



УДК 541.18:551.114:615

Обогащенные монтмориллонит содержащие глины как перспективное сорбционно активное средство при лечении гнойных и воспалительных ран

Везенцев А.И., Покровский М.В., Шапошников А.А.,
Гевара Хуан Хосе, Круть У.А.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Поступила в редакцию 27.03.2015 г.

Приведены результаты определения оксидного состава обогащенной монтмориллонит содержащей глины месторождения «Нелидовка» Белгородской области. Определены размеры частиц, пор и удельной поверхности экспериментального сорбента. Исследовано влияние обогащенной сорбционно активной монтмориллонит содержащей глины на ранозаживление у лабораторных крыс линии Wistar.

Ключевые слова: сорбция, удельная поверхность, обогащение, монтмориллонит, гнойные раны, рентгенофлуоресцентный анализ.

Enriched containing montmorillonite clay as a promising sorption active agent in the treatment of purulent and inflammatory wounds

Vesentsev A.I., Pokrovskii M.V., Shaposhnikov A.A.,
Guevara Juan Jose, Krut U.A.

Belgorod State University, Belgorod

The purpose of the present study is to determine the impact of enriched montmorillonite clays on the wound healing process of septic wounds of laboratory rats. In order to achieve the main objective a previous analysis of the enriched montmorillonite clay from the region of Belgorod was made. The oxide and mineralogical compositions were determined via X-ray fluorescence analysis and a energy dispersive analysis; specific surface, specific volume and average pore size were determined via low-temperature nitrogen adsorption method and the particle size distribution was measured by grain size analysis. The impact of enriched montmorillonite clays on the efficiency of sorption of blood cells was determined by a morphological analysis of blood of the laboratory rats.

Keywords: sorption, specific surface area, enrichment, montmorillonite, septic wounds, X-ray fluorescence analysis

Введение

Сорбенты применяются в медицине в виде препаратов, которые способны к выведению из организма различных токсических веществ, отмерших клеток и патогенных микроорганизмов [1]. Гной на некротизированных участках раны, при недостатке своевременной терапии, может усугубить процесс ранозаживления [2].

Хирургическое вмешательство для очистки раны не всегда возможно, например, в военно-полевых условиях.

Представленная проблема побуждает исследователей к поиску альтернативных путей оптимизации лечебного процесса и разработки новых сорбционно активных препаратов дренирующего действия.

Перспективным сорбентом для удаления гноя (содержащего лейкоциты крови, а также фрагменты омертвевшей ткани) на некротизированных участках раны могут являться обогащенные монтмориллонит содержащие глины (ОМСГ). Особенностью монтмориллонита, как слоистого силиката структурного типа 2:1 с разбухающей кристаллической решеткой, является способность к сорбции органических и неорганических веществ [3]. Монтмориллонит содержащие глины сорбируют патогенные бактерии [4], что позволяет улучшить санацию раны и ускорить процесс ранозаживления [5].

Указанные монтмориллонитовые глинистые породы (бентониты) широко распространены на территории Белгородской области в палеогеновых отложениях. Бентониты приурочены к отложениям киевской свиты, сложенной (сверху вниз) глинами, мергелями и глинистыми алевритами, которые залегают на небольшой (0–15 м) глубине. Мощность отложений монтмориллонит содержащих глин достигает 25-30 м [6].

Целью представленного исследования является изучение сорбционных свойств ОМСГ. Для этого поставлены задачи: установление оксидного и минералогического составов ОМСГ; определение величины удельной поверхности, удельного объема и среднего размера пор ОМСГ; определение зависимости удельного объема пор от диаметра пор; определение среднего размера частиц ОМСГ и зависимости объемной доли частиц от их размера; выявление влияния ОМСГ на эффективность сорбции форменных элементов крови (лейкоциты, тромбоциты и эритроциты).

Эксперимент

Обогащение МСГ проводили методом отмучивания в дистиллированной воде. Химический (оксидный) и минералогический составы МСГ, месторождения «Нелидовка» Белгородской области, проводили с помощью рентгенофлуоресцентного анализа с использованием рентгеновской рабочей станции ARL 9900 series x-ray workstation с Co анодом, излучением $K_{\alpha 1}$, $U=60$ кВ, и методом энергодисперсионного анализа (ЭДА) с использованием анализатора EDAX, совмещенного с ионно-электронным микроскопом Quanta 200 3D. Измерение удельной поверхности и пористости ОМСГ проводили методом низкотемпературной адсорбции азота [7] с помощью анализатора удельной площади поверхности TriStar II 3020. Количество абсорбированного азота, приходящееся на 1 г твердого тела, зависит от равновесного давления P , температуры T , а также от природы газа и твердого тела.

