

УДК 617.713-002:616-002.9-036.1-092.9-085

В. А. Ульянов<sup>1</sup>, д-р мед. наук, проф.,  
Т. Б. Гайдамака<sup>2</sup>, д-р мед. наук, ст. н. с.,  
М. Б. Макарова<sup>1, 2</sup>,  
Л. Л. Давтян<sup>3</sup>, д-р фарм. наук, проф.,  
Б. А. Мовчан<sup>4</sup>, д-р техн. наук, проф., академик НАН Украины,  
В. М. Скобеева<sup>5</sup>, канд. физ.-мат. наук, ст. н. с.

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗМЕРОМ 30 нм НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

<sup>1</sup> Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

<sup>2</sup> ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса, Украина,

<sup>3</sup> Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина,

<sup>4</sup> Институт электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины, Киев, Украина,

<sup>5</sup> Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина

---

УДК 617.713-002:616-002.9-036.1-092.9-085

В. А. Ульянов<sup>1</sup>, Т. Б. Гайдамака<sup>2</sup>, М. Б. Макарова<sup>1, 2</sup>, Л. Л. Давтян<sup>3</sup>, Б. А. Мовчан<sup>4</sup>, В. М. Скобеева<sup>5</sup>  
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗМЕРОМ 30 нм НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

<sup>1</sup> Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

<sup>2</sup> ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса, Украина,

<sup>3</sup> Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина,

<sup>4</sup> Институт электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины, Киев, Украина,

<sup>5</sup> Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина

В работе исследована эффективность экспериментальной терапии бактериального кератита у кроликов с использованием наночастиц серебра, декаметоксина. Эффективность экспериментальной терапии возрастала в ряду: пленки с декаметоксином → пленки с наночастицами серебра 30 нм, полученные методом электронно-лучевого выпаривания → инстилляцией коллоидного раствора наночастиц серебра размером 30 нм → пленки с наночастицами серебра 30 нм, полученные цитратным методом. Применение пленок с наночастицами серебра, полученных цитратным методом, приводило к сокращению сроков заживления раны роговицы, уменьшению выраженности и ускорению санации конъюнктивальной пустоты по сравнению с другими экспериментальными группами.

**Ключевые слова:** бактериальный кератит, наночастицы серебра, экспериментальная терапия.

UDC 617.713-002:616-002.9-036.1-092.9-085

V. A. Uliyanov<sup>1</sup>, T. B. Gaydamaka<sup>2</sup>, M. B. Makarova<sup>1, 2</sup>, L. L. Davtyan<sup>3</sup>, B. A. Movchan<sup>4</sup>, V. M. Skobeeva<sup>5</sup>  
EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES MEASURING 30 nm ON  
THE CLINICAL COURSE OF EXPERIMENTAL BACTERIAL KERATITIS

<sup>1</sup> The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,

<sup>2</sup> The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odessa, Ukraine,

<sup>3</sup> Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine,

<sup>4</sup> E. O. Paton Electric Welding Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,

<sup>5</sup> Odessa I. I. Mechnikov National University, Odessa, Ukraine

It was studied the efficiency of experimental bacterial keratitis therapy by silver nanoparticles or decamethoxin using in rabbits. The effectiveness of experimental therapy increased in order: films with decamethoxin → films with nanoparticles of silver 30 nm, obtained by electrical-beam evaporation → instillation of silver 30 nm nanoparticles colloidal solution → films with silver 30 nm nanoparticles, obtained by citrate method. The using of films with silver nanoparticles obtained by citrate method led to a shortening of cornea healing periods, reduction of severity and duration of inflammatory reaction, acceleration of conjunctival cavity sanitation, compared with other experimental groups.

**Key words:** bacterial keratitis, silver nanoparticles, experimental treatment.

## Введение

Бактериальные поражения в структуре заболеваний роговицы занимают второе место по распространенности, первое — по клинической тяжести и скоротечности и могут приводить к слепоте, обуславливая 3,2–5,2 % всей инвалидности по зрению. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), среди причин, приводящих к необратимой утрате зрения, роговичная слепота занимает третье место, составляет от 6,6 до 39,3 % всей слепоты в мире [1].

