

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Рибачук Анна Володимирівна

УДК 616.716.4-001.5-06-002.3-085-084:612.08

**ОБҐРУНТУВАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ І
ПРОФІЛАКТИКИ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ
ТРАВМАТИЧНИХ ПЕРЕЛОМІВ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ
МІСЦЕВИМ ЗАСТОСУВАННЯМ СУБСТАНЦІЇ
НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА І ЗОЛОТА
(ЛАБОРАТОРНО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.22 – стоматологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано на кафедрі хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Науковий керівник

член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор **Маланчук Владислав Олександрович**, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, завідувач кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії, м. Київ.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Шувалов Сергій Михайлович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, завідувач кафедри хірургічної стоматології, м. Вінниця;

доктор медичних наук, професор, полковник медичної служби, **Лихота Андрій Миколайович**, Українська військово-медична академія, начальник кафедри щелепно-лицьової хірургії і стоматології, м. Київ.

Захист відбудеться « ____ » _____ 2016 р. об ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.05 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (03680, м. Київ, вул. Зоологічна, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (03680, м. Київ, вул. Зоологічна, 1).

Автореферат розісланий « ____ » _____ 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

О.І. Остапко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасні дослідження показують, що в останнє десятиліття у всьому світі відзначається зростання числа пошкоджень щелепно-лицевої ділянки порівняно з минулими роками, що в середньому становить до 16,5% усіх травм мирного часу [Бернадский Ю.И., 1999; Шаргородский А.Г., 2000; Безруков В.М., 2000; Афанасьев В.В., 2010; Sharabi S.E., 2011; Motamedi M.H., 2014]. Серед них, за даними різних авторів, найбільш часто зустрічаються переломи нижньої щелепи (70–87% випадків та 40% – від загальної кількості стаціонарних хворих стоматологічного профілю) [Матрос-Таранець І.М., 1999; Шаргородский А.Г., 2004; van den Bergh B., 2011; Arosarena O., 2012; Маланчук В.О., 2014; Нагірний Я.П., 2004].

В Україні наразі спостерігається неухильне підвищення рівня травматизму в умовах бойових дій, а саме при проведенні антитерористичної операції (АТО) на сході країни. По даним Національного військово-медичного клінічного центру «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ, серед загальної кількості структури пошкоджень, травми голови та шиї досягають 38,5% та 2,7% відповідно, що перевищує подібну статистику під час бойових дій в Афганістані (1979-1989 рр.) – 14,8% та 1,6% і у Чеченській Республіці 1994-1996 рр. – 34,4% та 1,1% і 1999-2002 рр. – 26,3% та 0,9% [Федірко І.В., 2015].

Незважаючи на постійне вдосконалення та впровадження в клінічну практику методів комплексного лікування переломів нижньої щелепи, частота гнійно-запальних ускладнень залишається високою і досягає 41% [Маланчук В.А., 1998; Матрос-Таранець І.М., 2001; Braasch D.C., 2013; Kaul R.P., 2014; Pham-Dang N., 2014]. Це обумовлює необхідність подальшого вивчення даного питання. Ситуація суттєво ускладнюється стрімким поширенням антибіотикорезистентності мікроорганізмів-збудників, доля яких сьогодні сягає 50-70% [WHO, 2011; Sobotka I., 2012; Chunduri N.S., 2012; Bahl R., 2014].

Традиційно прийнято вважати, що основними причинами, які сприяють виникненню ускладнень, є пізні звернення постраждалих за медичною допомогою, помилки в діагностиці та невірна лікувальна тактика тощо.

Однак, для переломів щелепно-лицевої ділянки високий ризик розвитку інфекційно-запальних ускладнень при переломах визначається анатомо-фізіологічними особливостями як самої нижньої щелепи, так і м'яких тканин, що оточують її, а також наявністю в порожнині рота значної кількості патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. У 68-85% випадків переломи нижньої щелепи локалізуються в межах зубного ряду і, отже, є відкритими. У зв'язку з цим виникає значна ймовірність інфікування рани, що призводить до ризику запалення тканин, зміни нормального перебігу окисно-відновних процесів як в організмі в цілому, так і безпосередньо в порожнині рота. Все це сприяє зниженню активності місцевих захисних факторів, викликає гормональні зсуви тощо [Иманкулов Р., 1982; Чумаков А.А., 1991;

Шаргородский А.Г., 2004; Lukošūnas A., 2011; van den Bergh B., 2011; Smith H., 2012].

Гнійно-запальні процеси переважають у формі абсцесів та флегмон, періоститу, остеомієліту і нагноєння кісткової рани. Серед найбільш розповсюджених збудників виділяють агресивний мультирезистентний *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus haemolyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus*, гриби роду *Candida albicans* тощо [Бажанов Н.Н., 1985; Ушаков Р.В., 1998; Буров А.И., 2000; Gordon P.E., 2011; Shankar D.P., 2012; Yamamoto M.K., 2012; Pham-Dang N., 2014].

Травматичний остеомієліт за даними різних авторів може спостерігатись у 11-25% випадків переломів нижньої щелепи. При цьому суттєве значення має будова нижньої щелепи, особливо її кута, оскільки інфікування розташованої там пухкої сполучнотканинної клітковини через лінії перелому сприяє розвитку гнійно-запального процесу в оточуючу кістку. При цьому наявність потужних жувальних м'язів і фасцій утрудняє відтік ексудату з цієї зони, що в свою чергу призводить до розвитку абсцесів і флегмон, до порушення живлення кістки, тим самим викликаючи її нагноєння та некроз [Лукьяненко В.И., 1986; Вовк В.Е., 1993; Lukošūnas A., 2011; Smith H., 2012; Bobrowski A.N., 2013; Motamedi M., 2014].

Особливої уваги заслуговує факт зростання кількості небезпечних для життя ускладнень, обумовлених розповсюдженням патогенних штамів-збудників, резистентних до широкого спектру існуючих антимікробних препаратів, перенасиченістю організму фармакологічними препаратами, послабленням імунної системи та алергізацією організму хворого.

Ефективне вирішення існуючої проблеми потребує розробки та впровадження нових альтернативних антибіотикам засобів протимікробної терапії.

Основними характеристиками високоефективного антимікробного препарату доопераційної та післяопераційної профілактики, а також терапії стоматологічних хворих, є: широкий спектр активності у відношенні до найбільш розповсюджених збудників, бактерицидний механізм дії, біосумісність та біобезпечність, відсутність впливу на розвиток резистентності збудників [Маланчук В.О., 2010; Hindawi Y.H., 2011].

Перспективними на цьому шляху виявляються наночастинки металів, зокрема наночастинки срібла, з огляду на їх високу антимікробну активність проти широкого спектру мікроорганізмів. Підсилення ефективності антимікробної дії наночастинок срібла при лікуванні гнійно-запальних захворювань можливе за рахунок додавання до складу препарату субстанції наночастинок золота, враховуючи значний протизапальний та регенераторний потенціал останніх [Morones J.R., 2005; Чекман І.С., 2011; Маланчук В.О., 2012; Sen I.K., 2013; Singh R., 2013].

У зв'язку з вище викладеним, визначення ефективності експериментальних субстанцій наночастинок срібла та їх комбінації з

наночастинками золота як антимікробних, протизапальних та регенераторних субстанцій для лікування переломів нижньої щелепи та їх гнійно-запальних ускладнень є нагальним та актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця за 2015-2017 рр. «Удосконалення методів реконструктивно-відновної хірургії обличчя та дентальної імплантації із урахуванням етіо-патогенетичних, клінічних та анатомо-фізіологічних чинників» (державний реєстраційний номер – 0115U000698).

Мета та завдання дослідження. Мета роботи полягала в обґрунтуванні місцевого застосування субстанції наночастинок срібла і золота в комплексному лікуванні і профілактиці гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи в експерименті.

Відповідно до поставленої мети в роботі вирішувались такі **завдання**:

1. Проаналізувати частоту переломів нижньої щелепи та виникнення гнійно-запальних ускладнень щелепно-лицевої ділянки з оцінкою ефективності методів їх лікування за даними архівного матеріалу клінічних баз кафедри;

2. Оцінити *in vitro* антимікробну активність експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації відносно мікроорганізмів – основних збудників гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки (музейних тест-штамів та виділених клінічних ізолятів), порівняно із комерційними антисептичними препаратами Хлоргексидином та Фурациліном;

3. Змодельовати гнійно-запальний процес м'яких тканин піднижньощелепної ділянки (абсцес) та перелом нижньої щелепи лабораторних щурів лінії *Wistar*, ускладнений гнійно-запальним процесом кістки (нагноєння кісткової рани);

4. Оцінити терапевтичну ефективність експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації у лікуванні абсцесу та нагноєння кісткової рани нижньої щелепи лабораторних щурів лінії *Wistar*.

5. Провести порівняльний аналіз терапевтичної ефективності експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації з комерційними антисептичними препаратами Хлоргексидином, Фурациліном та Декасаном.

6. Вивчити вплив експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації на стовбурові стромальні клітини кісткового мозку людини *ex vivo*.

Об'єкт дослідження: вплив експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації на організм в умовах місцевого застосування при комплексній терапії і профілактиці гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи.

Предмет дослідження: терапевтична ефективність експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації в умовах місцевого

застосування при комплексному лікуванні і профілактиці гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи.

