

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра биохимии и биофизики

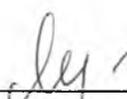
**Сравнение действия нанопрепаратов и биологически активных веществ
на течение раневой инфекции**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы
направления подготовки 06.04.01. - Биология
биологического факультета
Ждановой Екатерины Юрьевны

Научный руководитель

к.б.н., доцент


_____ подпись, дата 20.06.18

И.К. Миронова

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор


_____ подпись, дата 20.06.2018

С.А. Коннова

Саратов 2018

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Проблема лечения гнойных ран, несмотря на многовековую историю изучения, остается до настоящего времени актуальной как в теоретическом, так и в практическом плане. Попытки и способы решения данной проблемы описаны во многих исторических документах, дошедших до нашего времени. Однако, несмотря на большие достижения в этой области науки и медицины, частота развития гнойно-хирургических заболеваний и гнойных осложнений остается на достаточно высоком уровне. Во-первых, это связано с длительным незаживлением послеоперационных ран и их дальнейшими гнойными осложнениями, во-вторых, с тем, что у микроорганизмов развивается резистентность к препаратам, которые часто назначают врачи. Возникает необходимость в поиске новых высокоэффективных препаратов для лечения раневых инфекций.

Целью исследования явилось выявление влияния суспензий наночастиц металлов в водном растворе на течение раневой инфекции.

В связи с этим были поставлены следующие **задачи**:

1) Выявить общие закономерности реакции организма крыс на травму и определить динамику изменения электросопротивления крови при развитии раневого процесса и купировании его препаратами, содержащие наночастицы металлов.

2) Сравнить бактерицидные свойства наиболее эффективной суспензии наночастиц металлов с ранее изученным нами биологически активным веществом пантолен.

3) Обосновать (прогнозировать) эффективность применения наночастиц.

Методы исследования. Для решения задач практического характера был использован метод импедансометрии. А так же планиметрический метод для комплексной оценки течения раневого процесса. Метод импедансометрии позволяет провести экспресс-оценку структурно-функциональных изменений в тканях и органах при любых воздействиях. Здоровые клетки и ткани имеют

постоянные величины электрических показателей (сопротивление и электропроводность), которые отражают их жизнеспособность [1].

Жизнеспособность клеток организма напрямую зависит от состояния их мембран, а если быть точнее – от проницаемости их билипидного слоя [2]. Одним из наиболее распространенных механизмов деструкции мембранных структур является активация перекисного окисления липидов, регистрируемая при стрессах, инфекциях, действии ядов, радиации. Регистрация изменения электропроводности позволяет определить начало и конец патологического процесса [3]. Способность живых тканей находиться в состоянии неравновесной электрической поляризации, так называемый биоэлектрический эффект, является одной из причин длительного существования электрического поля в органической ткани. Метод импедансометрии нашел свое применение в решении задач современности.

Плюс данного метода заключается в позволении выявить наличие патологического процесса на ранних этапах ее развития.

Установка состоит из генератора сигналов Г6-27, цифрового вольтметра В7-27 А/1, блока питания К762 и измерительной кюветы. Эритроциты помещали в измерительную кювету, через которую пропускался переменный ток. Измерение U_{in} и U_{out} , измеряемое в мВ, производилось на частотах 5,10,20,50,100,200 кГц. Значение величины импеданса в Ом вычислялось по формуле: [4]

$$Z = \frac{R_0}{\sqrt{\frac{U_{in}}{U_{out}} - 1}}$$

где U_{in} - входное напряжение мВ;

U_{out} - выходное напряжение мВ;

R_0 - образцовое сопротивление, равное 4,99 Ом.

Объект исследования. Эксперимент проводился на беспородных самках белых крыс массой 250 ± 100 г. Всем животным под наркозом (набутал 35 мг/кг) моделировали гнойную рану. Для этого на спине на выбритом от шерсти и обработанном антисептиком участке иссекали кожу с подкожной сетчаткой размером 2×1 см.², затем в рану вводили марлевый тампон, содержащий 1 млрд. микробных клеток суточной культуры *Staphylococcus aureus* 592 и рану ушивали. Заражение осуществлялось в течение 48 часов.

Для проведения эксперимента все крысы были разделены на 10 групп (по 4 особи в каждой) по характеру воздействия (контроль, 3 группы без лечения – выводили на 3, 10, 18 сутки, и 6 групп, у которых инфекцию купировали водными растворами наночастиц серебра, меди, золота, серебро+медь, медь+золото, золото+серебро).