Для измерения площади поверхности твердых материалов применяли метод БЭТ (Брюнера – Эммета – Теллера) [8]. Удельную поверхность рассчитывали из уравнения БЭТ (1, 2):

$$\frac{1}{\frac{P_0}{P} - 1} = \frac{1}{W_m \times C} + \frac{C - 1}{W_m \times C} \times \frac{P_0}{P}, \quad (1)$$

где P_0 – давление насыщения газа адсорбата; W – масса газа, адсорбированного при относительном давлении P/P_0 ; W_m – масса адсорбированного вещества, образующего покрывающий всю поверхность монослой; C – константа БЭТ, относящаяся к энергии адсорбции в первом адсорбированном слое, ее значение является показателем магнитуды взаимодействия адсорбент/адсорбат.

Средний размер частиц сферической формы определяли по следующей формуле:

$$D = \frac{6}{\rho \times S}, \quad (2)$$

где ρ – плотность, S – удельная поверхность.

Распределение частиц по размерам определено с помощью гранулометрического анализа на лазерном анализаторе дисперсного состава твердых материалов Microtrac S3500 (США). Очищенную от примесей, стерильную ОМСГ использовали для сорбции гноя, что позволило очистить некротизированные участки ран. Для этого лабораторные крысы были разделены на две группы: контрольная (I) и экспериментальная (II) (по 12 самцов линии Wistar). Животным моделировали гнойно-воспалительную рану в межлопаточной области патогенным штаммом *Pseudomonas aeruginosa*, в фиксированной заражающей дозе $2 \cdot 10^8$ микробных клеток, под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг и золетил 150 мг/кг внутривенно). Масса тела экспериментальных животных составляла 190-200 г.

Контрольной, группе крыс рану промывали водным 0.9 масс. % раствором хлорида натрия. Экспериментальной группе животных на рану накладывали повязку, содержащую 0.1 г МСГ.

Эффективность сорбции гноя на некротизированных участках ран оценивали по общему морфологическому анализу крови. Забор крови производился из хвостовой артерии крыс [9] в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, на 15 и 22 сутки после нанесения модельной раны. Исследования с участием лабораторных животных проводили в соответствии с международными стандартами GLP.

Обсуждение результатов

На основе полученных данных рентгенофлуоресцентного анализа, установлен оксидный состав (табл. 1) экспериментального сорбента. Установлено, что преобладающими оксидами являются оксиды кремния и алюминия (49.27 и 19.10 масс. % соответственно), содержание других элементов составляет 16.67 масс. %, а остальные 14.96 % - доля летучей части, т.е. п.п.п (потери при прокаливании). Представленный химический состав соответствует монтмориллонит содержащим глинам, на основе алюминиевого диоктаэдрического монтмориллонита с ионами щелочноземельных (Ca^{2+} , Mg^{2+}) либо щелочных (Na^+) металлов в межпакетных позициях.

Анализ рентгеновских порошковых дифрактограмм позволил установить, что исследуемый образец глины содержит монтмориллонита – 37.5-39.0 масс. %, кальцита – 17.5-19.0 масс. % и иллита – 16.5-17.5 масс. % и его можно классифицировать как монтмориллонит-иллитовую глину (табл. 2).

Представленная на рисунке изотерма адсорбции и десорбции азота имеет вид гистерезиса, характерного для слоистых силикатов. Данная изотерма указывает на неравномерное распределение пор по форме и размерам, и она характерна для адсорбции в мезопористых твердых телах. Отличительный признак такого вида изотермы – наличие петли гистерезиса. По классификации Де Бэра [10, 11] петля

гистерезиса для образца глины месторождения Нелидовка (рис.1) относится к типу А, т.е. низкотемпературная адсорбция азота происходит в порах щелевидной формы. Смыкание петли гистерезиса на изотерме десорбции при относительном давлении 0.15 свидетельствует о наличии микропор. Максимальное значение адсорбции составляет 42 см^3 газообразного азота, поглощенного одним граммом адсорбента.