Методи дослідження. Для досягнення поставленої в роботі мети були використані медико-статистичні, мікробіологічні, біохімічні, гістоморфологічні, клінічні, фізичні, молекулярно-біологічні методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено системні лабораторно-експериментальні дослідження щодо обґрунтування комплексного лікування і профілактики гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи місцевим застосуванням експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації.

Вперше в дослідженнях *in vitro* встановлена висока антимікробна активність наночастинок срібла розміром 30 нм, та їх комбінації з наночастинами золота, по відношенню до широкого спектру музейних тест-штамів і виділених клінічних ізолятів мікроорганізмів – збудників гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки, яка є більш виражена порівняно із антимікробною дією комерційних антисептичних лікарських засобів Хлоргексидину та Фурациліну.

Вперше показано здатність бактеріальних клітин клінічних ізолятів мікроорганізмів-збудників гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки активно акумулювати наночастинок срібла та золота в середині клітин, що є компонентом механізму антимікробної дії цих наночастинок.

Вперше виявлено, що обробка бактеріальних клітин клінічних ізолятів дослідженими наночастинами срібла та золота призводить до елімінації R-плазмід, результатом чого є подолання антибіотикорезистентності досліджених штамів.

Вперше розроблено спосіб моделювання перелому нижньої щелепи у малих лабораторних тварин та пристрій для його виконання, які захищено патентом України на корисну модель (Патент України № 102693 від 10.11.2015, Бюл. №21), перевагою та відмінною особливістю якого є відсутність необхідності поширової сепарації тканин та можливість моделювання відкритих та закритих переломів нижньої щелепи без застосування додаткових хірургічних інструментів та фіксації фрагментів перелому.

Вперше в дослідженнях *in vivo* на моделях абсцесу та нагноєння кісткової рани нижньощелепної ділянки лабораторних щурів лінії *Wistar* встановлена висока антимікробна, протизапальна та репаративна активність досліджених наночастинок срібла, золота та їх комбінації, порівняно із ефективністю комерційних антисептичних препаратів Хлоргексидину та Декасану.

Вперше в дослідженнях *ex vivo* виявлена здатність наночастинок золота та їх комбінації з наночастинами срібла стимулювати структуроутворювальний потенціал стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані сприяють поглибленню уявлень щодо механізму впливу наночастинок срібла, золота та їх комбінації на прокариотичні, еукаріотичні клітини та організм тварин.

На основі виявлених *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo* антимікробної, протизапальної активності наночастинок срібла, золота та їх комбінації та здатності стимулювати репаративні процеси твердих і м'яких тканин, розроблені практичні рекомендації щодо способу місцевого застосування досліджених наночастинок металів при лікуванні травматичних переломів нижньої щелепи та їх гнійно-запальних ускладнень.

Спосіб лікування абсцесів і флегмон щелепно-лицевої ділянки комбінацією наночастинок срібла та золота і застосування субстанції наночастинок срібла як протимікробного засобу при лікуванні гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки захищено патентами України на корисну модель (Патент України № 103644 від 16.06.2015, Бюл. №24 та Патент України № 99785 від 24.12.2014, Бюл. №21).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною роботою автора. Автором дисертаційної роботи здійснено аналіз літератури, виконано весь обсяг експериментальних досліджень та статистичну обробку отриманих результатів. Головна ідея і напрям досліджень, узагальнення, інтерпретація, формулювання основних положень і висновків роботи було проведено здобувачем разом із науковим керівником. Всі розділи дисертації та її автореферат написані автором самостійно.

Автор висловлює подяку с.н.с. Інституту біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України к.б.н. Резніченко Л.С. за надання експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації. Частина експериментів здійснено спільно зі співробітниками: Інституту біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України (директор – д.х.н., проф. З.Р. Ульберг) к.б.н., с.н.с. С.М. Дибковою (аналіз ефективності елімінації плазмідосоціюваних детермінант стійкості до антибіотиків клінічних ізолятів мікроорганізмів); Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України (директор – академік НАМН України, член-кореспондент НАН України, професор Тронько М.Д.), н.с. відділу ендокринології репродукції і адаптації Л.І. Поляковою (гістологічний аналіз зразків абсцесу м'яких тканин нижньої щелепи щурів); ВДНЗ України» Українська медична стоматологічна академія» (ректор – професор Ждан В.М.), професором кафедри патологічної анатомії з секційним курсом, д.мед.н. Гасюком А.П. (гістоморфологічний аналіз зразків нижньої щелепи щурів з нагноєнням кісткової рани); ДУ «Інститут травматології та ортопедії» НАМН України (директор – академік НАМН України, професор Гайко Г.В.), керівником лабораторії імунології, к.мед.н. Панченко Л.М. (робота зі стовбуровими стромальними клітинами кісткового мозку людини *ex vivo*); Київської міської клінічної лікарні № 12 (головний лікар – д.мед.н. Лобода Т.В.) завідувачем бактеріологічної лабораторії, лікарем бактеріологом вищої категорії Долінською Н.О. (ідентифікація патогенних штамів мікроорганізмів та визначення антибіотикорезистентності).

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень, викладені у дисертаційній роботі, представлено та обговорено на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях і симпозиумах: V Український Міжнародний конгрес «Стоматологічна Імплантація. Остеоінтеграція», 27-28 квітня 2012 р., м. Київ, Україна; Науково-практична конференція з міжнародною участю «YouthNanoBioTech-2012. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» на тему: «Нанонаука, нанотехнології, наномедицина: здобутки та перспективи», 15-16 травня 2012 р., м. Київ, Україна; Кыргызская Международная конференция по дентальной имплантологии «Имплантация сегодня», 17-18 августа 2012 г., г. Чолпон-Ата, Республика Кыргызстан; Конференція молодих вчених присвячена 20-річчю НАМН України, 5 березня 2013 р., м. Київ, Україна; Міжнародна конференція «Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору», 13-14 березня 2013 р., м. Київ, Україна; Міжнародна науково-практична конференція, присвячена Всесвітньому дню здоров'я 2013 року на тему «Гіпертонія», 4-5 квітня 2013 р., м. Київ, Україна; III З'їзд української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів, 17-18 травня 2013 р., м. Київ, Україна; Науково-практична конференція з міжнародною участю «YouthNanoBioTech-2013. Молодіжний форум з нанобіотехнологій», присвячена Дню науки – 2013, 22-23 травня 2013 р., м. Київ, Україна; International research and practical conference “Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2013)”, 25 August – 1 September 2013, Bukovel, Ukraine; V (67) Міжнародний науково-практичний конгрес студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини», 23-25 жовтня 2013 р., м. Київ, Україна; IV Международная научная конференция «Наноразмерные системы: строение, свойства, технологии» - «НАНСИС-2013», 19-22 ноября 2013 г., Киев, Украина; Науково-практична конференція, присвячена 100-річчю з дня народження професора Г.І. Семенченка «Нові технології в хірургічній стоматології та щелепно-лицевій хірургії», м. Одеса, 3-4 квітня, 2014 р.; Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених НМАПО імені П.Л. Шупика, присвячена «Дню науки», «Інновації молодих вчених медиків і їх впровадження в практичну охорону здоров'я», 30 квітня 2015 р.; E-MRS Spring Meeting 11-15 May 2015, Lille, France; Науково-практична конференція молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин», Київ, 24 червня 2015 року; Ukrainian-German symposium on physics and chemistry of nanostructures and on nanobiotechnology, Kyiv, Ukraine, 21-25 September, 2015; Міжнародна науково-практична конференція «Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія», Київ, 13 травня 2016 р.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 31 наукова праця, а саме: 8 статей у провідних вітчизняних та зарубіжних фахових виданнях (з них 8 статей в журналах, котрі внесено до науково-метричних баз), акредитованих ДАК МОН України, 4 патенти України на корисну модель та 19 публікацій у матеріалах вітчизняних та міжнародних конференцій і симпозиумів.

Обсяг і структура дисертації. Матеріали дисертації викладені на 216 сторінках машинописного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», розділу власних досліджень, аналізу й узагальнення отриманих даних, висновків, переліку використаних джерел. Показчик літератури містить 297 джерел, з яких 144 – кирилицею та 153 – латиною. Робота проілюстрована 12 таблицями і 60 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом ретроспективного дослідження слугували архівні дані: 2518 історій хвороб пацієнтів з ТПНЩ віком від 15 до 89 років, госпіталізованих до щелепно-лицевого відділення Київської міської клінічної лікарні №12 за період з 2005 по 2014 роки, а також журнали реєстрації пацієнтів, що звернулися до щелепно-лицевого травм пункту лікарні в порядку надання швидкої медичної допомоги.

У матеріалах клініко-мікробіологічних досліджень довільна вибірка становила 30 пацієнтів (16 чоловіків та 14 жінок у віці від 16 до 77 років) з ГЗЗ ЩЛД різної локалізації, що знаходились на лікуванні у вищевказаному відділенні на період з лютого по червень 2013 року.

У дослідженнях були використані субстанції НЧ металів середнього розміру 30 нм: срібла (AgNP), золота (AuNP) та їх комбінації (Ag/AuNP), синтезовані в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України методом хімічної конденсації у водному середовищі. Згідно з вимогами до паспорту безпеки наноматеріалу та протоколів методичних рекомендацій, затверджених Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол № 8 від 26.09.2013 р.), співробітниками даної установи в дослідях *in vitro* встановлено, що отримана субстанція AgNP та AuNP є біобезпечною за показниками цитотоксичності, генотоксичності, мутагенності та біохімічними маркерами.