Крыс содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. На третий, десятый, четырнадцатый и восемнадцатый дни раны обрабатывали перекисью, снимали кровяную корочку, делали посеvy гнойного содержимого, вели визуальные наблюдения процессов заживления. После забоя, который осуществлялся путем декапитации, у каждого животного производился забор крови в пробирки, обмытые гепарином.

В качестве материала для исследования использовали цельную кровь.

Положения, выносимые на защиту:

- 1) Методы моделирования раневой инфекции в экспериментальных условиях;
- 2) Закономерности реакции организма крыс на травму и общебиологические особенности раневого процесса;
- 3) Зависимость электрических показателей крови крыс от развития раневой инфекции;
- 4) Обоснование эффективности применения наночастиц металлов при купировании раневого процесса.

Практическая и научная значимость. Основные положения проведенного исследования могут лечь в основу дальнейших теоретических и практических разработок в области медицины. Результаты выпускной квалификационной магистерской работы могут быть использованы при решении трудностей поиска новых высокоэффективных и доступных препаратов для лечения реневых инфекций.

Структура работы. Магистерская квалификационная работа состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материал и методы, результаты исследования), заключения, выводов, списка использованных источников, включающего 86 источников.

Основное содержание работы. Нами рассмотрены ранозаживляющие свойства нанопрепаратов по сравнению с биологически активными веществами и охарактеризована эффективность применения метода импедансометрии при изучении раневой инфекции.

Эксперимент был условно разделен на 2 части: было интересно отметить первое - динамику изменения электрических показателей на разных этапах развития инфекционного процесса (рисунок 1) и второе - купирование раневого процесса нанопрепаратами и панолоном (рисунок 2).

На рисунке 1 представлена гистограмма, которая показывает, что величины сопротивления крови на всех стадиях инфекционного процесса располагаются достоверно ниже от значений интактных крыс. Можно предположить, что к 18 дню эксперимента электропроводность крови крыс, оставленных без лечения, остается высокой за счет того, что мембраны клеток крови не стабилизируются за такой короткий срок. Это может свидетельствовать о том, что развитие инфекционного процесса сопровождается выбросом большого количества заряженных ионов. Падение сопротивления в этих образцах и, соответственно, увеличение электропроводности связано с активацией процесса пероксидации, вызванного с развитием инфекционного процесса, что приводит к нарушению целостности мембран клеток крови.

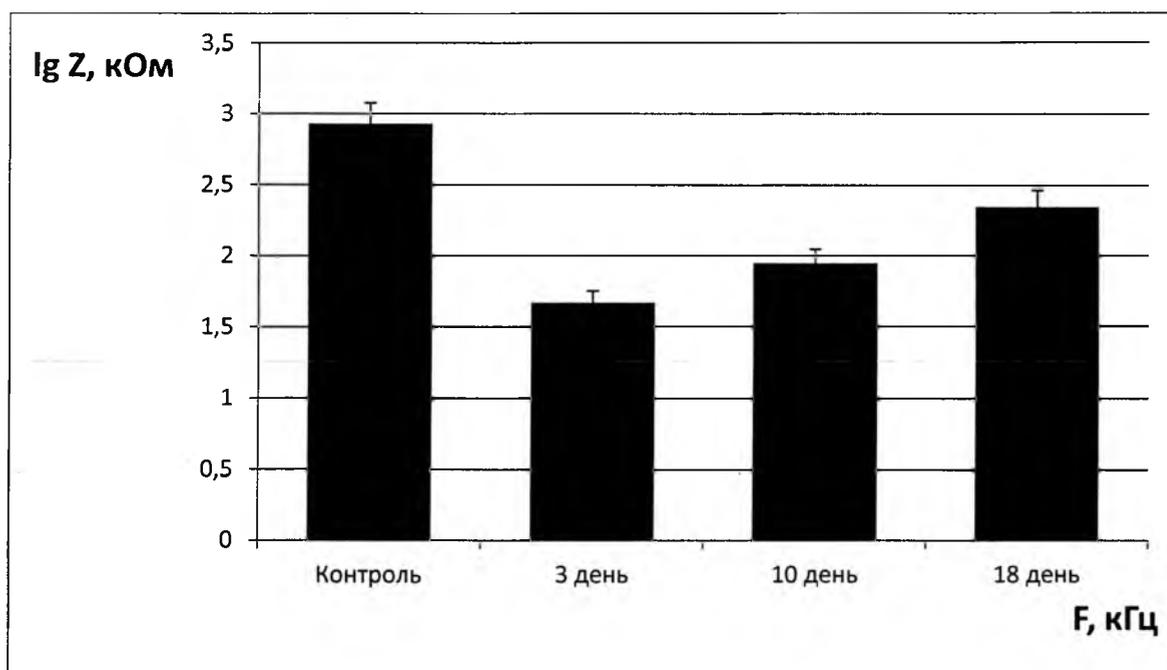


Рисунок 1 – Динамика изменения импеданса крови крыс при частоте 200 кГц.

