

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОЖГОВЫХ РАН НА ПРИМЕРЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ МАГНИТНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ СОВМЕСТНО С АНТИБИОТИКОМ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ

Лысенко Е.В.

Научный руководитель – к. б. н. Коленчукова О.А., к. б. н., доцент Сарматова Н.И.

Сибирский федеральный университет

Применение наноматериалов в медицине и фармакологии является приоритетным направлением, позволяющим решать самые актуальные. Интенсивное исследование магнитных наночастиц, в настоящее время обусловлено их уникальными физическими характеристиками и широким спектром их возможного применения.

С помощью магнитных наночастиц можно целенаправленно доставлять лекарства. Преимущества микроорганизмов, как потенциальных источников выделения наночастиц, заключаются в возможности управляемого наращивания их биомассы и получения нанокристаллитов с заданными свойствами. Наночастицы ферригидрита размером 2–5 nm, производимые бактериями *Klebsiella oxytoca* при биоминерализации растворов солей железа из природной среды, обладают уникальными магнитными свойствами: в них сосуществуют антиферромагнитный порядок, присущий массивному ферригидриту, и спонтанный магнитный момент, обусловленный декомпенсацией спинов в подрешетках наночастицы. Усиленная эффектом суперантиферромагнетизма магнитная восприимчивость и наличие не зависящего от поля магнитного момента обеспечивают возможность магнитного управления этими природными объектами. Тем самым открывается возможность их использования в наномедицине и биотехнологиях.

Рациональное применение антибактериальной терапии в комплексном лечении ожоговых ран позволяет снизить частоту и тяжесть инфекционных осложнений ожоговой болезни, однако до сегодняшнего дня это является серьезной проблемой. Помимо непосредственной опасности для жизни, длительное существование инфекции приводит к задержке процесса заживления ожоговых ран и способствует избыточному рубцеванию, которое продолжается в результате хронической стимуляции воспалительных клеток. Таким образом, любое по тяжести ожоговое поражение создает условия для развития раневой инфекции. При обширных и глубоких ожогах в организме возникает ряд патологических процессов, проявляющихся клинической картиной ожоговой болезни и создающих дополнительные предпосылки для развития инфекционного процесса и его генерализации. Именно поэтому постоянное совершенствование методов профилактики и лечения инфекции остается одной из приоритетных задач.

Таким образом, целью исследования являлось изучение микробного пейзажа ожоговых ран у крыс при лечении антибактериальными препаратами на примере амоксициллина совместно с магнитными наночастицами при воздействии магнитного поля.

Объектом исследования являлась микрофлора, полученная с ожоговых ран 20 крыс (самки, масса тела 220-250 г), которые были разделены на 4 группы по 5 животных в каждой: 1 группа - контроль (ожог без лечения), 2 группа – ожог и лечение мазью с амоксициллином, 3 группа – ожог и лечение мазью с наночастицами, 4 группа – ожог и лечение мазью с наночастицами и амоксициллином.

Все группы животных подвергались воздействию в месте обожженного эпидермиса магнитоакустическим аппаратом МАГОФОН-01. Начиная с первого дня воздействовали по 3 мин и увеличивали воздействие ежедневно до девярых суток по 1 мин.

На 10 –й день с обожженной поверхности были взяты мазки для исследования микрофлоры и ткань обожженного эпидермиса для гистологического анализа.

Количественный состав бактерий. При исследовании количественного состава микрофлоры ожоговых ран у крыс было установлено, что на кожных покровах исследуемых крыс на 10 сутки в контрольной группе были обнаружены бактерии рода *Staphylococcus*, *Enterococcus (E.faecalis)* и *Enterobacteriaceae spp. (P.aeruginosa)* (табл.1). Присутствие этих бактерий в данном количестве может свидетельствовать о нарушении нормальной микрофлоры эпидермиса животных и развития раневой инфекции.

