Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

# міністерство охорони здоров’я України

# одеський державний медичний університет

##### Салдан Вікторія Йосипівна

### УДК 615.32+615.45/:617.713-002:612.085.1

**ФАРМАКОЛОГіЧнЕ дослідження Спільного застосування ГУМіНАТу і СУЛЬФАЦИЛу НАТРію ПРИ ЗАхворюВАНнЯХ**

**РОГівки**

14.03.05 - фармакологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

ОДЕСА – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор **Сотнікова Олена Петрівна**, Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, м. Одеса, завідувач лабораторії фармакології і тканинної терапії

**Офіційні опоненти:** докторбіологічних наук, професор **Філіпова Тетяна Олегівна,** Одеський національний університет ім.

І.І. Мечнікова МОН України, м. Одеса, професор кафедри мікробіології

доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **Бобирьов Віктор Миколайович,** Вищий державний навчальний заклад України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України, м. Полтава, завідувач кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією

Захист відбудеться “\_\_19\_\_” \_\_листопада\_\_\_ 2008 р. о \_\_13\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 Одеського державного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного медичного університету МОЗ України: (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий “\_16\_” \_\_жовтня\_\_\_\_\_\_\_ 2008 року.

## Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

д. мед. н., доцент В. В. Годован

#### Загальна характеристика роботи

**Актуальність теми.** В останні роки відмічено зростання запальних захворювань кон’юнктиви і рогівки ока. За даними ВООЗ, вони є серед трьох основних причин сліпоти і складають 36,6 % серед захворювань зовнішніх оболонок ока. Понад 70 % пацієнтів з кератитами і виразками рогівки – люди працездатного віку [Анина Е. И. и др., 2002; Майчук Ю. Ф., 2002-2006]. В Україні запальні захворювання рогівки у 3,2–5,0 % випадків є причиною первинної інвалідності [Крыжановская Т. В., 2004, 2007].

У структурі очної інфекції значне місце займають бактеріальні кератити, які складають 12,9 %серед всієї патології рогівки [Майчук Ю. Ф., 2000; Бездетко П. А. и др., 2004]. Серед інших факторів важливе значення придається травматичним ушкодженням рогівки, що викликані мікротравмами, опіками, хірургічними втручаннями, тощо [Бездетко Н. В., 2003; Петруня А. М., 2007]. У 30,2 % випадків бактеріальна інфекція приєднується вторинно і ускладнює перебіг вірусних і дистрофічних процесів у рогівці [Бездетко П. А., 2005; Дрожжина Г. И., 2006].

Терапія кератитів залишається складною задачею, незважаючи на великий арсенал існуючих лікарських засобів і методів лікування. Використання при поразках рогівки антимікробних, противірусних препаратів, антибіотиків, кортикостероїдів має численні побічні явища, частина з яких призводить до пригнічення репаративних процесів рогівки, що значно ускладнює перебіг захворювання [Ватченко А. А. и др., 2002; Майчук Ю. Ф., 2003; Егоров Е. А. и др., 2005; Дрожжина Г. И. и др., 2006].

В офтальмології для лікування багатьох уражень рогівки широко застосовується антимікробний препарат групи сульфаніламідів – сульфацил натрію, але він надає гальмуючий вплив на регенерацію рогівки. До недоліків препарату треба віднести обмежений спектр антимікробної дії, а також подразнення тканин ока [Морозов В. И., Яковлєв А. А., 2001; Майчук Ю. Ф., 2001; Малов В. М. и др., 2003; Егоров Е. А. и др., 2005].

Тому пошук нових ефективних і безпечних засобів лікування кератитів, які б мали комплексну дію на патогенез запального процесу, тобто поряд з протимікробною дією надавали біорегулюючий вплив на трофіку ока, та прискорювали регенерацію рогівки, є актуальною проблемою офтальмофармакології [Георгиевский В. П. и др., 2000; Трохимчук В.В., Голуб А. Г., 2000; Сотникова Е. П., 2007].

Ці властивості має оригінальний вітчизняний лікарський засіб з торфу – гумінат, отриманий в лабораторії фармакології і тканинної терапії Інституту очних хвороб і тканинної терапії (ІОХіТТ) ім. В. П. Філатова. Як представник групи метаболітних препаратів, завдяки наявності в хімічному складі натрієвої солі гумінових кислот, амінокислот, мікроелементів, гумінат має широкий спектр фармакологічної активності: антиоксидантна, антитоксична, протизапальна, мембраностабілізуюча, ранозагоювальна дії [Sotnikova H. P. et al., 1996-2000; Думброва Н. Е. и др., 2000; Лотош Т. Д. и др., 2001-2007; Сотникова Е. П. и др., 2005-2007].

Нами запропоновано комплексне сполучення сульфацилу натрію та гумінату у вигляді 20 % розчину сульфацил-гумінату (очні краплі) [Патент України 64624 А, 16.02.2004. Бюл. № 2]. Передумовою для розробки комбінованої лікарської форми слугували наступні моменти: протизапальні властивості гумінату, його здатність активувати процеси регенерації, оптимізація фармакологічного ефекту при сумісному застосуванні зі специфічними лікарськими засобами, наявність стандартизованої натуральної субстанції (ТУУ 24.4-02012094-002-2001), яка містить комплекси різноманітних БАР, що дозволяє розробити технологію отримання багатьох лікарських форм, зокрема очних крапель.

Наступне дослідження присвячено вивченню фармакологічних властивостей та лікувальної дії 20 % сульфацил-гумінату у порівнянні з референс-препаратом - 20 % сульфацилом натрію при захворюваннях рогівки.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана в рамках НДР АМН України лабораторії фармакології і тканинної терапії ІОХіТТ ім. В. П. Філатова АМН України за темою: “Розробити новий лікарський препарат на основі гумінату для офтальмологічної практики” (№ державної реєстрації - 0199U001088). Дисертант є співвиконавцем даної НДР.

**Мета роботи та задачі дослідження.** Мета роботи - встановити фармакологічну ефективність спільного застосування гумінату і сульфацилу натрію при травматичних та бактеріальних ураженнях рогівки ока.

Для досягнення поставленої мети вирішувались наступні *задачі*:

1. Вивчити цитотоксичну дію сульфацил-гумінату на культурі клітин RH у порівнянні із складовими інгредієнтами.

2. З’ясувати антимікробну активність сульфацил-гумінату на стандартних тест-штамах мікроорганізмів.

3. Вивчити офтальмонешкідливість 20 % сульфацил-гумінату.

4. Вивчити фармакотерапевтичну ефективність 20 % сульфацил-гумінату при лікуванні травматичних пошкоджень рогівки кролів (ерозія, травма).

5. Вивчити протизапальні і регенераторні властивості 20 % сульфацил-гумінату при моделюванні бактеріального кератиту у кролів.

6. Вивчити вплив сульфацил-гумінату на активність лізосомальних ферментів, трипсиноподібних протеїназ, ЛДГ, амінотрансфераз в плазмі крові та рогівці кролів за умов бактеріального кератиту.

7. Провести гістоморфологічне дослідження наслідків бактеріального кератиту при застосуванні сульфацил-гумінату.

*Об’єкт дослідження:* експериментальна фармакотерапія травматичних та бактеріальних уражень рогівки ока.

*Предмет дослідження:*визначення фармакологічної ефективності 20 % сульфацил-гумінату при моделюванні ерозії рогівки ока, травматичного і бактеріального кератитів у кролів.