Клінічні ізоляти мікроорганізмів виділяли від хворих з ГЗЗ ЩЛД відділення щелепно-лицевої хірургії та ідентифікували у бактеріологічній лабораторії КМКЛ №12. Ідентифікацію виділених клінічних ізолятів мікроорганізмів проводили за загальноприйнятою методикою згідно [Лабинская А.С., 1978] з використанням диференційних поживних середовищ.

Антимікробну активність експериментальних субстанцій НЧ металів в дослідженнях *in vitro* визначали методом серійних розведень в агарі згідно з методичними вказівками «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», затвердженими Наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. Як препарати порівняння при оцінці антимікробної активності експериментальних субстанцій НЧ металів використовували комерційні антимікробні засоби, застосування яких поширене у практиці: Хлоргексидин, Декасан та Фурацилін. Кінцеві концентрації Хлоргексидину в середовищі

визначення складали 5 та 0,5 мг/мл, Фурациліну – 0,13 мг/мл. Розчин Декасан містив 0,02 % декаметоксину у ізотонічному розчині хлориду натрію.

У якості патогенних тест-культур в роботі були використані штами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* 209P, *Enterococcus faecalis* Г35№4-410, *Escherichia coli* №25, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 (F-51), *Candida albicans*, *Proteus vulgaris* HX 19 №222 з колекції Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штабів мікроорганізмів (м. Київ).

Візуалізацію розміру і форми НЧ, а також особливостей їх контактної взаємодії з патогенними штамами мікроорганізмів (як тестовими музейними штамами, так і клінічними ізолятами) здійснювали методом трансмісійної електронної мікроскопії (JEM-1230, «JEOL», Японія).

Для аналізу ефективності елімінації плазмідасоційованих детермінант стійкості до антибіотиків клінічних ізолятів мікроорганізмів використовували культури бактерій, виділені від хворих відділення щелепно-лицевої хірургії КМКЛІ №12. Для скринінгу плазмідної ДНК в бактеріальних клітинах клінічних ізолятів здійснювали процедуру отримання препаратів плазмідної ДНК методом лужного лізису за Бірнбоймом і Долі [Birnboim H.C., 1979]. З метою вивчення можливості втрати бактеріальними клітинами плазмід антибіотикорезистентності під впливом AgNP та AuNP було використано спосіб елімінації плазмідної ДНК.

Для дослідження *in vivo* було використано 120 сертифікованих лабораторних щурів лінії *Wistar* вагою 250-300 г. з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та віварію ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска».

Під час роботи з лабораторними тваринами керувались Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006), Методичних рекомендацій про використання тварин у біомедичних дослідженнях [Стефанов О.В., 2002], із дотриманням етичних норм Директиви № 86/609/ЄЕС та з дозволу етичної комісії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Протокол № 80 від 03.06.2014 р.).

Моделювання абсцесу нижньощелепної ділянки проводили за стандартною методикою згідно [Шалимов С.А., 1989] шляхом підшкірної ін'єкції лабораторним тваринам у піднижньощелепну ділянку 0,5 мл суспензії добової культури клінічного ізоляту *Staphylococcus aureus* (5×10^7 КУО/мл) з порошком активованого вугілля, масова частка якого в суспензії складала 9 % (70 тварин). Моделювання ускладненого ТПНЩ, було проведене за новою оригінальною запатентованою методикою (50 тварин) [Маланчук В.О., Патент України № 102693 від 10.11.2015, Бюл. №21]. Дослідні тварини в обох експериментах були поділені на 7 груп: 1 – контрольна група – умовно-здорові тварини; 2 – контрольна група – тварини із розкритим неліченим абсцесом/переломом та його ускладненням; 3 – експериментальна група – тварини, у яких розкритий абсцес/лінію перелому промивали субстанцією AgNP у концентрації 0,8 мг/мл за металом; 4 – експериментальна група – тварини, у яких розкритий абсцес/лінію перелому промивали субстанцією AuNP у

концентрації 19,3 мкг/мл за металом; 5 – експериментальна група – тварини, у яких розкритий абсцес/лінію перелому промивали субстанцією комбінації Ag/AuNP у концентрації 0,8 мг (Ag)/19,3 мкг (Au) за металом; 6 – експериментальна група – тварини, у яких розкритий абсцес/лінію перелому промивали комерційним препаратом Декасан (1 мл розчину містив 0,2 мл декаметоксину); 7 – експериментальна група – тварини, у яких розкритий абсцес/ лінію перелому промивали комерційним препаратом Хлоргексидин (1 мл розчину містив 0,5 мл хлоргексидину біглюконату).

Розкривання модельного абсцесу здійснювали зовнішнім доступом на 4-ту добу після зараження шляхом розрізу шкіри над центром інфільтрату. Промивання розкритих абсцесів водними дисперсіями НЧ металів та препаратами порівняння проводилось 1 раз на добу протягом 3 діб струменево із розрахунку 4 мл кожної субстанції на 1 тварину у випадку модельного абсцесу та 1 раз на добу протягом 10 діб струменево із розрахунку 4 мл кожної субстанції на 1 тварину у випадку ТПНЩ, ускладненого нагноєнням кісткової рани.

Для контролю розвитку модельного абсцесу та ускладненого ТПНЩ у дослідних тварин, а також оцінки прояву терапевтичної ефективності НЧ металів, порівняно із традиційними антисептичними засобами, вивчали клінічні ознаки, дані бактеріології та біохімії, здійснювали гістологічний аналіз тканин ураженої ділянки та рентгенологічні дослідження.

Забій тварин контрольних та дослідних груп здійснювали шляхом декапітації з використанням наркозного засобу. Мікробіологічний [Лабинская А.С., 1978] та гістологічний [Юрина Н.А., 1989] контроль стану абсцесу здійснювали за загальноприйнятими методиками.

Рентгенологічні дослідження тварин контрольних та дослідних груп проводили з використанням рентгенівського апарату Planmeca Intra 9 (PLANMECA OY, Фінляндія), який відповідає вимогам Директиви 93/42/ЕЕС.

Дослідження впливу AgNP, AuNP та Ag/AuNP на стовбурові стромальні клітини кісткового мозку людини *ex vivo* проводились на зразках спонгіози з крила клубової кістки, які отримували інтраопераційно поза осередками запалення та дегенеративно-дистрофічного ураження від 8 пацієнтів ортопедичного профілю (середній вік $8,2 \pm 1,3$ років) і 7 хворих на травми щелепно-лицевої ділянки (середній вік $38,6 \pm 3,2$).

Оцінку ефективності клонування КУОф кісткового мозку людини проводили використовуючи методику клонування стромальних (мезенхімальних) стовбурових клітин (ССК) (остеогенних клітин-попередників) кісткового мозку людини *in vitro* за Фріденштейном-Астаховою [Астахова В.С., 2000]. Було досліджено 15 зразків спонгіозної кістки. Вирощено 199 культур стромальних фібробластів кісткового мозку людини. Субстанції НЧ металів в стерильних умовах додавали в чашки Петрі при посадці клітин кісткового мозку в культуральну систему із розрахунку 25 мл кінцевого об'єму середовища культивування та 10^5 клітин. Контролем слугували культури клітин, які вирощені в ідентичних умовах, без додавання НЧ. Результати

досліджень *ex vivo* оцінювали за кількістю колоній, які виростили в чашках Петрі та показником ефективності клонування (співвідношення кількості утворених колоній до кількості ядромісних клітин, що посаджені в чашку Петрі) – числом ССК серед 10^5 ядромісних клітин кісткового мозку.

Відбір крові здійснювали у контейнери з консервантом ЕДТА. Визначення гематологічних показників кількості лейкоцитів, еритроцитів, тромбоцитів, гемоглобіну, гематокриту та процентного співвідношення лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів, еозинофілів і базофілів в лейкоцитарній формулі проводили із застосуванням гематологічного аналізатора. Сироватку крові дослідних тварин отримували за стандартною методикою згідно [Лабинская А.С., 1978]. Бактерицидну активність сироватки крові визначали загальноприйнятим методом [Скориков А.В., Патент на изобретение № 2289132, Опубл. 10.12.2006]. Активність лізоциму в сироватці крові визначали за методом Перрі в модифікації Х.Я. Гранта. Визначення ЦІК проводили загальноприйнятим методом [Кочетов Г. А., 1971]. Визначення сіромукоїдів в сироватці крові проводили з використанням протоколу до стандартного діагностичному для клініко-діагностичних та біохімічних лабораторій виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна).

В роботі були використані поживні середовища («ННПЦ ГИП», Росія). Інші використані в роботі реактиви були вітчизняного виробництва кваліфікації «ч.д.а.» та «х.ч.».