Таблица 1. Оксидный химический состав экспериментального сорбента

Образец	Содержание оксидов, масс. %												Сумма
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	TiO ₂	K ₂ O	MnO	Na ₂ O	Cr ₂ O ₃	ZrO ₂	п.п.п.	
ОМСГ	49.27	19.10	5.83	3.19	5.93	0.62	0.81	0.01	0.25	0.015	0.014	14.96	100
Погрешность, %	0.25	0.20	0.13	0.10	0.13	0.03	0.05	0.001	0.015	0.001	0.0009	0.05	-

Таблица 2. Минералогический состав экспериментального сорбента

Минерал	Содержание, масс. %
Монтмориллонит	37.5-39.0
Каолинит	4.5-6.5
Иллит	16.5-17.5
Доломит	2.0-4.0
Кальцит	17.5-19.0
Кварц	17.0-19.5
Полевой шпат	0.5-1.5
Сумма	100.0

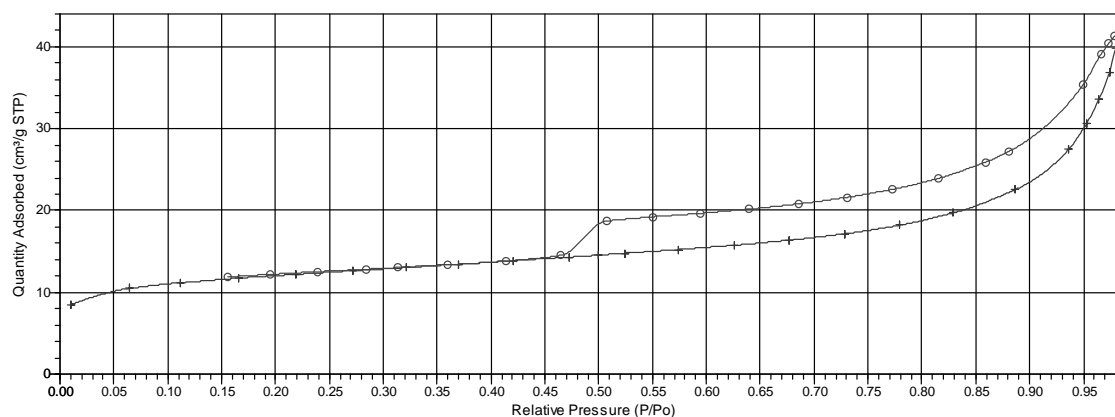


Рис. 1. Изотерма адсорбции и десорбции азота образца глины месторождения «Нелидовка» Белгородской области

Ось «X» - относительное давление P/P_0 , где P - измеряемое давление, P_0 - давление насыщения; ось «Y» - количество поглощенного газа одним граммом адсорбента ($\text{см}^3/\text{г}$).

Полученную изотерму можно разделить на 3 части: Начальная стадия (в интервале относительного давления от 0 до 0.45) обусловлена мономолекулярной адсорбцией и образованием тонкого слоя адсорбата на стенках пор.

Вторая стадия (при значении относительного давления в интервале 0.45–0.47 характеризуется началом капиллярной конденсации в наиболее тонких порах. По

мере возрастания давления заполняются все более широкие поры, пока при давлении насыщенного пара вся система не окажется заполненной конденсатом, что свидетельствует о полимолекулярной адсорбции.

В третьей стадии (в интервале относительного давления от 0.47 до 0.51) происходит резкое увеличение скорости сорбции азота. При этом объем адсорбированного азота увеличивается на 12 %.