*Методи дослідження:*фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, мікробіологічні, гістоморфологічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше здійснено вивчення 20 % сульфацил-гумінату та його складових частин на культурі клітин та встановлено протекторні властивості у порівнянні з сульфацилом натрію. Встановлено, що гумінат сприяє збереженню фізіологічної активності клітин, підвищує їх мітотичну активність без утворення патологічних форм мітозів.

Вперше показано виразну антимікробну дію сульфацил-гумінату по відношенню до ряду еталонних штамів мікроорганізмів.

Вперше доказано практичну нешкідливість та безпечність застосування сульфацил-гумінату за даними біомікроскопії, гістоморфології тканин ока, показників загального стану тварин і периферичної крові. При моделюванні ерозії рогівки ока, травматичного та бактеріального кератитів у кролів вперше встановлено, що застосування 20 % розчину сульфацил-гумінату виявляє виразну протизапальну та регенераторну дію, що проявлялося у швидкому зникненні клінічних ознак запалення, прискоренні процесів регенерації рогівки та скороченні терміну лікування на 1,5-2,5 доби у порівнянні з референс-препаратом.

Біохімічні дослідження показали нормалізуючу дію 20 % сульфацил-гумінату на активність ряду ферментів (трансаміназ, трипсиноподібних протеїназ, лізосомальних гідролаз, окислювально-відновлювальних ферментів) при бактеріальному кератиті, що має суттєве значення для терапії захворювань рогівки ока. Отримані дані про виражену антимікробну дію, протизапальні та регенераторні властивості 20 % сульфацил-гумінату є експериментальним обґрунтуванням його клінічної апробації в практичній офтальмології при лікуванні травматичних та бактеріальних кератитів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Зіставлення антимікробних властивостей сульфацил-гумінату та сульфацилу натрію свідчить про більшу ефективність першого, що є підставою для розширення показань до його застосування.

Отримані експериментальні дані є обґрунтуванням доцільності застосування 20 % сульфацил-гумінату в офтальмологічній практиці при лікуванні травматичних та бактеріальних захворювань переднього відділу ока.

Розроблено і запропоновано для клінічного застосування нову очну лікарську форму – очні краплі 20 % сульфацил-гумінату [Патент України на винахід № 64624 А „Очні краплі” від 16.02.04.].

Перспективним є впровадження 20 % сульфацил-гумінату в якості нових очних крапель в промислове виробництво для розширення асортименту вітчизняних протизапальних офтальмопрепаратів з антимікробними і регенераторними властивостями.

Результати роботи щодо виявлення фармакологічних властивостей сульфацил-гумінату впроваджені в учбові процеси та практичні заняття наступних кафедр: мікробіології і вірусології Одеського національного університету ім. І. І. Мечнікова, експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією алергології ВДНЗ України „Українська медична стоматологічна академія”, біохімії та очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно були здійснені патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури за темою дисертації. Визначена мета і задачі дослідження, методичні підходи, опрацьовані моделі, за якими виконані експериментальні дослідження. Здійснено статистичну обробку отриманих результатів і оформлення їх у вигляді таблиць та графіків, аналіз і узагальнення результатів, сформульовано висновки, опубліковані основні матеріали дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали та основні положення дисертаційної роботи висвітлені у доповідях та обговорювалися на міжнародній науково-практичній конференції „Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антисептиків, антибіотиків” (Вінниця, 2002); науково-практичній конференції з міжнародною участю „Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині” (Одеса, 2003); 12 Міжнародному Торф’яному Конгресі „Wise Use of Peatlands” (Taмпере, Фінляндія, 2004), IV Український науково-практичній конференції „Актуальные вопросы фармакологии” (Вінниця, 2004); XII Російському Національному Конгресі „Человек и лекарство” (Москва, 2005); VI Національному з’їзді фармацевтів України (Харків, 2005); Українсько-Польській конференції “Choroby rogowki, twardowki i powierzchni oka” (Люблін, 2006), Міжнародній науковій конференції “Мікробні біотехнології” (Одеса, 2006); III Національному з’їзді фармакологів України (Одеса, 2006), науково-практичній конференції з міжнародною участю „Актуальні питання фармакології” (Вінниця, 2007).

**Публікації.** За темою дисертаціїопубліковано 22 наукових роботи, з яких 6 статей у наукових журналах, рекомендованих ВАК України, 1 патент України, 15 тез доповідей на наукових форумах різних рівнів.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 176 сторінках комп’ютерного тексту, складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу і узагальненню результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел із 361 найменувань (286 вітчизняних і країн СНД та 75 іноземних), 4 додатків. Робота ілюстрована 24 таблицями і 41рисунком.

## основний зміст роботи

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проводили в лабораторії фармакології і тканинної терапії ІОХіТТ ім. В. П. Філатова АМН України, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 31 від 2006 р.) у повній відповідності з вимогами Комісії з біоетики ІОХіТТ (протокол № 8 від 7.11.2006 р.) та Методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України (Київ, 2003).

Роботу виконано в дослідах in vitro на моделі культури клітин і стандартних тест-штамах мікроорганізмів, а також in vivo в умовах гострого і хронічного експериментів на 137 кролях породи Шиншила, масою 1,8-2,2 кг, 14 морських свинках, масою 280-300 г, вирощених у розпліднику віварію ІОХіТТ. Всі тварини обох статей були статевозрілі, пройшли карантин і утримувалися на стандартному раціоні віварію за встановленими нормами.

Нами розроблено препарат гумінат у двох стандартних формах: порошок і розчин натрієвої солі гумінових кислот торфу (ТУ У 24.4-02012094-002-2001). Для проведення досліджень за лабораторним регламентом із сертифікованого торфу Івано-Франківського родовища (ТУ У 24.1-0549158-001-2001) були виготовлені: 0,1 % і 1 % розчини гумінату, 10 % та 20 % розчини сульфацил-гумінату. Останній містить n-параамінобензол-сульфацетамід натрію і натрієві солі гумінових кислот торфу, амінокислоти, мікроелементи (Патент України № 64624 А від 16.02.04. р. „Очні краплі”). В якості референтного препарату використовували очні краплі – 10 % і 20 % сульфацилу натрію (ВАТ «Фармак», Україна).

Визначення цитотоксичності дослідних розчинів проводили (in vitro) на культурі перещеплюваних клітин нирок ембріону людини RH. Облік результатів здійснювали через 24, 48, 72, 144, 168 год. експозиції шляхом візуальної оцінки цілісності моношару. Ступінь дегенерації моношару клітин оцінювали за 4-х плюсовою системою, через 168 годин підраховували кількість життєздатних клітин (нежиттєздатні забарвлювались у синій колір після фарбування 0,01 % трипановим синім) [Єлизарова О. Н., Рязанова Р. А., 1982; Toth G. M., 1974]. Вплив розчинів на мітотичну активність клітин та частоту патологічних мітозів вивчали на цитопрепаратах культури клітин, зафіксованих і пофарбованих за методом Романовського-Гімза [Голубев Д. Б., 1976; Desai I. S. et al., 1974; Wart H. E., 1990], відповідно до Методрекомендацій (1998).