Статистичну обробку даних проводили з використанням програм BioStat 2009 for Windows (v5.8.4.3) (AnalystSoft Inc., Канада) та Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США). Значимість коефіцієнту кореляції встановлювали за допомогою критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. На сьогоднішній день переломи нижньої щелепи складають найчисельнішу групу пацієнтів в усьому світі. Проведений ретроспективний аналіз 2518 історій хвороб пацієнтів віком від 15 до 89 років показав, що розповсюдженість травматичних переломів нижньої щелепи, локалізованих в межах зубного ряду, становила 76%. Серед осіб, які увійшли у дослідження 90% склали чоловіки, а середнє співвідношення чоловіків і жінок за різні роки становило 10:1. До найбільш працездатної вікової групи від 22 до 60 років відносився 81% постраждалих, що підтверджує велике соціально-економічне значення проблеми. Виявлена в результаті проведених досліджень закономірність корелює з відомостями інших областей України, де кількість травмованих осіб віком від 18 до 59 років становила до 90% [Нагірний Я.П., 2004; Варес Я.Е. 2010; Ткаченко П.І., 2011; Маланчук В.О., 2014; Бугоркова І.А., 2014; Ідашкіна Н.Г., 2014].

Дослідження етіологічних чинників травматичних переломів показали переважання побутових травм (51%). Спостерігався значний ріст рівня кримінальної травми (до 44%). Іншими причинами виникнення переломів нижньої щелепи були дорожньо-транспортна (3%) та спортивна травма (2%).

Проведений аналіз виявив тенденцію до поступового зростання важкості травми, що полягає в збільшенні частоти подвійних та множинних переломів, поєднаних травм, зростанні частоти відкритих переломів. Так, середня кількість переломів на одного постраждалого в 2005-2009 рр. становила 1,18, в 2010-2014 рр. вона зросла до 1,33. Отримані дані узгоджуються з даними літератури, щодо переважаючої в структурі травми відкритих переломів (68-85%), локалізованих в межах зубного ряду, що є первинно інфікованими і характеризуються підвищеним ризиком розвитку гнійно-запальних ускладнень, у т.ч. небезпечних для життя [Александров Н.М., 1986; Lukošūnas A., 2011; Arosarena O., 2012; Smith H., 2012].

Виходячи з цього, була проведена довільна вибірка 30 хворих (16 чоловіків та 14 жінок віком від 16 до 77 років) на ГЗЗ ЩЛД, які лікувались у відділенні щелепно-лицевої хірургії на базі кафедри у період з лютого по червень 2013 року. При дослідженні були виділені та ідентифіковані наступні патогенні штами-збудники: *Staphylococcus aureus* (у 9 пацієнтів) та *Staphylococcus epidermidis* (у 8 пацієнтів), у 3-х пацієнтів виявили штами *Streptococcus haemolyticus* і *Streptococcus pyogenes*, у 2-х – *Staphylococcus haemolyticus*. Інші патогени визначались у одиничних випадках: *Micrococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, гриби роду *Candida albicans*, Дріжджоподібні гриби, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus faecalis*.

З огляду на стрімке поширення антибіотикорезистентності, у ідентифікованих клінічних ізолятах була досліджена наявність R-плазмід та проаналізована резистентність штамів-носіїв до широкого спектру антибіотиків диско-дифузійним методом. Дослідження щодо виявлення R-плазмід (*resistance plasmid*) у виділених штаммах-збудниках було обумовлено тим, що найчастіше саме їх наявність є генетичною основою антибіотикорезистентності мікроорганізмів [Пехов А.П., 1996].

Аналіз плазмідного профілю виділених клінічних ізолятів виявив наявність типових R-плазмід у бактерій 6 клінічних ізолятів: *S. aureus* №2, №3, №4, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecalis*. Визначення чутливості до антибіотиків досліджених мікроорганізмів засвідчило наявність їх мультирезистентності. Таким чином, серед збудників ГЗЗ ЩЛД переважали мультирезистентні штами *S. aureus* та штами *S. epidermidis* у 30% та 27% відповідно.

Наразі в літературі не виявлено даних щодо всебічного дослідження застосування AgNP та AuNP при лікуванні гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки та ускладнень при переломах нижньої щелепи. Виходячи з цього, проведений комплекс лабораторно-експериментальних досліджень обґрунтування комплексного лікування і профілактики гнійно-запальних ускладнень ТПНЩ місцевим застосуванням субстанції AgNP та AuNP має беззаперечну наукову новизну.

У дослідженнях *in vitro*, в порівнянні з Хлоргексидином та Фурациліном, була встановлена більш виражена бактерицидна дія AgNP і комбінації Ag/AuNP

щодо широкого спектру як музейних штамів, так і виділених мультирезистентних клінічних ізолятів (*S. aureus*, *Micrococcus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *E. aerogenes*, *S. haemolyticus*, *H. influenzae*, *Klebsiella spp.*, *E. faecalis*, гриби роду *C. albicans*, дріжджоподібні гриби). Наявність в середовищі визначення досліджених субстанцій AgNP та комбінації Ag/AuNP у концентрації 0,08 мг (Ag)/мл за металом призводила до повного пригнічення росту всього дослідженого спектру тестових штамів та виділених клінічних ізолятів мікроорганізмів.

З огляду на виявлену високу бактерицидну активність експериментальних субстанцій НЧ, особливої актуальності набуває з'ясування питання молекулярних механізмів їх біологічної дії на бактеріальні клітини.

Дослідження особливостей контактної взаємодії експериментальних субстанцій AgNP, AuNP та Ag/AuNP з бактеріальними клітинами патогенних тест-штамів і виділених клінічних ізолятів, проведене методом ТЕМ, засвідчило здатність клітин усіх досліджених мікроорганізмів активно акумулювати НЧ металів як на поверхні, так і всередині клітин (рис.1).

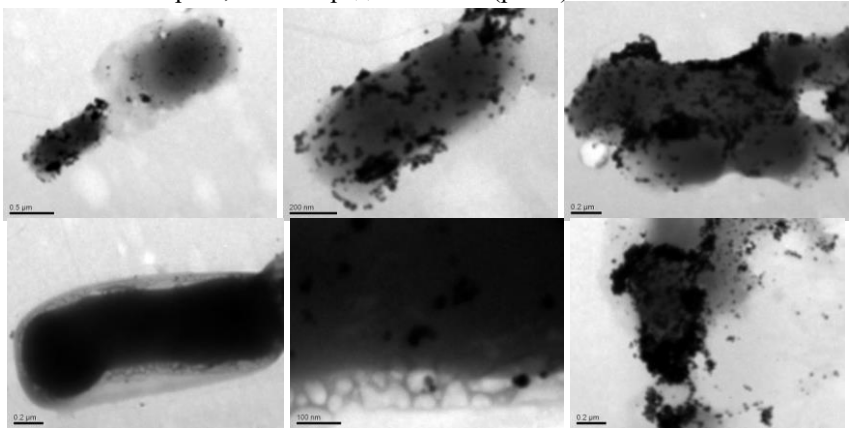


Рис. 1. Електронно-мікроскопічне зображення асоціату клітин клінічних ізолятів з акумульованою експериментальною субстанцією комбінації Ag/AuNP через 10 хвилин після контактної взаємодії.

Наслідком контактної взаємодії і акумуляції НЧ на поверхні та всередині бактеріальних клітин клінічних ізолятів є порушення цілісності клітинної оболонки патогенних мікроорганізмів-збудників, інгібування ферментів енергетичного метаболізму [Lansdown A.V., 2002], а також, що заслуговує особливої уваги, можливість елімінації плазмід антибіотикорезистентності [Lansdown A.V., 2002; Marambio-Jones K., 2010].

За даними літератури досліджувані НЧ металів виявляють високу ефективність у якості елімінуючих агентів модельних плазмід антибіотикорезистентності: внаслідок взаємодії з AgNP та AuNP спостерігаються структурні зміни модельних плазмід pUC19 і pBR322 від

глобул до релаксованих форм із локалізацією НЧ на розплетених нитках ДНК з певною періодичністю. Частота елімінації плазмід pUC19 і pBR322 з бактерій *E. coli* XL1-Blue Kan під впливом НЧ зростає до 90-98% при рівні спонтанної елімінації 34-37% [Дибкова С.М., 2014].

Ці відомості лягли в основу проведеного дослідження щодо вивчення характеру впливу експериментальних субстанцій AgNP та AuNP на структуру плазмідної ДНК бактеріальних клітин виділених клінічних ізолятів – носіїв плазмід антибіотикорезистентності. Зокрема, було проведено процедуру елімінації плазмідної ДНК шляхом обробки плазмідовмісних бактерій AgNP та AuNP з послідуною контрелекцією за ознакою чутливості до антибіотиків.

Було встановлено, що обробка бактеріальних клітин клінічних ізолятів *S. aureus* №2, №3, №4, *K. pneumoniae*, *H. influenzae* та *E. faecalis* AuNP розміром 30 нм в концентраціях 9,6 та 3,8 мкг/мл за металом та AgNP розміром 30 нм в концентраціях 40 і 20 мкг/мл за металом призводила до суттєвих змін у картині електрофоретичного розділення ДНК: наявність плазмід не фіксували в жодному зразку.

Контрелекція бактерій плазмідовмісних клінічних ізолятів, оброблених AgNP та AuNP, за ознакою чутливості до антибіотиків показала втрату їх резистентності до деяких антибіотиків. Так, втрату резистентності до ампіциліну, гентаміцину та тетрацикліну спостерігали у трьох ізолятів *S. aureus* внаслідок обробки бактеріальних клітин AgNP та AuNP. Найефективнішою була елімінація плазмід у *S. aureus* під впливом AgNP як в концентраціях 40 мкг/мл так і 20 мкг/мл за металом. Після обробки клітин *K. pneumoniae* AgNP в обох використаних концентраціях спостерігали втрату антибіотикорезистентності до цефтазидиму. У клінічного ізоляту *H. influenzae* відбувалася елімінація R-плазмід при обробці клітин наночастинками як AuNP, так і AgNP. Для штаму *E. faecalis* виявляли втрату детермінант стійкості до ампіциліну під впливом як AuNP, так і AgNP, елімінація детермінант чутливості до стрептоміцину та еритроміцину спостерігалась під впливом AuNP, до тетрацикліну та канаміцину – при обробці клітин AgNP.

