

ДИНАМІКА БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ ТА ПЛАНІМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ РАНИ ПІД ДІЄЮ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, СТАБІЛІЗОВАНИХ МЕКСИДОЛОМ ТА ПОЛІВІНІЛПІРОЛІДОНОМ

В. І. Ляховський, Г. А. Лобань, О. В. Ганчо, О. М. Важнича,
С. В. Коломієць, В. Х. О. Джабер

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

DYNAMICS OF BACTERIOLOGICAL AND PLANIMETRIC INDICES OF THE WOUND UNDER THE ACTION OF THE SILVER NANOPARTICLES, STABILIZED BY MEXIDOL AND POLYVINYLPIRROLIDONE

V. I. Lyakhovskiy, G. A. Lobahn, O. V. Gancho, O. M. Vazhnycha,
S. V. Kolomiyets, V. Kh. O. Jaber

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

Лікування ран є однією з важливих проблем хірургії. Поглиблені уявлення про механізми перебігу ранового процесу [1], удосконалені оперативні й консервативні методи лікування, зокрема, розроблені понад 3000 засобів і перев'язувальних матеріалів для різних типів ран [2]. Досліджені можливості застосування НЧ, навантажених факторами росту, антибіотиками, ферментами, а також НЧ з власною антимікробною активністю [3].

Для лікування ран одне з провідних місць посідають НЧ срібла [4]. Стабілізація таких НЧ біологічно активними речовинами, наприклад, 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинатом (мексидол), що застосовують в хірургії [5], дозволяє надати їм нових властивостей (антиоксидантних, регенераторних), що потребує експериментального підтвердження.

Мета роботи: вивчення змін бактеріологічних показників та площі рани хімічного походження під впливом місцевого застосування НЧ срібла, стабілізованих мексидолом та низькомолекулярним ПВП.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведені на 14 білих щурах-самицях лінії Wistar

Реферат

В експерименті вивчені зміни бактеріологічних показників та площі рани хімічного походження під місцевим впливом наночастинок (НЧ) срібла, стабілізованих 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинатом (мексидолом) та полівінілпіролідом (ПВП). У білих щурів моделювали рани підщелепної ділянки шляхом введення 10% розчину кальцію хлориду з подальшим розкриттям некротичного вогнища та відкритим веденням рани. Починаючи з 5-ї доби, рану щоденно зрошували рідиною, що містила стабілізовані НЧ срібла, 0,05% водним розчином хлоргексидину або ізотонічним розчином натрію хлориду (контроль). Встановлено, що НЧ срібла справляють антисептичний та регенераторний вплив при лікуванні рани, зменшують за 10 днів мікробне забруднення ексудату у 24 рази, площу рани – втричі у порівнянні з вихідними показниками. Ці зміни були аналогічні таким при використанні хлоргексидину.

Ключові слова: рана; мікробне забруднення; загоєння; наночастинок срібла; мексидол; експеримент.

Abstract

Changes in bacteriological indices through the square of the wound of chemical origin under local impact of the silver nanoparticles (NP), stabilized by 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol) and polyvinylpyrrolidone were studied. The wounds of submandibular region were simulated in white rats, using injection of 10% solution of calcium chloride with further opening of necrotic foci and open management of the wound. Beginning from the fifth day, every day the wound was irrigated with liquid, which have contented the stabilized NP of the silver, 0,05% water solution of chlorhexidine or isotonic solution of the the sodium chloride (control). There was established, that the silver NP impact antiseptically and regenerative while the wound treatment, and reduce during 10 days microbial contamination of exudate in 24 times, the wound square – in three times in comparison with original indices. These changes were identical to those while application of chlorhexidine.

Key words: wound; microbial contamination; healing; nanoparticles of the silver; mexidol; experiment.

масою тіла 180 – 200 г, отриманих з розплідника "Біомодельсервіс" (Київ). На проведення дослідження одержаний дозвіл комісії з біомедичної етики. У тварин під наркозом (діетиловий ефір 3 – 4 мл/кг маси тіла) відтворювали рану в підщелепній ділянці шляхом введення підшкірно 0,5 мл 10% розчину каль-

цію хлориду [6]. Через 2 доби некротичний струп видаляли, утворювалася рана, яку лишали відкритою, двічі на день зрошували ізотонічним розчином натрію хлориду. На 5-ту добу, коли ексудат ставав гнійним, починали лікування. Щурам 1-ї групи щоденно двічі на добу рану зрошували 1 мл ізотонічного розчину

натрію хлориду (контроль, 4 тварини). У тварин 2-ї групи застосовували 0,05% водний розчин хлоргексидину біглоконату (Луганська обласна "Фармація", Україна) (референтна група, 5 тварин). Щурам 3-ї групи рану зрошували рідиною, що містила НЧ срібла, стабілізовані мексидолом і ПВП (дослідна група, 5 тварин).