Анализ характера течения гнойных язвенных поражений роговицы и их исход показывают, что до настоящего времени, несмотря на имеющийся огромный арсенал лекарственных средств, консервативное лечение не всегда является эффективным методом. Использование традиционных медикаментозных средств может способствовать формированию устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, что приводит к образованию биопленок и суперштаммов, возникновению дисбактериоза и аллергических реакций [2]. Проблема лечения и реабилитации больных с бактериальными кератитами и гнойными язвами роговицы остается весьма актуальной и далеко не решенной в современной офтальмологии, поэтому на смену прежним методам лечения должны прийти новые, усовершенствованные методы антибактериальной терапии, эффективность которых доказана с математической точностью [3].

Прогрессивный лизис и угроза перфорации роговицы заставляют разрабатывать активные подходы в лечении бактериальных кератитов [4; 5]. Поэтому в современной фармакологии и фармации продолжается разработка новых технологий получения медикаментов. К ним относятся нанонаука, нанотехнологии, наномедицина и нанофармакология [6]. Результаты экспериментальных исследований показали, что частицы металлов с наноразмерами от 0,1 до 100 нм имеют другие физические и физико-химические, биологические, фармакологические свойства, чем металлы макроразмеров. Ученые установили, чем меньше размер наночастицы серебра, тем выше ее бактерицидные свойства. Имеется ряд работ, в которых отмечается, что наночастицы серебра обладают иммуномодулирующим действием [7].

Очевидно, что использование пленок с наночастицами может быть эффективной альтернативой введению лечебных препаратов в виде глазных капель, поскольку молекулы лекарственного вещества будут намного дольше удерживаться в слезной пленке на роговице в сравнении с 2–5 мин их ретенции после традиционных инстилляций. Проблема изоляции роговой оболочки от механической травмы, действия окружающей среды, удержание медикаментозных средств на

поверхности пораженной роговицы — весьма значимая в офтальмологии. Для покрытия применяли фибринные пленки, целлулоидные чашечки, мягкие контактные линзы, гидрогелевые и силиконовые линзы. Используемые глазные лекарственные пленки и гидрогелевые контактные линзы, отличающиеся малой толщиной, высоким влагосодержанием и кислородопроницаемостью, имеют определенные преимущества в лечении и в сочетании с медикаментозной терапией позволяют дозировать препарат и обеспечивать пролонгированное действие. Однако не все больные хорошо их переносят, да и выбор глазных лекарственных пленок и специализированных гидрогелевых линз весьма невелик [8].

**Цель работы** — оценить динамику клинических, патоморфологических и микробиологических изменений в эксперименте на кроликах при терапии бактериального кератита с использованием наночастиц серебра размером 30 нм в форме пленок и инстилляций.

## Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с изложенным в Хельсинской декларации и Законе Украины «О защите животных от жестокого отношения» (№ 1759-6 от 15.12.2009 г.), с учетом рекомендаций относительно проведения научных морфологических исследований [9].

Для проведения эксперимента использовали 15 кроликов (30 глаз) массой 2,2–2,7 кг породы Шиншилла. Всем животным моделировали бактериальный кератит средней степени тяжести. Моделирование выполняли под внутривенным тиопенталовым наркозом (в разведении с 10 мл физраствора из расчета 1 мл/кг массы тела животного) и местной анестезией (инстилляцией в конъюнктивальную полость 0,5 % *Sol. Alcaini*) путем выполнения послойной трепанации роговицы в оптической зоне до 2/3 толщины стромы, с дальнейшей стромэктомией и инстилляцией культуры *Staphylococcus aureus*, выделенного от пациента, в большой концентрации ( $10^9$  клеток/мл) в конъюнктивальную полость с последующим введением субконъюнктивально дипроспана (0,2 мл), а также ежедневными трехразовыми инстилляциями 0,1 % раствора дексаметазона в течение 5 дней [10]. После получения модели кератита средней степени тяжести все экспериментальные животные были разделены на 5 групп:

1-я группа — контрольная, кролики получали инстилляцию физиологического раствора в конъюнктивальную полость;

2-я группа — кролики получали инстилляцию в конъюнктивальную полость коллоидного раствора наночастиц серебра размером 30 нм;

3-я группа — кроликам накладывали на роговицу пленки с наночастицами серебра-1 (наночастицы получены цитратным методом, размер 30 нм);

4-я группа — кроликам накладывали на роговицу пленки с наночастицами серебра-2 (наночастицы получены методом электронно-лучевого испарения, размер 30 нм);

5-я группа (сравнения) — кроликам накладывали на роговицу пленки с декаметоксином.