Таблица 1 - Количественный состав микрофлоры ожоговой поверхности у крыс

Показатели	покровы	Контроль 1 сутки	Контроль 10 суток	Лечение А	Лечение А+НЧ	Лечение НЧ
	1	2	3	4	5	6
<i>Micrococcus sp.</i>	$5,5 \pm 2,0 \cdot 10^4$	$1,5 \pm 3,4 \cdot 10^4$	$1,5 \pm 8,8 \cdot 10^6$	$4,0 \pm 1,0 \cdot 10^4 *$	$1,0 \pm 0,4 \cdot 10^4$	$5,2 \pm 1,8 \cdot 10^4 **$
<i>E.faecalis</i>	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^4$	-	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^6$	$3,0 \pm 2,0 \cdot 10^4 **$	$1,0 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$5,0 \pm 0,5 \cdot 10^4$
<i>E.coli</i>	-	-	-	$1 \pm 0,5 \cdot 10^5$	-	$1 \pm 0,5 \cdot 10^4$
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	$1,0 \pm 0,2 \cdot 10^6$	$1,2 \pm 0,34 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 0,4 \cdot 10^4$	$2,5 \pm 0,3 \cdot 10^4$
<i>S.cohnii</i>	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^5$	-	-	-	-	-
<i>S.xylosus</i>	$1,0 \pm 0,2 \cdot 10^6$	$1,0 \pm 0,2 \cdot 10^4$	-	-	-	-
<i>S.warneri</i>	-	$1,0 \pm 0,2 \cdot 10^4$	-	-	-	$1,0 \pm 0,4 \cdot 10^6$
<i>S.scheiferi</i>	-	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^4$	-	-	-	-
<i>S.epidermidis</i>	$1,7 \pm 1,2 \cdot 10^5$	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^6$	-	-	-
<i>S.capitis</i>	-	-	-	-	$1,1 \pm 1,0 \cdot 10^6$	-
<i>S.intermedius</i>	-	-	$3,5 \pm 1,5 \cdot 10^6$	$2,8 \pm 2,4 \cdot 10^6$	-	$1,5 \pm 1,2 \cdot 10^7$
<i>S.aureus</i>	-	-	$1,0 \pm 0,3 \cdot 10^7$	-	-	-

Примечание: *- значения достоверны с вероятностью $P < 0,01$; ** - достоверны с вероятностью $P < 0,05$

При изучении обсемененности ожоговой поверхности на десятые сутки в группе крыс, получавших для лечения мазь с амоксициллином и наночастицами, было обнаружено снижение количества бактерий рода *Enterococcus (E.faecalis)* по сравнению с группами, получавшими лечение только антибиотиком или только НЧ, и группой контроля.

По присутствию высокого количества бактерий *P.aeruginosa* можно судить о наличии воспалительных процессов в контрольной группе. Так же уровень данных микроорганизмов повышен в группах животных, пролеченных мазью с амоксициллином и наночастицами отдельно, при этом в группе где лечение проходило в комплексе количество бактерий синегнойной палочки значительно снижается.

Результаты анализа бактерий рода *Staphylococcus* показали, что их количество во всех группах практически не изменяется. Но наименьшее число бактерий было выявлено в группе крыс, получавших для лечение мазь совместно с наночастицами и антибиотиком амоксициллином.

При количественном анализе микрофлоры исследуемых групп крыс были получены следующие результаты. Было установлено, что при лечении ожоговой

поверхности мазью с амоксициллином и мазью с наночастицами количество бактерий практически одинаково. Но тенденцию к уменьшению количества бактерий можно наблюдать у группы крыс, получавших для лечения мазь совместно с амоксициллином и наночастицами при воздействии магнитоакустическим аппаратом. Низкая концентрация бактерий в этой группе так же может свидетельствовать о нормализации микрофлоры эпидермиса животных.

