



УДК 616-003.84:616.718-018

## КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЛНОСЛОЙНОЙ РАНой

**С.В. Белова, И.В. Бабушкина,  
Е.В. Гладкова, И.А. Мамонова,  
Е.В. Нарякина, Г.В. Коршунов,  
Е.А. Конюченко**

*Саратовский научно-исследовательский институт  
травматологии и ортопедии  
Минздрава России, Россия, 410002,  
г. Саратов, ул. Чернышевского, 148*

*E-mail: samiiito\_bsv@mail.ru*

В данной работе проводилось изучение возможности коррекции метаболических нарушений у крыс с полнослойной гнойной раной с помощью комплексного препарата, состоящего из биологического полимера хитозана и наночастиц металлов.

Регенерация экспериментальной гнойной раны у животных опытной группы сопровождалась улучшением планиметрических, гематологических (снижение скорости оседания эритроцитов и содержания лейкоцитов на фоне повышения уровня эритроцитов), биохимических (снижение содержания малонового диальдегида и повышение активности ферментного антиоксиданта церулоплазмينا) показателей. В настоящей экспериментальной работе показано положительное влияние комплексного препарата, состоящего из природного биополимера хитозана, наночастиц металлов меди и цинка, на метаболические процессы у крыс с экспериментальной полнослойной гнойной раной на фоне сокращения сроков репаративной регенерации раны, что подтверждалось данными лабораторных исследований.

Ключевые слова: метаболические нарушения, экспериментальная полнослойная гнойная рана, наночастицы металлов меди и цинка, хитозан.

### Введение

По мнению многих авторов, развитие гнойного воспаления сопровождается каскадом сложных, взаимосвязанных биологических процессов [1, 2, 3]. Различного рода изменения (морфологические, биохимические, иммунологические и др.) происходят локально, в очаге поражения, и во всем организме в целом [1]. Удачный исход репаративной регенерации ран во многом определяется выраженностью системных метаболических нарушений у млекопитающих.

Хорошо известно негативное влияние свободных кислородных радикалов, образующихся в результате активации процессов свободно-радикального окисления, на состояние биологических мембран, что способствует развитию гнойно-воспалительных процессов и метаболических нарушений [2].

Имеются литературные данные об антиоксидантной активности биологического полимера хитозана [4] и регенерирующих, антибактериальных свойствах наночастиц металлов [5], которые при комбинированном применении взаимно усиливаются [6]. Поэтому представляет интерес изучение влияния локального воздействия комплексного препарата, состоящего из биологического полимера хитозана, наночастиц меди и цинка.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности коррекции метаболических нарушений у крыс с экспериментальной полнослойной гнойной раной посредством комплексного препарата, состоящего из наночастиц металлов и биологического полимера хитозана.

### Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводились на 32 белых беспородных крысах весом 180–230 грамм. Полнослойная гнойная рана была сформирована в межлопаточной области спины посредством иссечения кожного лоскута с подкожной клетчаткой в виде квадрата размером 20×20 мм по контуру, с размождением краев раны зажимом Кохера, при внесении в нее марлевого тампона весом 0.5 грамм с взвесью суточной культуры *Staphylococcus aureus*, выделенной от больных с остеомиелитом и другими гнойными посттравматическими и послеоперационными осложнениями, в дозе  $2 \times 10^6$  КОЕ/мл. Типичная картина полнослойной гнойной раны наблюдалась на 3-и сутки [7].

Лабораторные животные были разделены на три группы: первая – контрольная группа состояла из 10 интактных крыс; вторая – опытная группа была из 12 крыс с полнослойной гнойной раной, леченных комплексным препаратом; третью – группу сравнения составляли



10 животных с полнослойной гнойной раной, обрабатываемой 0.9% изотоническим раствором хлорида натрия. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Питание и уход за ними проводилось по «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник от Об.04.1973». Выведение животных из эксперимента осуществлялось согласно «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [8].

Коррекция метаболических нарушений у животных опытной группы проводилась с помощью комплексного препарата, имеющего порошкообразную форму, и состоящего из трех компонентов при следующем их соотношении, мас. %: 0.07–0.09 – наночастицы меди с дисперсностью 30–40 нм, 0.03–0.05 – наночастицы цинка дисперсностью 30–70 нм, остальное – природный низкомолекулярный хитозан, используемый в качестве биodeградируемого биополимерного материала. Экспериментальный образец препарата создан на базе ФГБУ «Саратовский НИИ травматологии и ортопедии» Минздрава России. Препарат наносился на 3-и сутки равномерным слоем однократно.

Изучение лабораторных показателей проводилось до моделирования раны, до коррекции и после нее.