Во всех группах после воздействия проводили блефарорафию, зашивая веки кроликов в центре п-образным швом.

Наночастицы серебра-1, включенные в пленку, и наночастицы, использованные в виде инстилляций, получали цитратным методом [11].

Наночастицы серебра-2 были получены методом электронно-лучевого испарения и конденсации наноразмерных структур [12].

Пленки получали методом полива на полированную поверхность, используя в качестве основы полимеры полиакриламид, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон и натрий-карбоксиметилцеллюлозу [13]. Концентрация наночастиц серебра-1 и серебра-2 в пленке составляла 10 мг/г, а декаметоксина — 12,5 мг/г [14].

Клинические наблюдения проводили ежедневно. Фоторегистрацию объективного осмотра выполняли с помощью цифровой камеры Canon. Размеры изъязвления определяли при помощи флюоресцеинового теста. Клинические признаки воспалительного процесса оценивались модифицированным тестом Draize [15; 16] на 3-и и 6-е сутки эксперимента. Бальная оценка выраженности степени воспаления строилась на основании таких признаков: отделяемое конъюнктивальной полости, степень гиперемии конъюнктивы, степень отека роговицы, степень воспалительной инфильтрации роговицы, площадь окрашивания поверхности роговицы флюоресцеином. Признаки оценивались в баллах по следующей условной шкале:

*Отделяемое конъюнктивальной полости:*

- 0 — отсутствует;
- 1 — слизистое скудное;
- 2 — слизистое обильное;
- 3 — слизистое гнойное.

*Степень гиперемии конъюнктивы:*

0 — бледно-розовая, соответствующая физиологической норме;

1 — слабая гиперемия конъюнктивы глазного яблока;

2 — умеренно выраженная гиперемия конъюнктивы глазного яблока;

3 — выраженная гиперемия конъюнктивы глазного яблока.

*Отек роговицы:*

0 — отек роговицы отсутствует, роговица прозрачная на всем протяжении;

1 — локальный отек эпителия роговицы в зоне воспаления;

2 — локальный отек эпителия с переходом на поверхностные слои стромы;

3 — локальный отек в поверхностных и средних слоях стромы.

*Воспалительная инфильтрация:*

0 — инфильтрация отсутствует;

1 — точечные единичные (не более трех) субэпителиальные инфильтраты;

2 — точечные множественные (более трех) субэпителиальные инфильтраты;

3 — множественные субэпителиальные инфильтраты размером более 1 мм;

4 — локальная инфильтрация в поверхностных и средних слоях стромы.

*Флюоресцеиновый тест:*

0 — отсутствует;

1 — точечное окрашивание роговицы;

2 — площадь окрашивания менее 3 мм<sup>2</sup>;

3 — площадь окрашивания более 3 мм<sup>2</sup>.

Статистическая оценка проводилась дисперсионным анализом для повторных измерений ANOVA с последующим использованием LSD-теста. Полученные результаты также были проверены непараметрически Kruskal–Wallis ANOVA с помощью программы “Statistica 9.0”.

Гистоморфологическое исследование проведено на базе лаборатории патоморфологических и электронно-микроскопических исследований ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» (заведующий лабораторией проф. В. В. Вит).

Морфологическое исследование выполнено по общепринятой методике после выведения кроликов из эксперимента методом воздушной эмболии под тиопенталовым наркозом. Энуклеированные глаза животных фиксировались в 10 % нейтральном формалине и заключались после общепринятой проводки в «Гистомикс» (Biovitum). Из блоков готовились гистологические срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивались гематоксилин-эозином и заключались в канадский бальзам. Срезы были исследованы под микроскопом Jenamed 2. Фотографировали на этом же микроскопе с использованием цифровой камеры “Canon DS 6031” при увеличении 400х–200х. Фото обрабатывались с помощью программы “Microsoft Office Picture Manager”. При исследовании учитывались особенности строения глаза кролика.

