

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В РОГОВИЦЕ КРОЛИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИМБАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Свидко Е.Н., Демин Ю.А.

В работе приведено морфологическое обоснование целесообразности применения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови для компенсации лимбальной недостаточности. Доказано ускорение процессов репаративной регенерации переднего эпителия роговицы и восстановление его структуры за счет миграции и дифференцировки стволовых клеток, содержащихся во введенной пуповинной крови.

**Ключевые слова:** роговица, лимбальная недостаточность, криоконсервированные клетки кордовой крови.

Стаття надійшла 2.05.2013 р.

**MORPHOLOGICAL FEATURES OF REPARATIVE PROCESSES IN THE RABBIT CORNEA AT INJECTION OF CRYOPRESERVED NUCLEATED CELLS OF CORD BLOOD ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL LIMBAL DEFICIENCY**

Svidko K.M., Demin Yu.A.

The morphological substantiation of advisability for the use of cryopreserved nucleated cells of cord blood to compensate for the limbal deficiency is in article. The acceleration of the processes of reparative regeneration of the corneal epithelium and restoring of its structure due to the migration and differentiation of stem cells are proved.

**Key words:** cornea, limbal deficiency, cryopreserved cells of cord blood.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 616.31-002.3-001.4-085.03.1

С.Г. Сидорчук, Р.З. Огольовський, Ю.Б. Пастернак

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

**АНТИМІКРОБНИЙ ТА АНТИФУНГІЦИДНИЙ ПОТЕНЦІАЛ 3 % МАЗІ КОМПОЗИЦІЙНОЇ СУМІШІ ПОХІДНИХ Г-КРОТОНОЛАКТОНУ ТА ZN-КАРНОЗИНУ**

Метою роботи було встановлення в порівняльному аспекті величини антимікробної активності 3 % мазі композиційної суміші похідних  $\gamma$ -критонолактону та Zn-карнозину в умовах *in vitro*. Антимікробну та антифунгіцидну дії вивчали за допомогою методу дифузії у агар. Як тест-мікроорганізми були використані еталонні штами бактерій та грибів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* 6783, *Vacillus subtilis* ATCC 6633, *Candada albicans* ATCC 184.

Виявлено, що досліджувана мазь композиційної суміші володіє антимікробними та антифунгіцидними властивостями, у всіх тест-культурах зона затримки росту перевищувала 20 мм, що згідно з прийнятою шкалою, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до запропонованого фармакологічного засобу. Отримані дані при порівняльному дослідженні вказали, що за своєю активністю 3 % мазь композиційної суміші не поступає, а в багатьох випадках перевищує потенціал такого вітчизняного препарату, як мазі "Метилурацил з мірамистином", яка у даний час найчастіше застосовується у клінічній практиці для лікуванні інфікованих та асептичних ран м'яких тканин у ранніх термінах їх перебігу.

**Ключові слова:** антимікробна активність,  $\gamma$ -критонолактон, Zn-карнозин.

*Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького "Патофізіологічні механізми розвитку алергічних і запальних процесів на різних рівнях організації, особливості реактивності організму та їх фармакологічна корекція" (№ державної реєстрації 0106U012669).*

Мікробна контамінація здатна суттєво змінити перебіг ранового процесу. Поряд із механічним пошкодженням тканин, продукти бактеріальної життєдіяльності можуть значно розширити ділянку альтерації та внести специфіку в патогенезі первинних фаз загоєння [1,8].

Високий рівень бактеріальної забрудненості порушує метаболічні процеси та призводить до підвищення осмотичного тиску та ацидозу в тканинах, змінює мікроциркуляцію, що призводить до розвитку вторинних некротів [2,3,9]. Закономірно, що для мікробно інфікованих ран характерним є більш інтенсивний та довготривалий запальний процес, наявність великої кількості некротичних тканин. Це сповільнює перехід на наступної катаболічної фази та утруднює розвиток регенераційної грануляційної тканини. Некротичні тканини є своєрідним поживним середовищем для бактерій, їх наявність сприяє розмноженню патогенів та погіршує доступ до них протимікробних середників [3,13].