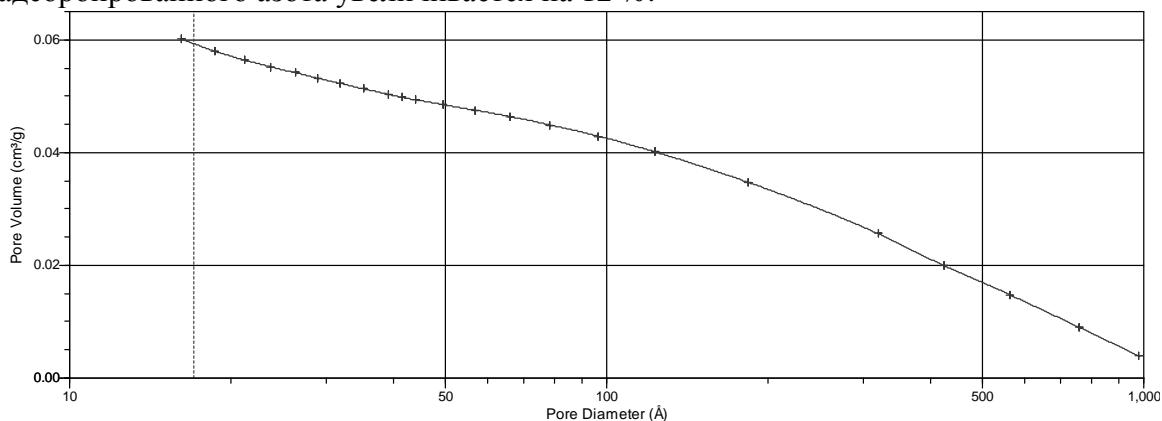


Рис. 2. Зависимость удельного объема пор от диаметра пор в образце глины месторождения Нелидовка по оси X-диаметр пор (Å), по оси Y – удельный объем пор (см³/г)

Исходя из рис. 2, установлено, что большинство (50-60 %) пор в образце глины месторождения Нелидовка имеют диаметр 40-50 Å.

При анализе полученных данных установлены следующие текстурные характеристики: удельная поверхность исследуемого образца по пятиточечному методу БЭТ равна 39.15 м²/г; удельный объем пор в образце при относительном давлении $P/P_0=0.98$ составляет 0.062 см³/г; средний размер пор в образце составляет 63.05 Å.

На рис. 3 приведены гистограммы распределения частиц по размеру анализируемой глины.

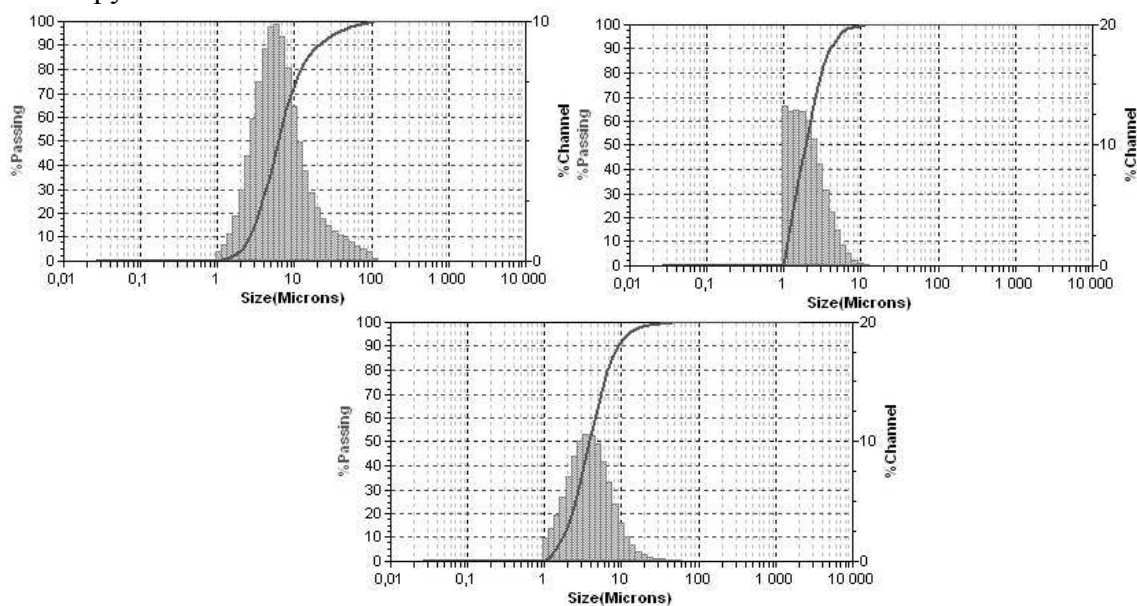


Рис. 3. Гистограммы распределения частиц по размеру: а) зависимость объемной доли частиц от их размера; б) зависимость степени пропускания лазерного луча от размера частиц; в) зависимость количества отражений лазерного луча от размера частиц

На представленных гистограммах распределения (рис. 3) наблюдается равномерное распределение частиц по размерам в диапазоне значений от 1 мкм до 100 мкм. Наибольшая доля частиц (60 – 100 %) имеет размер 2 – 15 мкм.

Ранее установлено, что МСГ не приносит вред живой системе, что позволяет использовать ее в процессе ранозаживления [12].