Рідину готували, диспергуючи конденсат НЧ срібла з сріблом оксидом на поверхні, осаджених на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі (Інститут електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України, Київ), та субстанцію мексидолу (Біон, РФ) в 6% розчині ПВП (Синтвита, РФ) з молекулярною масою (8000 ± 2000) Д, що додатково містив іони натрію, калію, кальцію, магнію та бікарбонату [7]. Концентрація срібла в рідині становила ($53,8 \pm 0,5$) мг/л, вміст мексидолу 20 мг/мл, розмір 99,9% частинок 17 – 40 нм.

У 1, 3, 7-му та 10-у добу лікування для визначення мікробного пейзажу робили відбиток з поверхні рани на предметне скло, що фіксували в полум'ї та фарбували за Грамом [8]. Виділення з рани брали для бактеріологічного дослідження, прикладаючи до поверхні рани попередньо зважений стерильний марлевий тампон площею 0,5 см². Відразу тампон повторно зважували та використовували для визначення мікробного числа – кількості колонієутворювальних одиниць (КУО) у перерахунку на 1 мг ексудату, шляхом "вимивання" у стерильному ізотонічному розчині мікроорганізмів з тампону, посіву змитого матеріалу на тверде живильне середовище – кров'яний агар, інкубації при температурі 38 °С та підрахунку колоній [8].

У ті самі строки спостереження визначали площу рани шляхом планіметрії, для чого робили відбиток рани на тонкому автоклаваному папері, наводили контур рани та визначали її площу за допомогою трафарета (ціна ділення 1 мм²), що є модифікацією класичного методу Л. Н. Попової [9]. Обчислювали швидкість загоєння рани (індекс Попової – ІП) за формулою:

$$ІП = (S - S_n) \times 100 / S \times t,$$

де S – площа рани при попередньому вимірюванні; S_n – площа рани в нинішній час; t – кількість днів між вимірюваннями. Результати визначення мікробного числа обробляли за допомогою непараметричного критерію "точний метод Фішера" (тмф) [10]. Дані планіметрії обробляли за стандартними комп'ютерними програмами Microsoft Excel. Вірогідність різниці між групами визначали за t-критерієм Ст'юдента з поправкою Бонфероні [10], що при порівнянні трьох груп дорівнювало $p < 0,02$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після розкриття некротичного вогнища в усіх тварин утворилися рани неправильної форми, які на початку лікування характеризувались помірною кількістю гнійного ексудату, ущільненими гіперемованими краями, що відповідало І–ІІ фазі ранового процесу. За даними бактеріоскопії, до початку лікування мікробний пейзаж рани в усіх тварин був поліморфним, переважала грампозитивна кокова мікрофлора, виявляли також короткі грампозитивні палички, грамнегативні кокобактерії та дріжджоподібні гриби. В подальшому кількість паличок та грибів зменшувалась, переважала кокова мікрофлора.

При посіві ексудату на кров'яний агар в усі строки експерименту спостерігали ріст мікроорганізмів та утворення колоній, кількість яких різнилася в групах. До початку лікування мікробне число ексудату було однаковим в усіх групах. На 3-тю добу спостерігали його вірогідне зменшення вдвічі ($p < 0,025$) у щурів 2-ї групи у порівнянні з таким у контролі. У ці строки стабілізовані НЧ срібла не спричиняли вірогідних змін показника. На 7-му і особливо на 10-ту добу у тварин 2-ї та 3-ї груп відзначали достовірне зменшення мікробного числа, що відображало антисептичні властивості застосованих засобів.

У щурів контрольної групи за 10 днів мікробне число ексудату зменшилося у 18 разів (р_{тмф} < 0,025) у порівнянні з початковим, у тварин

2-ї групи – у 28 разів (р_{тмф} < 0,025), 3-ї групи – у 24 рази (р_{тмф} < 0,025).

Аналогічні зміни спостерігали при використанні пептидного препарату вермілат, під впливом якого після моделювання гнійної рани у дослідних щурів не лишалося рубців [11].