Отже, проведений аналіз засвідчив здатність AgNP та AuNP виступати ефективними агентами елімінації R-плазмід антибіотикорезистентних мікроорганізмів-збудників, що відкриває широкі перспективи подолання антибіотикорезистентності в клінічній практиці.

Зважаючи на виявлену *in vitro* високу антимікробну активність досліджених AgNP та комбінації Ag/AuNP відносно широкого спектру мультирезистентних клінічних ізолятів – збудників ГЗЗ ШЛД, наступним етапом досліджень було вивчення терапевтичної ефективності НЧ *in vivo*.

Терапевтичну дію експериментальних субстанцій НЧ *in vivo* було досліджено на моделях гнійного абсцесу щелепної ділянки та ТПНЦ лабораторних щурів лінії *Wistar*, ускладненого нагноєнням кісткової рани. У якості препаратів порівняння були використані Хлоргексидин та Декасан – поширені у щелепно-лицевій хірургії традиційні антисептичні лікарські засоби.

Так, за даними клінічних, гістологічних, біохімічних (лізоцимна активність, ЦК, сірмукоїди, БАСК), мікробіологічних та рентгенологічних досліджень в умовах розвитку модельного абсцесу нижньощелепної ділянки у дослідних тварин спостерігався типовий розвиток гнійного запалення, яке викликало активацію лейкоцитарно-макрофагальної системи організму. За відсутності лікування на 12 день розвитку запалення було сформоване відокремлене захисним валом велике гнійно-некротичне вогнище, всередині якого знаходили чужорідні тіла та зруйновані лейкоцити у складі гнійно-некротичних мас. У тварин із модельним ТПНЩ, ускладненим нагноєнням кісткової рани, розвиток активного гнійного ураження спостерігався вже на 3 добу. Відсутність фізіологічної регенерації тканин у контрольній групі модельного ТПНЩ спостерігалась і на 40 добу після травматичного ушкодження з реєстрацією на рентгеновських знімках та за даними гістоморфологічних досліджень поширення ділянок розрідження або повного зникнення кісткової структури, що відповідає ознакам гнійного ураження кістки.

На цьому фоні встановлено, що застосування для обробляння модельного абсцесу досліджених НЧ металів (AgNP, AuNP та Ag/AuNP) сприяє значному прискоренню процесів загоювання із переходом запального процесу до стадії проліферації та організації уражених ділянок. Найбільш виражений позитивний ефект спостерігався при застосуванні Ag/AuNP (рис. 2).

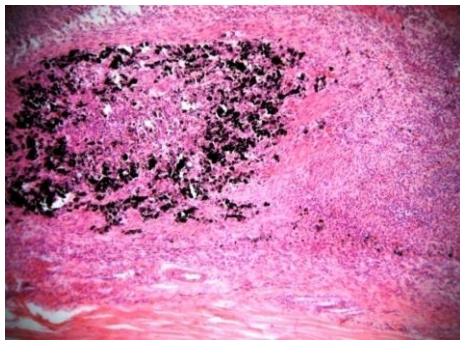


Рис. 2. Мікрофотографія тканин навколо абсцесу на 12 добу формування після 3- разової обробки Ag/AuNP. Гематоксилін-еозин, $\times 200$.

Це може бути свідченням прояву синергізму антимікробної та протизапальної дії AgNP та AuNP. На фоні встановленої ефективності терапевтичної дії НЧ, лікувальний вплив препаратів порівняння Хлоргексидину і Декасану був набагато менш виражений за усіма дослідженими параметрами.

Застосування досліджених НЧ протягом 10 діб для обробляння ТПНЩ, ускладненого нагноєнням кісткової рани, сприяло посиленню процесу остеогенезу, порівняно із дією антисептиків Хлоргексидину і Декасану, при

застосуванні яких виникала незавершеність фагоцитозу сприяючи утворенню хондрійної тканини в місцях перелому, що може обумовлювати утворення хибних суглобів. Особливу увагу привернула виявлена підвищена репаративна регенерація ураженої кісткової тканини внаслідок впливу AuNP (рис. 3).

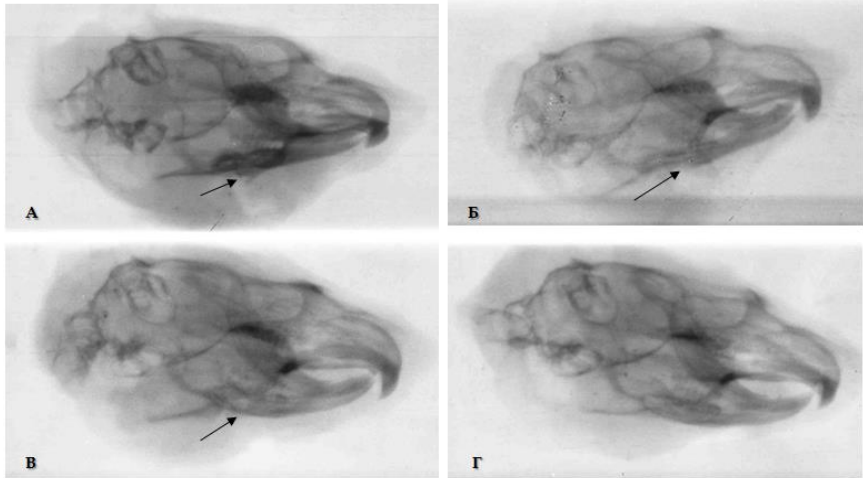


Рис. 3. Рентгенограма нижньої щелепи щурів із травматичним переломом, ускладненим нагноєнням кісткової рани, після 10-ти денного промивання НЧ металів: А – AuNP; Б – AgNP, В – Ag/AuNP, порівняно з Г – нативним контролем. Ділянки перелому відзначені стрілками.

Таким чином, за результатами оцінки терапевтичної ефективності НЧ металів *in vivo* при лікуванні щурів з модельним абсцесом підщелепної ділянки та ТПНЩ, ускладненого нагноєнням кісткової рани, виявлені: висока антимікробна активність, значне пригнічення запального процесу та швидка регенерація тканин, в тому числі кісткової, що стимулює швидке загоєння рани. Тобто, спостерігається більш виражений лікувальний ефект нанопрепаратів, порівняно із традиційними антисептичними засобами. Найбільш вираженою терапевтичною ефективністю за усіма дослідженими показниками характеризується субстанція комбінації Ag/AuNP (концентрація 0,8 мг Ag та 19,3 мкг Au в 1 мл).

Враховуючи отримані в дослідженнях *in vivo* дані щодо вираженої терапевтичної ефективності НЧ металів при лікуванні ТПНЩ, ускладненого нагноєнням кісткової рани, заключним етапом досліджень стала оцінка впливу досліджених субстанцій НЧ на ефективність клонування КУОф кісткового мозку людини в умовах *ex vivo*.

Встановлено, що при додаванні в культуральну систему AuNP ефективність клонування підвищувалась в середньому на 90-190% відносно контролю.

Додавання до середовища культивування клітин AgNP, незалежно від їх концентрації, викликало пригнічення проліферації і диференціювання ССК кісткового мозку.

На відміну від характеру впливу монопрепарату AgNP на проліферацію ССК, субстанція комбінації Ag/AuNP в низьких концентраціях виявляла здатність підвищувати утворення колоній стромальних фібробластів кісткового мозку. Ефективність їх клонування під впливом Ag/AuNP зростала приблизно у 2,3 рази порівняно з контролем (рис. 4).

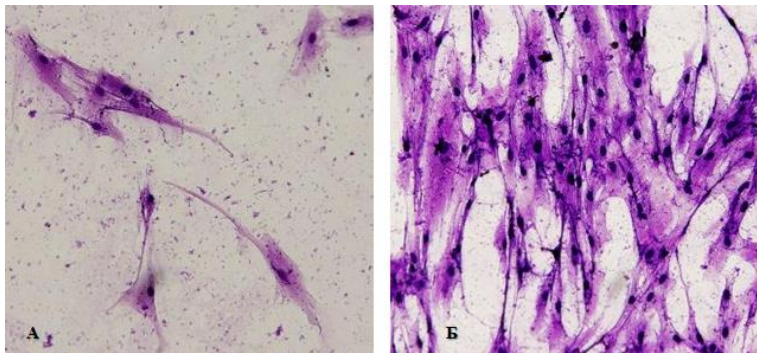


Рис. 4. Мікрофотографія фрагментів колоній, які вирости в контрольній чашці (А) та в присутності комбінації Ag/AuNP вихідної концентрації 0,4 мг (Ag)/9,65мкг (Au) за металом.

Можна припустити, що стимулюючий вплив комбінації Ag/AuNP на ефективність клонування КУОф кісткового мозку людини обумовлений впливом саме AuNP. Отримані результати щодо здатності AuNP сприяти диференціюванню мезенхімальних стовбурових клітин в остеогенному напрямку підтверджуються даними літератури [Yi C., 2010].