Был проанализирован характер течения раневого процесса с помощью планиметрических методов исследования. Определены наличие и характер воспалительной реакции, состояние краев и дна раны, сроки очищения раны от некротических тканей и появления грануляций и их характер, сроки эпителизации ран.

Изучение гематологических показателей проводилось на анализаторе Micros 60 ABX (Франция).

Оценка состояния процессов перекисного окисления липидов проводилась с помощью биохимических методов исследования с определением уровня малонового диальдегида в реакции с тиобарбитуровой кислотой [9], оценка активности антиоксидантной системы осуществлялась по активности церулоплазмينا в сыворотке крови [10], выражавшаяся в условных единицах [11].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы «Statistica 6.0», с вычислением средней арифметической ( $M$ ), среднеквадратического отклонения ( $\sigma$ ), средней ошибки средней арифметической ( $m$ ), коэффициента достоверности ( $t$ ), показателя вероятности ( $p$ ).

### Результаты и их обсуждение

После моделирования полнослойной гнойной раны у экспериментальных животных на 3-и сутки отмечались выраженные метаболические нарушения локального и системного характера. Наблюдалась типичная картина гнойной раны. При визуальном осмотре отмечались гиперемия и отечность краев и дна раны, имелось гнойное отделяемое с очагами некроза.

Системные проявления гнойного воспаления у экспериментальных животных сопровождалось отрицательными изменениями гематологических показателей. У всех животных с экспериментальной гнойной раной имелась выраженная воспалительная реакция, проявлявшаяся повышением содержания лейкоцитов и скорости оседания эритроцитов, почти в 2 раза, по сравнению с интактными животными, на фоне снижения количества эритроцитов (табл. 1).

Таблица 1

Гематологические показатели у экспериментальных животных ( $M \pm m$ )

Показатели	Интактные крысы (n=10)	Крысы опытной группы до лечения (n=12)	Крысы опытной группы после лечения (n=12)	Крысы группы сравнения (n=10)
СОЭ (мм/ч)	3.01±0.19	5.73±0.23*	4.89±0.24**	6.08±0.27***
Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	9.39±0.45	11.03±0.31*	10.40±0.34	12.81±0.67***
Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	5.64±0.42	4.20±0.26*	4.73±0.21	3.87±0.23***

Примечание (здесь и далее): \* – достоверная разница ( $p < 0.05$ ) между показателями интактных животных и животных опытной группы до лечения; \*\* – достоверная разница ( $p < 0.05$ ) между показателями животных опытной группы до и после лечения; \*\*\* – достоверная разница ( $p < 0.05$ ) между показателями животных опытной группы после лечения и группы сравнения.

При этом отмечалось повышение уровня малонового диальдегида в сыворотке крови по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало об интенсификации процессов



перекисного окисления липидов в организме, а также снижение активности ферментного антиоксиданта церулоплазмينا в сыворотке крови по сравнению с показателями у интактных животных, говорившее о несостоятельности антиоксидантной системы защиты (табл. 2).

Таблица 2

**Биохимические показатели у экспериментальных животных ( $M \pm m$ )**

Показатели	Интактные крысы (n=10)	Крысы опытной группы до лечения (n=12)	Крысы опытной группы после лечения (n=12)	Крысы группы сравнения без лечения (n=10)
Малоновый диальдегид (мкмоль/л)	3.21±0.25	4.32±0.29*	3.72±0.19	4.56±0.18***
Церулоплазмин (у.е.)	26.77±0.85	19.37±0.98*	22.81±0.75**	18.58±0.73***

Лечение животных опытной группы проводилось на 3-и сутки наблюдения путем нанесения комплексного препарата на раневую поверхность. На 9-е сутки, после начала эксперимента имелось улучшение состояния раны: область раневой поверхности имела четкие границы, площадь поверхности раны была меньше, чем у животных группы сравнения. Позже у животных этой группы отмечалось ускоренное заживление раневой поверхности по сравнению с животными, не получавшими лечения. На 14-е сутки после нанесения препарата у крыс опытной группы имелись равномерное заживление раны, полная эпителизация, раневой струп ровной окантовки, а также наблюдалось восстановление волосяного покрова. У животных группы сравнения на коже вокруг раны имелась выраженная гиперемия, а у некоторых особей и участки некроза, при этом отмечалось отсутствие верхних слоев кожи с местами отторжения струпа и нагноения. К 14-м суткам, как в опытной группе, полной эпителизации у животных группы сравнения не наблюдалось.

Исследование гематологических параметров после нанесения препарата показало их положительную направленность: скорость оседания эритроцитов и содержание лейкоцитов снизились (см. табл. 1).