Оценивали гистологические изменения эпителия и стромы роговицы, а также лимба и конъюнктивы.

Микробную обсемененность конъюнктивальной полости у кроликов определяли путем забора материала, после получения модели кератита средней тяжести на 3-и, 6-е сутки терапии с соблюдением правил асептики и высевали на 1 % сахарный бульон, а также на чашки Петри с 5 % кровяным агаром, культивировали при температуре 37 °С. Через сутки посевы просматривались, отмечался характер роста на бульоне. На чашках Петри с кровяным агаром определяли степень обсемененности и наличие гемолиза. Культуру после предварительного микроскопирования

пересевали с кровяного агар на мясопептонный и сывороточный агар. Затем проводили идентификацию выделенных культур микроорганизмов. Для установления родовой и видовой принадлежности выделенных штаммов были исследованы их морфологические, культуральные и биохимические свойства [17].

### Результаты исследования и их обсуждение

При моделировании бактериального кератита средней степени тяжести уже через 24 ч после повреждения и инфицирования роговицы развивается бактериальный кератит с вовлечением в воспалительный процесс конъюнктивы, а также эпителия и стромы роговицы. У всех экспериментальных животных клинические признаки на 1-е сутки наблюдения были одинаковы. Наблюдались незначительная гиперемия и отек век, обильное гнойное отделяемое, выраженная смешанная инъекция конъюнктивы, хемоз конъюнктивы, отек роговицы, более выраженный вокруг воспалительного очага. В оптической зоне определялся инфильтрированный очаг, покрытый детритом (рис. 1).

Оценка полученных результатов на 3-й день воздействия показала, что такие клинические признаки, как отделяемое из конъюнктивальной полости, степень гиперемии конъюнктивы и показатели флюоресцеинового теста, статистически значимо не изменялись у животных 2-й группы, получавшей инстилляцию коллоидного раствора наночастиц серебра, и 3-й группы, лечение которым проводили пленками с наночастицами серебра-1, по сравнению с контрольной группой, получавшей инстилляцию физиологического раствора. Отек роговицы нарастал в 5-й экспериментальной группе животных ( $p=0,031$ ), получавших воздействие декаметоксинсодержащими пленками на роговицу, по сравнению с контрольной группой и имел вид преимущественно локального отека эпителия с переходом на поверхностные слои стромы (рис. 2). В 5-й группе наблюдалось значимое увеличение воспалительной инфильтрации ( $p=0,05$ ) уже на 3-й день терапии в сравнении с контролем. Уменьшение воспалительной инфильтрации произошло в 4-й экспериментальной группе животных, которые получали аппликации пленок, содержащих наночастицы серебра-2 ( $p=0,05$ ), по сравнению с контрольной группой на 3-й день исследования.

На 6-е сутки лечебного воздействия в контрольной группе животных сохранялось обильное отделяемое из конъюнктивальной полости преимущественно гнойного характера. Во 2-й группе животных, получавших инстилляцию коллоидного раствора наночастиц серебра ( $p=0,006$ ), отделяемое было обильное и имело преимущественно слизистый характер. В 4-й группе животных, получавших аппликации пленок с наночас-



Рис. 1. Глаз кролика после моделирования бактериального кератита. Язва роговицы, инфильтрат, слизисто-гнойное отделяемое конъюнктивы

тицами серебра-2 ( $p=0,002$ ), отделяемое было обильное и имело слизистый характер по сравнению с контролем (рис. 3). В 4-й группе, животным которой накладывались пленки с наночастицами серебра-1, отделяемое было слизистое скудное ( $p=0,0001$ ) по сравнению с контролем.