Антимікробну активність визначали методом дифузії в агарi на стандартному поживному середовищі АГВ з використанням еталонних тест-штамів мікроорганізмів (НДКІ ім. Л. А. Тарасевича): Staphylococcus aureus АТСС 25923 F-49; Pseudomonas aeruginosa АТСС 27853 F-51; Bacillus subtilis АТСС 6633; Escherichia coli АТСС 25922. Чутливість мікроорганізмів до розчинів оцінювали за величиною діаметра зони затримки росту: до 15 мм - малочутливі, до 25 мм - чутливі, більш 25 мм - високочутливі [Биргер М. О., 1998; ДФУ 1, 2001].

Вивчення офтальмонешкідливості очних лікарських форм проводилося згідно з Методрекомендаціями ДФЦ МОЗ України (2003). Виявлення місцевої алергізації (кон’юнктивальна проба) 20 % сульфацил-гумінату і 0,1 % гумінату проводили на двох групах морських свинок (по 7 тварин). Розчини інстилювали в праве око (дослід), в ліве око (контроль) – 0,9 % розчин хлориду натрію. Оцінку проводили за трьохбальною шкалою: 1 бал – легке почервоніння слізного протоку; 2 – почервоніння слізного протоку і склери в напрямку до рогівки; 3 – почервоніння всієї кон’юнктиви і склери. Реакцію на препарат визначали через 15 хв (негайна) і через 24-48 годин (гіперчутливість уповільненого типу). Контрольна перевірка офтальмосприйнятності і місцево-подразнюючої дії проводилась на 14 кролях: 0,1 % гумінат і 20 % сульфацил-гумінат інстилювали шість разів на день на протязі 7 днів (підгостра офтальмотоксичність), згідно попередній схемі.

Другий етап вивчення нешкідливості 20 % сульфацил-гумінату включав 14-денні інстиляції (субхронічна офтальмотоксичність) і 30-денне застосування їх (хронічна офтальмотоксичність). Дослідження проводили на 33 кролях (66 очей), розподілених на 3 групи: 1 група – 20 % сульфаціл-гумінат, 2 - 0,1 % гумінат, яким на протязі 4-х тижнів, тричі на день препарати інстилювали в обидва ока, 3-тя група – інтактні кролі. До початку досліду, через 2 і 4 тижня проводили зовнішній огляд, біомікроскопію, флуоресцеїнові проби, офтальмоскопію, визначали вміст в периферичній крові еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну, підраховували лейкоцитарну формулу. Біохімічні показники крові - глюкозу, сечовину, загальний білок визначали за загальноприйнятими стандартними методиками [Меньшиков В. В., 1987; Горячковский А. М. , 1998]. На 14-й день виводили з експерименту по 3 кроля з кожної групи методом повітряної емболії під тіопенталовим наркозом для гістоморфологічних досліджень тканин рогівки і кон’юнктиви. Гістопрепарати забарвлювали гематоксиліном і еозином[Архангельский В. Н., 1960; Лили Р., 1969]. За рештою кролів спостерігали протягом місяця.

*Лікувальну ефективність 20 % сульфацил-гуминату вивчали при моделюванні у кроликів ерозії рогівки, травматичного і бактеріального кератитів [Чайка Л. А. и др., 2003].*

Поверхнева ерозія рогівки виконувалась на обох очах 20 кролів після місцевої анестезії 0,5 % розчином дикаїну. В центральній частині рогівки трепаном діаметром 6 мм наносили неглибоку насічку, в межах якої скальпелем з поверхні рогівки знімали епітелій. Тварини були розподілені на 4 групи (по 5 в кожній), яким тричі на день інстилювали: 1- група - 0,1 % гумінат; 2 – 20 % сульфацил-гумінат; 3 – 20 % сульфацил натрію; 4 – 0,9 % розчин хлориду натрію (контрольна патологія).

Травматичний кератит моделювали на 18 кролях (36 очей). По центру зони поверхневої ерозії скальпелем призводили горизонтальний розріз і в його межах розшаровували поверхневі шари рогівки. Тварини були розподілені на три групи: 1 група - інстиляції 20 % сульфацил-гумінату, 2 – 20 % сульфацилу натрію, 3 – 0,9 % розчин хлориду натрію (контрольна патологія).

Бактеріальний кератит моделювали у 31 кролика (62 ока). Спочатку відтворювали травматичний кератит, після чого в очі тричі інстилювали по 0,5 мл двох млрдн. зависі патогенної добової бульйонної культури золотистого стафілокока, з інтервалом в 1 годину. Через добу у кролів з’являлися клінічні ознаки гнійного кератиту. Тварини були розподілені на 3 групи: перша група (11 кролів) – отримувала 20 % сульфацил-гумінат; друга (10) – 20 % сульфацил натрію; третя (10) – 0,9 % розчин хлориду натрію (контрольна патологія). Всім кролям щоденно закапували 1 % розчин атропіну сульфату. Контрольну групу без патології склали сім інтактних кролів. Інстиляції проводили в обидва ока тричі на день на протязі двох тижнів.

*Клінічний перебіг модельованих уражень рогівки оцінювали за результатами мікробіологічних досліджень виділень з ока,* *біомікроскопії, характеру запального процесу (за шкалою Дрейза), фотореєстрації. Враховували початок і кінець епітелізації рогівки, розсмоктування інфільтрату, стихання запальної реакції ока, наявність ускладнень, наслідки захворювання і віддалені результати через місяць [Осташевский В. Л., 1982; Чайка Л. А. и др., 2003; Дрожжина Г. И., 2006].*

Біохімічні дослідження проведено на 21 кролі при моделюванні бактеріального кератиту. Визначали вихідний рівень активності ферментів та на 3, 7, 14 день експерименту в плазмі крові за загальноприйнятими методами: кислу фосфатазу(КФ) **-** Дингл, 1980;катепсин Е (КЕ) – Меньшиков В. В., 1987; Barret, 1972; аспартат-амінотрансферазу(АсАТ) і аланін-амінотрансферазу (АлАТ) - Меньшиков В. В., 1987; трипсиноподібні протеїнази (ТП) – Чеснокова Н. Б., 1995; лактатдегідрогеназу (ЛДГ) **-** Bergmeyer, 1970.

На 14-й день з експерименту виводили по 7 кролів з кожної групи для біохімічних та гістоморфологічних досліджень рогівки ока. Для оцінки стану мембран лізосом визначали неседиментуючу і седиментуючу активність кислої фосфатази і катепсину Е [Покровский А. А., 1976; Дингл, 1980].

Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричної і непараметричної статистики за допомогою програми Statistica 5.5.

**Результати досліджень.** Прививченні цитотоксичності встановлено, що гумінат не виявляє токсичної дії на культуру клітин RH і сприяє збереженню фізіологічної активності клітин та структури моношару. Через 24-48 год. експозиції 10 % та 20 % сульфацил-гумінат не викликав морфологічних змін клітин моношару, на відміну від 20 % сульфацилу натрію, токсична дія якого проявлялася у загибелі більше 50 % клітин вже через 48 год. Отримані дані показали, що гумінат в поєднанні з сульфацилом натрію знижує токсичну дію останнього для клітин моношару.

Гумінат сприяв стимуляції мітотичної активності клітин RH (рис. 1).

|  |  |
| --- | --- |
|  | К – контроль;  1 – 0,1 % гумінат;  2 – 1 % гумінат;  3 – 10 % сульфацил-гумінат;  4 – 20 % сульфацил-гумінат;  5 – 10 % сульфацил натрію;  6 – 20 % сульфацил натрію. |

Рис. 1. Вплив досліджуваних розчинів на мітотичну активність культури клітин RН

\* – вірогідно відносно контролю (р<0,05);

\*\* – вірогідно відносно контролю (р<0,001).

