

ВЛИЯНИЕ АЛЬГИНАТНО-ТКАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2023 г. В.В. Малышко*, **, Л.В. Федулова***, М.Е. Соколов****, А.В. Моисеев*****,
А.А. Басов*, ****, А.А. Дорохова**, ****, #, Д.И. Шашков****, С.С. Джимаков**, ****

*Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ,
ул. им. Митрофана Седина, 4, Краснодар, 350063, Россия

**ФИЦ «Южный научный центр РАН», пр. Чехова, 41, Ростов-на-Дону, 344006, Россия

***ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, ул. Талалихина, 26, Москва, 109316, Россия

****Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040, Россия

*****Кубанский государственный аграрный университет, ул. Калинина, 13, Краснодар, 350004, Россия

#E-mail: 013194@mail.ru

Поступила в редакцию 16.11.2022 г.

После доработки 03.12.2022 г.

Принята к публикации 07.12.2022 г.

Альгинаты с различными модифицирующими добавками (прежде всего хитозаном) и разными способами физической обработки используют для создания инновационных прототипов раневого покрытия. Целью настоящего исследования было создание и исследование свойств прототипа альгинатно-тканевого раневого покрытия, содержащего наночастицы серебра с десятикратной циклической заморозкой, с оценкой его влияния на течение гнойного раневого процесса у крыс. Проведенное исследование показало, что разработанная технология десятикратной циклической заморозки позволяет достоверно увеличить количество наночастиц серебра в составе альгинатно-тканевого раневого покрытия, прежде всего за счет наночастиц диаметром не более 15 нм, которые характеризуются наибольшей антибактериальной активностью. Применение разработанного раневого покрытия с наночастицами серебра уменьшает метаболические нарушения в работе системы неспецифической защиты на местном уровне, что характеризуется на третьи и пятые сутки раневого процесса менее выраженными показателями свободнорадикального окисления, меньшей напряженностью в сопряженной работе ферментов локальной антиокислительной защиты (каталазы и супероксиддисмутазы) по сравнению с применением препарата с наночастицами серебра, но не содержащего альгината, или использованием метода ежедневных санаций раны, не включающих применения ни альгината, ни наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы серебра, альгинаты, электронная микроскопия, хемилюминесценция, каталаза, супероксиддисмутаза.

DOI: 10.31857/S0006302923020175, EDN: CCUJRN

Известно, что в настоящее время альгинатные раневые покрытия достаточно часто применяются на практике и активно исследуются в различных областях ветеринарии и экспериментальной медицины. Так, альгинаты с различными модифицирующими добавками (прежде всего хитозаном) и разными способами физической обработки используют для создания инновационных прототипов раневого покрытия. Подобная модификация позволяет добиться увеличения способ-

ности к набуханию, снижает эрозию покрытия, а также обеспечивает гладкую текстуру поверхности и оптимальную скорость высвобождения иммобилизованного на нем лекарственного средства [1]. Гидрогели на основе альгината и хитозана с факторами роста обладают большим потенциалом в качестве многофункциональных гидрогелевых повязок для полнослойной регенерации кожи, которые характеризуются ярко выраженными кровоостанавливающими и антибактериальными свойствами, проявляя при этом устойчивую цитосовместимость [2]. Также возможно изменение свойств альгинатных покрытий за счет целлюлозы, поливинилового спирта и

Сокращения: AgNPs — наночастицы серебра, СОД — супероксиддисмутаза, ПВХЛ — площадь вспышки хемилюминесценции, АОА — антиокислительная емкость.

хлорида кальция с образованием стабильного минерализованного гидрогеля. Характерно, что его структура обладает низкой цитотоксичностью, что очень перспективно для заживления ран, особенно у лиц с иммунной гиперреактивностью кожных покровов [3].

Еще одним из направлений создания альгинатных раневых покрытий является применение различных полимерных волокон. К ним относятся, например, волокна из альгината натрия и ε-полилизина, полученные путем непрерывного вытягивания электростатическим способом собранных композитов, что позволяет добиться хорошей антибактериальной активности, низкой цитотоксичности и биоадгезии [4].

Другим вариантом модификаций альгинатных повязок является применение композитного каркаса из фиброина шелка и альгината натрия в качестве нижнего регенеративного слоя и пленки. Подобная структура позволяет получить более быструю эпителизацию ран, существенно снижая местный воспалительный процесс и увеличивая синтез белка во внеклеточном матриксе в процессе регенерации тканей [5]. Также продемонстрирована потенциальная возможность использования гидрогеля на основе альгинатно-хрящевого внеклеточного матрикса и фиброина шелка для регенерации хрящевой ткани [6]. Внесение в альгинатную гелевую композицию фиброина совместно с желатином позволяет значительно повысить биосовместимость получаемого материала [7].