Статистически значимое уменьшение степени гиперемии конъюнктивы на 6-е сутки произошло во 2-й группе животных, получавших инстилляцию коллоидного раствора наночастиц серебра. У данных кроликов наблюдалась слабая гиперемия конъюнктивы ( $p=0,03$ ) по сравнению с контрольной группой животных, у которых присутствовала умеренно выраженная гиперемия конъюнктивы глаза. В 5-й группе была отмечена

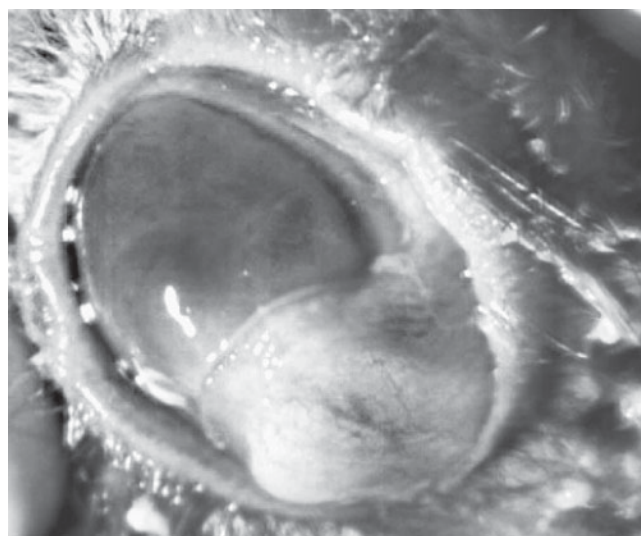


Рис. 2. Глаз кролика после моделирования бактериального кератита при воздействии декаметоксинсодержащими пленками, 3-и сутки эксперимента. Гиперемия конъюнктивы, слизистое отделяемое, диффузный отек роговицы, ограниченный неинтенсивный инфильтрат

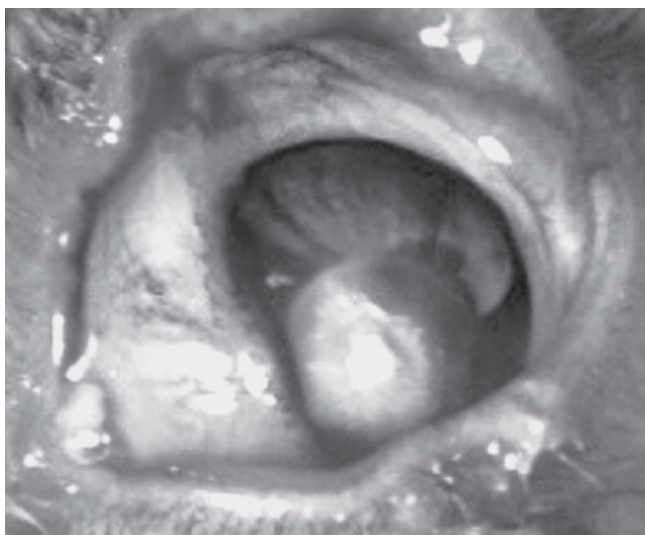


Рис. 3. Глаз кролика после моделирования бактериального кератита на 6-е сутки после воздействия пленками с наночастицами серебра-2. Ограниченный отек роговицы, инфильтрат в центре

выраженная гиперемии конъюнктивы у экспериментальных животных, которым проводили аппликацию пленок с декаметоксином ( $p=0,0001$ ), по сравнению с группой контроля.

Такой показатель, как отек роговицы, снижался и имел вид локального отека эпителия роговицы в зоне воспаления на 6-й день эксперимента во 2-й группе животных, уровень значимости составил  $p=0,01$  по сравнению с контролем; в 3-й группе (рис. 4) также произошло значимое уменьшение данного показателя ( $p=0,0001$ ) по сравнению с контрольной группой, в которой сохранялся локальный отек в поверхностных и средних слоях стромы.

