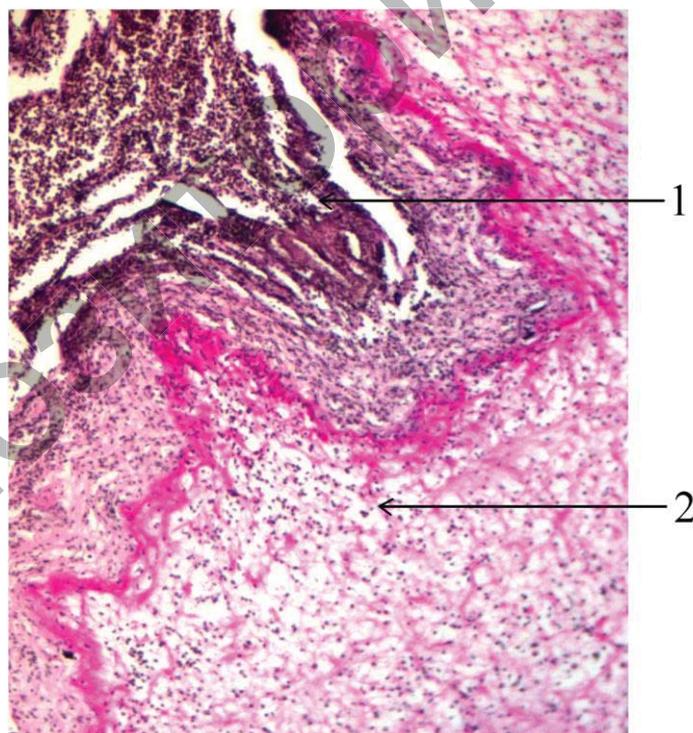
**Рисунок 4.1 – Динамика изменения площади асептической раны при применении в качестве перевязочного материала различных бинтов марлевых медицинских**

Таким образом, применение бинтов марлевых медицинских содержащих наночастицы золота или серебра, позволяет сократить время заживления экспериментальной асептической раны мягких тканей.

#### 4.1.2 Морфологическая характеристика заживления асептической раны при лечении нанокompозитными перевязочными материалами

При сравнении морфологической картины микропрепаратов асептических ран животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки, установлено следующее.

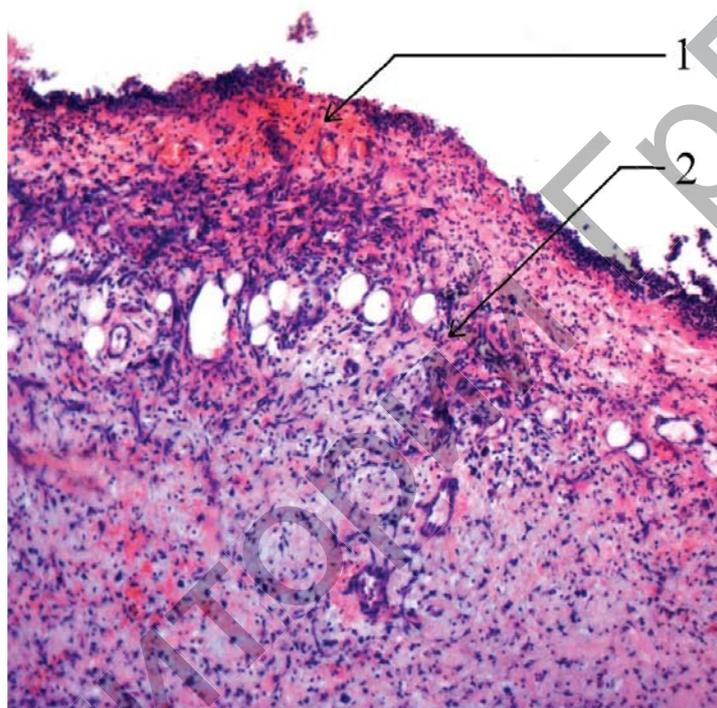
В контрольной группе в дне раны определяется детрит в виде «широкой полосы», густо инфильтрированный нейтрофилами. В краях раны, вплоть до мышц, отмечается резко выраженный отёк, диффузная лейкоцитарная инфильтрация. Клеточный состав в инфильтрате полиморфный: представлены нейтрофилы, лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки (рисунок 4.2). С приближением к центру раны количество нейтрофилов увеличивается. Повсеместно визуализируются вновь образованные капилляры, но расположенные преимущественно по периферии зоны некроза. Они расширены, резко полнокровны, с краевым стоянием лейкоцитов.



- 1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;
- 2 – отёк и лейкоцитарная инфильтрация в дерме

**Рисунок 4.2 – Дно асептической раны, группа «контроль», 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

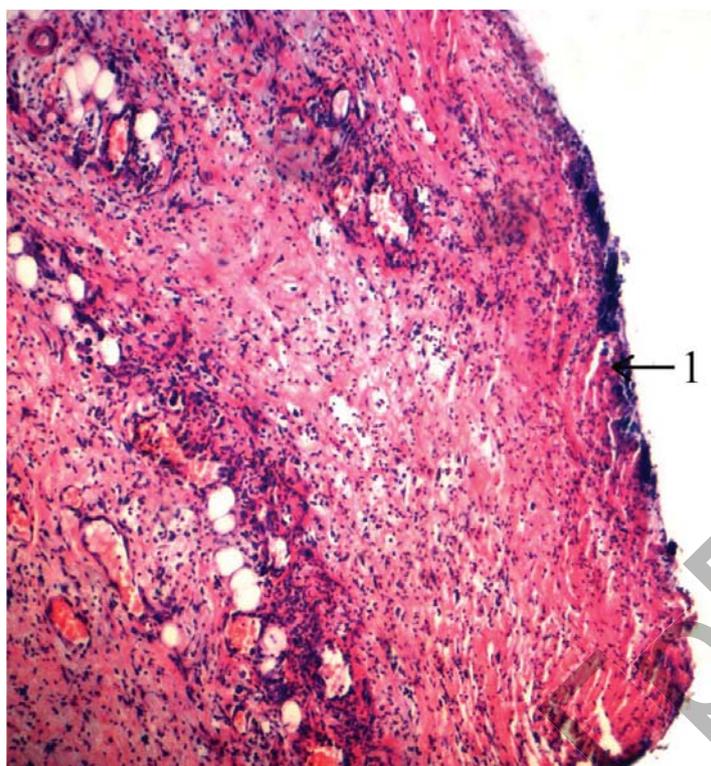
По сравнению с изменениями в контрольной группе, в группе «опыт-1» в двух случаях в дне раны также определяется детрит с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, но зона детрита в 1,5–2 раза уже. В четырёх других случаях детрит имеет вид узенькой полоски в отдельных участках раны. Количество вновь образованных сосудов больше, они расположены гуще и несколько глубже. Отёк в поверхностных участках раны и в дерме выражен слабее. Клеточный инфильтрат по составу аналогичен таковому у животных контрольной группы (рисунок 4.3).



1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;  
2 – отёк и лейкоцитарная инфильтрация в дерме

**Рисунок 4.3 – Дно асептической раны, группа «опыт-1»,  
3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «опыт-2» детрит выявляется только в двух случаях в виде узкой полоски. Местами на поверхности раны определяется фибрин с небольшим количеством нейтрофилов. В подлежащих тканях имеется умеренно выраженный отёк и лейкоцитарная инфильтрация (слабее, чем в группе «опыт-1», заметно слабее, чем в группе «контроль») (рисунок 4.4). Приведённые данные свидетельствуют о том, что очищение раны в группе «опыт-2» по сравнению с группами «контроль» и «опыт-1» осуществляется более энергично.

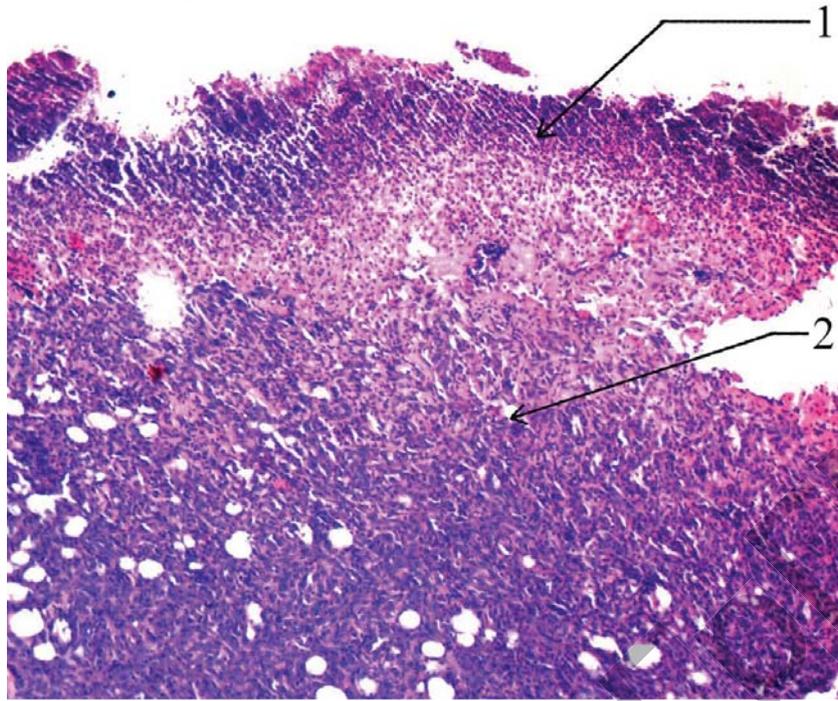


1 – дно раны: фибрин с небольшим количеством нейтрофилов

**Рисунок 4.4 – Дно асептической раны, группа «опыт-2», 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

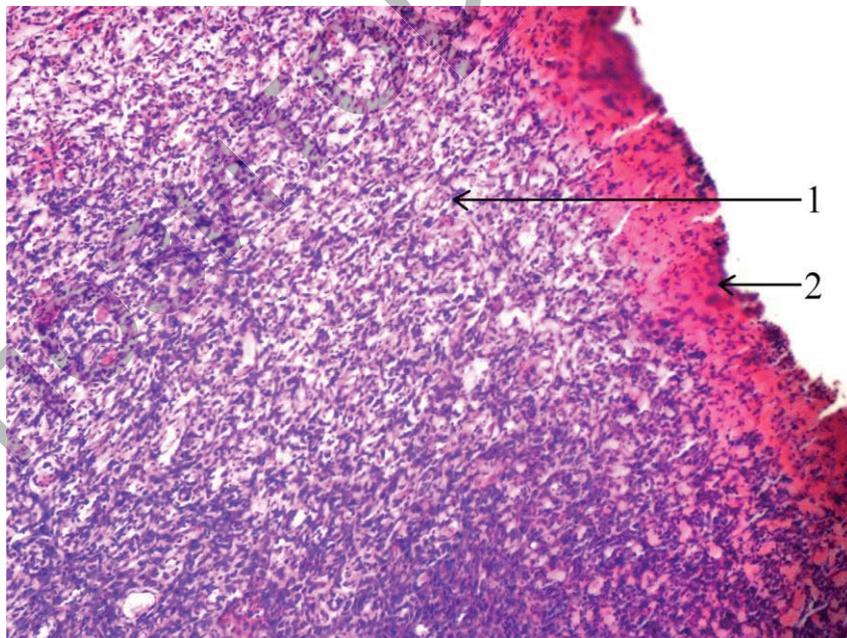
При микроскопическом исследовании асептических ран животных на 7-е сутки эксперимента установлено, что в контрольной группе в дне и краях раны определяется детрит с выраженной нейтрофильно-клеточной инфильтрацией, но его толщина  $\approx$  в 1,5 раза меньше, чем на третьи сутки. В подлежащих тканях, вплоть до мышцы, определяется разрастание неспецифической грануляционной ткани, состоящей из большого количества вновь образованных капилляров и густой полиморфно-клеточной инфильтрации (рисунок 4.5).