Антибактериальная терапия является одним из важнейших звеньев при лечении ожогов. Наиболее важно применение антибиотиков в II и III периоды ожоговой болезни (острую ожоговую токсемию и септикотоксемию, соответственно), поскольку именно в это время имеет место максимальный титр контаминации ожоговых ран. Спектр микроорганизмов, которые инфицируют ожоговые раны достаточно широк, кроме этого имеет место тенденция к смене качественного состава микрофлоры ожоговых ран по мере течения раневого процесса. В стадию острой ожоговой токсемии преобладает грамотрицательная микрофлора (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *Proteus spp.* и др.), которая в стадию септикотоксемии вытесняется грамположительными микроорганизмами (*S. aureus*, *S. Epidermidis*, *S. Pyogenes*); в 80-90% случаев высеваются полирезистентные штаммы микроорганизмов.

Успешное решение задачи при лечении ожоговых ран возможно благодаря использованию усиления антимикробной активности антибиотиков в сочетании с магнитными наночастицами при воздействии магнитоакустическим аппаратом.

Бактериологический контроль ожоговых ран показал высокую антибактериальную активность предложенного комбинированного препарата в комплексном лечении с магнитоакустическим аппаратом и восстановление микрофлоры обожженного эпидермиса животных.

Гистологический анализ ткани обожженного эпидермиса животных.

Все раневые процессы имеют определенную стадийность:

1. Фаза воспаления.
2. Стадия регенерации ткани.
3. Рубцовая стадия.

По результатам гистологического исследования на 10 сутки эксперимента были получены следующие результаты:

I. В контрольной группе, где животные не получали лечения и воздействия магнитного поля, ткани имеют бурное воспаление: струп достаточно утолщен, имеет место лейкоцитарная инфильтрация.

II. В группе крыс, получавших для лечения мазь с амоксициллином при воздействии магнитным полем на раневую поверхность, ткани перешли в начальный этап регенерации. Толщина струпа говорит об эффективности лечения антибиотиком. Она еще достаточно толстая, под ней имеются лейкоциты, что так же свидетельствует о наличии воспалительного процесса. Но под лейкоцитами образуется фиброзная ткань – восстановительная ткань, ядра лейкоцитов из сосудов мигрируют в зону воспаления. Идет не чистая регенерация, а с элементами воспаления (регенеративно – воспалительный тип заживления).

III. В группе крыс, получавших для лечения мазь с наночастицами при воздействии магнитным полем на раневую поверхность, нам надо было получить их нейтральность. Наночастицы использовались в качестве проводника для антибиотика, а не как лекарственный препарат. Поэтому результаты практически схожи с результатами полученными в группе контроля.

IV. В каждой группе крыс имеются элементы воспаления, они даже превалируют над регенерацией. В группе крыс, получавших для лечения мазь с

наночастицами и амоксициллином при воздействии магнитным полем на раневую поверхность, идет процесс регенерации: образуется грануляционная ткань, ядра фибробластов, тонкий слой струпа, лейкоцитарная инфильтрация практически отсутствует. Лечение привело к тому, что на 10 сутки стадия раневого процесса становится регенеративной и процессы воспаления минимализируются.

По результатам гистологического анализа можно сделать следующие выводы. Эффективность лечения минимальна при воздействии чистыми наночастицами, явление воспаления превалирует. При лечении с амоксициллином элементы воспаления присутствуют, но менее выражены: толщина струпа достаточна велика. Это говорит о том, что происходит еще бурная реакция воспаления, реакция экссудации, эмиграции и частично прореферации. Говорить о том, что наступает переходная стадия регенерации еще рано. Если сравнивать с лечением наночастиц и амоксициллина совместно, то за счет адресной доставки антибиотика к ткани происходит стадия пролонгации.

Лечебное действие антибиотика в ткани, его возможное усиление антибактериальных свойств за счет наночастиц при воздействии магнитным полем, позволяет нам более эффективно справляться с патогенной микрофлорой, которая является одним из ключевых факторов раневого процесса, отягощающая восстановление ткани после термического воздействия. Зачастую весь антибиотик, который наносится на раневую поверхность смывается слизью, серозным выделяемым, частично кровью, а за счет адресной доставки в ткани с помощью наночастиц при усилении их свойств магнитным полем все перечисленное происходит минимально – эффективность лечения повышается, явление воспаления минимализируются, эффект регенерации превалирует. Данный тип лечения по данным микробиологического и гистологического анализа является более эффективным.