Полученные нами ранее данные по исследованию биологически активных веществ показали, что наиболее ранозаживляющими свойствами обладает пантолен. Поэтому, одной из задач нашей работы являлось сравнить бактерицидные свойства наиболее эффективной суспензии наночастиц металлов с ранее изученным биологически активным веществом пантолен. Из диаграммы, представленной на рисунке 2 видно, что купирование поверхности раневой инфекции приводит к более быстрому ее заживлению по сравнению с группой, оставленной без лечения (18 день). В группах крыс, обрабатываемых водным раствором наночастиц серебра, меди и серебро+золото и биологически активным веществом пантолен достоверных различий с контрольной группой не выявлено. Однако, исходя из всех полученных результатов, более быстрое заживления ран и восстановление электрических показателей крови было отмечено при использовании суспензии наночастиц серебро+золото. Величина сопротивления подтверждает, что инфекционный процесс медленно заканчивается и наступает выздоровление. При купировании крыс водным раствором наночастиц золота величины импеданса крови к 18 дню увеличились незначительно. Высокую электропроводность можно объяснить

тем, что в водных растворах золото находится в виде катионов, обладающих своей высокой электропроводностью, и их присутствие может сказываться на величинах сопротивления крови крыс.

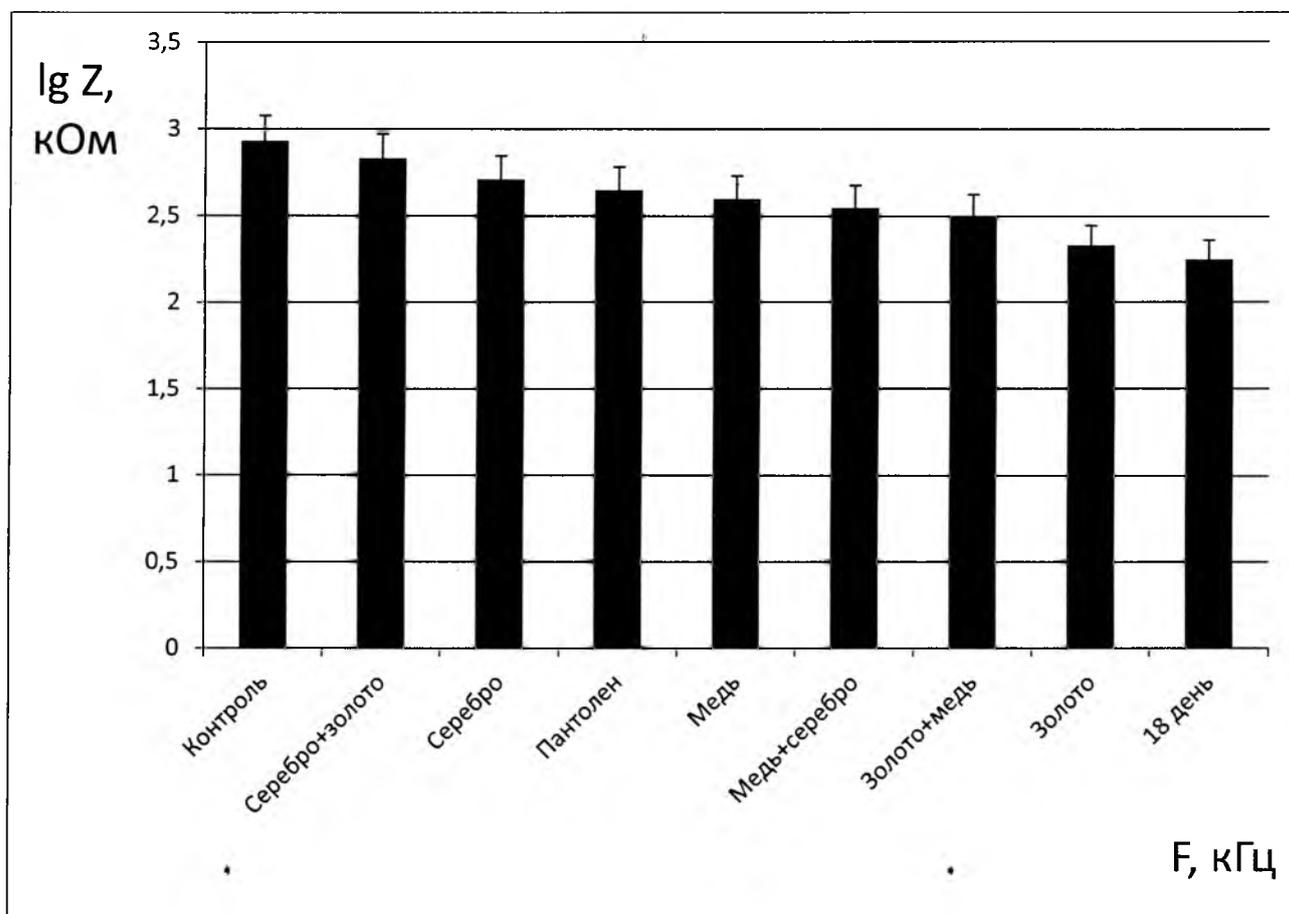


Рисунок 2 – Динамика изменения импеданса крови при частоте 200 кГц при купировании раневой инфекции нанопрепаратами и пантоленом.

Заключение. Подводя итог проведенным экспериментам можно заключить, что впервые получены достоверные результаты доказывающие, что развитие раневой инфекции сопровождается изменениями электрические показателей крови. В результате проведенных экспериментальных исследований было выявлено, что использование суспензий наночастиц металлов в водном растворе оказывается эффективным при местном лечении ран, в различной степени отмечается подавление микробной флоры и регенеративное действие. Купирование раневой инфекции растворами, содержащими наночастицы серебра,

приводят как к быстрому заживлению ран, так и к восстановлению до нормы значений сопротивления крови. Благодаря их малому размеру и вследствие этого сильно развитой поверхности массообмена, способствует значительному усилению эффекта подавления патогенной микрофлоры. Добавление к серебру наночастиц золота оказывает позитивное воздействие на процесс заживления гнойной раны. Ранее нами полученные данные