В группе «опыт-1» морфологическое исследование выявило более глубокую зону некроза в сравнении с контрольной группой. В отдельных участках некроз доходит до подкожной клетчатки. Вокруг детрита резко выражены нейтрофильно-клеточная инфильтрация и отёк окружающей ткани. Под детритом и в дерме, и подкожно-жировой клетчатке определяется разрастание молодой неспецифической грануляционной ткани. Клеточный инфильтрат полиморфный, но преобладают лимфоциты и гистиоциты (рисунок 4.6).



1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;  
2 – неспецифическая грануляционная ткань

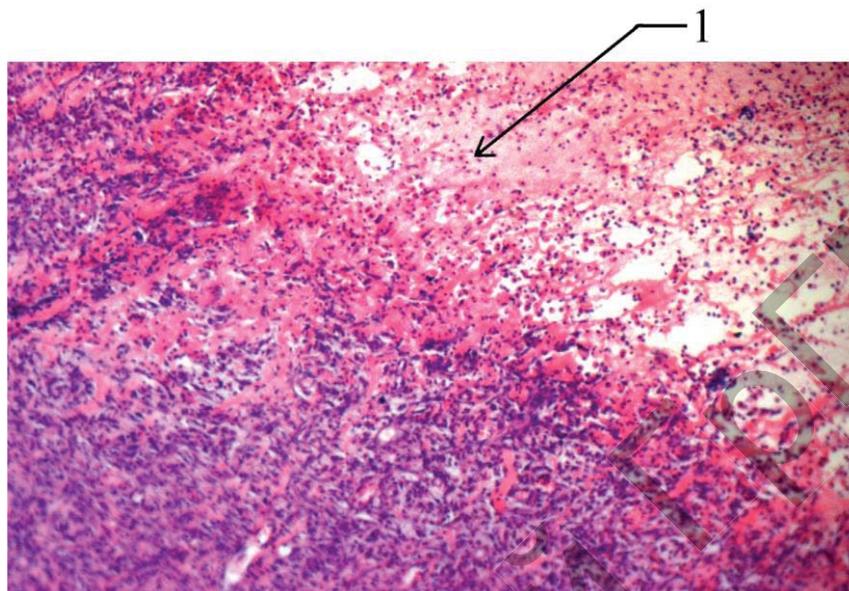
**Рисунок 4.5 – Дно асептической раны, группа «контроль»,  
7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



1 – неспецифическая грануляционная ткань; 2 – детрит

**Рисунок 4.6 – Дно асептической раны, группа «опыт-1»,  
7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «опыт-2» эпидермис отсутствует на всём протяжении. По сравнению с контрольной группой в дне раны определяется детрит в большом количестве с резко выраженной нейтрофильно-клеточной инфильтрацией (рисунок 4.7).



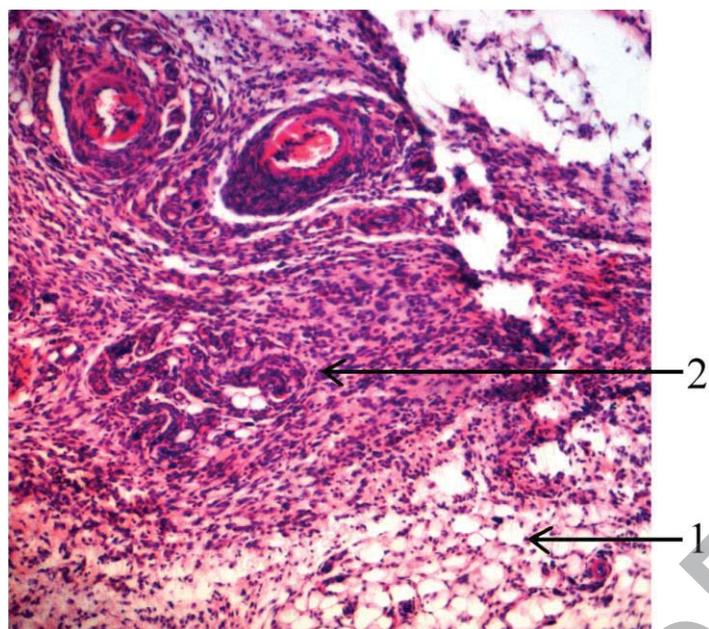
1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны

**Рисунок 4.7 – Дно асептической раны, группа «опыт-2», 7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В подлежащей дерме и жировой клетчатке (до мышцы) (рисунок 4.8) отмечается разрастание неспецифической грануляционной ткани, богатой клетками и сосудами. Среди клеток преобладают лимфоциты и гистиоциты. Фибробласты и фиброциты определяются в умеренном количестве, появляются единичные коллагеновые волокна. Нейтрофильно-клеточный инфильтрат распространяется на глубину, составляющую 1/3 толщины дермы. Между группами «опыт-1» и «опыт-2» существенных морфологических различий не выявлено.

Сравнивая морфологическую картину групп животных, выведенных из эксперимента на 14-е сутки, отмечаем следующее:

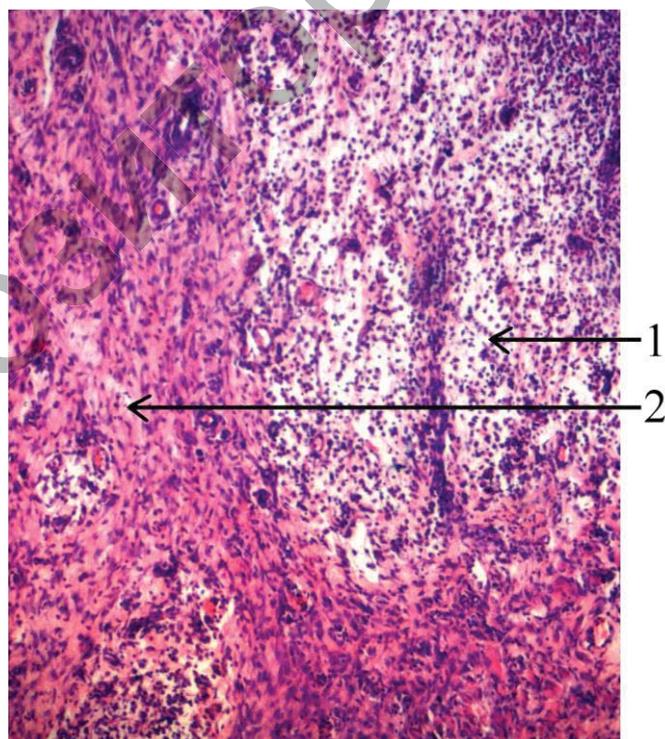
В контрольной группе в кусочках, взятых у животных из края раны, эпидермис отсутствует на большем протяжении. В дерме и подкожной клетчатке определяется разрастание неспецифической грануляционной и молодой соединительной ткани.



1 – жировая ткань; 2 – грануляционная ткань

**Рисунок 4.8 – Дно асептической раны, группа «опыт-2», 7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

Воспалительный инфильтрат богат клетками, среди которых преобладают лимфоциты, плазматические клетки, гистиоциты, а также фибробласты и фиброциты (рисунок 4.9).

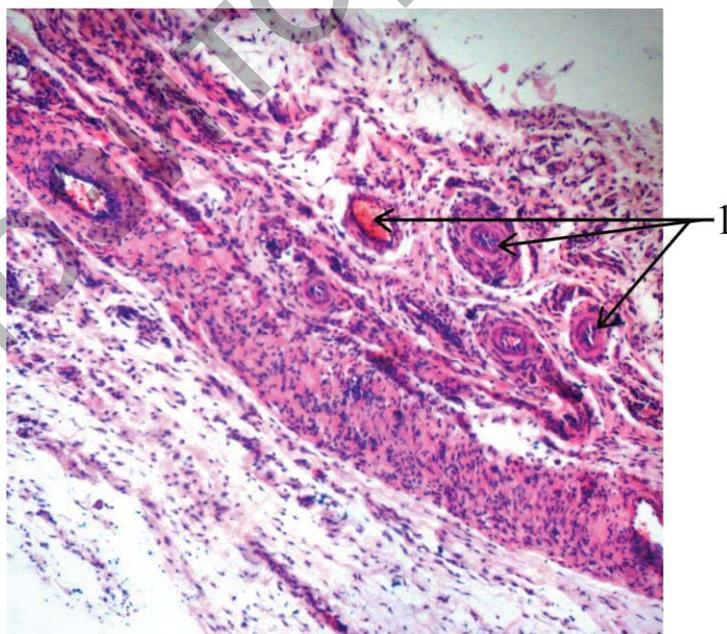


1 – грануляционная ткань; 2 – молодая соединительная ткань

**Рисунок 4.9 – Дно асептической раны, группа «контроль», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

У пяти животных коллагенообразование преобладает над воспалительной инфильтрацией, у одного животного – наоборот.

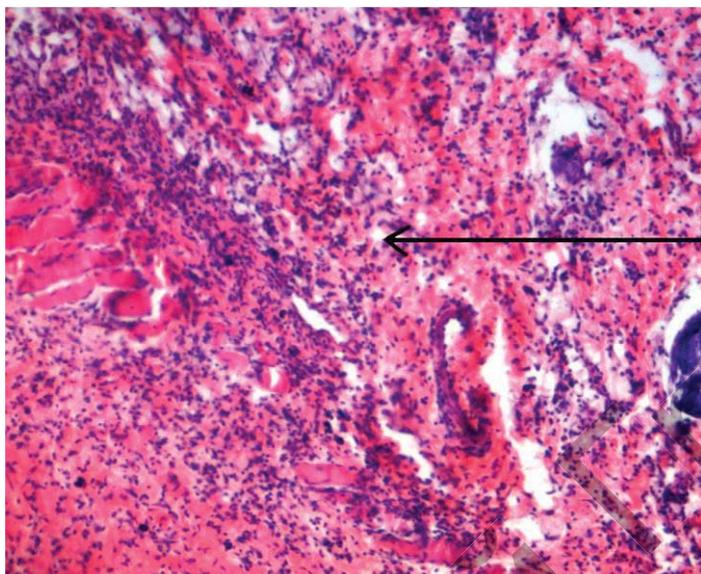
В группе «опыт-1» в центре раны эпидермис отсутствует и определяется детрит с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией. В дерме и подкожно-жировой клетчатке выявлено разрастание молодой соединительной ткани, содержащей умеренное количество сосудов и клеток, представленных преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами, фибробластами и фиброцитами. Плазматические клетки единичные. Воспалительная инфильтрация слабее выражена, чем в контрольной группе (рисунок 4.10). Вновь образованные сосуды располагаются преимущественно на границе дермы и подкожно-жировой клетчатки. В одном из препаратов чётко прослеживается эпидермизация раневой поверхности. В дерме отмечается разрастание молодой соединительной ткани. Воспалительная инфильтрация представлена слабо, сосуды – спавшиеся. Вновь образованные коллагеновые волокна расположены более упорядоченно, чем в группе «контроль». Подкожная клетчатка также вовлекалась в воспалительный процесс, но изменения были выражены слабее по сравнению с группами «контроль» и «опыт-2».



1 – сосуды грануляционной ткани

**Рисунок 4.10 – Дно асептической раны, группа «опыт-1», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «опыт-2» в двух случаях определяется раневой дефект с наличием в центре детрита с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, разрастанием неспецифической грануляционной и молодой соединительной ткани (рисунок 4.11).