Вище сказане зумовило широке використання в лікуванні ран препаратів з антисептичними властивостями. Проте, формування стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів та зумовлена цим втрата їх фармакологічної ефективності, зумовлює пошук нових речовин і препаратів, здатних активно впливати на їх ріст та розвиток [6,7,10,12].

Сучасний погляд на проблему лікування гнійно-запальних процесів м'яких тканин передбачає комплексний вплив на всі ланки патологічного процесу. У даний час проводяться роботи по створенню принципово нових лікарських препаратів, які б суттєво підвищували ефективність лікування ран та забезпечували профілактику ранових ускладнень. Найбільший інтерес у вивченні процесу загоєння ран становить фаза запалення, бо саме вона значною мірою визначає перебіг та результати репаративного процесу. Враховуючи сучасні уявлення про роль вільнорадикального окиснення в патогенезі ранового процесу, видається природним використання антиоксидантних засобів для корекції дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантній системі, регуляції перебігу процесу запалення та відновлення ушкоджених структур за рахунок мембрано-стабілізуючої дії на рівні клітин і тканин. Їх застосування значно зменшує інтенсивність запалення, сприяє очищенню рани та швидкому формуванню продуктивних процесів [4,11,14,15].

Враховуючи сказане, цікавим для експериментального та клінічного дослідження буде комплексний препарат, який представляє собою композиційну суміш ефективного антибактеріального препарату та речовини, яка володіла б вираженими антиоксидантними і антигіпоксидними властивостями. Групою авторів було запропоновано нову композиційну суміш похідних  $\gamma$ -критонолактону, хелатних комплексів Zn-карнозину і суміш карбонових кислот (надалі – композиційна суміш), яка є принципово новою біологічно-активною хімічною

композицією, в основі якої лежать речовини природного походження, що мають низьку токсичність, високий рівень біотрансформації, не акумулюються в організмі, при цьому володіють широким спектром фармакологічної активності. У своїх дослідженнях було застосовувалося 3 % мазь вказаної композиційної суміші, а також додатково добавляли тримеканін, настоянку живокосту лікарського, софори японської, прополісу, вітамін Е, димексид, і емульгатор №1 у запатентованих відповідних співвідношеннях [5].

**Метою** роботи було встановлення в порівняльному аспекті величини антимікробної активності досліджуваної 3 % мазі композиційної суміші похідних  $\gamma$ -кетонолактону та Zn-карнозину в умовах *in vitro*.

**Матеріал та методи дослідження.** Антимікробну та антифунгіцидну дію 3 % гелю композиційної суміші за умов *in vitro* проводили методом дифузії у агар (метод "колодязів"). Як тест-мікроорганізми були використані еталонні штами бактерій та грибів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* 6783, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 184.

Посів мікроорганізмів проводили на такі поживні середовища: м'ясо-пептонний агар (для бактерій) та середовище Сабуро (для грибів). Стандартизація умов досліджень при розливі забезпечувалась товщиною пластинки середовища 5 мм. В пластинці стерильною скляною трубкою вирізались виїмки діаметром 5 мм, об'єм яких відповідно становив 0,1 мл.

Для посіву застосовували ододобові культури мікроорганізмів на рідкому середовищі, концентрація клітин за оптичним стандартом (McFarland) становила 100000 кл/мл. Після посіву в лунки вносили досліджувані препарати (наважка 50 мг) і культивували в термостаті при 37 °С. Облік результатів проводили через 24 год шляхом вимірювання діаметра зони затримки росту спеціальною лінійкою. Дослідження повторювали 6 разів і визначали середній діаметр зони затримки росту.

Як скринінг-препарат використовували мазь "Метилурацил з мірамістином".