Так, мітотичний індекс під впливом 0,1 % розчину дорівнював 3,95 %, а при дії 1 % розчину - 3,56 %, що практично відповідало контрольним значенням. При порівнянні із сульфацилом натрію - мітотична активність 10 % і 20 % сульфацил-гумінату складала 2,65 % - 2,26 %, відповідно, що у 1,5-2 рази перевищувало активність референс-препарату.

0,1 % і 1 % розчини гумінату зменшували кількість К-мітозів порівняно з контролем, дорівнюючи 1,25 % і 1,38 %, відповідно (в контролі - 4,05 %). Під впливом 10 % і 20 % сульфацил-гумінату кількість К-мітозів становила 10,13 % і 13,4 %, відповідно, що в 4-6 разів було меншим у порівнянні з сульфацилом натрію (46,15 % і 60,68 %, відповідно). При дії 0,1 % та 1 % гумінату кількість симпластів (багатоядерних клітин) зменшувалася до 0,025 % та 0,05 %, відповідно. Вплив сульфацил-гумінату на структуру клітин був майже у два рази менш виражений (0,15 % для обох концентрацій), ніж у сульфацилу натрію - кількість симпластів дорівнювала 0,2 % - 0,32 %, відповідно.

Оцінка антимікробної активності показала, що референс-штам P. aeruginosa ATCC 27853 F-51 виявив високу чутливість до обох концентрацій сульфацил-гумінату. Діаметр зони затримки росту (з.з.р) при дії 20 % сульфацил-гумінату становив (31,4±0,8 мм), тобто був більшим на 2,3 мм (р<0,05) відносно 20 % сульфацилу натрію (29,1±0,8 мм) і на 3,5 мм (р1<0,01) перевищував показник 10 % сульфацил-гумінату (27,9±0,9 мм).

Виявлено високу чутливість референс-штаму S. aureus АТСС 25923 F-49 до обох концентрацій дослідних розчинів. При дії 20 % сульфацил-гумінату діаметр з.з.р. дорівнював (32,5±0,9 мм), що перевищувало активність 20 % сульфацилу натрію (30,1±0,8 мм) на 2,4 мм (р<0,05). При порівнянні антимікробної дії 20 % концентрації сульфацил-гумінату та 10 % (28,6±0,8 мм), активність 20 % сульфацил-гумінату на 3,9 мм перевищувала показники 10 % концентрації (р1<0,01).

Відносно типового штаму E.coli АТСС 25922 10 % розчини сульфацил-гумінату та сульфацилу натрію проявляли меньшу антимікробну активність. Так, діаметр з.з.р. для кожного з них складав (21,0±1,0 мм) та (22,8±1,2 мм), відповідно. При цьому 20 % розчин сульфацил-гумінату за цим показником був більш активніший за 20 % сульфацил натрію, з.з.р. дорівнювали (25,6±1,5 мм) та (23,6±1,4 мм), відповідно. При порівнянні з.з.р. 10 % (21,0±1,0 мм) і 20 % сульфацил-гумінату (25,6±1,5 мм), встановлено, що показник останнього був вищим на 4,6 мм.

Тест-штам Bacillus subtilis АТСС 6633 не виявив чутливості до обох концентрацій сульфацил-гумінату та сульфацилу натрію.

Отримані дані виразної антимікробної дії 20% сульфацил-гумінату дозволили відібрати його для подальшого доклінічного дослідження при моделюванні запальних захворювань рогівки ока.

Дослідження офтальмотоксичності 0,1 % гумінату і 20 % сульфацил-гумінату показало практичну нешкідливість та безпечність застосування: розчини добре переносяться тканинами ока, не викликають алергізуючої і місцевоподразнюючої дії. Гістоморфологічні дослідження показали відсутність деструктивних змін в тканинах рогівки і кон’юнктиви.

При лікуванні ерозії рогівки у кролів було встановлено, що 20% сульфацил-гумінат і 0,1 % гумінат позитивно впливають на запальний процес, стимулюють проліферацію епітелія рогівки, прискорюючи загоєння її дефекту: ознаки інфільтрації рогівки зникали вже на 2-й день, а повна епітелізація поверхневої ерозії рогівки відбувалася на 4 і 5 день, відповідно, одночасно зникав і набряк рогівки. При цьому рогівка була прозорою і гладкою, її поверхня не фарбувалася флюоресцеіном.

При застосуванні сульфацилу натрію ознаки інфільтрації рогівки зникали на 4-ту добу, епітелізація відбувалася на 6-ту добу. Проте, незначний набряк і гіперемія кон’юнктиви спостерігались до 7-ми діб, нарівні з контрольною патологією. Таким чином, 20 % сульфацил-гумінат і 0,1 % гумінат мають регенераторні властивості: епітелізація ерозії рогівки наступає на 2-2,5 (р<0,05) доби швидше, ніж в контролі.

При моделюванні травматичного кератиту у всіх кролів в перші 2 дні дослідження проявлявся рогівковий синдром: блефароспазм, сльозотеча, гіперемія кон’юнктиви очного яблука. При лікуванні 20 % сульфацил-гумінатом на 3-тю добу ознаки рогівкового синдрому зменьшились, відбулася епітелізація 2/3 ерозованої площі рогівки, значно зменьшилися набряк та інфільтрація. На 4-й день відбулася практично повна епітелізація рогівки, набряк та інфільтрація її залишилися в межах насічки. Повне одужання відбулося на 6-7 день лікування: усі очі були без ознак запалення, кон’юнктива –блідо-рожевого кольору. Рогівка прозора, блискуча, чутливість її не змінена, тільки в зоні насічки – тонкий рубець. При інстиляціях 20 % сульфацилу натрію повне одужання відбулось на 7-8-му добу, а в контрольній групі - в різні строки на 9-11 добу.

Клінічну ефективність 20 % сульфацил-гумінату і його вплив на перебіг бактеріального кератиту вивчали порівняно з дією референс-препарату і фізіологічного розчину. Було встановлено, що в перші 3 доби на очах кролів спостерігалися виражений рогівковий синдром, змішана ін’єкція очного яблука, гнійні виділення з кон’юнктивальної порожнини. У центрі рогівки - гнійний інфільтрат d=4-5 мм, який забарвлювався флюоресцеїном. На 5-6 день дослідження під впливом 20% сульфацил-гумінату відмічалося значне покращання перебігу захворювання, зменшення прояву рогівкового синдрому, набряк рогівки залишався тільки в зоні інфільтрату (3х4 мм), який очистився від гною і некротичних мас, а 2/3 площі його заепітелізувалися. Таким чином, 20% сульфацил-гумінат прискорює ліквідацію запального процесу в оці, сприяє більш швидкій епітелізації рогівки з формуванням тонкого рубця на 9-10 день від початку лікування. При застосуванні 20 % сульфацилу натрію повна епітелізація рогівки наступила на 11-ту, а в контрольній групі - на 13-14 добу.

Для з’ясування механізму лікувальної дії 20 % сульфацил-гумінату нами були проведені біохімічні і гістоморфологічні дослідження рогівки.