Отмечен регресс воспалительной инфильтрации в виде точечных единичных субэпителиаль-

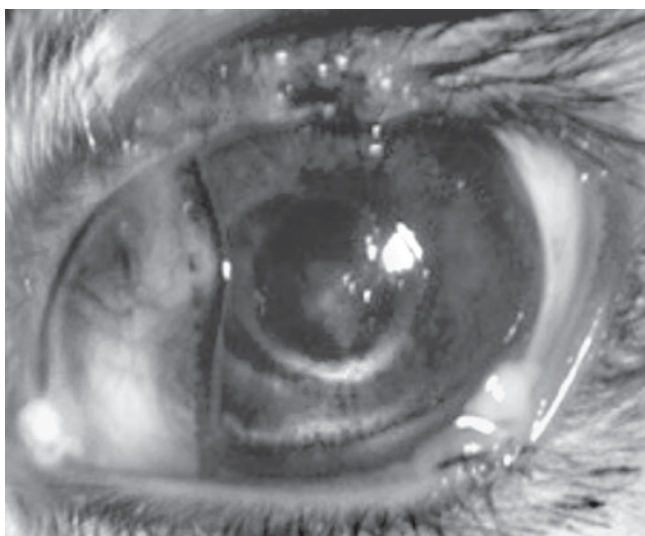


Рис. 4. Глаз кролика после моделирования бактериального кератита на 6-е сутки после воздействия пленками с наночастицами серебра-1. Локальный отек, инфильтрации нет

ных инфильтратов на 6-е сутки терапии в 3-й группе ( $p=0,05$ ) по сравнению с контрольной, где были отмечены множественные субэпителиальные инфильтраты размером более 1 мм.

На 6-е сутки в контрольной группе флюоресцеиновый тест показал наличие множественных участков окрашивания роговицы менее 3 мм. Показатель флюоресцеинового теста значительно уменьшился только в 3-й группе, где сохранялось лишь точечное окрашивание роговицы флюоресцеином ( $p=0,04$ ), по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об эпителизации раневого дефекта роговицы у кроликов.

Суммарная оценка по пяти клиническим признакам, таким как отделяемое в конъюнктивальной полости, степень гиперемии конъюнктивы, отек роговицы, воспалительная инфильтрация, флюоресцеиновый тест, показала, что на 3-й день терапии в 5-й группе животных, получавших аппликации пленок с декаметоксином, отмечена самая высокая суммарная оценка — 13 баллов по данным клиническим признакам, что свидетельствует о высокой активности воспалительного процесса. Наименьшая оценка — 9 баллов отмечена в 3-й экспериментальной группе, животные которой получали аппликации пленок с наночастицами серебра-1, наилучший клинический эффект зафиксирован по сравнению с 1-й контрольной группой, а также 4-й и 5-й экспериментальными группами сравнения ( $p_{4-1,3,5}<0,012$ ), что подтверждает наличие противовоспалительной динамики уже на ранних этапах терапии.

На 6-е сутки воздействия в 3-й группе ( $p_{4-1,3,5}=0,0001$ ) происходит стойкий, статистически значимый регресс по пяти клиническим признакам, а также отмечается стойкая положительная динамика — 3,2 балла в сравнении с контролем и другими экспериментальными группами, что подтверждает высокий противовоспалительный эффект (рис. 5).

При изучении гистологических препаратов, полученных в ходе эксперимента, были отмечены следующие изменения: в переднем эпителии роговицы в препаратах контрольной группы, а также в гистологических препаратах роговицы кроликов после воздействия пленок с серебром-2 и пленок с декаметоксином на 3-й день эксперимента определялось наличие дефекта с начальной эпителизацией. В препаратах после воздействия пленок с серебром-1 и инстилляций наночастиц серебра на 3-й день воздействия отмечалась неравномерная толщина эпителиального слоя с истончением до 1–2 слоев клеток, такой же эффект присутствовал в препаратах после воздействия декаметоксином на 6-й день эксперимента. Последующее изучение изменений эпителизации на 6-й опытный день показало наличие эпителия нормотипового характера в препаратах после воздействия пленок с наносеребром-1 и наносеребром-2.