Эффективность ОМСГ при лечении гнойно-воспалительных ран отражена в изменении концентрации форменных элементов крови крыс, что является признанным информативным тестом, отражающим общее состояние животных, и позволяет судить об иммунологической реактивности организма.

Изучение состава форменных элементов красной крови животных показало, что уровень эритроцитов в крови крыс на 15 и 22 сутки после нанесения модельной раны находился в пределах физиологической нормы (табл. 3).

Таблица 3. Концентрация форменных элементов в крови крыс на 15 сутки после нанесения раны (n=3)

Условия опыта / Показатель	15 сутки		22 сутки	
	I группа	II группа	I группа	II группа
Эритроциты (10 ¹² /л)	7.30±0.37	7.80±0.15	7.70±0.37	7.20±0.45
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	144.00±1.40	116.00±2.40*	84.50±0.79	117.00±0.71***
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	15.60±0.63	13.00±0.55	17.60±0.40	13.10±0.55**

*достоверные отличия от соответствующих показателей у животных со стандартным лечением, * p<0.05; ** p≤0.01; *** p≤0.001.

Количество тромбоцитов в крови крыс II группы на 15 сутки эксперимента достоверно (p≤0.005) снижается на 19.4% по сравнению с контролем, что обуславливает снижение кровопотери.

Лейкоциты играют главную роль в специфической и неспецифической защите организма от внешних и внутренних патогенных агентов, а также в реализации типичных патологических процессов. Общее содержание количества лейкоцитов в крови крыс во II группе понизилось на 16.6 (15 сутки) и 23% (22 сутки) сравнительно с I группой. Данный аспект может свидетельствовать об эффективности сорбции гноя на некротизированных участках ран у крыс, раны которых были обработаны ОМСГ.

Заключение

Установлено, что исследуемая глина содержит монтмориллонит (37.5-39.0 масс. %), кальцит (17.5-19.0 масс. %) и иллит (16.5-17.5 масс. %) и ее можно классифицировать как монтмориллонит-иллитовую глину. Монтмориллонит представлен алюминиевой диоктаэдрической формой с ионами щелочноземельных (Ca²⁺, Mg²⁺) либо щелочных (Na⁺) металлов в межпакетных позициях.

Доказано, что образец ОМСГ имеет высокую адсорбционную емкость, максимальное значение которой составляет 42 см³ газообразного азота, поглощенного одним граммом адсорбента.

Определены текстурные характеристики ОМСГ: удельная поверхность - 39.15 м²/г, удельный объем пор – 0.062 см³/г, большая часть (50-60%) пор имеет размер 40-50 Å, и средний размер пор – 63.05 Å.

Установлено, что ОМСГ имеет равномерное распределение частиц по размерам в диапазоне 1-100 мкм и наибольшая часть (от 60 до 100%) частиц имеет размер 2-15 мкм;

Выявлено, что использование ОМСГ в качестве ранозаживляющего средства сдерживало развитие воспалительного процесса у подопытных животных в течение первых 15 суток после нанесения модельной раны. Полученные экспериментальные данные позволили зафиксировать снижение и прекращение кровопотерь, что свидетельствует о лучшем терапевтическом эффекте при использовании ОМСГ по сравнению с контролем и подтверждают, что ОМСГ сорбирует форменные элементы крови (лейкоциты, тромбоциты и эритроциты) на некротизированных участках ран.