При изучении процессов перекисного окисления липидов после нанесения комплексного препарата в сыворотке крови был обнаружен пониженный уровень малонового диальдегида и повышенная активность сывороточного ферментного антиоксиданта церулоплазмينا по сравнению с аналогичным показателем у животных группы сравнения (см. табл. 2), что позволило констатировать снижение интенсификации процессов перекисного окисления липидов. В группе сравнения у животных, в те же сроки, что и в опытной группе, отмечалось дальнейшее повышение уровня малонового диальдегида и снижение активности церулоплазмينا, что свидетельствовало об усугублении несостоятельности антиоксидантной системы.

Как правило, на репаративные процессы раневой поверхности влияют такие общие факторы, как вирулентность и патогенность микроорганизмов, а также явления, происходящие в области раны, как то снижение местного иммунитета, интенсификация процессов свободно-радикального окисления, повышение количества эндотоксинов [3].

Практически любая патологическая ситуация сопровождается интенсификацией процессов свободно-радикального окисления, вызываемого активными формами кислорода, и структурно-функциональные изменения свойств биологических мембран. В условиях полнослойной гнойной раны у экспериментальных животных имелось повышение уровня малонового диальдегида – показателя состояния процессов перекисного окисления липидов, и снижение активности ферментного антиоксиданта церулоплазмينا, одного из показателя активности антиоксидантной системы, что являлось доказательством ее относительной несостоятельности. Имеющиеся выраженные локальные изменения раневой поверхности и системные метаболические нарушения требовали адекватного способа коррекции, заключающегося в использовании комплексного препарата, состоящего из наночастиц металлов и природного биополимера хитозана.

### Выводы

В настоящей экспериментальной работе показано положительное влияние комплексного препарата, состоящего из природного биополимера хитозана, наночастиц металлов меди и цинка, на метаболические процессы у крыс с экспериментальной полнослойной гнойной раной на фонесокращения сроков репаративной регенерации раны, что подтверждалось данными лабораторных исследований.



### Список литературы

1. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
2. Пасечник Н.Н. Окислительный стресс и критические состояния у хирургических больных // Вестн. интенсивной терапии. – 2004. – №3. – С. 27–31.
3. Толстых М.П. Лечение ран антиоксидантами. – М., 2004. – 110 с.
4. Хитозан и неспецифическая резистентность организма / Э.И. Хасина, М.Н. Сгребнева, И.М. Ермак, В.И. Горбач // Вестн. ДВО РАН. – 2005. – №1. – С. 62–71.
5. Аттестация наночастиц металлов, используемых в качестве биологически активных препаратов / И.П. Арсентьева, Е.С. Зотова, Г.Э. Фолманис и др. // Нанотехника. – 2007. – №2. – С. 72–77.
6. Наночастицы меди и наночастицы хитозана в составе ранозаживляющих средств / Н.Н. Глущенко, В.П. Варламов, О.А. Богословская и др. // Микроэлементы в медицине. – 2008. – Т. 9, вып. 12. – С. 51.
7. Даценко Б.М. Теория и практика местного лечения гнойных ран. – Киев: Здоровье, 1995. – 383 с.
8. Приложение 3, 4 к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977, № 755.
9. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1989. – №7. – С. 8–10.
10. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия (пособие для врачей-лаборантов). – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
11. Пишак В.П., Ярмольчук Г.М. Материал для осуществления внешнего контроля качества определения церулоплазмينا // Клин. лаб. диагностика. – 1998. – №4. – С. 38–44.

## CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS IN ANIMALS WITH AN EXPERIMENTAL FULL-LAYER WOUND

**S.V. Belova, I.V. Babushkina,  
E.V. Gladkova, I.A. Mamonova,  
E.V. Karyakina, G.V. Korshunov,  
E.A. Konjuchenko**

*Saratov Research Institute of  
Traumatology and Orthopaedics of  
Ministry of Public Health and Social  
Development of the Russian Federation,  
148 Chernyshevsky St, Saratov, 410002,  
Russia*

*E-mail: sarniito\_bsv@mail.ru*

In the given research a study of possibility of correction of metabolic disorders in rats with full-layer purulent wounds with the help of a complex preparation composed of the biopolymer chitosan and metal nanoparticles was carried out.

Reparative regeneration of experimental purulent wounds in animals of the experimental group was attended by improvement of planimetric, hematologic (decrease in erythrocyte sedimentation rate and content of leukocytes with increase in the level of erythrocytes), biochemical (decrease in content of Malondialdehyde and increase in activity of the enzymatic antioxidant ceruloplasmin) indices. In this experimental work a positive effect of the complex preparation composed of the natural biopolymer chitosan and nanoparticles of copper and zinc metals on the metabolic processes in rats with experimental full-layer purulent wounds in condition of decrease in the periods of wound reparative regeneration was demonstrated. Everything was confirmed by the data of laboratory research.

Key words: metabolic disorders, experimental full-layer purulent wound, nanoparticles of copper and zinc metals, chitosan.