Протягом 10 днів лікування кількість виділень з рани зменшилася, ексудат ставав серозним, площа рани зменшувалась. При зрошуванні рідиною з НЧ на 10-ту добу площа рани була вірогідно меншою ($p < 0,02$) за таку в контролі, водночас, зменшення площі рани у 2-й групі недостовірне як у порівнянні з контролем ($p < 0,05$), так і з показником у 3-й групі ($p > 0,2$).

За 10 днів у щурів контрольної групи площа рани зменшилася в 1,9 разу ($p < 0,01$) в порівнянні з такою до початку лікування; при застосуванні хлоргексидину – у 2,8 разу ($p < 0,001$); НЧ срібла – у 3 рази ($p < 0,001$). Швидкість загоєння рани під впливом досліджуваних НЧ була більша, ніж у контролі. При застосуванні хлоргексидину вірогідне збільшення швидкості загоєння рани відзначали у 1 – 3-тю добу лікування.

Це свідчило, що під впливом розчину НЧ срібла регенерація тканин і загоєння рани не гірші за такі під впливом відомого антисептика хлоргексидину біглоконату. Можна припустити, що основну роль у прискоренні загоєння рани під впливом досліджуваних НЧ срібла відіграє пригнічення мікрофлори рани, що загоювалась вторинним натягом. Водночас, ймовірно, регенераторні властивості НЧ зумовлені також місцевою антиоксидантною активністю мексидолу, що вивільняється під час процесингу композитних НЧ срібла в рани.

ВИСНОВКИ

1. У дослідах на білих щурах поліморфна мікрофлора рани підщелепної ділянки хімічного походження, що загоювалась вторинним натягом, чутлива до рідини з НЧ срібла, стабілізованими мексидолом і ПВП, розмірами 17 – 40 нм, вмістом срібла 53,8 мкг/мл і мексидолу 20 мг/мл.

2. Нанорідина на основі НЧ срібла, мексидолу та ПВП справляє регенераторний вплив у I – II фазі ранового процесу, що підтверджене зменшенням площі рани через 10 діб лікування та більшою швидкістю її загоєння у порівнянні з такою у контролі.
3. За вираженістю антисептичного та регенераторного ефекту НЧ срібла, стабілізовані мексидолом і ПВП, не поступаються хлорексидину біглоконату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Brown A. Phases of the wound healing process / A. Brown // Nurs. Times. – 2015. – Vol. 111, N 46. – P. 12 – 13.
2. Dhivya S. Wound dressings – a review / S. Dhivya, V.V. Padma, E. Santhini // Biomedicine (Taipei). – 2015. – Vol. 5, N 4. – P. 22.
3. Nanoparticles for the treatment of wounds / F. Oyarzun–Ampuero, A. Vidal, M. Concha [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2015. – Vol. 21, N 29. – P. 4329 – 4341.
4. Preparation and characterization of silver nanoparticle loaded amorphous hydrogel of carboxymethylcellulose for infected wounds / A. Das, A. Kumar, N. B. Patil [et al.] // Carbohydr. Polym. – 2015. – Vol. 130. – P. 254 – 261.
5. Кравців М.І. Комплексне лікування гнійних ран м'яких тканин (експериментально–клінічне дослідження): автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.03 – хірургія / М. І. Кравців. – К., 2010. – 20 с.
6. Изучение лечебной эффективности многокомпонентной мази ЛНС [Электронный ресурс] / Медицина для всех и каждого. – Режим доступа: <http://med-for-all.ru/izuchenie-lechebnoj-effektivnosti-mnogokomponentnoj-mazi-lns>
7. Пат. 95555 Україна, МПК А61К 33/38; А61Р 31/02; А61Р 17/00; В82В 3/00. Спосіб одержання наночастинок оксиду срібла з антимікробними властивостями / О. М. Важнича, Г. А. Лобань, О. В. Ганчо [та ін.] (Україна). – Заявник та патентовласник Укр. мед. стомат. академія. – № u201408079; заявл. 17.07.14; опубл. 25.12.14. Бюл. № 24.
8. Практична мікробіологія: посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко, В. П. Широбоков. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
9. Попова Л. Н. Как измеряются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л. Н. Попова. – Воронеж, 1942. – 22 с.
10. Гланц С. Медико–биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. Ю. А. Данилова. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
11. Коломиец С. В. Влияние препарата "Вермилат" на заживление гнойных ран у крыс линии Wistar / С. В. Коломиец, О. В. Ганчо, А. В. Катрушов // Пробл. екології та медицини. – 1998. – Т. 2, № 5–6. – С. 64 – 67.