Список литературы

1. Бурмистров В.А., Рачковская Л.Н., Любарский М.С. и др. // ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, ООО НТЦ «Вектор-Вита». [URL: http://www.vector-vita.narod.ru/documents/papers/2007_nano_64.htm](http://www.vector-vita.narod.ru/documents/papers/2007_nano_64.htm)
2. Патогенез раневого процесса и подходы к лечению гнойных ран [Электронный ресурс]. http://www.nedug.ru/library/гнойная_хирургия/патогенез-раневого-процесса-подходы-лечению#.Ud9WSKykOSo
3. Navjeet Kaur, Dharma Kishor // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research - Banasthali (Rajasthan), India, 2012. pp. 991-1015.
4. Буханов В.Д., Везенцев А.И., Пономарева Н.Ф. и др. // Научные ведомости Серия Естественные науки. 2011. Вып. 17. № 21. С. 57-63.
5. Касанов К.Н., Попов В.А., Успенская М.В. и др. // Научные ведомости Серия Естественные науки. 2011. Вып. 14. № 3. С. 168-173.
6. Везенцев А.И., Трубицин М.А., Ромашак А.А. // Горный журнал. 2004. № 1. С. 51-52.
7. Вячеславов А.С., Померанцева Е.А., Гудилин Е.А. Измерение площади поверхности и пористости методом капиллярной конденсации азота. Методические рекомендации. М. 2006. С. 5-9.
8. Хирш П., Хови А., Николсон Р., Пэшли Д., Уэлан М. Электронная микроскопия тонких кристаллов. М: Мир. 1968. 575с.
9. Ноздрачева А.Д. Большой практикум по физиологии животных. Академия. 2007. С. 544.
10. Товбин Ю.К. Молекулярная теория адсорбции в пористых телах. ФИЗМАТЛИТ. 2013. С. 22-28.
11. Грег С., Синг К. Адсорбция. Удельная поверхность. Пористость. 2-е изд. «Мир». 1984. С. 14-16.
12. Касанов К.Н., Попов В.А., Евсеев Р.А. и др. // Научные ведомости Серия Медицина. Фармация. Науки. 2013. Вып. 23. № 21. С. 188-196.

References

1. Burmistrov V.A., Rachkovskaya L.N., Lyubarskii M.S. et al., Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS, STC «Vektor Vita.» http://www.vector-vita.narod.ru/documents/papers/2007_nano_64.htm.
2. The pathogenesis of wound healing and approaches to the treatment of purulent wounds http://www.nedug.ru/library/гнойная_хирургия/патогенез-раневого-процесса-подходы-лечению#.Ud9WSKykOSo
3. Navjeet Kaur, Dharma Kishor, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research - Banasthali (Rajasthan), India, 2012, pp. 991-1015.

4. Buhanov V.D., Vezentsev A.I., Ponomarev N.F. et al., Scientific Gazette Series Science, 2011, Vol. 17, No 21, pp. 57-63.
5. Kasanov K.N., Popov V.A., Uspenskaya M.V. et al., Scientific Journal Science Series, 2011, Vol. 14, No 3, pp. 188-196.
6. Vezentsev A.I., Trubitsin M.A., Romaschak A.A., Mining Journal, 2004, No 1, pp. 51-52.
7. Vyacheslavov A.S., Pomerantseva E.A., Gudilin E.A., Measurement of surface area and porosity by capillary condensation of nitrogen, Guidelines. Moscow, 2006, pp. 5-9.
8. Hirsch P., Howie A., Nicholson R., Pashley D., Whelan M., Electron microscopy of thin crystals, M., Mir, 1968, 575 p.
9. Nozdracheva A.D., Large workshop in animal physiology, Academy. 2007, 544 p.
10. Tovbin J.K., Molecular theory of adsorption in porous bodies, FIZMATLIT, 2013, pp. 22-28.
11. Greg S., Singh K., Adsorption. Specific surface. Porosity, 2nd ed. «MIR», 1984, pp. 14-16.
12. Kasanov K.N., Popov V.A., Evseev R. et al., Scientific Journal Series Medicine. Pharmacy, 2013, Vol. 23, No 21, pp. 188-196.

Везенцев Александр Иванович – д.т.н., профессор, зав.кафедрой общей химии, «НИУ» БелГУ, Белгород

Покровский Михаил Владимирович – д.т.н., профессор, зав.кафедрой фармакологии, «НИУ» БелГУ, Белгород

Шапошников Андрей Александрович – д.б.н., профессор, зав.кафедрой биохимии, «НИУ» БелГУ, Белгород

Гевара Хуан Хосе – аспирант кафедры общей химии, «НИУ» БелГУ, Белгород

Круть Ульяна Александровна – аспирантка кафедры биохимии, «НИУ» БелГУ, Белгород

Vesentsev Alexander I. – Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of General Chemistry, «NIU» BelGU, Belgorod, e-mail vesentsev@bsu.edu.ru

Pokrovskii Mikhail V. – MD, Professor, Head of the Department of Pharmacology, «NIU» BelGU, Belgorod, e-mail pokrovskii@bsu.edu.ru

Shaposhnikov Andrei A. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biochemistry, «NIU» BelGU, Belgorod

Guevara Juan Jose – post-graduate student, department of general chemistry, «NIU» BelGU, Belgorod

Krut Uliana A. – post-graduate student, department of biochemistry, «NIU» BelGU, Belgorod