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як вже зазначалося, однією із вимог до ранозагоювальних засобів, які застосовуються у другій та третій фазі ранового процесу є попередження вторинного інфікування, для чого препарат повинен володіти поміркованими антисептичними властивостями до широкого спектру мікрофлори.

Отримані дані антисептичної дії досліджуваної 3 % мазі композиційної суміші порівнювали з ефектом впливу обраного скринінг-препарату (мазі "Метилурацил з мірамістином"), який володіє схожими фармакологічними властивостями та широко використовується в практичній медицині для лікування ранового процесу м'яких тканин у другій та третій фазі перебігу представлено у таблиці 1.

Таблиця 1

**Антимікробна активність мазі КС та її порівнянні із скринінг-препаратом за умов *in vitro*, (M $\pm$ m, n=6)**

Препарат	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм					
	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Bac. subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
Мазь КС	23,17 $\pm$ 0,31*	20,00 $\pm$ 0,37*	19,00 $\pm$ 0,57*	23,17 $\pm$ 0,30*	25,33 $\pm$ 0,34*	20,17 $\pm$ 0,61*
Скринінг-препарат	19,67 $\pm$ 0,42	18,50 $\pm$ 0,56	10,5 $\pm$ 0,67	8,17 $\pm$ 0,40	14,00 $\pm$ 0,52	18,17 $\pm$ 0,48

Примітка. \* – статистично достовірний результат порівняння

Представлені дані вказують на те, що досліджувана мазь КС із гіпоосмотичними властивостями у всіх випадках володіла вираженими антимікробними та антифунгіцидними властивостями. Найбільші зони затримки росту мікроорганізмів виявлено у випадку досліду із штамом сінної палички (25,33 $\pm$ 0,34 мм).

Практично однакові результати спостерігаються при дослідженні із штамми золотистого стафілококу (23,17 $\pm$ 0,31 мм) та синьогнійної палички (23,17 $\pm$ 0,30 мм). Наступними за рейтингом та схожими за величиною були результати досліду із штамми дріжджоподібних грибків (20,17 $\pm$ 0,61 мм) та фекального ентерококу (20,00 $\pm$ 0,37 мм). Найбільш резистентними виявилися штами культури кишкової палички, у котрих величина затримки росту була найменшою та склала 19,00 $\pm$ 0,57 мм.

Якщо використати прийняту в мікробіології шкалу величини затримки росту мікроорганізмів при виявленні їх чутливості до антибіотиків шляхом дифузії в агарі з використанням стандартних дисків (де діаметр зони 10-12 мм характеризує резистентність до препарату, 12-17 мм вказує на помірну, а більші розміри свідчать про високу чутливість), то можна констатувати, що у даному складі при 3 % концентрації складових композиційної суміші, мазь володіє виразним антимікробним потенціалом.

Крім того, цей ефект статистично достовірно перевищує у всіх випадках дію сучасного та широко використаного у медичній практиці вітчизняного препарату із ідентичними властивостями та показами до застосування, як мазь "Метилурацил з мірамістином". Так, зона затримки росту культури *Staphylococcus aureus* була меншою на 15,11 % (p<0,05), *Enterococcus faecalis* – на 7,5% (p<0,05), *Escherichia coli* – 44,74 % (p<0,05), *Pseudomonas aeruginosa* – на 64,73 % (p<0,05), *Bacillus subtilis* – на 44,72 % (p<0,05), а *Candida albicans* – 9,92 % (p<0,05).

Отримані результати затримки росту практично усіх тест-культур, більшими за 20 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного фармакологічного засобу та про широкий спектр його дії. У порівняльному аспекті можна твердити, що мазь КС помітно переважає за антимікробним потенціалом такий скринінг-препарат, як мазь "Метилурацил з мірамістином", що також є за своєю дією комбінованим препаратом із вмістом катіонного антисептика із широким спектром дії на грампозитивні та грамнегативні штамми мікроорганізмів – мірамістину та скерованого за показами на другу та третю фазу ранового процесу.