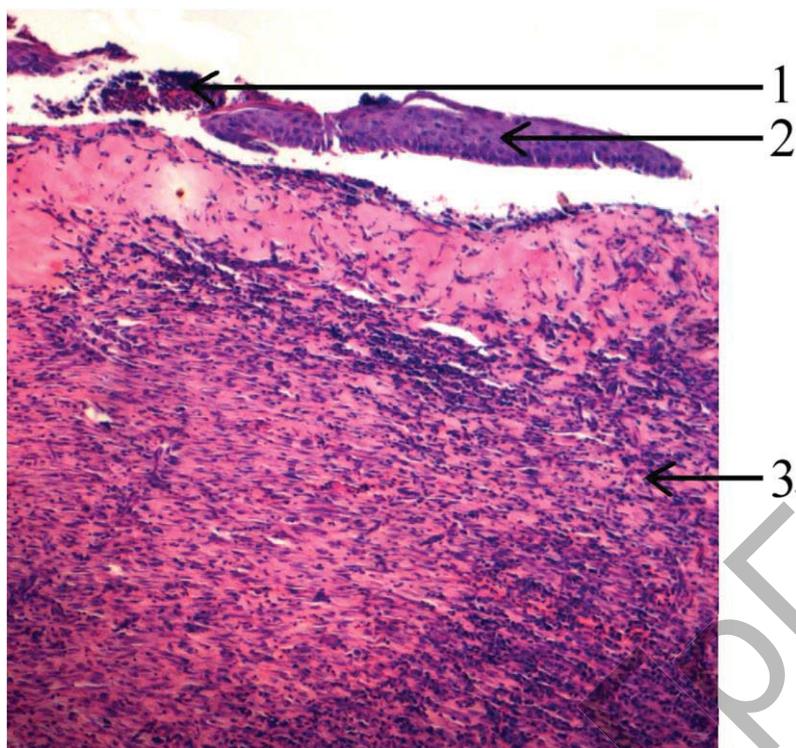
1 – неспецифическая грануляционная ткань

**Рисунок 4.11 – Дно асептической раны, группа «опыт-2», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

Рана эпидермизирована на  $\frac{3}{4}$  площади. По сравнению с группой «опыт-1» инфильтрация выражена более интенсивно. Сосудистый компонент грануляционной ткани выражен хорошо, особенно на границе дермы и жировой ткани. Плазматические клетки единичные. По сравнению с группой «контроль» воспалительная инфильтрация слабее выражена, соединительно-тканые волокна расположены более упорядоченно. В подкожной клетчатке воспалительные изменения были выражены слабее по сравнению с группой «контроль», но сильнее по сравнению с группой «опыт-1» (кроме одного случая).

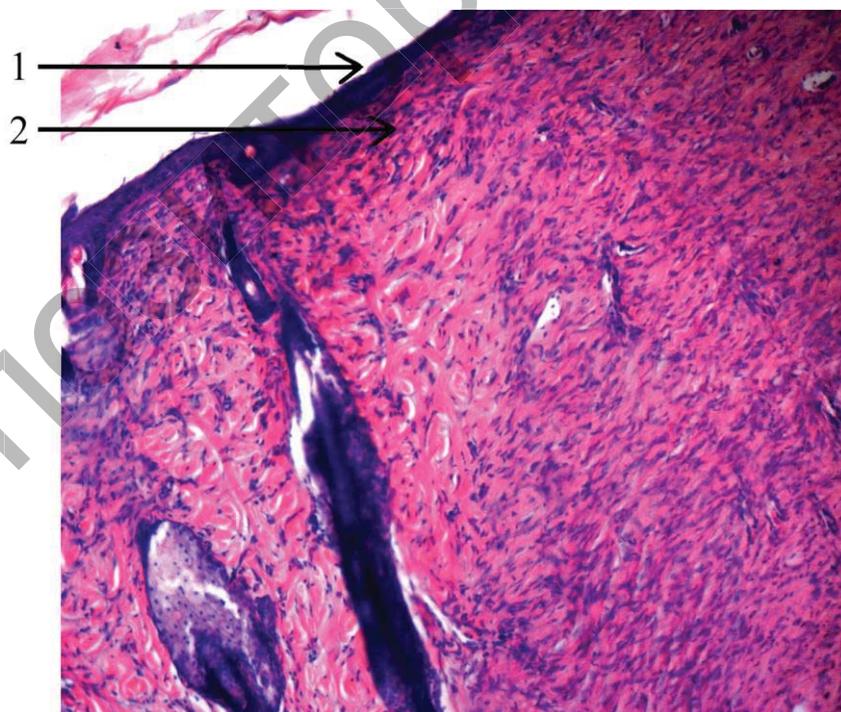
На 21-е сутки морфологическая картина ран крыс контрольной и опытных групп, выведенных из эксперимента, также различается (рисунки 4.12 –4.14):

В препаратах группы «контроль» (рисунок 4.12) рана представляется эпителизированной, лишь кое-где при микроскопическом исследовании выявляются островки отсутствия эпидермиса, на котором и под которым содержится лейкоцитарный инфильтрат разной степени выраженности.



1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией; 2 – эпидермис;  
3 – грануляционная и соединительная ткань

**Рисунок 4.12 – Дно асептической раны, группа «контроль», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

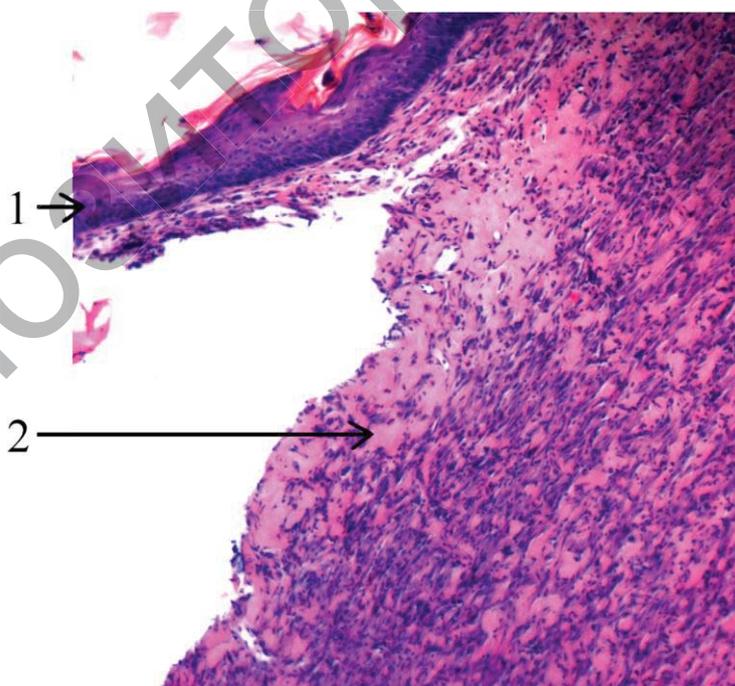


1 – эпидермис; 2 – слабо выраженное воспаление в дерме

**Рисунок 4.13 – Дно асептической раны, группа «опыт-1», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В местах отсутствия эпителия определяется детрит с лейкоцитарной инфильтрацией. В подлежащих тканях в большинстве случаев присутствует густой лимфогистиоцитарный инфильтрат. Капилляры по сравнению с таковыми на ранних сроках существования раны редуцированы и отмечается разрастание соединительной ткани. В группе «опыт-1» (рисунок 4.13) рана эпителизирована во всех случаях на всём протяжении. При этом толщина эпителия приближается к его толщине в краях раны. В подлежащих тканях нейтрофилы практически не определяются. Вновь образованные капилляры (по сравнению с ранними сроками) представляются запустевшими. Отмечается разрастание созревающей соединительной ткани с наличием скудного воспалительного инфильтрата.

Важно подчеркнуть, что в группе «опыт-2» (рисунок 4.14) рана представляется эпителизированной на всём протяжении, однако в подлежащих тканях, вплоть до мышцы, определяется неравномерно выраженный лимфогистиоцитарный инфильтрат (меньший по сравнению с контрольной группой, но больший, чем в группе «опыт-1»). Сосуды определяются в большом количестве, расширены, полнокровны. Рана заполняется созревающей соединительной тканью.



1 – эпидермис; 2 – лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация и молодая соединительная ткань в дерме

**Рисунок 4.14 – Дно асептической раны, группа «опыт-2», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

#### **4.1.3 Динамика показателей крови животных при лечении асептической раны нанокompозитными перевязочными материалами**

Изучение показателей крови у экспериментальных животных с асептической раной при применении для её лечения обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра, показало, что количество лейкоцитов достоверно возрастает по сравнению с группой интактных животных на 7-е сутки в группах «контроль» и «опыт-2», на 14-е сутки – у всех оперированных животных, снижаясь лишь на 21-й день. На 7-й день эксперимента в опытных группах количество лейкоцитов достоверно ниже контроля, на 14-й день данная закономерность характерна лишь для группы «опыт-2» (таблица 4.1).

Достоверной разницы в количестве палочкоядерных нейтрофилов во всех оперированных группах не выявлено.

Количество сегментоядерных нейтрофилов в контрольной группе достоверно повышено лишь на 3-й день с последующим снижением до значений у интактных животных на 7-е сутки. В опытных группах достоверное повышение количества сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных отмечено на 3-й день только в группе «опыт-2». Затем количество сегментоядерных нейтрофилов в обеих опытных группах снижается, достигнув минимальных достоверных значений по сравнению как с контрольными, так и с интактными животными на 14-й день с последующим повышением. Достоверных различий в содержании эозинофилов в исследованных группах не выявлено.

Во всех группах оперированных животных наблюдается последовательное повышение уровня моноцитов с 3-го по 21-й день эксперимента. Количество моноцитов достоверно превышает их значение у интактных животных в группе «контроль» на 21-й день эксперимента, в группе «опыт-1» на 14-й день, а в группе «опыт-2» на 14-й и 21-й дни послеоперационного периода.

Таблица 4.1 – Содержание лейкоцитов и состав лейкоцитарной формулы крови экспериментальных животных при лечении асептической раны с применением различных типов бинтов марлевых медицинских

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	контроль	5,70 (5,50; 5,90)	7,05 (5,40; 7,50)	10,30 <sup>\$</sup> (10,20; 11,30)	12,55 <sup>\$</sup> (11,30; 13,80)	5,60 (5,50; 5,70)
	опыт-1		5,95 (5,90; 6,00)	7,55* (6,40; 8,20)	10,00 <sup>\$</sup> (9,20; 10,50)	5,40 (4,90; 6,20)
	опыт-2		5,45 <sup>@</sup> (5,30; 5,70)	6,90 <sup>\$*</sup> (6,80; 7,05)	11,00 <sup>\$*</sup> (10,60; 11,10)	5,70 (5,60; 5,90)
Палочкоядерные, %	контроль	1,00 (1,00; 1,00)	0,00 (0,00; 0,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 1,00)	0,00 (0,00; 1,00)
	опыт-1		0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	2,00 (1,00; 2,00)
	опыт-2		0,00 (0,00; 0,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 0,00)	2,00 (2,00; 2,00)
Сегментоядерные, %	контроль	29,50 (28,00; 30,00)	49,00 <sup>\$</sup> (40,00; 54,00)	35,50 (33,00; 39,00)	29,00 (25,00; 30,00)	34,00 (32,00; 35,00)
	опыт-1		28,00 (26,00; 29,00)	23,00 (20,00; 30,00)	15,00 <sup>\$*</sup> (12,00; 15,00)	29,50 (26,00; 31,00)
	опыт-2		36,50 <sup>\$</sup> (36,00; 40,00)	32,00 (30,00; 37,00)	20,00 <sup>\$*</sup> (18,00; 20,00)	27,00 (26,00; 29,00)
Эозинофилы, %	контроль	1,50 (1,00; 2,00)	2,00 (0,00; 3,00)	2,00 (0,00; 4,00)	0,50 (0,00; 2,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)
	опыт-1		1,50 (1,00; 2,00)	0,00 (0,00; 1,00)	0,00 (0,00; 2,00)	0,00 (0,00; 1,00)
	опыт-2		2,00 (1,00; 2,00)	1,50 (0,00; 2,00)	2,00 (0,00; 2,00)	0,50 (0,00; 1,00)