Перспективным направлением модификации альгинатных композиций является применение наночастиц серебра (AgNPs). Согласно литературным данным, модификация альгинатной основы наночастицами серебра позволяет повысить их биосовместимость и антибактериальную активность, в том числе в отношении *M. tuberculosis*, *S. aureus* и *P. aeruginosa* [8–11], причем использование альгинатного матрикса позволяет пролонгировать и оптимизировать высвобождение наночастиц из подобного раневого покрытия.

В наших исследованиях ранее была проведена серия экспериментов, направленных на изучение сорбции AgNPs на поверхности шовных материалов различного химического состава [12–14], а также изменения их антибактериальных свойств при дополнительном температурном воздействии [15]. В результате этого было доказано, что кавитационно-диффузионное фотохимическое восстановление ионов серебра с последующей циклической заморозкой полученных AgNPs существенно повышает количество наночастиц на поверхности шовного материала, особенно на кетгутовых и шелковых нитях. При этом используемая десятикратная заморозка/разморозка поз-

воляла увеличить прежде всего количество наночастиц серебра диаметром от 1 до 15 нм, которые обладают наибольшей удельной поверхностью и, как следствие, наиболее выраженной антибактериальной активностью. Так, бактерицидные свойства модифицированных шовных материалов были подтверждены в отношении *Escherichia coli* (*E. coli* 25922) методом Кирби–Бауэра. Была обнаружена достоверно большая антибактериальная активность шелковых волокон, которые превосходили по данному показателю аналогично обработанные волокна кетгута и перлона [15].

С учетом вышеизложенного целью настоящего исследования было создание и исследование свойств прототипа альгинатно-тканевого раневого покрытия, содержащего AgNPs, с оценкой его влияния на течение гнойного раневого процесса у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение наночастиц серебра осуществляли в соответствии с разработанной ранее методикой, включающей одновременное воздействие на компоненты реакционной системы, содержащей ионы серебра и поливинилпирролидон, как ультрафиолетового излучения с длиной волны 280–400 нм, так и ультразвука с частотой излучения 1.7 МГц с равномерным бесконтактным диффузионным перемешиванием ее компонентов [16, 17]. Получение альгинатно-тканевого раневого покрытия было основано на инкубации шовного материала из шелка в гелевой композиции с наночастицами серебра в присутствии поливинилпирролидона и дальнейшей десятикратной циклической заморозке, каждый цикл которой заключается в последовательном чередовании температуры -37.0°C в течение 24 ч и температуры 0.0°C в течение такого же по длительности периода времени [18].

Оценку активности сорбции/десорбции AgNPs проводили на основе анализа электронных микрофотографий, выполненных на растровом электронном микроскопе JEOL-7500F (JEOL, Япония) с полевым эмиссионным катодом при ускоряющем напряжении 10 кВ, в режиме детектирования отраженных электронов с увеличением до 30000 при температуре 25°C (Центр коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов Кубанского государственного университета, г. Краснодар) [19, 20]. Оценивали количество AgNPs в размерных диапазонах от 1 до 5 нм, от 6 до 10 нм, от 11 до 15 нм, от 16 до 25 нм и свыше 25 нм. Диаметры окружностей, эквивалентных частицам, сравнивали с длиной маркера на фотографии. Погрешность измерения составила ± 0.15 нм.

Моделирование раневого процесса у крыс массой от 150 до 170 г ($n = 16$, группа I) выполняли на основании разработанного ранее способа хирургического моделирования окислительного стресса у лабораторных животных [21]. Создание модели включало обработку операционного поля спиртовым антисептическим раствором, после чего под комбинированной анестезией, предполагающей местное применение 2.0 мл 0.5%-го раствора новокаина и кетопрофена в дозе 2.5 мг/кг подкожно [22], формировали абсцесс мягких тканей. Для этого производили разрез кожи, рассечение подкожной клетчатки, поверхностной и пояснично-спинной фасции, собственной фасции мышцы выпрямителя спины. В рану вводили марлевый шарик, пропитанный суточной культурой патогенного штамма бактерий (*S. aureus*) с концентрацией 10^3 /мл. Затем рану закрывали путем сшивания краев кожи кисетным швом. Через 120 ч с момента проведения имплантации инфицированного инородного тела формировали гнойную рану. Для этого снимали кожные швы, удаляли инородное тело и выполняли санацию полости абсцесса с последующим лечением этих животных с помощью альгинатно-тканевого покрытия [21]. Формирование ран у крыс в группе сравнения ($n = 16$, группа II) проводили по аналогичной методике с последующим лечением содержащим коллоидное серебро препаратом «Аргогель» (Россия), которым пропитывали марлевую салфетку. Группу контроля (группа III) составили 16 крыс с моделированными гнойными ранами, получавшие перевязки с мазью «Левомеколь» (Россия), которая не содержала ионы или наночастицы серебра.