При моделюванні бактеріального кератиту у кролів встановлено підвищення ферментативної активності в плазмі крові на третю добу, тобто в розпал запального процесу в оці, окрім групи зі застосуванням 20 % сульфацил-гумінату, де воно було незначним. Нормалізація активності ферментів відмічена на 14-ту добу тільки в групі з лікуванням 20 % сульфацил-гумінатом. В групі з лікуванням 20 % сульфацилом натрію активність ферментів в крові в цей термін також знизилась, але перевищувала контрольний рівень.

На 14 день кроликів виводили з експерименту методом повітряної емболії під тіопенталовим наркозом для подальшого вивчення впливу 20% сульфацил-гумінату на ферментативні процеси рогівки, зумовлені бактеріальним кератитом.

Встановлено вірогідне підвищення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е на фоні зниження зв’язаної активності цих ферментів в рогівці, що свідчить про зниження проникності мембран лізосом при бактеріальному кератиті. Одночасно встановлено значне збільшення співвідношення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е до зв’язаної активності цих ферментів, що свідчить про дестабілізацію лізосомальних мембран, зумовлену запаленням (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив інстиляцій 20 % сульфацил-гумінату на активність кислої фосфатази, катепсину Е та трипсину в рогівці кроликів на 14 день лікування бактеріального кератиту, (нкат/г тканини, n=7)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи  тварин | Стат. показник | Кисла фосфатаза | | Катепсин Е | | Трипсин |
| Неседи- ментуюча активність | Зв’язана активність | Неседи-ментуюча активність | Зв’язана активність |
| 20 %  сульфацил-гумінат | М±m  %  % 1 | 95,6±6,3+  116,2  79,3 | 45,9±4,2+  80,1  153,2 | 24,2±1,9+  118,6  71,0 | 33,2±1,8+  88,3  128,2 | 3,27±0,25+  109,7  72,3 |
| 20 % сульфацил натрію | М±m  %  % 1 | 105,4±7,2  125,6  87,5 | 38,4±2,4+  68,6  131,2 | 26,8±2,3  131,4  78,6 | 30,2±2,4  80,3  116,3 | 3,70±0,23  124,2  81,9 |
| Контрольна патологія  (фіз. р-н) | М±m  %  % 1 | 120,5±2,6  146,4  100 | 29,5±2,1  52,3  100 | 34,1±2,6  167,2  100 | 25,9±2,1  68,9  100 | 4,52±0,34  151,7  100 |
| Інтактні | М±m  % | 82,3±5,4  100 | 56,4±3,4  100 | 20,4±1,2  100 | 37,6±1,4  100 | 2,98±0,20  100 |

Примітки: у табл. 1, 2

1. +– вірогідність різниці щодо контрольної патології (р<0,05);

2. % – співвідношення щодо інтактних тварин;

3. % 1 – співвідношення щодо контрольної патології.

Неседиментуюча активність кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кролів з контрольною патологією при запаленні зростає на 46,4 % і 67,2 %, а зв’язана - зменшується до 52,3 % і 68,9 % (р<0,05), відповідно, порівняно з інтактними тваринами. При інстиляціях 20 % сульфацилу натрію неседиментуюча активність кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кролів підвищувалась на 25,6 % і 31,4 %, а зв’язана зменьшувалась до - 68,6 % і 80,3 % (р<0,05), відповідно, у порівнянні з інтактною групою. При порівнянні даних з групою контрольної патології, відзначалося вірогідне підвищення активності тільки зв’язаної кислої фосфатази на 31,2 %).

Аналіз співвідношення неседиментуючої активності кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кролів із бактеріальним кератитом до зв’язаної активності цих ферментів свідчить, що при порівнянні з нормою цей показник у разі кислої фосфатази збільшився у 1,44 рази (2,08 при нормі 1,45), а катепсину Е – у 2,4 рази (1,32, при нормі 0,543). Високі показники досліджуваних ферментів у цитоплазматичній фракції на фоні зниження їх активності в лізосомальній фракції свідчать про те, що при бактеріальному кератиті спостерігається значна дестабілізація мембран лізосом рогівки зумовлена запаленням.

При застосуванні 20 % сульфацил-гумінату співвідношення неседимен-туючої активності кислої фосфатази і катепсину Е в рогівці кроликів із бактеріальним кератитом до зв’язаної активності цих ферментів зменшилося до 2,08 % і 0,729 %, відповідно.Дані зміни активності зв’язаної форми кислої фосфатази – маркерного ферменту лізосомальних структур свідчать про виразну мембранотропну дію сульфацил-гумінату на лізосоми рогівки.

Активність трипсиноподібних протеіназ практично вдвічі зростає в групі з контрольною патологією при порівнянні з інтактною групою (р<0,01). При застосуванні 20 % сульфацилу натрію також спостерігається вірогідне підвищення цього показника на 24,2 % (р<0,05). Інстиляції 20 % сульфацил-гумінату сприяли вірогідному зниженню протеолітичної активності до 72,3 % (р<0,05) відносно контрольної патології. Зниження активності трипсиноподібних протеіназ в рогівці у репаративній стадії запального процесу запобігає вторинній альтерації в тканинах рогівки, створюючи умови для проліферації та регенерації. Застосування 20 % сульфацил-гумінату виявляє кращий, у порівнянні з 20 % сульфацилом натрію, вплив на проліферативні процеси в тканині рогівки при бактеріальному кератиті.

Аналізуючи активність амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) в рогівці очей кролів через 2 тижні після відтворення бактеріального кератиту, слід зазначити, що в групі з контрольною патологією вона вірогідно (р<0,05) перевищувала рівень групи інтактних тварин на 43,9 % і 27,9 %, відповідно.

Лікування 20 % сульфацил-гумінатом сприяло більш вираженому зменшенню активності амінотрансфераз в рогівці кролів, суттєво не відрізняючись від показників групи інтактних тварин. При цьому активність АлАТ в рогівці кролів з наслідками бактеріального кератиту була вірогідно знижена на 19 % по відношенню до контрольної патології. Проведені дослідження показали, що застосування 20 % сульфацил-гумінату, на відміну від 20 % сульфацилу натрію, сприяє нормалізації активності амінотрансфераз, тобто процесів трансамінування, які відіграють ключову роль в обміні речовин, в рогівці кролів при запальному процесі, зумовленому бактеріальним кератитом (табл. 2).

*Таблиця 2*

Вплив інстиляцій 20 % сульфацил-гумінату на активність амінотрансфераз та ЛДГ в рогівці кролів при моделюванні бактеріального кератиту, n=7

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи тварин | Стат. показник | АлАТ мкмоль /  г тк.∙час | АсАТ  мкмоль /  г тк.∙час | ЛДГ  мкмоль/  г тк.·хв |
| 20 % сульфацил-гумінат | М±m  %  % 1 | 5,57±0,32+  114,8  81,0 | 6,29±0,38  111,9  87,5 | 230,2±15,8+  101,7  77,5 |
| 20% сульфацил натрію | М±m  %  % 1 | 6,25±0,43  128,9  90,8 | 6,57±0,47  116,9  91,4 | 262,1±16,7  105,2  90,5 |
| Контрольна патологія  (фіз. р-н) | М±m  %  % 1 | 6,98±0,45  143,9  100 | 7,19±0,52  127,9  100 | 289,5±16,2  127,9  100 |
| Інтактні | М±m  % | 4,85±0,28  100 | 5,62±0,34  100 | 226,4±18,4  100 |

Спостерігалось підвищення на 28 % (р<0,05) активності ЛДГ у групі з контрольною патологією, а в групах з лікуванням це підвищення було незначним: при інстиляціях 20 % сульфацилу натрію – на 5 %, а 20 % сульфацил-гумінату – на 2 % при порівнянні з інтактною групою. При порівнянні даних з групою контрольної патології, слід зазначити зменшення активності ЛДГ на 9,5% (р>0,05) при застосуванні 20 % сульфацилу натрію і вірогідне зниження цього показника на 22,5%(р<0,05) при інстиляціях 20 % сульфацил-гумінату. Таким чином, можливо зробити припущення, що інстиляції 20% сульфацил-гумінату сприяють посиленню біосинтетичних процесів в пошкодженій рогівці.