Таким чином, результати проведених *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo* досліджень щодо обґрунтування комплексного лікування і профілактики гнійно-запальних ускладнень ТПНЩ місцевим застосуванням субстанції AgNP та AuNP свідчать, що експериментальні субстанції НЧ володіють високою антибактеріальною, протизапальною та регенераторною ефективністю.

Весь комплекс проведених досліджень дозволяє рекомендувати субстанцію для проведення клінічних випробувань з подальшим застосуванням досліджених НЧ у практиці хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуальної наукової і практичної проблеми щелепно-лицевої хірургії та травматології – підвищенню ефективності комплексного лікування та профілактики гнійно-запальних ускладнень відкритих переломів нижньої щелепи. На основі всебічного

вивчення чинників, що впливають на виникнення гнійно-запальних процесів, які негативно впливають на регенерацію кісткової та м'яких тканин щелепи, запропоновано і патогенетично обґрунтовано новий спосіб комплексного лікування відкритих переломів нижньої щелепи з застосуванням наночастинок срібла, золота та їх комбінації в експерименті.

На основі проведеного розширеного ретроспективного аналізу та ряду експериментальних досліджень зроблені наступні висновки:

1. За даними медико-статистичного аналізу архівних матеріалів відділення щелепно-лицевої хірургії та щелепно-лицевого травматологічного пункту КМКЛІ №12 м. Києва відмічено збільшення частоти травматичних ушкоджень нижньої щелепи, серед яких 76% локалізовані в межах зубного ряду та є первинно інфікованими з підвищеним ризиком розвитку гнійно-запальних ускладнень.

2. Встановлено, що серед збудників гнійно-запальних процесів щелепно-лицевої ділянки переважають мультирезистентні штами *Staphylococcus aureus* та штами *Staphylococcus epidermidis* у 30% та 27% відповідно.

3. В дослідженнях *in vitro* встановлена висока антимікробна активність наночастинок срібла розміром 30 нм, та їх комбінації з наночастинками золота: виявлено 100% інгібування росту музейних тест-штамів і клінічних ізолятів мікроорганізмів – збудників гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки, порівняно із рівнем антимікробної активності комерційних антисептичних лікарських засобів (Хлоргексидин та Фурацилін).

4. Виявлена здатність клінічних ізолятів мікроорганізмів-збудників гнійно-запальних захворювань активно акумулювати наночастинок срібла та золота всередині клітин, що призводить до елімінації R-плазмід та є компонентом механізму їх антиміробної дії.

5. В дослідженнях *in vivo* на моделях абсцесу та нагноєння кісткової рани нижньої щелепи лабораторних щурів лінії *Wistar* встановлена висока терапевтична ефективність наночастинок срібла, золота і їх комбінації, яка обумовлена антимікробною, протизапальною дією наночастинок та їх здатністю стимулювати репаративні процеси м'яких тканин та кістки. Лікувальний ефект досягався на моделі абсцесу після 3-денного промивання наночастинками та на моделі нагноєння кісткової рани після 10-денного промивання 1 раз на добу.

6. В дослідженнях *ex vivo* виявлена здатність наночастинок золота та їх комбінації з наночастинками срібла стимулювати структуроутворювальний потенціал стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини: додавання в культуральну систему наночастинок золота збільшувало кількість утворених колоній від 1,9 до 2,7 разів, а ефективність клонування – на 90-190% відносно контролю; комбінація наночастинок срібла і золота підвищувала ефективність клонування приблизно у 2,3 рази порівняно з контролем.

7. Встановлена висока терапевтична ефективність експериментальних біобезпечних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації дозволяє їх рекомендувати для проведення клінічних випробувань з подальшим застосуванням досліджених наночастинок у практиці хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Субстанції AgNP, AuNP та Ag/AuNP характеризуються значним терапевтичним потенціалом у лікуванні ГЗЗ ЩЛД, що дозволяє рекомендувати їх для проведення клінічних випробувань з перспективою впровадження у практику хірургічної стоматології та щелепно-лицевій хірургії, як засоби з комплексною антимікробною, протизапальною та регенераторною дією.

Субстанція комбінації Ag/AuNP проявляє найбільш виражений комплексний терапевтичний ефект, порівняно із традиційними антисептичними засобами на основі декаметоксину, хлоргексидину біглюконату та фурациліну, що зазвичай використовуються при місцевому лікуванні гнійно-запальних процесів.

Водна дисперсія Ag/AuNP складає основу експериментального препарату «Nano-Ag/Au», що є новим вітчизняним фармацевтичним продуктом, створеним із застосуванням нанотехнологій.

«Nano-Ag/Au» – спільна розробка Інституту біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України і кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Препарат «Nano-Ag/Au» призначений для місцевого застосування при лікуванні гнійно-запальних процесів: гнійних ран, абсцесів, флегмон, карбункулів, фурункулів, періоститів, нагноєння кісткової рани, остеомієлітів тощо.

Препарат «Nano-Ag/Au» являє собою водну дисперсію коричневого кольору. Діюча речовина – суміш сферичних НЧ срібла і золота із середнім розміром частинок 30 нм.

100 мл препарату містить 80 мг срібла та 1,93 мг золота.

Висока терапевтична ефективність препарату «Nano-Ag/Au» обумовлена комплексним терапевтичним ефектом:

1. Антимікробною активністю відносно широкого спектру грам-позитивних та грам-негативних мікроорганізмів-збудників, в тому числі відносно штамів, резистентних до антибіотиків;

2. Протизапальною та протинабряковою дією: застосування препарату сприяє швидкому переходу запального процесу до стадій проліферації та організації уражених ділянок;

3. Регенераторною дією: застосування препарату сприяє швидкій регенерації тканин, в тому числі кісткової.

Висока антимікробна активність препарату «Nano-Ag/Au» обумовлена здатністю НЧ – діючої речовини препарату – активно акумулюватись на поверхні та всередині клітин патогенних мікроорганізмів, що призводить до порушення цілісності їх клітинної оболонки, інгібування ферментів енергетичного метаболізму, елімінації плазмід антибіотикорезистентності.

При цьому препарат є безпечним для еукаріотичних клітин.

В тестах *in vitro* з використанням широкого спектру клітинних ліній та в тестах *in vivo* на модельних тваринах встановлено, що препарат «Nano-Ag/Au» є безпечним за показниками цитотоксичності, генотоксичності, мутагенності та за біохімічними маркерами.

Практичні рекомендації щодо застосування експериментальної водної дисперсії препарату «Nano-Ag/Au»:

Лікування ТПНЩ та гнійно-запальних процесів щелепно-лицевої ділянки із застосуванням дослідженого нанопрепарату повинно включати:

1. Оптимальне поєднання репозиції і фіксації уламків та комплексної медикаментозної терапії із застосуванням препарату «Nano-Ag/Au».

2. Місцеве лікування хворих з відкритими переломами нижньої щелепи слід проводити шляхом застосування препарату «Nano-Ag/Au» у формі промивання лінії перелому або ранової поверхні струменево, 3 рази на день протягом 5-10 днів. Кратність та тривалість курсу застосування препарату може бути збільшена залежно від важкості гнійно-запального ураження.

3. Вибір тривалості курсу застосування препарату «Nano-Ag/Au» слід проводити з урахуванням характеру ушкодження, даних мікробіологічного дослідження, важкості гнійно-запального ураження тощо.

4. Місцеве застосування водної дисперсії Ag/AuNP не є протипоказанням для призначення у комплексній терапії хворих препаратів інших фармакологічних груп.

5. Побічних дій не виявлено.

6. Протипоказанням є алергічна реакція на срібло та золото.

7. Препарат «Nano-Ag/Au» слід зберігати в темному та прохолодному місці подалі від дітей.

8. Препарат «Nano-Ag/Au» рекомендований виключно для зовнішнього застосування. Дані щодо характеру впливу препарату на організм ссавців за умов внутрішньовенного та перорального застосування наразі обмежені.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Маланчук В.О. Антимікробна активність наночастинок срібла / Маланчук В.О., Ульберг З.Р., **Рибачук А.В.**, Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г., Долінська Н.О. // Журнал Національної академії медичних наук України. – 2012. – Том. 18, №3. – С.384-388. *Внесок дисертанта – проведення*

- експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
2. Маланчук В.О. Антимікробні властивості наночастинок срібла (експериментальне дослідження) / Маланчук В.О., Ульберг З.Р., **Рибачук А.В.**, Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г., Долінська Н.О. // Вісник стоматології. – 2012. – №4. – С.19-22. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
 3. **Рибачук А.В.** Наночастинки срібла, як потенційна протимікробна субстанція у щелепно-лицевій хірургії / Рибачук А.В., Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г., Ульберг З.Р., Маланчук В.О., Чекман І.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 2. Матеріали конференції «YouthNano BioTech-2012. Молодіжний форум з нанобіотехнологій». – 2012. – С.19-22. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
 4. Маланчук В.О. Травматичні переломи нижньої щелепи з 1995 по 2009 рр. (матеріали клініки кафедри) / Маланчук В.О., Копчак А.В., Гордійчук М.А., Мамонов Р.О., **Рибачук А.В.**, Кравчук М.Г. // Вісник стоматології. – 2015. – №1. – С.69-73. *Внесок дисертанта – проведення частини ретроспективного дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
 5. **Рибачук А.В.** Наночастинки срібла та золота: оцінка біобезпечності та перспективи застосування при лікуванні гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки / Рибачук А.В., Резніченко Л.С., Дибкова С.М., Грузіна Т.Г., Ульберг З.Р., Маланчук В.О. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 1. – 2013. – С.92-96. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
 6. **Rybachuk A.V.** Prospects of using silver and gold nanoparticles in the prevention and treatment of purulent-inflammatory diseases of the maxillofacial area / Rybachuk A.V., Rieznichenko L.S., Dybkova S.N., Gruzina T.G., Ulberg Z.R., Malanchuk V.A. // Ukrainian Scientific Medical Youth Journal. – 2014. – № 4 – Р. 42-47. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
 7. **Рибачук А.В.** Епідеміологія травматичних переломів нижньої щелепи в період з 2005 по 2014 рр. за матеріалами клініки кафедри / Рибачук А.В., Мамонов Р.О., Маланчук В.О. // Харківська хірургічна школа. – 2016. – №1 (76). – С.80-85. *Внесок дисертанта – проведення частини ретроспективного дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*

8. Rieznichenko L.S. Silver nanoparticles: synthesis, effectiveness in treatment of purulent-inflammatory diseases of the maxillofacial area, development of dosage forms / Rieznichenko L.S., **Rybachuk A.V.**, Bilous S.B., Dybkova S. M., Gruzina T. G., Malanchuk V.O. // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2016. – Vol. 8 (1). – P. 332-338. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їхня оцінка, участь у написанні статті.*
9. Пат. 99785 Україна, МПК А61К 33/88. Застосування субстанції наночастинок срібла як протимікробного засобу при лікуванні гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки / Резніченко Л.С., **Рибачук А.В.**, Ульберг З.Р., Грузіна Т.Г., Дибкова С.М., Маланчук В.О.; заявник та патентовласник Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України. – u2014 13861; заявл. 24.12.2014; опубл. 25.06.2015, Бюл. №21.
10. Пат. 102693 Україна, МКП А61В 17/32. Спосіб моделювання перелому нижньої щелепи у малих лабораторних тварин / Маланчук В.О., **Рибачук А.В.**; заявник та патентовласник Національний медичний університет імені О.О.Богомольця. – u2015 05292; заявл. 29.05.2015; опубл. 10.11.2015, Бюл. №21.
11. Пат. 103644 Україна, МПК А61К 33/88. Спосіб лікування абсцесів та флегмон щелепно-лицевої ділянки / Резніченко Л.С., **Рибачук А.В.**, Ульберг З.Р., Грузіна Т.Г., Дибкова С.М., Маланчук В.О.; заявник та патентовласник Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України. – u2015 05957; заявл. 16.06.2015; опубл. 25.12.2015, Бюл. № 24.
12. Пат. 104791 Україна, МКП А61В 17/56. Пристрій для моделювання перелому нижньої щелепи малих лабораторних тварин / Маланчук В.О., **Рибачук А.В.**, Шпачинський О.С.; заявник та патентовласник Національний медичний університет імені О.О.Богомольця. – u2015 04913; заявл. 20.05.2015; опубл. 25.02.2016, Бюл. №4.
13. **Рибачук А.В.** Оцінка *in vivo* ефективності наночастинок срібла їх комбінації з наночастинками золота як антимікробних субстанції при лікуванні гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки / Рибачук А.В., Резніченко Л.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. – № 3. – С.35-36.
14. **Рибачук А.В.** Антибактериальная субстанция наночастиц серебра для лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области / Рибачук А.В., Резніченко Л.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 2. – 2013. – С.267-268.
15. **Рибачук А.В.** Наночастишки срібла та їх комбінація з наночастишками золота як антимікробні субстанції для лікування гнійно-запальних захворювань щелепно-лицевої ділянки / Рибачук А.В., Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г., Маланчук В.О., Дибкова С.М., Ульберг З.Р., Долінська Н.О. //

- Матеріали III З'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів, 17-18 травня 2013 р. – 2013. – С.115-117.
16. **Рыбачук А.В.** Наночастицы серебра и их комбинация с наночастицами золота: новые антимикробные субстанции для лечения гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С., Дыбкова С.Н. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 2. – 2013. – С.122-123.
 17. **Рыбачук А.В.** Наночастицы серебра и их комбинация с наночастицами золота: новые высокоэффективные антимикробные субстанции в практике челюстно-лицевой хирургии / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 4. – 2013. – С. 284.
 18. **Рыбачук А.В.** Эффективность наночастицы серебра и их комбинации с наночастицами золота в профилактике и лечении лечения гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р., Маланчук В.А. // Матеріали IV Международной научной конференции «Наноразмерные системы: строение, свойства, технологии», Киев, 19-22 ноября 2013. – 2013. – С. 478.
 19. Rieznichenko L.S. Modulation of biochemical activity by metal nanoparticles: pharmaceutical perspectives / Rieznichenko L.S., Gruzina T.G., **Rybachuk A.V.**, Dybkova S.M., Ulberg Z.R. // International research and practical conference “Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2013)”. – 2013. – P. 383.
 20. Маланчук В.А. Наночастицы серебра и их комбинация с наночастицами золота: экспериментальное обоснование применения новых субстанций в челюстно-лицевой хирургии / Маланчук В.А., **Рыбачук А.В.**, Резниченко Л.С., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р. // Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження професора Г.І. Семенченка «Нові технології в хірургічній стоматології та щелепно-лицевій хірургії». – 2014. – С.3-5.
 21. **Рыбачук А.В.** Обоснование применения новых субстанций наночастиц серебра и их комбинации с наночастицами золота в эксперименте *in vivo* / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 1 (77). – 2014. – С. 60- 61.
 22. **Рыбачук А.В.** Наночастицы серебра и их комбинация с наночастицами золота: *in vitro* и *in vivo* экспериментальное обоснование применения в челюстно-лицевой хирургии / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С. // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец. випуск № 3 (80). – 2014. – С. 71.
 23. **Рыбачук А.В.** Экспериментальное доклиническое обоснование применения новых антибактериальных препаратов наночастиц серебра и золота в челюстно-лицевой хирургии / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С. // Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика, присвяченої «Дню науки», «Інновації

- молодих вчених медиків і їх впровадження в практичну охорону здоров'я». – 2015. – С. 80-83.
24. **Rybachuk A.V.** Silver nanoparticles and their combination with gold nanoparticles as new effective antimicrobial substances for maxillofacial surgery and dental implantology / Rybachuk A.V., Rieznichenko L.S., Malanchuk V.A., Dybkova S.M., Gruzina T.G., Ulberg Z.R. // E-MRS Spring Meeting 11-15 May 2015, Lille, France. – 2015.
 25. **Rybachuk A.V.** Silver nanoparticles and their combination with gold nanoparticles as new effective antimicrobial substances for oral and maxillofacial surgery / Rybachuk A.V., Rieznichenko L.S., Malanchuk V.A., Dybkova S.M., Gruzina T.G., Ulberg Z.R. // Book of abstracts of Ukrainian-German symposium on physics and chemistry of nanostructures and on nanobiotechnology, Kyiv, Ukraine, 21-25 September, 2015. – 2015. – P. 250.
 26. Чекман І.С. Основи наномедицини / Чекман І.С., Маланчук В.О., **Рибачук А.В.** – К.: Логос. – 2011. – 250 с.: іл. ISBN 978-966-171-422-8 *Внесок дисертанта – участь у написанні розділів монографії.*
 27. Чекман І.С. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / Чекман І.С., Ульберг З.Р., Маланчук В.О., Горчакова Н.О., Зупанець І.А., Шаторна В.Ф., Білоус С.Б., Грузина Т.Г., Дибкова С.М., Нагорна О.О., Небесна Т.Ю., Полова Ж.М., Резніченко Л.С., Савенкова О.О., Дорошенко А.М., Прискока А.О., **Рибачук А.В.**, Савченко Д.С., Сімонов П.В., Нагорна Т.І. // К.: Поліграф плюс. – 2012. – 328 с.: іл. ISBN:987-966-8977-9-9 *Внесок дисертанта – написання частини розділів монографії.*
 28. **Рибачук А.В.** Антимикробные субстанции наночастиц серебра и их комбинация с наночастицами золота: оценка *in vitro* и *in vivo* эффективности / Рыбачук А.В., Резниченко Л.С., Маланчук В.А., Дыбкова С.Н., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р. // Труды III Съезда (конгресса) стоматологов Таджикистана «Современные достижения стоматологии и дентальной имплантации». – 2013. – С. 390-392.
 29. Маланчук В.А. Наночастицы серебра для профилактики и лечения осложненной в дентальной имплантации / Маланчук В.А., Ульберг З.Р., **Рибачук А.В.**, Резниченко Л.С., Грузина Т.Г. // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна стоматологія та щелепно-лицева хірургія», 18 січня 2013. – 2013. – С.115-117.
 30. Маланчук В.О. Моделювання перелому нижньої щелепи у малих лабораторних тварин / Маланчук В.О., **Рибачук А.В.**, Шпачинський О.С. // Матеріали IV з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. – 2015. – С.218-220.
 31. **Рибачук А.В.** Аналіз травматичних переломів нижньої щелепи в період з 1995 по 2009 рр. за матеріалами клініки кафедри / Рибачук А.В., Маланчук В.О., Копчак А.В., Гордійчук М.А., Мамонов Р.О. // Матеріали IV з'їзду Української асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів. – 2015. – С. 110-112.