Далее на первые, третьи, пятые и седьмые сутки проводили динамическое наблюдение изменений биохимических показателей в раневом отделяемом, в том числе определяли показатели функционирования ферментного и низкомолекулярного звена антиоксидантной системы неспецифической защиты: активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), суммарную антиокислительную емкость раневого отделяемого, содержание восстановленных тиоловых групп (SH-групп), а также прооксидантные факторы по интенсивности свободнорадикального окисления с измерением площади вспышки хемилюминесценции (ПВХЛ). Определение суммарной антиокислительной емкости (АОА) раневого отделяемого выполняли на анализаторе антиоксидантной активности «ЦветЯуза-ААА-01» (ОАО НПО «Химавтоматика», Россия) амперометрическим способом, основанным на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого субстрата при определенном напряжении (1.3 В) на поверхности рабочего сероуглеродного электрода и последующем сравнении [23] полученного сигнала, регистрируемого в

наноамперах в секунду (нА·с), с принятым стандартом (раствором аскорбиновой кислоты в рамках ГЗ № 121022600268-0). Содержание SH-групп оценивали по их взаимодействию с 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой, образующей при наличии восстановленных тиолов тио-2-нитробензойную кислоту, которая имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм [24]. Полученные результаты выражали в единицах оптической плотности.

Исследование активности каталазы выполняли на основании методики [25], базирующейся на определении скорости утилизации перекиси водорода в реакционной смеси, в которую вносится биологический материал, содержащий фермент [26]. Расчет активности каталазы в единицах активности проводили по разнице экстинкций в опыте и контроле согласно закону Бугера—Ламберта—Бэра с учетом молярного коэффициента светопоглощения перекиси водорода при длине волны 260 нм ($\epsilon = 22 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$). Для определения активности СОД использовали методику, основанную на способности этого фермента ингибировать автоокисление кверцетина [27]. Окисление 1.4 мкМ кверцетина проводили при комнатной температуре в фосфатном буфере (рН 8.0) с диметилсульфоксидом, после добавления тетраметилэтилендиамина до конечной концентрации 0.8 мМ в конечном объеме реакционной смеси, равном 2.0 мл. Полученные результаты выражали в единицах активности.

Определение интенсивности свободнорадикального окисления раневого отделяемого проводили, анализируя площадь вспышки хемилюминесценции [28]. Исследование выполняли, регистрируя люминол-зависимую H_2O_2 -индуцированную хемилюминесценцию на люминотестере ЛТ-01 (НПО «Люмин», Россия) с помощью разработанного аппаратно-программного комплекса [29–31]. Полученные результаты сравнивали с показателями площади вспышки стандартного раствора люминола и выражали в процентах [32].

Обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью методов вариационной статистики. Оценку достоверности найденных отличий между показателями AgNPs и биохимических показателей раневого экссудата проводили с помощью непараметрического *U*-критерия Манна—Уитни. Достоверными полагали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На поверхности шелковых нитей в составе альгинатно-тканевого покрытия после циклической заморозки по сравнению с аналогичными показателями на шелке до десятикратного воз-