по применению пантолена для лечения раневой инфекции доказывают свою эффективность исходя из диаграммы, на которой можно заметить, что достоверных результатов по сравнению с препаратом, представленным водным раствором наночастиц серебра и серебро+золото не выявлено. Вероятно, в основе действия пантолена лежат несколько механизмов: во-первых, под влиянием пантолена происходит активация особых клеток фагоцитов, которые очищают рану, освобождают место для формирования молодой регенерирующей ткани и выделяют вещества, ускоряющие процесс заживления; во-вторых, происходит активация размножения различных клеток, участвующих в заполнении раневого дефекта; в-третьих, некоторые вещества, содержащиеся в пантолене, усиливают миграцию (движение) молодых клеток в зону повреждения, что ускоряет закрытие дефекта; в-четвертых, происходит усиление миграции из крови в зону повреждения стволовых клеток, которые созревая, превращаются в новые клетки поврежденной ткани.

Наиболее выраженное антисептическое и регенеративное действие отмечается у наночастиц серебра и пантолена, эффективно влияют на регенерацию ран наночастицы меди, наночастицы золота не проявляют при этом четкого антибактериального эффекта на раневую поверхность.

Выводы:

- 1) Впервые определено, что развитие раневой инфекции приводит к резким падениям величин сопротивления крови.
- 2) Выявлено, что наиболее выраженное антисептическое и регенеративное действие отмечается у препарата с наночастицами серебра.

3) Установлено, что биологически активное вещество пантолен уступает по эффективности заживления препарату, содержащему наночастицы серебра.

4) Достоверно установлено, что электросопротивление крови достигает величин сопротивления интактных животных при полном заживлении ран только в тех группах, которые обрабатывались раствором наночастиц серебро+золото.

5) Экспериментально подтверждено, что наночастицы золота ускоряют регенеративное действие препарата, содержащего наночастицы серебра.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ремизов, А. Н. Медицинская и биологическая физика / А. Н. Ремизов // М.: Дрофа, 2003. 560 с.

2. Терехова, Л. Г. Определение величин электрических характеристик крови человека и животных. Основы электроплетизмографии / Л. Г. Терехова // М.: Медицина, 1975. С. 198-200.

3. Тарусов, Б. Н. Биофизика / Б. Н. Тарусов // М.: Изд-во «Высшая школа», 1989. 310 с.

4. Берестовский, Г. Н. Новые физические методы в биологических исследованиях / Г. Н. Берестовский // М.: Наука, 1997. 546 с.