## Висновки

1. Аналіз результатів свідчить, що досліджувана 3 % мазь композиційної суміші володіє антимікробними та антифунгіцидними властивостями, у всіх тест-культурах зона затримки росту перевищувала 20 мм, що згідно з прийнятою шкалою, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до запропонованого фармакологічного засобу.
2. Отримані дані при порівняльному дослідженні вказали, що за своєю активністю 3 % мазь композиційної суміші не поступається, а в багатьох випадках перевищує потенціал такого вітчизняного препарату, як мазі "Метилурацил з мірамистином", яка у даний час найчастіше застосовується у клінічній практиці для лікування інфікованих та асептичних ран м'яких тканин у ранніх термінах їх перебігу.

**Перспективи подальших досліджень.** Встановлений та підтверджений експериментальними дослідженнями саногенний ефект цієї композиційної суміші дозволяє рекомендувати розробку та експериментально-клінічне дослідження нових препаратів на її основі для лікування інфекційно-механічних пошкоджень м'яких тканин і інших схожих за патогенезом захворювань.

#### Література

1. Березняков А.В. Експериментальне дослідження репаративної активності мазі "Глітацид" на асептичні та інфіковані рани шкіри / А.В. Березняков, С.Б. Попов, О.А. Рубан // Український біофармацевтичний журнал – 2010. – №6 (11). – С. 42-44.
2. Галимзянов Ф.В. Лечение инфицированных ран и раневой инфекции. Учебное пособие. / Ф.В. Галимзянов // Екатеринбург: УГМА,- 2012. – 88 с.
3. Коньков Д.Г. Фармакотерапевтична ефективність мазей, що містять відборон, при експериментальних ранах: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд.мед.наук: спец.14.03.05 "Фармакологія"/ Д.Г.Коньков // – Одеса, 2009. – 20 с.
4. Огоновський Р.З. Пофазна швидкість загоснення експериментальної інфікованої рани на тлі адреналінового пошкодження міокарді та її корекції / Р.З. Огоновський, М.С. Регада, Ю. Б. Пастернак // Досягнення біології та медицини. – 2012.-№ 3.-С. 16-19.
5. Патент на корисну модель № 76971. Антимікробний, протизапальний, регенеруючий, знеболюючий засіб для терапії 2-3 фази ранового процесу, опіків, гнійно-запальних захворювань шкіри / С.Г. Сидорчук, І.М. Бобиляк, Р.М. Федін, І.В. Стубіцький, Р.З. Огоновський, Ю.Б. Пастернак; реєстрація - 25.01.2013.
6. Цыганенко А. Я. Этиология гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей и чувствительность к антибиотикам основных возбудителей / А.Я. Цыганенко, Е.В. Гирич, О.А. Головина // – 2008. – № 1. – С. 66–68.
7. Шалімов О.О. Сучасне медикаментозне лікування ран : відомча інструкція / О.О. Шалімов // – К., 2002. – 35 с.
8. Stojadinovic A. Development of a Bayesian model to estimate health care outcomes in the severely wounded / A. Stojadinovic, J. Eberhardt, T. S. Brown [et al.] // J. Multidiscip. Healthc. – 2010. – Vol. 6, № 3. – P. 125–135.
9. Hindhede A. A clinical case-series evaluation of a superabsorbent dressing on exuding wounds / A. Hindhede, F. Meuleneire // Journal of Wound Care. – 2012. – № 11. – P. 576-580.
10. Kieser D.C. Leading wound care technology : The ARANZ medical silhouette / D.C. Kieser, C. Hammond // Adv. Skin Wound Care. – 2011. – № 2. – P. 68–70.
11. Lees P. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and therapeutics of pradofloxacin in the dog and cat / P. Lees // Journal of Veterinary Pharmacological Therapy. – 2012. – № 12. – P. 111-116.
12. Poinern G.E. Nanoengineering a biocompatible inorganic scaffold for skin wound healing / G.E. Poinern, D. Fawcett, R.K. Brundavanam [et al.] // J. Biomed. Nanotechnol. – 2010. – Vol. 6, № 5. – P. 497–510.
13. Pastar I. Micro-RNAs: New Regulators of Wound Healing / I. Pastar, H. Ramirez, O. Stojadinovic [et al.] // Surgical Technology International. – 2011. – №12. – P. 51-60.
14. Thomson Ch. Yakult: a role in combating multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa? / Ch. Thomson, I. Hassan, K. Dunn // Journal of Wound Care. – 2012. – №11. – P. 568-569.
15. White R. Wound colonization and infection: the role of topical antimicrobials/ R. White, R. Cooper, A. Kingsley // British Journal Nursery. – 2011. – Vol. 10, № 9. – P. 563-578.