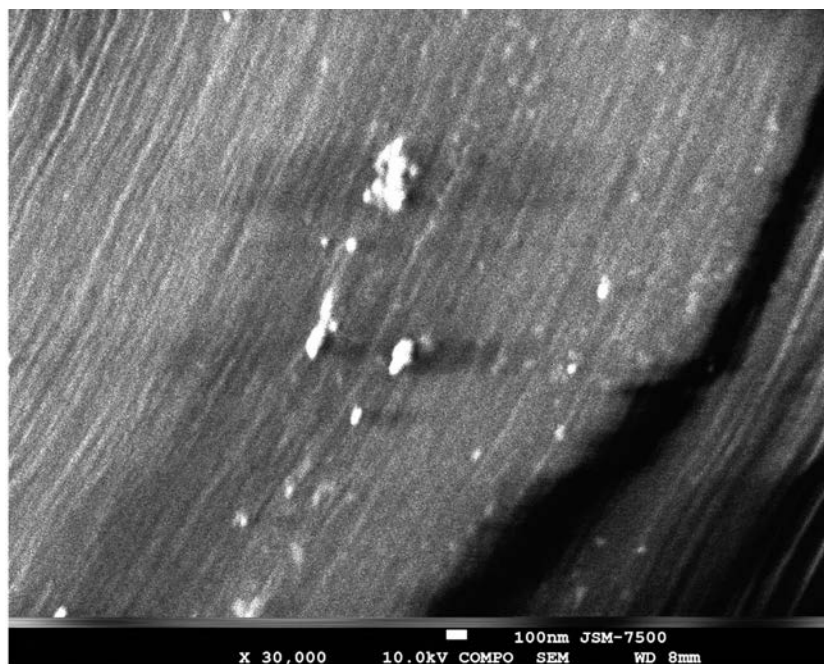


Рис. 1. Электронная микрофотография наночастиц серебра на поверхности волокон шелка в режиме детектирования отраженных электронов до выполнения циклической заморозки.

действия температуры -37.0°C наблюдалось значительное увеличение количества наночастиц серебра диаметром от 1 до 5 нм: их оказалось в 174.0 раза выше, чем без температурной обработ-

ки ($p < 0.004$, рис. 1 и 2). Также достоверно более высокие значения количества AgNPs (в 23.2 раза выше, $p < 0.05$) были обнаружены после разработанной процедуры заморозки/разморозки в срав-



Рис. 2. Электронная микрофотография наночастиц серебра на поверхности волокон шелка в составе альгинатно-тканевого покрытия в режиме детектирования отраженных электронов после выполнения десятикратной циклической заморозки.

Таблица 1. Показатели прооксидантно-антиоксидантной системы в раневом отделяемом у крыс в различные сроки лечения

Показатель	Первые сутки	Третьи сутки	Пятые сутки	Седьмые сутки
Группа I				
Каталаза, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	7.5 ± 1.3	$8.9 \pm 1.1^*$	$8.5 \pm 1.6^{* \#}$	-
СОД, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	7.9 ± 1.0	$9.1 \pm 1.2^{* \#}$	$6.0 \pm 0.8^{* \#}$	-
АОА, нА $\cdot$ с	0.26 ± 0.04	$0.59 \pm 0.05^{* \#}$	$0.74 \pm 0.03^{* \#}$	-
ПВХЛ, %	8.5 ± 1.0	$23.6 \pm 1.3^{* \#}$	$15.9 \pm 1.2^{* \#}$	-
SH-группы, ед. опт. пл.	0.20 ± 0.02	0.27 ± 0.01	$0.42 \pm 0.02^{* \#}$	-
Группа II				
Каталаза, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	7.2 ± 1.1	12.0 ± 0.8	$11.5 \pm 1.4^*$	$9.9 \pm 1.0^*$
СОД, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	7.4 ± 1.6	$12.3 \pm 1.0^*$	15.7 ± 1.2	$10.4 \pm 1.1^*$
АОА, нА $\cdot$ с	0.24 ± 0.02	$0.34 \pm 0.01^*$	0.35 ± 0.03	$0.20 \pm 0.01^*$
ПВХЛ, %	8.7 ± 0.9	$32.1 \pm 1.2^*$	$22.3 \pm 1.4^*$	10.2 ± 1.6
SH-группы, ед. опт. пл.	0.16 ± 0.01	0.28 ± 0.03	$0.21 \pm 0.03^*$	$0.16 \pm 0.02^*$
Группа III				
Каталаза, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	7.3 ± 0.9	13.2 ± 0.9	15.1 ± 1.7	8.5 ± 0.8
СОД, ед. акт. $\cdot 10^{-2}$	8.1 ± 1.1	14.9 ± 1.0	15.6 ± 1.4	7.8 ± 1.1
АОА, нА $\cdot$ с	0.24 ± 0.01	0.41 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.14 ± 0.02
ПВХЛ, %	8.3 ± 1.2	46.2 ± 1.5	39.3 ± 1.1	9.6 ± 1.2
SH-группы, ед. опт. пл.	0.19 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.09 ± 0.01

Примечание. $^{\#} - p < 0.05$ в сравнении с группой II, $^* - p < 0.05$ в сравнении с группой III.