Гістоморфологічні дослідження рогівок ока в зоні рубця (наслідок бактеріального кератиту) показали різне його формування в трьох групах тварин. При лікуванні 20 % сульфацил-гумінатом на 14 день відбулося повне відновлення гістоморфологічних структур рогівки і сформувався ніжний рубець в зоні перенесеного кератиту. При лікуванні 20 % сульфацилом натрію сформувався більш грубий рубець, а в групі з контрольною патологією рубцювання рогівки здійснилось з грубими структурними змінами - несформованою базальною мембраною і проникненням епітеліоцитів та кератоцитів за її межі.

Отримані клініко-морфологічні дані свідчать про високу лікувальну ефективність 20 % сульфацил-гумінату: покращення перебігу бактеріального кератиту, скорочення терміну клінічного одужання на 1,5-2 доби у порівнянні з 20 % сульфацилом натрію. Віддалені результати спостереження за наслідками бактеріального кератиту підтвердили перевагу застосування 20 % сульфацил-гумінату, що проявлялося в прискоренні стихання запального процесу в рогівці з меншим її помутнінням.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової проблеми, що визначається експериментальним обгрунтуванням доцільності спільного застосування гумінату і сульфацилу натрію для підвищення ефективності при лікуванні травматичних та бактеріальних захворювань рогівки ока.

1. На культурі клітин нирок ембріону людини RH (in vitro) встановлено, що0,1 % і 1 % розчини гумінату не виявляють цитотоксичної дії, сприяють збереженню фізіологічної та підвищенню мітотичної активності клітин моношару без утворення патологічних мітозів. 20 % сульфацил натрію виявляє найбільш виражену цитотоксичну дію, що проявлялося у загибелі 50-75 % клітин через 48-72 години, відповідно, і супроводжувалося зменшенням мітотичної активності з утворенням патологічних К-мітозів, симпластів. Спільне застосування 0,1 % гумінату та 20 % сульфацилу натрію (сульфацил-гумінат) характерізувалося протекторною дією, знижуючи токсичність сульфацилу натрію для клітин моношару та вдвічі зменшуючи кількість патологічних форм мітозів, нормалізуючи проліферативну активність клітин.

2. 20 % сульфацил-гумінат виявляє найбільш виражену антимікробну активність за даними збільшення діаметру зони затримки росту еталонних штамів мікроорганізмів Staphylococcus aureus ATCC 25923 F-49, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 F-51, Escherichia coli ATCC 25922 у порівнянні з референс-препаратом – 20 % сульфацилом натрію.

3. Встановлено офтальмонешкідливість та безпечність застосування 20 % сульфацил-гумінату, який не викликає місцевоподразнюючої і алергізуючої дії, не здійснює токсичного впливу на рогівку, райдужку і кон’юнктиву; не порушує цілісності епітелію рогівки, не викликає структурних змін у тканинах ока кролів.

4. Під впливом інстиляцій 20 % сульфацил-гумінату та 0,1 % гумінату відбувається повна епітелізація поверхневого дефекта рогівки (ерозія) у кроликів на 2-2,5 доби швидше, відносно контрольної патології.

5. При лікуванні дозованої травми рогівки (травматичний кератит) 20 % сульфацил-гумінат, прискорює епітелізацію рогівки та зникнення ознак запалення переднього відділу ока, сприяє прозорому загоєнню рогівки наприкинці процесу.

6. Інстиляції 20 % сульфацил-гумінату при лікуванні бактеріального кератиту у кролів виявляють виразну протизапальну та регенераторну дію, що супроводжувалось прискоренням процесів регенерації рогівки та скороченням терміну лікування на 1,5-2 доби у порівнянні з референс-препаратом. При гістоморфологічних дослідженнях спостерігались повна епітелізація рогівки, збереження структури базальної мембрани та відновлення її строми і незначна гіперплазія епітелію на обмеженій ділянці в зоні ніжного рубця.

7. Результати біохімічних досліджень показали, що застосування 20 % сульфацил-гумінату при лікуванні бактеріального кератиту сприяє нормалізації активності лізосомальних ферментів (кисла фосфатаза, катепсин Е), трансаміназ (АлАТ, АсАТ), трипсиноподібних протеїназ, окислювально-відновлювальних процесів (активність ЛДГ) в плазмі крові і рогівці кролів. Виявлено мембранотропну дію 20 % сульфацил-гумінату на лізосоми рогівки ока кролів.

8. Отримані дані про виражену антимікробну дію, протизапальні та регенераторні властивості 20 % сульфацил-гумінату є експериментальним обґрунтуванням його клінічної апробації в практичній офтальмології при лікуванні травматичних та бактеріальних кератитів.

**Перелік робіт, опублікованих за темою дисертації**

1. Салдан В. И. Изучение антимикробной активности глазных капель сульфацила натрия с гуминатом / Е. П. Сотникова, В. И. Салдан, О. Д. Янева // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2002. – Т. 6, № 2. – С. 358-359. *Внесок дисертанта – проведення досліджень, статистичної обробки результатів, узагальнення даних, написання та оформлення статті.*

2. Салдан В. И. Экспериментальная оценка антимикробного и цитотоксического действия глазных капель сульфацил-гумината / В. И. Салдан, Т. В. Гудзенко // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2004. – №3. – С. 102–105. *Внесок дисертанта – проведення досліджень, статистичної обробки результатів, написання та оформлення статті.*

3. Салдан В. Й. Експериментальне обгрунтування лікувальної ефективності і нешкідливості нових очних крапель 20 % сульфацил-гуміната і 0,1 % гуміната / О. П. Сотникова, В. И. Салдан, В. Л. Осташевський, Г. Б. Абрамова, Б. Н. Соколова, О. В. Артьомов // Одеський медичний журнал. – 2005. – № 5. – С. 44–48. *Внесок дисертанта – проведення експерименту, узагальнення даних, написання статті.*

4. Салдан В. И. Традиционные основы тканевой терапии и перспективы развития / Е. П. Сотникова, В. И. Салдан, Г. С. Фесюнова // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2007. – № 1. – С. 15–19. *Внесок дисертанта – проведення аналізу джерел літератури, написання та оформлення статті.*

5. Салдан В. Й. Вплив 20 % сульфацил-гумінату на активність лізосомальних ферментів рогівки і плазми крові на фоні бактеріального кератиту / В. Й. Салдан, С. Г. Коломійчук // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 2. – С. 15-19. *Внесок дисертанта – розробка методології експерименту, проведення досліджень, аналізу та узагальнення даних, написання статті.*