#### Реферати

##### АНТИМИКРОБНЫЙ И АНТИФУНГИЦИДНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ 3 % МАЗИ КОМПОЗИЦИОННОЙ СМЕСИ ПРОИЗВОДНЫХ Г-КРОТОНОЛАКТОНА И ZN -КАРНОЗИНА

Сидорчук С.Г., Огоновський Р.З., Пастернак Ю.Б.

Целью работы было установление в сравнительном аспекте величины антимикробной активности 3 % мази композиционной смеси производных  $\gamma$ -кроднолактона и Zn -карнозина в условиях *in vitro*. Антимикробное и антифунгицидное действия изучали с помощью метода диффузии в агаре. Как тестовые микроорганизмы были использованы эталонные штаммы бактерий и грибов : Staphylococcus aureus ATCC 25923, Esherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Enterococcus faecalis 6783, Bacillus subtilis ATCC 6633, Candada albicans ATCC 184.

Выявлено, что исследуемая мазь композиционной смеси владеет антимикробными и антифунгицидными свойствами, во всех тестовых культурах зона задержки роста превышала 20 мм, что согласно принятой шкале, свидетельствует о высокой чувствительности микроорганизмов к предложенному фармакологическому средству. Полученные данные при сравнительном исследовании указали, что за своей активностью 3 % мазь композиционной смеси не уступал, а во многих случаях превышает потенциал такого отечественного препарата, как мазі "Метилурацил с мірамистином", которая в данное время чаще всего применяются в клинической практике для лечения инфицированных и асептических ран мягких тканей в ранних сроках их течения.

**Ключевые слова:** антимикробная активность,  $\gamma$ -кроднолактон, Zn -карнозин.

Стаття надійшла 12.04.2013 р.

##### ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGAL POTENTIAL OF 3% OINTMENT COMPOSITION MIXTURE OF THE $\gamma$ -CROTONOLACTONA AND ZN-CARNOSINE

Sydorchuk S.G., Ogonovsky R.Z., Pasternak Yu.B.

The aim was to establish a comparative value aspect of antimicrobial activity of 3% ointment composition mixture derivatives of  $\gamma$ -crotonolactona and Zn-carnosine conditions *in vitro*. The antimicrobial and fungicidal action was studied by the method of diffusion in agar. As test microorganisms were used reference strains of bacteria and fungi: Staphylococcus aureus ATCC 25923, Esherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Enterococcus faecalis 6783, Bacillus subtilis ATCC 6633, Candada albicans ATCC 184.

It was revealed that the tested ointment composition mixture has antimicrobial and antifungal properties, at all test cultures zone growth delay exceeded 20 mm, according to the adopted scale indicates a high sensitivity of microorganisms to the proposed pharmacological means. Obtained are given in the comparative study indicated that the activity of its 3% ointment composition mixture did not concede, and in many cases exceeds the capacity of the domestic preparation, as an ointment "Metiluratsil with miramistin", which is currently the most commonly used in clinical practice for the treatment of infected and aseptic wounds of the soft tissues in the early stages of their course.

**Key words:** antimicrobial activity,  $\gamma$ -crotonolacton, Zn-carnosine.

Рецензент Лобань Г.А.