нении с показателями до температурной обработки шелка для частиц диаметром от 6 до 10 нм. При этом после циклического воздействия температуры -37.0°C на шелковых волокнах с AgNPs в составе альгинатно-тканевого покрытия происходило снижение на 81.4% количества наночастиц диаметром от 11 до 15 нм ($p < 0.03$) и на 96.9% AgNPs размером от 16 до 25 нм ($p < 0.004$). Следует отметить, что количество наночастиц более 25 нм на волокнах шелка после циклического воздействия минусовой температуры достоверно не изменялось.

Описанные изменения, сопровождающиеся многократным увеличением количества наночастиц диаметром не более 15 нм на поверхности шелка в составе альгинатно-тканевого покрытия могут свидетельствовать о дополнительном формировании AgNPs на поверхности исследуемого материала при циклической заморозке. В целом такая картина может быть связана с взаимодействием Ag^+ с функциональными группами в составе данного волокна. Преимуществом шелковых нитей среди других шовных материалов является наличие в их составе органического компонента, присутствие которого необходимо для ускорения восстановительных процессов при замораживании, а также высокое сродство наночастиц серебра к входящему в состав шелка серицину, способному удерживать AgNPs и эффективно высвобождать их непосредственно в ране, что сочетается с его превосходной цитосовместимостью с клетками млекопитающих [33]. Взаимо-

действие ионов серебра и серицина может происходить, например, за счет гидроксильной группы тирозина [34], что характеризуется специфическим сигналом на ИК-Фурье-спектрах при 1640 см^{-1} [35], а также путем ван-дер-ваальсового взаимодействия со стабилизацией структуры комплекса «AgNP–белок» за счет гидрофобных участков [36]. Образование комплекса «AgNP–белок» также обеспечивает дополнительную передачу энергии между аминокислотами (тирозином, триптофаном, фенилаланином) и AgNPs, что может играть дополнительную роль в регенерации ионов серебра в процессе циклической заморозки волокон с ранее адсорбированными наночастицами (рис. 2).

Данные об изменении количества и диаметров AgNPs, полученные в этом исследовании, подтверждаются результатами другой работы, где было показано, что в гидротермальных условиях (в процессе заморозки/разморозки) может происходить межмолекулярное взаимодействие AgNPs за счет реакции восстановления ионов Ag^+ [37, 38]. Такая реакция происходит как следствие выделения Ag^+ из AgNPs в геле за счет ускорения процесса окисления наночастиц стимулируемого циклами замораживания и оттаивания. Подобный процесс может характеризоваться динамическим преобразованием в системе «AgNPs– Ag^+ –волокно», в ходе которого на фоне восстановительной регенерации может происходить моди-

фикация отдельных групп наночастиц с разной интенсивностью в зависимости от их диаметра.

Использование стабильного изотопа серебра (^{107}Ag) позволило отследить окислительно-восстановительную реакцию с участием AgNPs [39], что продемонстрировало ускорение данного процесса при чередовании замораживания и оттаивания по сравнению со скоростью аналогичной реакции этих же наночастиц при инкубации их при различной плюсовой температуре (4°C и 25°C).

Следует отметить, что в первые сутки после моделирования раневого процесса достоверные отличия в биохимических показателях, характеризующих состояние прооксидантно-антиоксидантной системы на местном уровне у крыс, во всех трех группах выявлены не были ($p > 0.05$). В дальнейшем согласно полученным данным, активность СОД в группе I оказалась достоверно ниже, чем в группах II и III на третьи сутки эксперимента (табл. 1). При этом в группе II данный показатель оказался всего на 17.4% меньше, чем в группе III, тогда как в группе I активность СОД была на 38.9% ниже, чем в группе III ($p < 0.05$). В то же время на пятые сутки активность СОД в группах II и III была практически сопоставима ($p > 0.05$), а в группе I она по-прежнему оставалась меньше в 2.6 раза ($p < 0.05$), чем в группах II и III. На седьмые сутки исследования у всех животных из экспериментальной группы раны полностью перешли из фазы экссудации в фазу грануляций, что исключало возможность взятия раневого отделяемого на анализ. При этом активность СОД в группе II характеризовалась даже более высокими (на 33.4%) значениями, чем в группе III (табл. 1).

Активность каталазы уже на третьи сутки исследования была практически сопоставима в группах II и III ($p > 0.05$), тогда как в группе I значения этого фермента оказались достоверно меньше как на третьи, так и на пятые сутки исследования (на 32.6 и 43.7% соответственно, $p < 0.05$), чем в группе III. Активность данного энзима была также снижена в экспериментальной группе по сравнению с группой II: на 25.8% на третьи сутки и на 26.1% — на пятые сутки.