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Моноциты, %	контроль	2,00 (2,00; 2,00)	1,50 (0,00; 2,00)	2,00 (1,00; 3,00)	2,50 (2,00; 6,00)	4,00 <sup>§</sup> (3,00; 5,00)
	опыт-1		3,00 (1,00; 4,00)	2,00 (2,00; 4,00)	4,00 <sup>§</sup> (3,00; 4,00)	4,50 (2,00; 5,00)
	опыт-2		3,00 (3,00; 3,00)	4,00 (3,00; 4,00)	4,00 <sup>§</sup> (4,00; 4,00)	5,50 <sup>§</sup> (4,00; 7,00)
Лимфоциты, %	контроль	66,50 (65,00; 68,00)	48,00 <sup>§</sup> (41,00; 54,00)	60,00 (56,00; 62,00)	67,50 (66,00; 68,00)	61,00 (59,00; 65,00)
	опыт-1		68,00* (66,00; 69,00)	72,50 (68,00; 76,00)	81,00 <sup>§*</sup> (81,00; 82,00)	63,00 (62,00; 72,00)
	опыт-2		57,50 <sup>§</sup> (53,00; 58,00)	63,50 (58,00; 66,00)	75,00 <sup>§*®</sup> (74,00; 76,00)	65,00 (62,00; 66,00)
Индекс сдвига лейкоцитов по Ябучинскому	контроль	0,49 (0,46; 0,52)	0,99 <sup>§</sup> (0,82; 1,33)	0,61 (0,56; 0,75)	0,41 (0,37; 0,47)	0,64 (0,54; 0,68)
	опыт-1		0,41* (0,39; 0,43)	0,31 (0,28; 0,43)	0,18 <sup>§*</sup> (0,16; 0,18)	0,54 (0,39; 0,58)
	опыт-2		0,65 (0,61; 0,79)	0,51 (0,43; 0,64)	0,27 <sup>§*®</sup> (0,25; 0,27)	0,52 (0,48; 0,58)
Лейкоинтоксикационный индекс	контроль	0,46 (0,41; 0,48)	0,97 <sup>§</sup> (0,72; 1,17)	0,55 (0,49; 0,64)	0,41 (0,35; 0,43)	0,52 (0,47; 0,55)
	опыт-1		0,39* (0,35; 0,41)	0,30 (0,25; 0,43)	0,18 <sup>§*</sup> (0,14; 0,18)	0,46 (0,35; 0,48)
	опыт-2		0,57 (0,56; 0,72)	0,47 (0,43; 0,59)	0,25 <sup>§*®</sup> (0,22; 0,25)	0,41 (0,38; 0,42)

Примечания –

1<sup>§</sup> – данные статистически достоверны по отношению к интактным животным ( $p < 0,01$ );

2\* – данные статистически достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ );

3<sup>®</sup> – данные статистически достоверны по отношению к группе «опыт-1» ( $p < 0,01$ ).

Количество лимфоцитов в контрольной группе достоверно снижено лишь на 3-й день эксперимента по сравнению с интактными животными. В группе «опыт-1» количество лимфоцитов достоверно превышает значения у контрольных животных на 3-й и 14-й день эксперимента. В то же время в группе «опыт-2» количество лимфоцитов на 3-й день достоверно снижено по отношению к интактным животным, но в меньшей степени, чем в контрольной группе. В последующие дни эксперимента происходит повышение количества лимфоцитов. Их максимальные значения, достоверно превышающие величины группы «контроль» и у интактных животных, выявляются на 14-е сутки с последующим их снижением до величин контроля на 21-е сутки.

Лейкоцитарные индексы в контрольной группе достоверно повышаются по сравнению с интактными животными на 3-й день эксперимента, а затем снижаются. В обеих опытных группах лейкоцитарные индексы снижаются до 14-го дня, а затем повышаются до значений у интактных животных на 21-й день.

#### **4.1.4 Биохимические показатели крови животных при лечении асептической раны нанокompозитными перевязочными материалами**

В таблице 4.2 представлены основные показатели биохимического анализа крови экспериментальных животных при лечении асептической раны с применением обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра.

Как показано в таблице 4.2, уровень билирубина во всех группах животных достоверно повышен на 7-й день и на 14-е сутки в группах «контроль» и «опыт-2» с последующим снижением. На 21-й день он не отличается от значений у интактных животных ( $p < 0,01$ ). Более значимо и статистически достоверно уровень билирубина повышен по сравнению с опытными группами у контрольных животных на 14-е сутки эксперимента.

Таблица 4.2 – Биохимические показатели крови экспериментальных животных при лечении асептической раны с применением различных типов бинтов марлевых медицинских

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Билирубин, мкмоль/л	контроль	4,40 (4,00; 5,05)	4,00 (3,90; 4,20)	6,85 <sup>\$</sup> (6,40; 6,90)	6,00 <sup>\$</sup> (5,80; 6,10)	4,95 (4,70; 5,10)
	опыт-1		4,10 (3,80; 4,50)	6,15 <sup>\$</sup> (5,90; 6,30)	5,35* (5,10; 5,40)	4,75 (3,90; 4,90)
	опыт-2		4,00 (3,90; 4,30)	6,20 <sup>\$</sup> (6,10; 6,40)	5,45 <sup>\$*</sup> (5,40; 5,60)	4,70 (4,50; 4,80)
АЛТ, Ед/л	контроль	66,50 (62,50; 75,00)	101,50 <sup>\$</sup> (95,00; 103,00)	104,50 <sup>\$</sup> (104,00; 110,00)	84,50 <sup>\$</sup> (84,00; 86,00)	83,50 (83,00; 85,00)
	опыт-1		97,50 <sup>\$</sup> (90,00; 106,00)	93,00 <sup>\$*</sup> (92,00; 94,00)	64,50* (62,00; 66,00)	62,50* (62,00; 65,00)
	опыт-2		110,50 <sup>\$*</sup> (108,00; 113,00)	82,00* (81,00; 83,00)	71,00 (62,00; 77,00)	59,50* (51,00; 68,00)
АСТ, Ед/л	контроль	177,00 (172,00; 180,00)	214,00 <sup>\$</sup> (210,00; 230,00)	268,50 <sup>\$</sup> (260,00; 271,00)	192,50 <sup>\$</sup> (182,00; 202,00)	191,00 (181,00; 201,00)
	опыт-1		276,50 <sup>\$</sup> (253,00; 291,00)	188,50* (179,00; 231,00)	179,00 (169,00; 182,00)	171,00 (145,00; 180,00)
	опыт-2		281,00 <sup>\$*</sup> (266,00; 287,00)	175,50* (171,00; 181,00)	172,50 (168,00; 173,00)	173,00* (168,00; 175,00)
Белок, г/л	контроль	74,00 (70,50; 74,00)	56,50 <sup>\$</sup> (56,00; 57,00)	64,50 <sup>\$</sup> (63,00; 67,00)	66,00 <sup>\$</sup> (65,00; 67,00)	70,00 (70,00; 70,00)
	опыт-1		61,00 <sup>\$*</sup> (60,00; 61,00)	68,50 <sup>\$*</sup> (68,00; 70,00)	70,50* (70,00; 72,00)	73,50* (72,00; 74,00)
	опыт-2		63,00 <sup>\$*@</sup> (63,00; 65,00)	70,00* (69,00; 71,00)	71,00* (71,00; 72,00)	72,50* (71,00; 73,00)

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Глюкоза, ммоль/л	контроль	9,05 (8,60; 9,80)	8,55 (8,40; 8,70)	9,40 (9,30; 9,70)	9,65 (9,40; 10,60)	9,95 (9,40; 10,60)
	опыт-1		9,15 (7,80; 10,20)	9,70 (9,20; 10,70)	10,30 (9,70; 11,20)	9,75 (9,50; 10,40)
	опыт-2		9,00 (8,80; 9,80)	10,20 (9,00; 10,50)	9,65 (9,30; 10,20)	9,90 (9,40; 11,30)
Мочевина, ммоль/л	контроль	4,20 (3,50; 4,90)	6,30 <sup>§</sup> (5,90; 6,50)	5,95 <sup>§</sup> (5,80; 6,30)	5,35 (5,00; 5,50)	3,95 (3,60; 4,40)
	опыт-1		5,65 <sup>§</sup> (5,50; 5,80)	4,90* (4,00; 5,10)	4,70 (4,50; 4,90)	4,60 (3,80; 5,00)
	опыт-2		5,55 (5,40; 5,80)	5,00 (4,50; 5,40)	4,90 (4,30; 5,30)	4,40 (3,60; 4,70)
Креатинин, мкмоль/л	контроль	50,00 (47,50; 52,00)	55,50 <sup>§</sup> (54,00; 65,00)	55,50 (51,00; 57,00)	53,00 (52,00; 55,00)	52,50 (52,00; 53,00)
	опыт-1		57,00 (52,00; 63,00)	53,50 (52,00; 54,00)	52,00 (51,00; 55,00)	52,50 (50,00; 57,00)
	опыт-2		55,50 (54,00; 57,00)	54,00 (54,00; 54,00)	53,50 (51,00; 56,00)	54,00 (49,00; 55,00)
Билирубин, мкмоль/л	контроль	4,40 (4,00; 5,05)	4,00 (3,90; 4,20)	6,85 <sup>§</sup> (6,40; 6,90)	6,00 <sup>§</sup> (5,80; 6,10)	4,95 (4,70; 5,10)
	опыт-1		4,10 (3,80; 4,50)	6,15 <sup>§</sup> (5,90; 6,30)	5,35* (5,10; 5,40)	4,75 (3,90; 4,90)
	опыт-2		4,00 (3,90; 4,30)	6,20 <sup>§</sup> (6,10; 6,40)	5,45 <sup>§*</sup> (5,40; 5,60)	4,70 (4,50; 4,80)

Примечания –

1<sup>§</sup> – данные статистически достоверны по отношению к интактным животным (p<0,01);

2\* – данные статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,01);

3<sup>@</sup> – данные статистически достоверны по отношению к группе «опыт-1» (p<0,01).

Активность АЛТ и АСТ в контрольной группе достоверно повышены по сравнению с интактными животными до 7-го дня эксперимента с последующим снижением. В обеих опытных группах активность АЛТ и АСТ возрастает только до 3-го дня, с последующим снижением до значений интактных животных на 7-й – 14-й день. Следует отметить, что эти показатели повышены в большей степени в контрольной группе. На 7-е сутки они достоверно превышают значения не только у интактных, но и у опытных групп.

Уровень белка во всех исследуемых группах на 3-й день эксперимента достоверно снижен по сравнению с интактными животными и более значимо – в группе контрольных животных ( $p < 0,01$ , по сравнению с опытными группами). Затем содержание белка последовательно возрастает. В обеих опытных группах с 14-го дня не отмечено достоверных различий в его содержании по сравнению с интактными животными, в то время как в контрольной группе отсутствие достоверных различий с этими животными зарегистрировано только на 21-й день.

Изменений в уровне глюкозы у оперированных крыс не выявлено. Уровень мочевины достоверно повышен на 3-й день эксперимента в группах «контроль» и «опыт-1» по отношению к интактным животным с последующим снижением. Так, различия с интактными крысами в контрольной группе перестают определяться на 14-й день эксперимента, а в группе «опыт-1» – на 7-й день. Достоверное снижение уровня мочевины в группе «опыт-1» по сравнению с контрольными животными отмечено на 7-й день эксперимента.

Относительно уровня креатинина установлено, что его значения у крыс контрольной группы животных на 3-й день эксперимента выше уровня у интактных животных ( $p < 0,01$ ). В последующие сроки происходит нормализация этого показателя.

Таким образом, следует отметить, что снижение уровня АЛТ и АСТ уже на 7-е сутки исследования и уровня билирубина на 14-й день в обеих опытных группах относительно контроля и нормализация этих показателей по отношению к интактным животным к концу эксперимента свидетельствуют об отсутствии токсического воздействия наночастиц золота и серебра на клетки печени.

Повышение уровня белка в опытных группах во все сроки исследования по сравнению с контрольными животными, и отсутствие достоверных различий в содержании белка в обеих опытных группах в сравнении с интактными крысами с 14-го дня эксперимента, говорит о положительном влиянии на содержание белка применения в лечении ран перевязочного материала, представленного бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы золота или серебра.

Содержание глюкозы зарегистрировано практически на одном уровне во всех исследованных группах, включая интактных животных, что может свидетельствовать об отсутствии влияния наночастиц золота или серебра, содержащихся в представленном материале, на начальные этапы углеводного обмена.