6. Салдан В. Й. Вплив 20 % сульфацил-гумінату на активність амінотрансфераз рогівки і плазми крові на фоні бактеріального кератиту у кролів / В. Й. Салдан, С. Г. Коломийчук // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2007. – № 11. – С. 547-549. *Внесок дисертанта – проведення огляду літератури, досліджень, аналізу та узагальнення даних, написання статті.*

7. Деклараційний пат. на винахід 64624 А Україна, МПК А 61 F 9/00, A 61 P 27/00. Очні краплі / Сотнікова О. П., Салдан В. Й., Лотош Т. Д., Абрамова Г. Б., Соколова Б. Н., Іванов В. І. ; заявники і патентовласники ; № 2003077053 ; заявл. 28.07.03 ; опубл. 16.02.04, Бюл. № 2. *Внесок дисертанта – інформаційний пошук, участь у розробці лабораторного регламенту, оформлення патенту.*

8. Салдан В. И. Влияние сочетанного применения глазных капель сульфацила натрия и гумината на стабилизацию лизосомальных мембран роговицы и плазмы крови в эксперименте / Е. П. Сотникова, Н. Ф. Леус, Т. Д. Лотош, С. Г. Коломийчук, А. Б. Абрамова, В. И. Салдан // Х з’їзд офтальмологів України, 28-30 трав. 2002 р. : тези доп. – Одеса, 2002. – С. 57-58. *Внесок дисертанта – участь в експерименті, оформлення тез.*

9. Салдан В. И. Исследование препаратов из торфа и морской воды на клеточной культуре человека / В. И. Салдан, Т. В. Гудзенко // Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині : наук.- практ. конф. з міжнар. уч., 17-18 вер. 2003 р. : тези. – Одесса: Астропринт, 2003. – С. 32-33. *Внесок дисертанта – проведення експеримену, статобробки, узагальнення даних, оформлення тез.*

10. Saldan V. I. Study of Huminat on the humman RH line cells / V. I. Saldan // Wise Use of Peatlands. – Proceedings of the 12 International Peat Congress, Tampere, Finland, 6-11 June. – 2004. – V. 2 (poster presentations). – P. 1205-1208. *Внесок дисертанта – проведення огляду літератури, досліджень, аналізу та узагальнення даних, написання роботи.*

11. Салдан В. И. Изучение антибактериальной активности новых глазных капель 20 % сульфацил-гумината / Е. П. Сотникова, В. И. Салдан // Человек и лекарство.- XII Рос. нац. конгр., 18-22 апр. 2005 г. : тезисы докл. – М.: Здоровье человека, 2005. – С. 703-704. *Внесок дисертанта – проведення експерименту, статистична обробка даних, , аналізу та узагальнення, написання роботи.*

12. Saldan V. I. Study of activity of eye drops Sodium sulfacil with Huminat / E. P. Sotnikova, G. I. Drozhzhina, A. B. Abramova, V. L. Ostashevskiy, T. D. Lotosh, V. I. Saldan // Peat and Humic Substance Preparations in Medicine and Body Care, Bad Langensalza (Thuringia), 25-27 May 2005. – Bad Langensalza, 2005. – P.10. *Внесок дисертанта – проведення експерименту, статистична обробка даних.*

13. Салдан В. И. Анализ видового состава микрофлоры при инфекционных заболеваниях переднего отдела глаз. / В. И. Салдан, А. Л. Молодая, Л. В. Доленко // Нове в офтальмології: наук.-практ.конф. з міжнар. уч. присвяч. 130-річчю з дня народж. акад. В. П. Філатова, 13 травня 2005 р.: тези. - Одеса, 2005. - С. 35-36. *Внесок дисертанта – проведення огляду літератури, досліджень, аналізу та узагальнення даних, написання роботи.*

14. Сотникова Е. П. Разработка новых лекарственных форм на основе гуминовых кислот торфа. / Е. П. Сотникова, Т. Д. Лотош, В. И. Салдан, Б. Н. Соколова, А. Б. Абрамова // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: VI Нац. з’їзд фармацевтів України, 28-30 вересня 2005 р.: матеріали. - Х.: Вид-во НфаУ, 2005.- С. 290-291.

15. Салдан В. Й. Лікувальна ефективність 20% сульфацил-гумінату при моделюванні бактеріального кератиту у кролів / В. Й. Салдан, О. П. Сотнікова, Б. Н. Соколова // Захворювання рогівки, кришталика і поверхні ока: міжнар. конф., 29.06-01.07.2006 р.: тези. - Люблін, 2006.- С. 32. *Внесок дисертанта – проведення огляду літератури, експерименту, статистична обробка даних.*

16. Салдан В. И. Изучение чувствительности микрофлоры конъюнктивальной полости глаз к антибактериальным средствам / В. И. Салдан, А. Л. Молодая, Л. В. Доленко // Мікробні біотехнології: міжнар.наук.конф., 11-15 вересня 2006 р.: тези.- Одеса, 2006.- С. 152 *Внесок дисертанта – проведення експерименту, статистична обробка даних.*

17. Сотникова Е. П. Перспективы использования гуминовых веществ торфа в медицине / Е. П. Сотникова, Т. Д. Лотош, В. И. Салдан, Б. Н. Соколова, А. Б. Абрамова, В. И. Иванов // Растительные полифенолы и неспецифическая резистентность: симпозиум, 4-5 октября 2006 г.: тезисы /Вісник стоматології. Спец. випуск.– 2006.– №3 (53).- С.28-29.

18. Салдан В. Й. Вивчення антибактеріальної активності і лікувальної ефективності комбінованих очних крапель 20 % сульфацил-гуминату / В. Й. Салдан, О. П. Сотнікова // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє: III Нац. з’їзд Фармакологів України, 17-20 жовтня 2006 р.: тези. - Одеса, 2006.- С. 150. *Внесок дисертанта – проведення експерименту, статистична обробка даних.*

19. Лотош Т. Д. Особливості фармакодинаміки препаратів з торфу / Т. Д. Лотош, О. П. Сотнікова, В. Й. Салдан // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє: III Нац. з’їзд Фармакологів України, 17-20 жовтня 2006 р: тези.- Одеса, 2006.- С. 99-100.

20. Салдан В. И. Активность лактатдегидрогеназы в тканях кроликов при моделировании бактериального кератита и применении глазных капель 20% сульфацил-гумината / В. И. Салдан, Е. П. Сотникова, С. Г. Коломийчук // Человек и лекарство: XIV Рос. Нац. Конгресс, 16-20 апреля 2007 г.: материалы. - М., 2007.- С. 873. *Внесок дисертанта – проведення експерименту, статистична обробка даних.*

21. Пасечникова Н.В. Доклиническая оценка безвредности тканевых препаратов по В. П. Филатову / Н. В. Пасечникова, Е. П. Сотникова, В. И. Салдан, Г. С. Фесюнова // Безопасность лекарств: от разработки до медицинского применения: Первая науч.- практ. конф., 31 мая-1 июня 2007 г.: материалы. - К.: МОРИОН, 2007.- С. 51-52.

22. Сотникова Е. П. Экспериментально-клинические данные о механизмах биорегулирующего действия таблеток гумината / Е. П. Сотникова, Т. Д. Лотош, В. И. Иванов, В. И. Салдан, Е. В. Бобро // Досягнення та перспективи застосування гумінових речовин у сільському господарстві: міжнар.наук.-практ.конф., присв. 100-річчю від дня народж. проф.. Л. А. Христєвої, 20-22 лютого 2008 р.: матеріали. - Дніпропетровськ, 2008.- С. 85-89

**Анотація**

**Салдан В. Й. Фармакологічне дослідження спільного застосування гумінату і сульфацилу натрію при захворюваннях рогівки.** –Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Одеський державний медичний університет МОЗ України. – Одеса, 2008.