Динамика антиоксидантной активности раневого отделяемого характеризовалась на третьи и пятые сутки достоверно большими значениями в группе, животных которой лечили с помощью альгинатно-тканевого покрытия, содержащего AgNPs, по сравнению с обеими другими исследуемыми группами ($p < 0.05$). При этом АОА экспериментальной группы на третьи сутки была на 43.9% выше, чем в группе III ($p < 0.05$), и практически в два раза больше на пятые сутки при сравнении с той же группой ($p < 0.05$, табл. 1). В то же время показатель ПВХЛ на третьи сутки в группе

I оказался на 48.9% меньше, чем в группе III ($p < 0.05$), и на 26.5% ниже, чем в группе II ($p < 0.05$). При этом на пятые сутки аналогичные различия в интенсивности свободнорадикального окисления составили уже 59.5% и 28.7% соответственно ($p < 0.05$). Наиболее высокие показатели ПВХЛ в группе III на третьи и пятые сутки эксперимента могут быть связаны с бактерицидным воздействием мази, что проявляется путем локального усиления генерации свободных радикалов и реактивных молекул [40, 41], в том числе продуктов неполного одно- и двухэлектронного восстановления кислорода в организме — супероксидного анион-радикала (OO^-) и пероксида водорода (H_2O_2).

Концентрация SH-групп характеризовалась динамикой, схожей с АОА, и в целом свидетельствовала о меньшей интенсивности процессов отмирания и последующего лизиса клеток раневой поверхности при использовании разработанного раневого покрытия [42]. При этом на первые и третьи сутки исследования содержание восстановленных тиолов существенно не отличалось от показателей групп II и III ($p > 0.05$), тогда как на пятые сутки оно было выше в экспериментальной группе на 44.8% относительно группы III ($p < 0.05$). При этом в группе II аналогичный показатель был снижен на 27.6% по отношению к данным в группе III ($p < 0.05$), что отражает больший дефицит тиоловых соединений в экссудате у этих лабораторных животных. Последнее, возможно, обусловлено проявлением некоторой локальной цитотоксичности AgNPs в период выраженного воспалительного процесса в ране.

Подтверждением этого является и наблюдавшееся уже на седьмые сутки у крыс в группе I более быстрое завершение фазы экссудации, в отличие от животных получавших лечение без альгинатно-тканевого покрытия, включающего AgNPs, что сопровождалось в этих группах (II и III) более медленным уменьшением проявлений воспалительного процесса в ране. Вместе с тем известно, что наночастицы серебра, помимо высокой антибактериальной, противовирусной и противогрибковой активности [43], оказывают значительное влияние и на метаболические процессы в организме животных, а также обладают иммуномодулирующим эффектом, в том числе повышают количество иммуноглобулинов и увеличивают процентное содержание лимфоцитов. Кроме того, следует отметить, что, благодаря отсутствию устойчивости к препаратам серебра у большинства патогенных микроорганизмов и низкой их токсичности, использование AgNPs представляется достаточно перспективным в ветеринарии и медицине [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что разработанная технология десятикратной циклической заморозки позволяет достоверно увеличить количество AgNPs в составе альгинатно-тканевого раневого покрытия, прежде всего за счет наночастиц диаметром не более 15 нм, которые характеризуются наибольшей антибактериальной активностью. Описанный подход позволяет существенно повысить антимикробный потенциал такой повязки, без увеличения суммарного содержания ионов серебра в ее структуре, что потенциально уменьшает возможность возникновения цитотоксического эффекта в процессе лечебных мероприятий.

Кроме того, применение разработанного раневого покрытия с AgNPs уменьшает метаболические нарушения в работе системы неспецифической защиты на местном уровне, что характеризуется на третьи и пятые сутки раневого процесса менее выраженными показателями свободнорадикального окисления, меньшей напряженностью в сопряженной работе ферментов локальной антиокислительной защиты (каталазы и СОД) по сравнению с применением препарата с AgNPs, но не содержащего альгината, или использованием метода ежедневных санаций раны, не включающих ни альгината, ни и AgNPs. Также при использовании разработанной повязки динамика изученных биохимических показателей отражает большую регенерацию низкомолекулярного звена антиоксидантной системы на местном уровне, в значительной мере за счет пула восстановленных тиоловых соединений, что свидетельствует о более благоприятном течении раневого процесса и выраженной биосовместимости альгинатно-тканевого раневого покрытия. Подтверждением этого является и наблюдавшееся после пяти суток у крыс в группе I более быстрое завершение фазы экссудации, в отличие от животных получавших лечение без альгинатно-тканевого покрытия, включающего AgNPs, что сопровождалось в данных группах (II и III) более медленным уменьшением проявлений воспалительного процесса в ране и сохраняющейся экссудацией даже на седьмые сутки эксперимента.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке госзадания Минобрнауки РФ, проект № FZEN-2023-0006..