АНОТАЦІЯ

Рибачук А.В. Обґрунтування комплексного лікування і профілактики гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи місцевим застосуванням субстанції наночастинок срібла і золота (лабораторно-експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.22 – стоматологія. – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2016.

Дисертаційна робота присвячена обґрунтуванню місцевого застосування експериментальних субстанцій наночастинок срібла, золота та їх комбінації в комплексному лікуванні і профілактиці гнійно-запальних ускладнень травматичних переломів нижньої щелепи.

Біобезпечні, сферичні наночастинок срібла а золота із середнім розміром 30 нм були синтезовані за методом хімічної конденсації у водному середовищі згідно з оригінальним протоколом, розробленим в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України.

За даними медико-статистичного аналізу архівних матеріалів (м. Київ) за останні 10 років відмічено збільшення частоти травматичних ушкоджень нижньої щелепи, серед яких 76% локалізовані в межах зубного ряду та є первинно інфікованими з підвищеним ризиком розвитку гнійно-запальних ускладнень, збудниками яких є мультирезистентні штами *Staphylococcus aureus* та штами *Staphylococcus epidermidis* у 30% та 27% відповідно.

В дослідженнях *in vitro* показана висока антимікробна активність наночастинок срібла розміром 30 нм по відношенню до музейних тест-штамів і клінічних ізолятів мікроорганізмів, які активно акумулювали наночастинок всередині клітин, що призводило до елімінації R-плазмід антибіотикорезистентності. В дослідженнях *in vivo* на моделях абсцесу та нагноєння кісткової рани нижньої щелепи лабораторних щурів лінії *Wistar* встановлена висока терапевтична ефективність наночастинок порівняно комерційними антисептичними лікарськими засобами. В дослідженнях *ex vivo* виявлена здатність наночастинок золота та їх комбінації з наночастинками срібла стимулювати структуроутворювальний потенціал стовбурових стромальних клітин кісткового мозку людини.

На основі отриманих результатів обґрунтовані рекомендації для проведення клінічних випробувань з подальшим застосуванням досліджених наночастинок у практиці хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії.

Ключові слова: наночастинок срібла, наночастинок золота, протимікробна активність, переломи нижньої щелепи, гнійно-запальні захворювання щелепно-лицевої ділянки.

АННОТАЦИЯ

Рыбачук А.В. Обоснование комплексного лечения и профилактики гнойно-воспалительных осложнений травматических переломов нижней челюсти местным применением субстанции наночастиц серебра и золота (лабораторно-экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.22 – стоматология. – Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, 2016.

Диссертационная работа посвящена обоснованию местного применения экспериментальных субстанций наночастиц серебра, золота и их комбинации в комплексном лечении и профилактике гнойно-воспалительных осложнений травматических переломов нижней челюсти.

Биобезопасные, сферические наночастицы серебра и золота со средним размером 30 нм были синтезированы методом химической конденсации в водной среде согласно оригинальному протоколу, разработанному в Институте биокolloидной химии им. Ф.Д. Овчаренко НАН Украины.

Ретроспективный анализ 2518 историй болезней пациентов в возрасте от 15 до 89 лет показал, что распространенность травматических переломов нижней челюсти, локализованных в пределах зубного ряда составила 76%. Среднее соотношение мужчин и женщин за разные годы определяется 10:1. Было установлено, что 81% пострадавших относятся к наиболее трудоспособной возрастной группе от 22 до 60 лет, что подтверждает большое социально-экономическое значение проблемы.

Известно, что в структуре травмы преобладают открытые переломы (68-85%), локализованные в пределах зубного ряда, и являются первично инфицированными, что характеризуются повышенным риском развития гнойно-воспалительных осложнений. Исходя из этого, произвольная выборка 30 больных в возрасте от 16 до 77 лет на острые гнойно-воспалительные заболевания ЧЛЮ, позволила выделить и идентифицировать наиболее распространенные патогенные штаммы: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus haemolyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Micrococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, грибы рода *Candida albicans*, дрожжеподобные грибы, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus faecalis*.

При анализе плазмидного профиля выделенных клинических изолятов выявлено наличие типичных R-плазмид у бактерий 6 клинических изолятов: *S. aureus* №2, №3, №4, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecalis*, что показало наличие их мультирезистентности к наиболее распространенным в клинической практике традиционным антибиотикам.

В исследованиях *in vitro* установлена высокая антимикробная активность наночастиц серебра размером 30 нм, и их комбинации с наночастицами золота

по отношению к широкому спектру тест-штаммов (*Staphylococcus aureus* 209P, *Enterococcus faecalis* Г35№4-410, *Escherichia coli* №25, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51), *Candida albicans*, *Proteus vulgaris* НХ 19 №222) и клинических изолятов микроорганизмов – возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, по сравнению с уровнем антимикробной активности коммерческих антисептических лекарственных средств.

Исследование особенностей контактного взаимодействия экспериментальных субстанций наночастиц серебра, золота и их комбинации с бактериальными клетками патогенных микроорганизмов показали, что уже через 10 минут все клетки активно аккумулировали наночастицы, как на поверхности, так и внутри клеток.

В исследованиях *in vivo* на моделях абсцесса и нагноения костной раны нижнечелюстной области лабораторных крыс линии *Wistar*, установлена высокая антимикробная, противовоспалительная активность и способность стимулировать репаративные процессы. Данные подтверждены гистологически, рентгенологически и микробиологически.

В исследованиях *ex vivo* выявлена способность наночастиц золота и их комбинации с наночастицами серебра стимулировать структурообразующий потенциал стволовых стромальных клеток костного мозга человека: добавление в культуральную систему наночастиц золота увеличивает количество образованных колоний от 1,9 до 2,7 раз, а эффективность клонирования – на 90-190% относительно контроля; комбинация наночастиц серебра и золота повышает эффективность клонирования примерно в 2,3 раза по сравнению с контролем

Доказано, что экспериментальные биобезопасные субстанции наночастиц серебра, золота и их комбинация проявляют высокую антимикробную, противовоспалительную активность и способность восстанавливать репаративные процессы при лечении гнойно-воспалительных осложнений открытых переломов нижней челюсти, что позволяет рекомендовать субстанции для широкого использования в практике хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Ключевые слова: наночастицы серебра, наночастицы золота, противомикробная активность, переломы нижней челюсти, гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области.

SUMMARY

Anna V. Rybachuk. Rationale of complex treatment and prevention of the mandible traumatic fractures inflammatory complications with silver and gold nanoparticles substance local using (laboratory and experimental study). – The manuscript.

The thesis for getting a degree of Candidate of Medical Sciences, speciality 14.01.22 – Dentistry. Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2016.

The thesis is devoted to the substantiation of silver, gold nanoparticles and their combinations experimental substances topical application in treatment and prevention of the mandible traumatic fractures inflammatory complications.

Biosafe, spherical AgNP and AuNP with an average size of 30 nm were obtained by chemical condensation in aqueous medium according to the original protocol developed at the F.D. Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry of NAS of Ukraine.

According to the medical-statistical analysis of archival materials (Kyiv) for the past 10 years showed that increase of the lower jaw traumatic injuries frequency, among which 76% are located within the tooth alignment and are initially infected with an increased risk of inflammatory complications agents which are MDR strains of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains in 30% and 27% respectively.

Studies *in vitro* demonstrated high antimicrobial activity of 30 nm silver nanoparticles against to the museum test strains and clinical isolates of microorganisms, which are actively accumulate nanoparticles within the cells, leading to the elimination of antibiotic resistance R-plasmid. In *in vivo* studies in abscess models and festering wounds of the lower jaw bone of *Wistar* rats was established the high therapeutic efficacy of the nanoparticles compared to commercial antiseptic drugs. In *ex vivo* studies were revealed the ability of gold nanoparticles and their combination with silver nanoparticles stimulate the structural-formal potential of stromal stem cells in human bone marrow.

Based on the results were written recommendations for clinical trials with further investigations of nanoparticles in the oral and maxillofacial surgery.

Keywords: silver nanoparticles, gold nanoparticles, antimicrobial activity, mandibular fractures, purulent-inflammatory diseases of maxillofacial area.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАСК – бактерицидна активність сироватки крові;
ГЗЗ ЩЛД – гострі гнійно-запальні захворювання щелепно-лицевої ділянки;
ДТП - дорожньо-транспортна пригода;
ЕДТА – етилендіамінтетраацетат;
КУО – колоніє-утворювальна одиниця;
КУОф – колонієутворюючі одиниці фібробластів;
ЛКС – лазерно-кореляційна спектроскопія;
МПА – м'ясопептонний агар;
МПБ – м'ясопептонний бульйон;
МТТ – 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide;
МСК – мезенхімальні стовбурові клітини;
НЧ – наночастинки;
ССК – стромальні стовбурові клітини;
ТЕМ – трансмісійна електронна мікроскопія;
ТПНЩ – травматичні переломи нижньої щелепи;
х.ч. – хімічно чистий;
ЦК – циркулюючі імунні комплекси;
ч.д.а. – чистий для аналізу;
AgNP – наночастинки срібла;
AuNP – наночастинки золота;
Ag/AuNP – комбінація наночастинок срібла і золота;
LD₅₀ – середня смертельна доза.