Нормализация показателей мочевины в группе «опыт-1» по сравнению с интактными животными на 7-й день эксперимента, наряду с отсутствием повышения уровня креатинина во все сроки в обеих опытных группах относительно контроля свидетельствует о том, что бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы золота или серебра, не оказывает влияния на выделительную функцию почек.

#### **4.1.5 Показатели фагоцитоза и уровень циркулирующих иммунных комплексов при лечении асептической раны нанокompозитными перевязочными материалами**

В таблице 4.3 отражены показатели фагоцитоза и уровень ЦИК крови экспериментальных животных при лечении асептической раны с применением обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра.

Анализ приведённых в таблице 4.3 данных свидетельствует о нижеследующем.

Уровень ЦИК в контрольной группе возрастает в течение всего периода эксперимента. В то же время в обеих опытных группах наблюдается повышение ЦИК на 3-й день с последующим их последовательным снижением. Количество ЦИК в опытных группах достоверно ниже значений контроля в группе «опыт-2» на 14-й и 21-й день, в группе «опыт-1» только на 21-й день эксперимента.

Таблица 4.3 – Показатели фагоцитоза, уровень циркулирующих иммунных комплексов крови экспериментальных животных при лечении асептической раны с применением различных типов бинтов марлевых медицинских

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
ЦИК, у.е.	контроль	6,50 (4,00; 9,00)	23,50 <sup>§</sup> (20,00; 25,00)	25,00 <sup>§</sup> (24,00; 27,00)	30,00 <sup>§</sup> (29,00; 32,00)	42,50 <sup>§</sup> (42,00; 43,00)
	опыт-1		28,00 <sup>§</sup> (26,00; 29,00)	23,50 <sup>§</sup> (23,00; 24,00)	22,00 <sup>§</sup> (16,00; 24,00)	19,00 <sup>§*</sup> (16,00; 21,00)
	опыт-2		27,00 <sup>§</sup> (25,00; 27,00)	24,50 <sup>§</sup> (24,00; 25,00)	17,00 <sup>§*</sup> (15,00; 20,00)	16,00 <sup>§*</sup> (16,00; 17,00)
ФИ,%	контроль	55,50 (53,00; 62,50)	33,00 <sup>§</sup> (32,00; 33,00)	67,50 (65,00; 72,00)	64,00 (62,00; 74,00)	42,00 <sup>§</sup> (40,00; 45,00)
	опыт-1		68,00 <sup>*</sup> (46,00; 79,00)	62,50 (50,00; 70,00)	55,00 (50,00; 60,00)	52,50 (50,00; 55,00)
	опыт-2		70,50 <sup>*</sup> (66,00; 72,00)	64,00 (56,00; 67,00)	58,00 (53,00; 66,00)	55,50 <sup>*</sup> (55,00; 57,00)
ФЧ	контроль	5,80 (5,20; 6,40)	5,60 (5,50; 5,90)	5,55 (5,30; 6,10)	6,05 (5,80; 6,20)	4,70 (4,30; 5,30)
	опыт-1		6,50 (5,80; 7,20)	6,40 (4,10; 7,30)	5,90 (5,70; 6,10)	4,90 (4,40; 5,50)
	опыт-2		5,50 (5,10; 6,40)	5,45 (4,70; 6,40)	5,50 (5,10; 6,20)	5,40 (5,30; 5,60)

Примечания –

1 <sup>§</sup> – данные статистически достоверны по отношению к интактным животным (p<0,01);

2 <sup>\*</sup> – данные статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,01);

3 <sup>@</sup> – данные статистически достоверны по отношению к группе «опыт-1» (p<0,01).

При оценке функциональной активности нейтрофилов в контрольной группе на 3-й и 21-й день выявлено достоверное снижение количества активных фагоцитов, захватывающих *Staphylococcus aureus* (ФИ) по сравнению с интактными животными. В обеих опытных группах выявлено достоверное увеличение ФИ: на 3-й день в группе «опыт-1» и на 3-и и 21-е сутки эксперимента по сравнению с группой контрольных животных в группе «опыт-2».

Поглотительная способность активно фагоцитирующих нейтрофилов (ФЧ) достоверно не изменялась во всех группах животных.

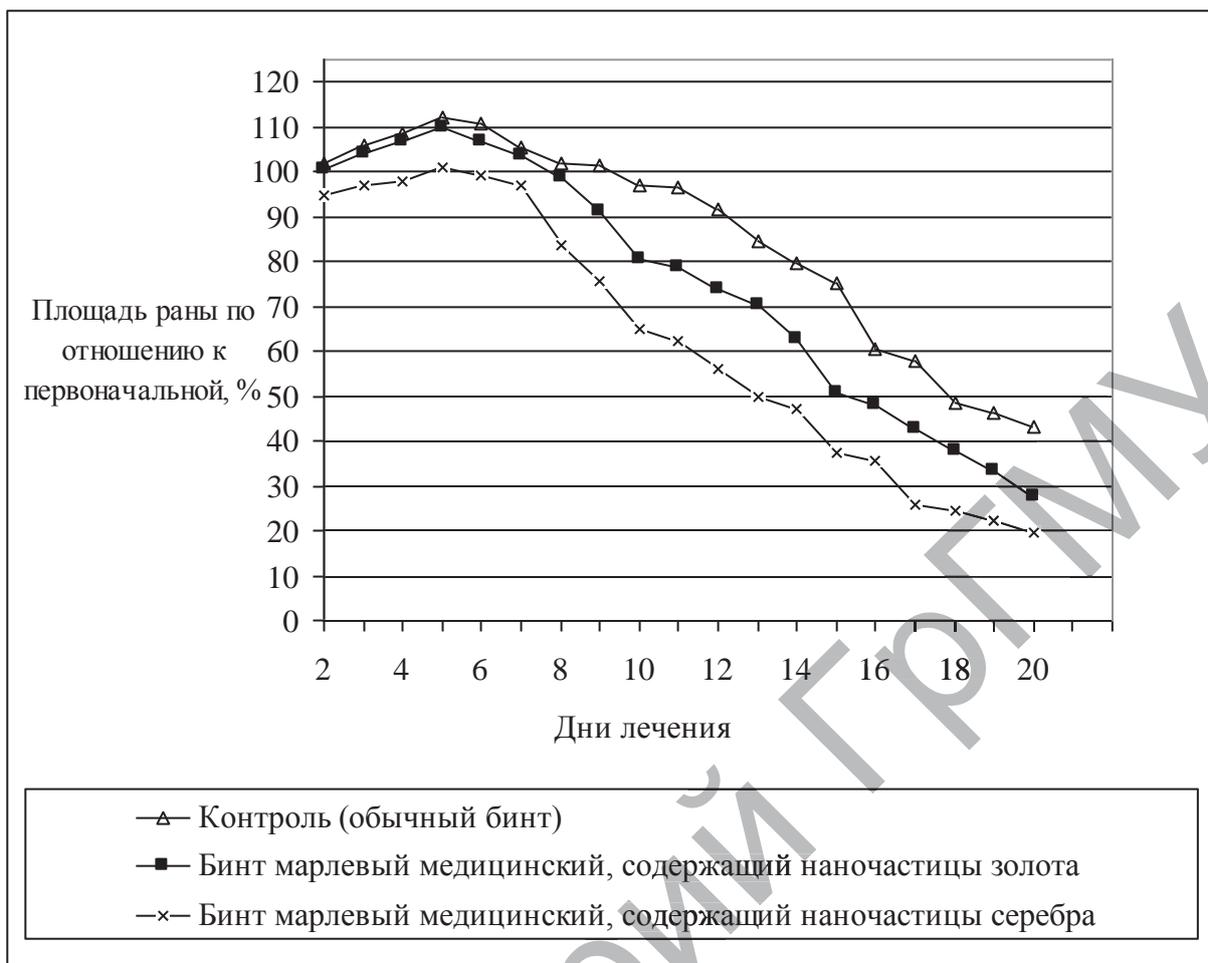
Таким образом, использование бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, сопровождается достоверным снижением количества лейкоцитов к 21-м суткам эксперимента, повышением количества лимфоцитов на 14-е сутки, снижением индекса сдвига лейкоцитов и лейкоинтоксикационного индекса на 3-и и 14-е сутки, снижением ЦИК на 14-е, 21-е сутки, повышением ФИ в опытных группах на 3-й день послеоперационного периода.

## **4.2 Влияние бинта марлевого медицинского, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной контаминированной раны**

### **4.2.1 Динамика изменения площади контаминированной раны**

Динамика изменения площади контаминированной раны во времени по отношению к первоначальной при применении различных типов бинтов марлевых медицинских представлена на рисунке 4.15.

Данные, представленные на рисунке 4.15, свидетельствуют о том, что в первые 5 суток эксперимента отмечается тенденция к увеличению площади контаминированной раны по отношению к первоначальной во всех группах животных. Вместе с тем, следует подчеркнуть, что данный процесс выражен слабее в опытной группе, где использовался бинт, содержащий наночастицы серебра. В последующие сроки площадь раны уменьшается во всех группах экспериментальных животных.



**Рисунок 4.15 – Динамика изменения площади контаминированной раны при применении в качестве перевязочного материала различных типов бинтов марлевых медицинских**

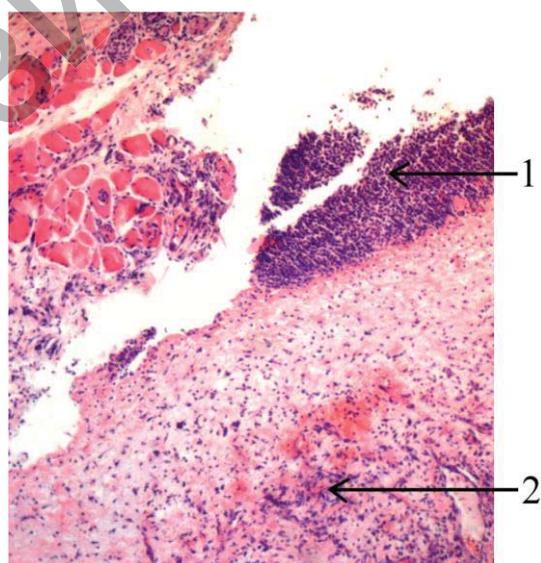
Однако более значительно она уменьшается в группе животных, перевязываемых бинтом с наночастицами серебра ( $p < 0,05$ ). В группе крыс, в лечении которых применялся бинт, содержащий наночастицы золота, до 8-го дня эксперимента разницы в динамике заживления раны в сравнении с контролем не было. В последующие сроки площадь раны в данной группе уменьшается быстрее. На 20-е сутки опыта площадь экспериментальной контаминированной раны в контрольной группе составила ( $M \pm \sigma$ )  $43,0 \pm 4,8\%$ , в группе с бинтом марлевым медицинским, содержащим наночастицы золота –  $27,6 \pm 10,1\%$  и в группе с наночастицами серебра –  $19,6 \pm 9,1\%$  от первоначальной площади.

#### 4.2.2 Морфологическая характеристика заживления контаминированной раны при лечении нанокompозитными перевязочными материалами

При сравнении морфологической картины препаратов ран животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки, в контрольной группе в дне раны определяется детрит с густой нейтрофильно-клеточной инфильтрацией. В дерме и подлежащей жировой клетчатке формируется неспецифическая грануляционная ткань, богатая нейтрофилами и вновь образованными сосудами (рисунок 4.16). В группах «опыт-1» и «опыт-2» были выявлены аналогичные морфологические изменения (рисунки 4.17 и 4.18, соответственно).