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования на животных проводили (включая их содержание и все осуществляемые манипуляции) в соответствии с соблюдением Директив Европейского сообщества 86/609ЕЕС, рекомендаций РД-АПК 3.10.07.02-09 «Методические рекомендации содержания лабораторных животных в вивариях, научно-исследовательских институтов и учебных заведениях» Министерства сельского хозяйства РФ (Москва, 2007 г.), Санитарных правил 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)», требований ГОСТ 33215-2014 от 07.01.2016 г. «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами». Исследование одобрено биоэтической комиссией ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбачева РАН (протокол №05/2021 от 13.09.2021).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. H. A. Albarqi, A. A. Alqahtani, I. Ullah, et al., *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **23** (2), 72 (2022).
2. L. Wei, J. Tan, L. Li, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (3), 1249 (2022).
3. R. E. Abouzeid, A. Salama, and E. M. El-Fakharany, *Molecules*, **27**, 697 (2022).
4. X. Huang, H. Jing, X. Du, et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, **200**, 1 (2022).
5. Y. Wang, L. Su, Y. Hou, et al., *Macromol. Biosci.*, **22** (4), e2100352 (2022).
6. N. Shojarazavi, S. Mashayekhan, H. Pazooki, et al., *J. Biomater. Appl.*, **36** (5), 803 (2021).
7. E. Kim, J. M. Seok, S. B. Bae, et al., *Biomacromolecules*, **22** (5), 1921 (2021).
8. C. C. Chen, Y. Y. Chen, C. C. Yeh, et al., *Front. Pharmacol.*, **12**, 746496 (2021).
9. A. Basov, L. Fedulova, E. Vasilevskaya, et al., *Saudi J. Biol. Sci.*, **28** (3), 1826 (2021).
10. S. Tian, Y. Hu, X. Chen, et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, **195**, 515 (2022).
11. H. Murugaiah, C. L. Teh, K. C. Loh, et al., *Molecules*, **26** (21), 6414 (2021).
12. S. S. Dzhimak, V. V. Malyshko, A. I. Goryachko, et al., *Rus. Phys. J.*, **62** (2), 314 (2019).
13. S. S. Dzhimak, V. V. Malyshko, A. I. Goryachko, et al., *Nanotech. Rus.*, **14**, 48 (2019).
14. G. F. Kopytov, V. V. Malyshko, A. A. Elkina, et al., *Rus. Phys. J.*, **63** (6), 989 (2020).
15. A. Basov, S. Dzhimak, M. Sokolov, et al., *Nanomaterials*, **12**, 1164 (2022).
16. S. S. Dzhimak, M. E. Sokolov, A. A. Basov, et al., *Nanotech. Rus.*, **11**, 835 (2016).
17. A. A. Басов, В. В. Малышко, С. Р. Федосов и др., Патент РФ № 150504, № 5 (2015).
18. В. В. Малышко, С. С. Джимаков, Л. В. Ломакина и др., Патент РФ № 2770277, № 11 (2022).