У дисертації експериментально обґрунтовано ефективність застосування 20 % сульфацил-гумінату при лікуванні травматичних та бактеріальних захворювань рогівки ока, який за фармакологічними властивостями і біорегулюючою дією значно перевищує 20 % сульфацил натрію.

На культурі клітин нирок ембріону людини RH (in vitro) встановлено, що 20 % сульфацил-гумінат проявляє протекторну дію, знижуючи токсичність сульфацилу натрію для клітин моношару та вдвічі зменшуючи кількість патологічних форм мітозів.

20 % сульфацил-гумінат виявляє найбільш виражену антимікробну активність за даними збільшення діаметру зони затримки росту еталонних штамів мікроорганізмів Staphylococcus aureus ATCC 25923 F-49, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 F-51, Escherichia coli ATCC 25922 у порівнянні з референс-препаратом – 20 % сульфацилом натрію. Встановлено офтальмонешкідливість 20 % сульфацил-гумінату.

При моделюванні травматичного і бактеріального кератитів у кролів виявлено виразну протизапальну та регенераторну дію 20 % сульфацил-гумінату, що скорочує термін лікування на 1,5-2 доби у порівнянні з референс-препаратом. Застосування 20 % сульфацил-гумінату при бактеріальному кератиті сприяє нормалізації активності ряду ферментів в плазмі крові і рогівці кролів. Виявлено його мембранотропну дію на лізосоми рогівки.

**Ключові слова:** сульфацил-гумінат, експеримент, антимікробна активність, ерозія рогівки, травматичний, бактеріальний кератит.

**АнНотация**

**Салдан В. И. Фармакологическое исследование совместного применения гумината и сульфацила натрия при заболеваниях роговицы.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Одесский государственный медицинский университет МЗ Украины. – Одесса, 2008.

В диссертации приведено новое решение актуальной научной задачи, которое заключается в теоретическом и экспериментальном обосновании эффективности применения 20 % сульфацил-гумината. На всех этапах исследования установлено, что по фармакологическим свойствам и биорегулирующему действию 20 % сульфацил-гуминат значительно превышает 20 % сульфацил натрия.

Проведена скрининговая оценка цитотоксического действия 10 % и 20 % растворов сульфацил-гумината и его составляющих ингредиентов (0,1 % и 1,0 % гуминат; 10 % и 20 % сульфацил натрия) на культуре клеток почек эмбриона человека RH (in vitro). Изучено влияние исследуемых растворов на жизнеспособность клеток и на митотический цикл. Установлено отсутствие токсического действия у 0,1 % и 1,0 % гумината, что характеризовалось сохранением физиологической активности клеток, повышением их митотической активности без образования патологичеких форм митозов. Выявлено, что 10 % и 20 % сульфацил натрия оказывает токсическое действие на культуру RH, что проявлялось гибелью более 50-75 % клеток через 48-72 часа соответственно. Происходило уменьшение митотической активности с образованием патологических форм митозов. Установлено, что 20 % сульфацил-гуминат проявляет протекторное действие, снижая токсичность сульфацила натрия для клеток монослоя и вдвое уменьшая количество патологических форм митозов.

Выявлено выраженное антимикробное действие 20 % сульфацил-гумината по отношению к эталонным штаммам микроорганизмов S.aureus АТСС 25923 F-49, P.aeruginosa ATCC 27853 F-51, E.coli АТСС 25922 в сравнении с 10 % и 20 % сульфацилом натрия.

Установлена офтальмобезвредность 20 % сульфацил-гумината и 0,1 % гумината, отсутствие аллергизирующего и местно-раздражающего действия на ткани глаза кроликов.

На модели поверхностной эрозии роговицы установлено, что инстилляции 20 % сульфацил-гумината ускоряют эпителизацию дефекта роговицы на 2-2,5 дня раньше в сравнении с группой контрольной патологии и референс препаратом. При моделировании травматического кератита 20 % сульфацил-гуминат активирует репаративные процессы, что характеризовалось ускорением эпителизации дозированной травмы роговицы, уменьшением признаков воспаления и более прозрачным заживлением ее на исходе процесса.

Инстилляции 20 % сульфацил-гумината при бактериальном кератите у кроликов оказывают выраженное противовоспалительное и регенераторное действие, что сопровождалось быстрым исчезновением клинических признаков воспаления, ускорением процессов заживления роговицы и сокращением срока лечения на 1,5-2 дня в сравнении с референс-препаратом. Проведенные патоморфологические исследования показали полную эпителизацию роговицы, сохранение структуры базальной мембраны и восстановление ее стромы.

Биохимические исследования показали, что применение 20 % сульфацил-гумината при лечениии бактериального кератита способствует нормализации активности лизосомальных ферментов (кислая фосфатаза, катепсин Е), трансаминаз (АлАТ, АсАТ), трипсиноподобных протеиназ, окислительно-восстановительных процессов в плазме крови и ткани роговицы кроликов. Выявлено его мембранотропное действие на лизосомы роговицы.

Полученные результаты имеют существенное значение для лечения травматических и бактериальных повреждений роговицы (кератиты, кератоконъюнктивиты) в практической офтальмологии.

**Ключевые слова**: сульфацил-гуминат, эксперимент, антимикробная активность, эрозия роговицы, травматический, бактериальный кератит.

**SUMMARY**

**Saldan V. I. Pharmacological study of the combined application of guminate and sodium sulfacyl in diseases of the cornea.** – A manuscript.

A thesis for taking a scientific degree of the candidate of biological sciences in the specialty 14.03.05 - pharmacology. - Odessa state medical university of Health ministry of Ukraine. - Odessa, 2008.

The thesis substantiates experimentally the application of 20 % sulfacyl-guminate efficacy in treatment of traumatic and bacterial diseases of the eye cornea, which considerably exceeds 20 % sodium sulfacyl by the pharmacological properties and bioregulation effect.

Established on the culture of the kidney cells of the human embryo RH (in vitro) that 20 % sulfacyl-guminate possesses protective action, decreasing the toxicity of sodium sulfacyl for the cells of the monolayer and twice decreasing a quantity of pathologic forms of mitoses.

20 % sulfacyl-guminate is revealed to have the most expressed antimicrobic action by increasing the diameter of growth retarding zones of the standard strains of the microorganisms Staphylococcus aureus ATCC 25923 F-49, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 F-51, E.coli ATCC 25922 in comparison with a reference-drug – 20 % sodium sulfacyl. The safe of 20 % sulfacyl-guminate was proved too.

The antiinflammatory and regenerative effect of 20 % sulfacyl-guminate was revealed at the modeling of bacterial and traumatic keratitis, so decreases the treatment’s duration in 1,5-2 days in comparison with the reference-preparation. The application of 20 % sulfacyl-guminate pocesses the normalization of some ferments activity in blood plasma and rabbit’s cornea in case of bacterial keratitis. There is revealed its membranotropic effect on the cornea lysosomes.

The keywords: sulfacyl-guminate, experiment, antimicrobic activity, erosion of the cornea, traumatic, bacterial keratitis.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>