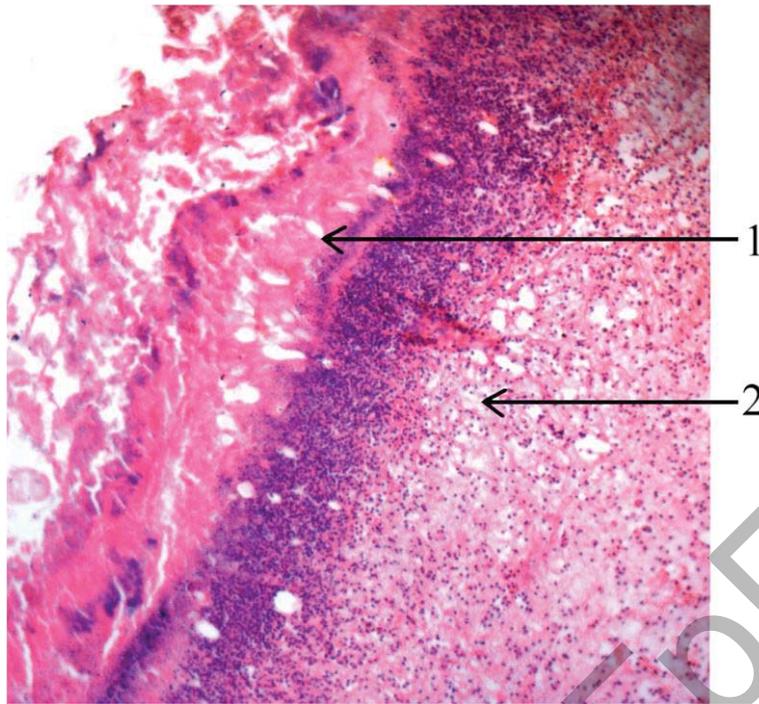
При анализе гистологической картины препаратов ран крыс, выведенных из эксперимента на 7-е сутки, установлено, что в группе «контроль» определяется обширная зона некроза, густо инфильтрированная нейтрофилами (в 5 раз больше, чем на 3-и сутки) (рисунок 4.19). В дне раны, помимо нейтрофилов, отмечается значительное количество фибробластов, фиброцитов и начинается образование коллагеновых волокон.

По сравнению с контрольной группой в группе «опыт-2» зона некроза уже, нейтрофильно-клеточная реакция менее интенсивна, разрастание неспецифической грануляционной ткани более выражено (рисунок 4.20).



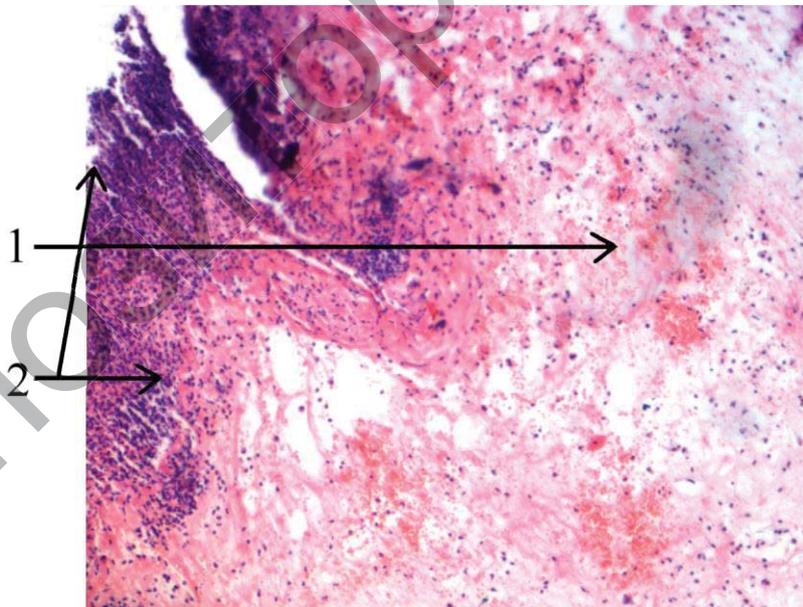
1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией; 2 – юная грануляционная ткань в дерме

**Рисунок 4.16 – Дно контаминированной раны, группа «контроль», 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



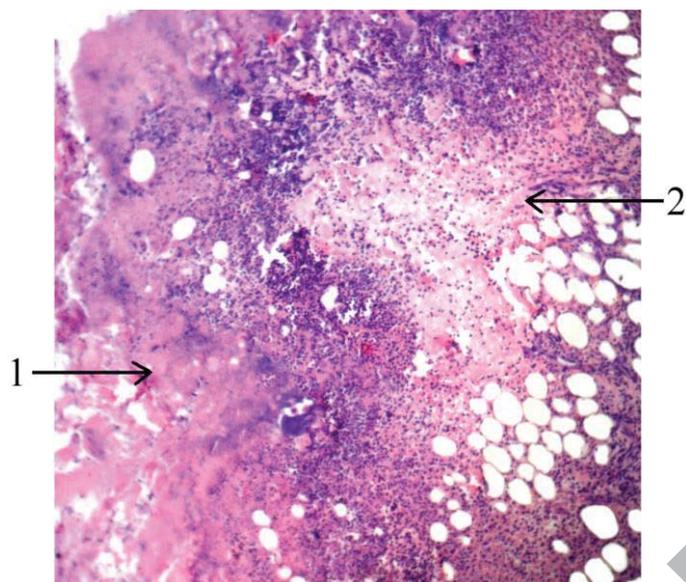
1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;  
2 – юная грануляционная ткань в дерме

**Рисунок 4.17 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-1», 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



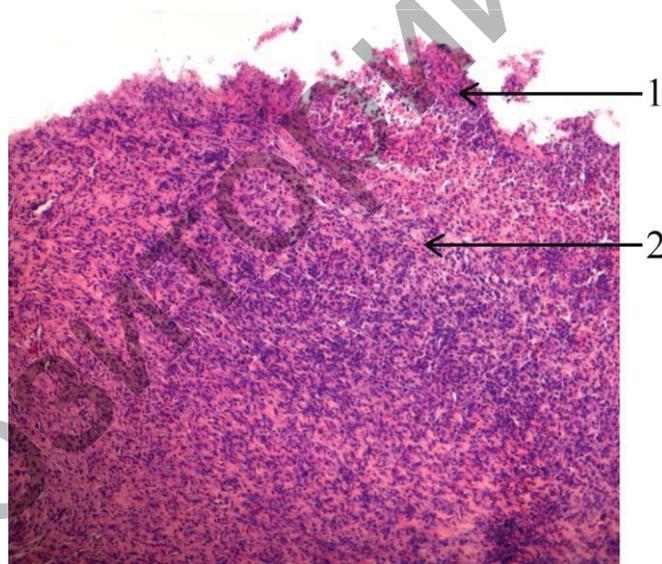
1 – жировая ткань с воспалением; 2 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией

**Рисунок 4.18 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-2», 3-и сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;  
2 – жировая ткань с воспалением

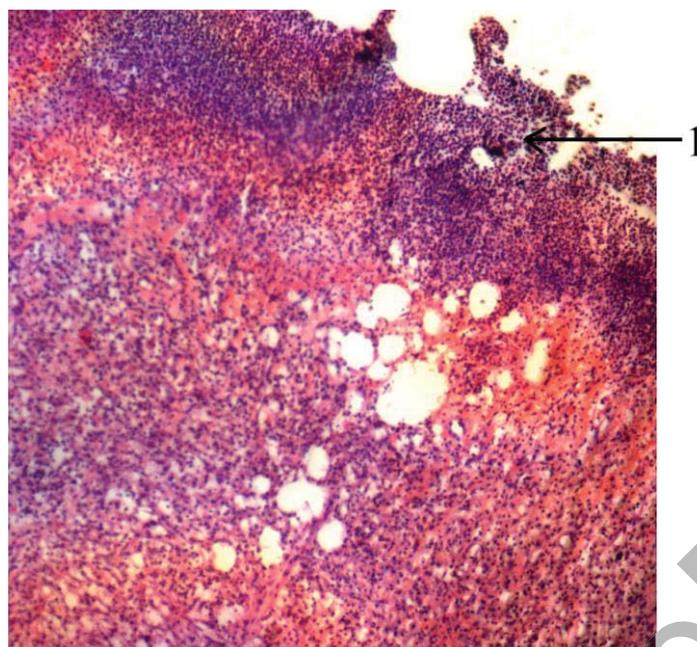
**Рисунок 4.19 – Дно контаминированной раны, группа «контроль», 7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



1 – некроз с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны;  
2 – неспецифическая грануляционная ткань

**Рисунок 4.20 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-2», 7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «опыт-1» зона некроза по сравнению с контрольной группой, выражена слабее, но больше, чем в группе «опыт-2». Лейкоцитарная инфильтрация более выражена, чем в группе «опыт-2». Количество грануляционной ткани идентично второй опытной группе (рисунок 4.21).



1 – детрит с лейкоцитарной инфильтрацией в дне раны

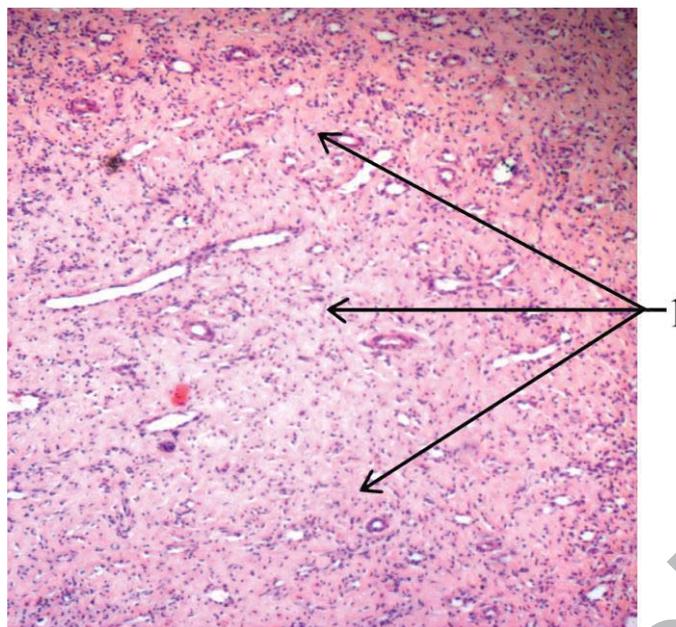
**Рисунок 4.21 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-1», 7-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В препаратах ран животных, выведенных из эксперимента на 14-е сутки послеоперационного периода, в контрольной группе детрит имеет вид очаговых скоплений и в этих зонах резко выражена нейтрофильно-клеточная инфильтрация. Определяется вторичный гистолиз. В глубине раны на границе с мышечной тканью выявляется созревающая грануляционная ткань с умеренным количеством коллагеновых волокон (рисунок 4.22).

В сравнении с контрольной группой, в группе «опыт-2» детрит присутствует лишь кое-где в виде мелких скоплений и богат нейтрофилами. В глубине раны отмечается отчётливое разрастание молодой соединительной ткани (рисунок 4.23).

По сравнению с группой «опыт-2» в группе «опыт-1» некроз выражен несколько сильнее, образование соединительной ткани – более интенсивное (рисунок 4.24). Однако в сравнении с контрольной группой в группе «опыт-1» выраженность упомянутых процессов меньшая.

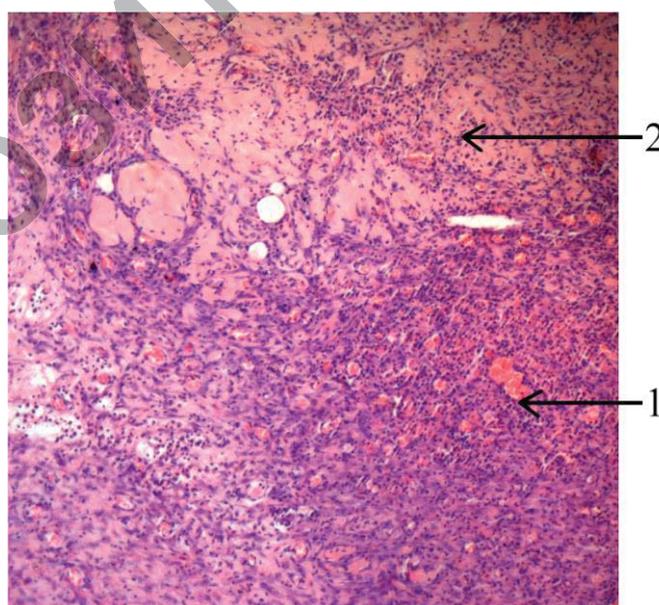
При сравнении между собой морфологической картины ран групп животных, выведенных из эксперимента на 21-е сутки (рисунки 4.25 – 4.27), отмечается следующее.