19. I. Petriev, P. Pushankina, M. Baryshev, and N. Shostak, *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (1), 228 (2022).
20. I. S. Petriev, P. D. Pushankina, I. S. Lutsenko, and M. G. Baryshev, *Tech. Phys. Lett.*, **47**, 803 (2021).
21. А. А. Басов, И. М. Быков, С. Р. Федосов, В. В. Малышко, Патент РФ № 2455703, № 19 (2012).
22. М. О. Гомзикова, А. Г. Маланьева и З. Ю. Сираева, *Основы проведения биомедицинских исследований на лабораторных животных: учеб. пособие* (МедДок, Казань, 2021).
23. А. Я. Яшин, *Рос. хим. журн.*, № 2, 130 (2008).
24. J. F. Robyt, R. J. Ackerman, and C. G. Chittenden, *Arch. Biochem. Biophys.*, **147**, 262 (1971).
25. R. Beers and I. Sizer, *J. Biol. Chem.*, **195**, 133 (1952).
26. А. А. Басов, S. V. Kozin, I. M. Bikov, et al. *Biol. Bull.*, **46** (6), 531 (2019).
27. В. А. Костюк, А. И. Потапович и Ж. И. Ковалева, *Вопр. мед. хим.* **2**, 88 (1990).
28. A. Kravtsov, S. Kozin, A. Basov, et al. *Molecules* **27** (1), 243 (2022).
29. А. А. Басов, И. И. Павлюченко, А. М. Плаксин и С. Р. Федосов, *Вестн. новых мед. технол.* **4**, 67 (2003).
30. И. И. Павлюченко, А. А. Басов и С. Р. Федосов, Патент РФ № 54787, № 21 (2007).
31. И. И. Павлюченко, С. Р. Федосов и А. А. Басов, Патент РФ № 2006611562 (2006).
32. I. M. Bykov, A. A. Basov, V. V. Malyshko, et al., *Bull. Exp. Biol. and Med.*, **163** (2), 268 (2017).
33. G. Tao, Y. Wang, R. Cai, et al., *Mater. Sci. Eng. C*, **101**, 341 (2019).
34. H. He, G. Tao, Y. Wang, et al., *Mater. Sci. Eng. C*, **80**, 509 (2017).
35. H. Muhammad Tahir, F. Saleem, S. Ali, et al., *J. Basic. Microbiol.*, **60** (5), 458 (2020).
36. S. Roy and T. K. Das, *J. Appl. Spectrosc.*, **82**, 598 (2015).
37. Z. Tan, X. Guo, Y. Yin, et al. *Environ. Sci. Technol.*, **53** (23), 13802 (2019).
38. S. J. Yu, Y. G. Yin, J. B. Chao, et al., *Environ. Sci. Technol.*, **48** (1), 403 (2014).
39. G. Xiaoru, Y. Yongguang, T. Zhiqiang, et al., *Environ. Sci. Technol.*, **52** (12), 6928 (2018).
40. С. Р. Туйсин и И. В. Богданов, *Фундаментал. исслед.* **4**, 81 (2010).
41. А. А. Басов, S. R. Fedosov, V. V. Malyshko, et al., *J. Wound Care*, **30** (4), 312 (2021).
42. I. Y. Tsymbalyuk, A. M. Manuilov, K. A. Popov, and A. A. Basov, *Novosti Khirurgii*, **25** (5), 447 (2017).
43. R. Vazquez-Munoz, B. Borrego, K. Juarez-Moreno, et al., *Toxicol. Lett.*, **276**, 11 (2017).
44. Т. И. Лебедева, И. А. Красочко и П. А. Красочко, *Вестник АПК Верхневолжья*, **2** (54), 73 (2021).

Influence of Alginate-Fabric Coating with Silver Nanoparticles on the Course of Wound Process in Laboratory Animals

V.V. Malyshko*, **, L.V. Fedulova*, M.E. Sokolov****, A.V. Moiseev*****, A.A. Basov*, ****, A.A. Dorohova**, ****, D.I. Shashkov*****, and S.S. Dzhimak**, ******

*Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,
ul. Mitrofana Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia

**Federal Research Center "Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences",
prosp. Chekhova 41, Rostov-on-Don, 344006 Russia

***V.M. Gorbatov Federal Scientific Center for Food Systems, Russian Academy of Sciences,
ul. Talalikhina 26, Moscow, 109316 Russia

****Kuban State University, Stavropolskaya ul. 149, Krasnodar, 350040 Russia

*****Kuban State Agrarian University, ul. Kalinina 13, Krasnodar, 350004 Russia

Alginates with various modifying additives (for example, chitosan) and various methods of physical treatment are used in the design of prototypes of innovative wound dressing. The aim of this study was to create and explore the properties of a prototype of textile-based sodium alginate wound dressing containing silver nanoparticles subjected to 10 freeze cycles, and to evaluate its efficacy on the course of the purulent wound process in rats. The study showed that the developed technology of 10-fold cyclic freezing makes it possible to significantly increase the amount of silver nanoparticles in the composition of textile-based sodium alginate wound dressing, primarily due to silver nanoparticles that have a diameter not larger than 15 nm, and are characterized by the highest antibacterial activity. The use of the developed wound dressing with silver nanoparticles reduces metabolic disturbances when the nonspecific defense system response occurs in the wound tissue; on the 3rd and 5th day after wounding less pronounced changes in free radical oxidation indices were found, the levels of antioxidant defence enzymes (catalase and superoxide dismutase) in wound tissue were lower than those observed after the use of wound dressing with silver nanoparticles, but not containing alginate, or after wound debridement without alginate or nanoparticles done every day.

Keywords: silver nanoparticles, alginates, electron microscopy, chemiluminescence, catalase, superoxide dismutase