1 – грануляционная ткань с коллагенообразованием

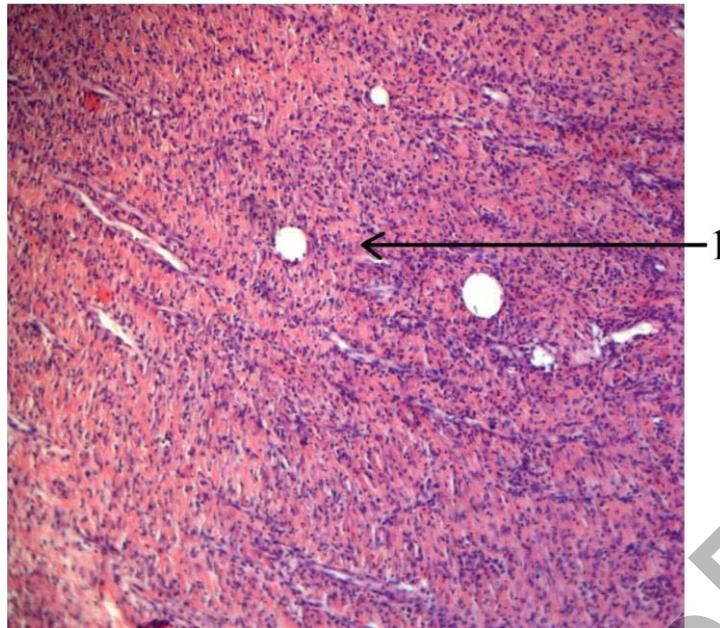
**Рисунок 4.22 – Дно контаминированной раны, группа «контроль», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «контроль» рана на большем протяжении очистилась, в краях отмечается наполнение эпителия. Детрит с лейкоцитарной инфильтрацией определяется в виде мелких очажков. В глубине раны присутствует созревающая грануляционная ткань, содержащая умеренное количество сосудов и большое количество коллагеновых волокон (рисунок 4.25).



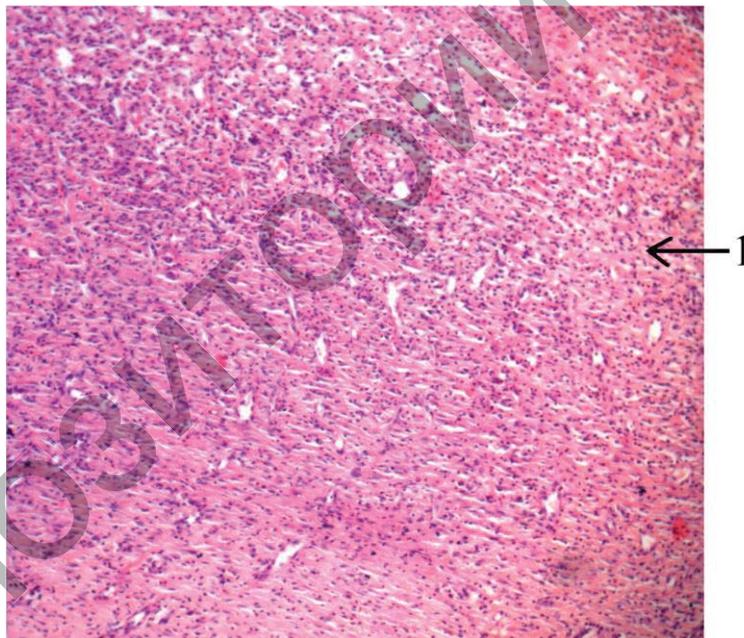
1 – грануляционная ткань; 2 – молодая соединительная ткань

**Рисунок 4.23 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-2», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



1 – молодая соединительная ткань

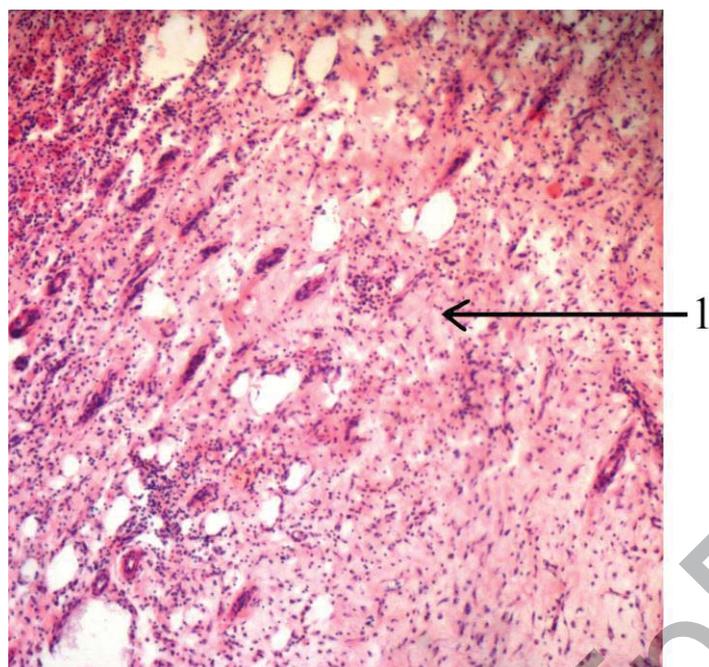
**Рисунок 4.24 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-1», 14-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**



1 – грануляционная ткань в дне раны

**Рисунок 4.25 – Дно контаминированной раны, группа «контроль», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

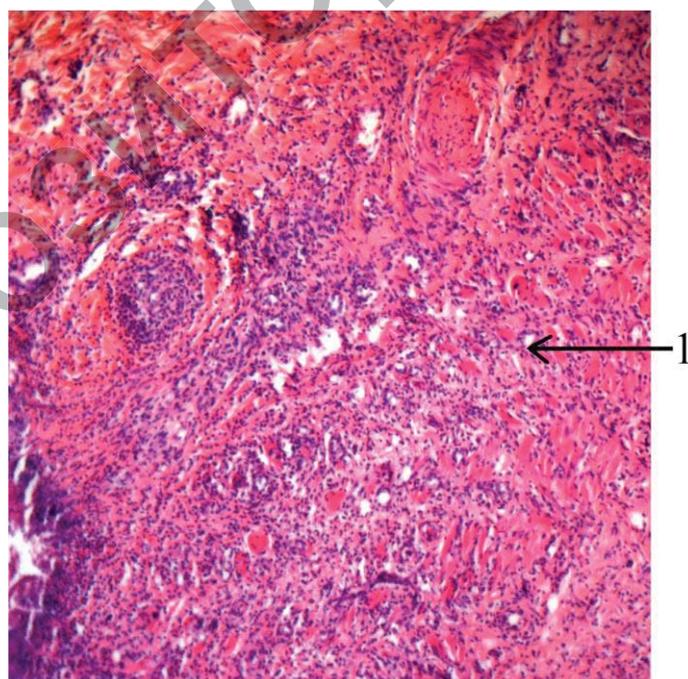
В сравнении с контрольной группой в группе «опыт-2» (рисунок 4.26) детрит практически не определяется. Воспалительная инфильтрация менее интенсивная по сравнению с контрольной группой. Коллагенообразование выражено более отчётливо, но распространяется на меньшую глубину.



1 – слабо выраженное воспаление в дне раны

**Рисунок 4.26 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-2», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

В группе «опыт-1» (рисунок 4.27) площадь некроза и степень лейкоцитарной инфильтрации несколько большая, чем в группе «опыт-2», а степень коллагенообразования – одинаковая.



1 – умеренно выраженное воспаление в дне раны

**Рисунок 4.27 – Дно контаминированной раны, группа «опыт-1», 21-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. × 100**

Таким образом, при сравнении между собой морфологической и планиметрической картины асептической раны, в лечении которой применялись обычный бинт марлевый медицинский и бинты марлевые медицинские, содержащие наночастицы золота или серебра, следует подчеркнуть, что последние 2 вида перевязочного материала оказывают более выраженное положительное влияние на заживление асептической раны. На всех сроках исследования это проявляется ускорением регенераторного процесса и более быстрым заживлением ран. В то же время, на 3-и сутки эксперимента морфологическая картина раны при применении бинта марлевого медицинского с наночастицами серебра оказывается лучшей, чем при применении бинта с наночастицами золота. На 7-е сутки существенных морфологических различий между влиянием этих двух видов бинтов на заживление ран не обнаружено. Однако на 14-е и 21-е сутки при использовании бинта марлевого медицинского с наночастицами золота наблюдается более выраженная положительная динамика при заживлении асептической раны, чем при применении бинта, содержащего наночастицы серебра.

При сравнении между собой морфологической и планиметрической картины контаминированной раны при применении обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра, приходим к выводу, что последние 2 вида бинта оказывают более выраженное положительное действие на заживление контаминированной раны. В то же время, бинт марлевый медицинский, содержащий наночастицы серебра, эффективен во все сроки лечения, а бинт, содержащий наночастицы золота – только после 8-ми суток применения.

#### **4.2.3 Динамика показателей крови животных при лечении контаминированной раны нанокompозитными перевязочными материалами**

В таблице 4.4 представлены показатели крови экспериментальных животных с контаминированной раной при применении для её лечения обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра.

Анализ данных, представленных в таблице 4.4, показал, что количество лейкоцитов во всех группах животных по сравнению с интактными крысами повышается с 3-го по 14-й день эксперимента, снижаясь на 21-е сутки. Однако, их значения в опытных группах достоверно ниже, чем в контрольной группе, на 3-й день эксперимента. На 21-е сутки количество лейкоцитов в группах «опыт-1» и «опыт-2» не отличается от значений у интактных животных, а в контрольной группе превышает их.

Количество палочкоядерных нейтрофилов не претерпевает каких-либо существенных статистически значимых изменений.

Количество сегментоядерных нейтрофилов в группе «контроль» на 3-и сутки достоверно уменьшается по сравнению с интактными животными. Количество сегментоядерных нейтрофилов в группе «опыт-2» на 3-и сутки превышает значения группы «контроль», в то же время на 7-й день наблюдается противоположная картина.

Количество эозинофилов в опытных группах в течение всего периода эксперимента достоверно не превышало таковые значения у интактных животных.

Содержание моноцитов в контрольной группе достоверно повышается на 3-й день эксперимента, с последующим снижением на 7-й день. В группе «опыт-2» количество моноцитов достоверно повышено по сравнению с интактными животными на 3-и и 21-е сутки.

Количество лимфоцитов на 7-е сутки в контрольной группе снижается ниже их уровня у интактных животных и уровня у животных в обеих опытных группах ( $p < 0,01$ ) с последующим повышением до значений у интактных животных на 14-й день.

Индекс сдвига лейкоцитов и лейкоинтоксикационный индекс в группе «контроль» и «опыт-2» на 3-и сутки достоверно снижаются по сравнению с интактными животными, с последующим повышением на 7-е сутки. В опытных группах на 7-е сутки индексы достоверно ниже значений контрольной группы

Таблица 4.4 – Содержание лейкоцитов и состав лейкоцитарной формулы крови экспериментальных животных при лечении контаминированной раны с применением различных типов бинтов марлевых медицинских

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	контроль	5,70 (5,50; 5,90)	9,00 <sup>\$</sup> (8,75; 9,20)	12,05 <sup>\$</sup> (11,25; 13,15)	14,00 <sup>\$</sup> (13,25; 15,50)	7,94 <sup>\$</sup> (6,55; 8,75)
	опыт-1		7,25* (3,90; 7,50)	9,83 <sup>\$</sup> (9,60; 11,00)	11,70 <sup>\$</sup> (11,00; 13,20)	6,28 (5,60; 6,30)
	опыт-2		7,50 <sup>\$*</sup> (7,25; 7,70)	10,60 <sup>\$</sup> (10,15; 10,60)	11,55 <sup>\$</sup> (10,15; 12,90)	5,80 (5,75; 5,90)
Палочкоядерные, %	контроль	1,00 (1,00; 1,00)	2,00 (0,00; 2,00)	0,00 (0,00; 1,00)	1,50 (1,00; 2,00)	1,00 (1,00; 1,00)
	опыт-1		0,00 (0,00; 2,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 1,00)	1,00 (1,00; 2,00)
	опыт-2		0,00 (0,00; 1,00)	0,00 <sup>\$</sup> (0,00; 0,00)	2,00 (1,00; 3,00)	0,00 (0,00; 1,00)
Сегментоядерные, %	контроль	29,50 (28,00; 30,00)	14,00 <sup>\$</sup> (13,00; 17,00)	37,50 (33,00; 40,00)	25,50 (22,00; 31,00)	30,50 (25,00; 31,00)
	опыт-1		26,00 (21,00; 34,00)	28,00* (21,00; 30,00)	26,50 (23,00; 36,00)	25,00 (21,00; 30,00)
	опыт-2		24,00 <sup>\$*</sup> (23,00; 25,00)	25,00* (20,00; 29,00)	23,50 (15,00; 28,00)	25,00 (21,00; 26,00)
Эозинофилы, %	контроль	1,50 (1,00; 2,00)	0,00 (0,00; 0,00)	1,50 (1,00; 3,00)	0,00 (0,00; 1,00)	0,00 (0,00; 1,00)
	опыт-1		0,50 (0,00; 1,00)	0,50 (0,00; 1,00)	0,00 (0,00; 1,00)	1,50 (1,00; 2,00)
	опыт-2		0,00 (0,00; 2,00)	0,00 (0,00; 2,00)	0,50 (0,00; 1,00)	2,00 (1,00; 2,00)

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Моноциты, %	контроль	2,00 (2,00; 2,00)	10,00 <sup>§</sup> (6,00; 10,00)	4,50 (3,00; 5,00)	4,00 (4,00; 5,00)	4,50 (3,00; 5,00)
	опыт-1		4,00* (3,00; 4,00)	3,50 (2,00; 5,00)	4,50 <sup>§</sup> (4,00; 5,00)	7,00 (2,00; 10,00)
	опыт-2		4,00 <sup>§</sup> (3,00; 6,00)	6,00 (3,00; 7,00)	6,00 (4,00; 6,00)	5,00 <sup>§</sup> (5,00; 5,00)
Лимфоциты, %	контроль	66,50 (65,00; 68,00)	72,00 (71,00; 81,00)	56,50 <sup>§</sup> (53,00; 60,00)	67,50 (62,00; 73,00)	65,00 (63,00; 71,00)
	опыт-1		71,00 (59,00; 74,00)	67,00* (65,00; 75,00)	67,50 (60,00; 73,00)	66,50 (59,00; 68,00)
	опыт-2		71,00 (69,00; 71,00)	68,00* (64,00; 71,00)	68,50 (66,00; 74,00)	69,00 (67,00; 71,00)
Индекс сдвига лейкоцитов по Ябучинскому	контроль	0,49 (0,46; 0,52)	0,19 <sup>§</sup> (0,16; 0,23)	0,63 (0,56; 0,75)	0,40 (0,30; 0,49)	0,46 (0,37; 0,47)
	опыт-1		0,35 (0,30; 0,59)	0,39* (0,28; 0,43)	0,37 (0,30; 0,59)	0,37 (0,32; 0,54)
	опыт-2		0,33 <sup>§</sup> (0,33; 0,35)	0,37* (0,30; 0,41)	0,35 <sup>§</sup> (0,22; 0,41)	0,37 (0,32; 0,49)
Лейкоинтоксикационный индекс	контроль	0,46 (0,41; 0,48)	0,19 <sup>§</sup> (0,16; 0,20)	0,60 (0,49; 0,69)	0,39 (0,30; 0,49)	0,46 (0,35; 0,47)
	опыт-1		0,35 (0,28; 0,56)	0,39* (0,27; 0,43)	0,37 (0,30; 0,56)	0,35 (0,28; 0,52)
	опыт-2		0,33 <sup>§</sup> (0,32; 0,33)	0,33* (0,25; 0,41)	0,35 (0,20; 0,41)	0,35 (0,28; 0,45)

Примечания –

1<sup>§</sup> – данные статистически достоверны по отношению к интактным животным (p<0,01);

2\* – данные статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,01);

3<sup>@</sup> – данные статистически достоверны по отношению к группе «опыт-1» (p<0,01).

#### **4.2.4 Биохимические показатели крови животных при лечении контаминированной раны нанокompозитными перевязочными материалами**

В таблице 4.5 представлены основные показатели биохимического анализа крови экспериментальных животных при лечении контаминированной раны с применением обычного бинта марлевого медицинского и бинтов марлевых медицинских, содержащих наночастицы золота или серебра.

При внутригрупповом анализе данных уровня билирубина, представленного в таблице 4.5, установлено, что во всех исследованных группах его содержание повышено по сравнению с интактными животными с 7-го по 14-й день эксперимента. К 21-м суткам уровень билирубина нормализуется. Следует отметить, что более значимое повышение уровня билирубина происходит в группе «контроль», который на 7-е сутки достоверно повышен по отношению к группе «опыт-2».

Активность АЛТ и АСТ в контрольной группе увеличивается до 7-го дня эксперимента, а затем снижается, оставаясь достоверно выше данных у интактных животных на 21-е сутки. В опытных группах активность изучаемых ферментов повышается до 3-го дня эксперимента с последующим снижением до значений у интактных животных на 14-е – 21-е сутки ( $p < 0,01$ ).

Содержание белка во всех трёх группах на 3-й день эксперимента достоверно снижено по сравнению с интактными животными и в большей степени в группе «контроль». Затем наблюдается последовательное возрастание его содержания. На 14-е сутки в опытных группах содержание белка не отличается от таковых величин у интактных животных, а в группе контрольных животных остается достоверно ниже их и на 21-й день.

Уровень глюкозы на 3-й день эксперимента в контрольной группе достоверно снижен. В последующие сроки наблюдается его повышение с нормализацией на 21-е сутки. В обеих опытных группах уровень глюкозы на 3-и сутки превышает значения группы «контроль» ( $p < 0,01$ ) и не отличается от уровня у интактных животных.

Таблица 4.5 – Биохимические показатели крови экспериментальных животных при лечении контаминированной раны с применением различных типов бинтов марлевых медицинских

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Билирубин, мкмоль/л	Контроль	4,40 (4,00; 5,05)	5,10 (4,70; 5,60)	7,25 <sup>\$</sup> (7,10; 7,50)	7,25 <sup>\$</sup> (6,90; 8,10)	4,85 (4,60; 5,00)
	опыт-1		5,35 (5,20; 5,40)	6,90 <sup>\$</sup> (6,80; 7,00)	6,70 <sup>\$</sup> (5,80; 7,70)	5,05 (3,90; 5,10)
	опыт-2		5,25 (5,10; 5,40)	6,80 <sup>\$*</sup> (6,60; 6,80)	6,80 <sup>\$</sup> (6,60; 7,00)	4,50 (4,20; 4,70)
АЛТ, Ед/л	Контроль	66,50 (62,50; 75,00)	125,50 <sup>\$</sup> (122,00; 132,00)	143,00 <sup>\$</sup> (140,00; 146,00)	116,00 <sup>\$</sup> (106,00; 126,00)	95,50 <sup>\$</sup> (90,00; 98,00)
	опыт-1		112,00 <sup>\$*</sup> (107,00; 116,00)	98,50 <sup>\$*</sup> (98,00; 100,00)	81,00 <sup>*</sup> (76,00; 86,00)	79,00 <sup>*</sup> (74,00; 82,00)
	опыт-2		117,50 <sup>\$*</sup> (116,00; 118,00)	100,50 <sup>\$*</sup> (97,00; 102,00)	86,00 <sup>\$*</sup> (81,00; 92,00)	73,00 <sup>*</sup> (71,00; 76,00)
АСТ, Ед/л	контроль	177,00 (172,00; 180,00)	236,00 <sup>\$</sup> (233,00; 239,00)	287,50 <sup>\$</sup> (270,00; 298,00)	217,50 <sup>\$</sup> (211,00; 224,00)	210,50 <sup>\$</sup> (204,00; 214,00)
	опыт-1		304,00 <sup>\$*</sup> (300,00; 307,00)	201,00 <sup>\$*</sup> (195,00; 210,00)	189,50 <sup>*</sup> (185,00; 200,00)	182,50 <sup>*</sup> (178,00; 184,00)
	опыт-2		310,00 <sup>\$*</sup> (305,00; 317,00)	230,00 <sup>\$</sup> (194,00; 261,00)	202,50 (179,00; 221,00)	185,00 <sup>*</sup> (178,00; 187,00)
Белок, г/л	контроль	74,00 (70,50; 74,00)	56,50 <sup>\$</sup> (55,00; 58,00)	63,50 <sup>\$</sup> (61,00; 67,00)	65,00 <sup>\$</sup> (64,00; 67,00)	67,00 <sup>\$</sup> (62,00; 69,00)
	опыт-1		60,00 <sup>\$*</sup> (59,00; 61,00)	68,00 <sup>\$*</sup> (68,00; 70,00)	69,50 (69,00; 71,00)	71,50 <sup>*</sup> (71,00; 73,00)
	опыт-2		60,50 <sup>\$*</sup> (60,00; 61,00)	68,50 <sup>\$</sup> (68,00; 69,00)	70,50 <sup>*</sup> (69,00; 71,00)	72,00 <sup>*</sup> (71,00; 72,00)

Показатель	Группа	Интактные животные	Сроки выведения из эксперимента			
			3 дня	7 дней	14 дней	21 день
Глюкоза, ммоль/л	контроль	9,05 (8,60; 9,80)	5,35 <sup>\$</sup> (5,20; 5,90)	7,55 <sup>\$</sup> (7,50; 7,60)	7,40 <sup>\$</sup> (7,40; 7,70)	7,95 (7,80; 8,20)
	опыт-1		8,20* (8,00; 8,40)	8,45 (7,90; 8,70)	8,45 (8,30; 8,80)	8,50* (8,30; 9,50)
	опыт-2		8,10* (8,00; 8,20)	8,20* (8,10; 8,40)	8,45 (8,40; 8,50)	8,70 (8,30; 8,90)
Мочевина, ммоль/л	контроль	4,20 (3,50; 4,90)	7,80 <sup>\$</sup> (7,00; 8,40)	6,30 <sup>\$</sup> (6,20; 6,70)	5,20 (5,00; 5,70)	4,70 (4,50; 4,80)
	опыт-1		7,25 <sup>\$</sup> (6,10; 8,00)	5,20* (5,10; 5,20)	4,80 (4,70; 5,00)	4,50 (4,20; 5,00)
	опыт-2		7,35 <sup>\$</sup> (7,20; 8,30)	5,70 <sup>\$@</sup> (5,50; 5,90)	5,40 (4,70; 5,50)	4,60 (4,60; 5,00)
Креатинин, мкмоль/л	контроль	50,00 (47,50; 52,00)	59,50 <sup>\$</sup> (57,00; 64,00)	57,50 <sup>\$</sup> (56,00; 59,00)	56,50 (54,00; 60,00)	52,50 (51,00; 57,00)
	опыт-1		56,50 <sup>\$</sup> (56,00; 57,00)	52,50 (51,00; 55,00)	51,00 (50,00; 52,00)	51,00 (48,00; 52,00)
	опыт-2		56,50 <sup>\$</sup> (55,00; 60,00)	56,00 <sup>\$</sup> (53,00; 57,00)	55,00 (52,00; 58,00)	51,00 (50,00; 52,00)

Примечания –

1<sup>\$</sup> – данные статистически достоверны по отношению к интактным животным ( $p < 0,01$ );

2\* – данные статистически достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ );

3<sup>@</sup> – данные статистически достоверны по отношению к группе «опыт-1» ( $p < 0,01$ ).