При исследовании стромы роговицы в гистологических препаратах контрольной группы животных и группы после воздействия пленок с серебром-2 и пленок, содержащих декаметоксин, на 3-й день эксперимента отмечаются выраженная полиморфноклеточная инфильтрация, обилие нейтрофилов, очаги базофильной дегенерации — мукоидный отек. Однако в другой серии опыта при наложении пленок с серебром-1, а также в группе кроликов, получавших инстилляцию коллоидного раствора наночастиц серебра в конъюнктивальную полость, была определена умеренная инфильтрация с преобладанием лимфоцитов. Очаги базофильной дегенерации — мукоидный отек, этот же эффект присутствовал в препаратах после наложения пленок с декаметоксином на 6-е сутки воздействия. На 6-й день эксперимента гистологическая картина изменилась, и в препаратах группы после воздействия пленок с наносеребром-1 и наносеребром-2 преобладала слабая инфильтрация, которая местами отсутствовала, отмечалось нарушение стромального рисунка, а именно нерегулярность коллагеновых волокон.

На 3-й день эксперимента, после воздействия пленок с серебром-2 и пленок с декаметоксином, а также инстилляций наночастиц серебра в зоне лимба было отмечено резкое полнокровие сосудов, с умеренной воспалительной инфильтрацией лимфоцитами и наличием отека стромы; такой же эффект отмечался в препаратах после воздействия пленок с декаметоксином на 6-й день эксперимента. В то же время умеренная лимфоцитарная инфильтрация и умеренное полнокровие сосудов преобладали на 3-й экспериментальный день после применения пленок с серебром-1. Уже на 6-е сутки применения пленок с серебром-1 и серебром-2 отмечалось умеренное полнокровие с незначительной лимфоцитарной инфильтрацией или без нее.

Конъюнктив в гистологических препаратах имела резкое полнокровие сосудов с воспалительной инфильтрацией только в препаратах после воздействия пленок с декаметоксином. В остальных препаратах трехдневного эксперимента отмечалось умеренное полнокровие сосудов со слабой воспалительной инфильтрацией в виде лимфоцитов, тогда как при использовании только инстилляций коллоидного раствора наночастиц серебра гистологически отмечалось умеренное полнокровие сосудов без инфильтрации лимфоцитами и только лишь наличие единичных клеток; этот же эффект наблюдался на 6-й день эксперимента после воздействия пленок, содержащих серебро-1 и серебро-2.

Исследование микробной обсемененности конъюнктивальной полости кроликов после моделирования бактериального кератита показало, что до лечебного воздействия в содержимом конъюнктивальной полости был выяв-

Суммарная оценка клинических изменений, баллы

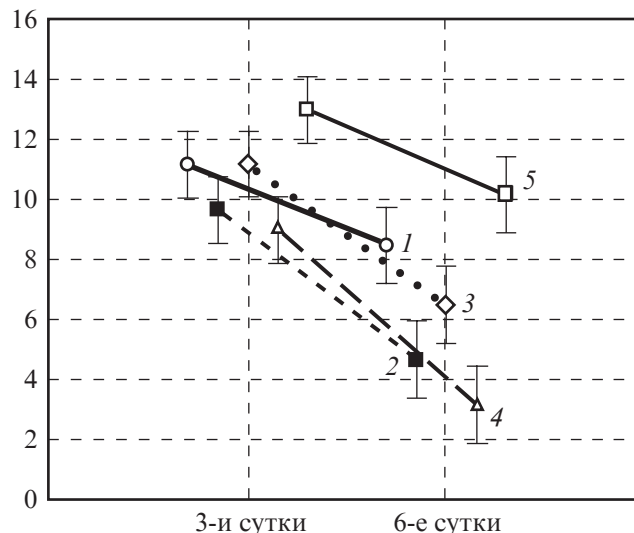


Рис. 5. Суммарная оценка динамики клинических изменений: 1 — 1-я группа (контрольная); 2 — 2-я группа; 3 — 3-я группа; 4 — 4-я группа; 5 — 5-я группа; \* —  $p < 0,05$

лен рост патогенной — *S. aureus* (14 глаз); *S. haemolyticus* (10 глаз) и условно патогенной микрофлоры — *S. epidermidis* (4 глаза). У одного кролика (2 глаза) она была смешанной и состояла из сочетания штаммов *S. epidermidis* и *Escherichia coli*.

Однако уже после терапии в контрольной и опытных группах на 3-и сутки воздействия выявлен рост патогенной флоры — *S. aureus* и *S. haemolyticus*. *S. aureus* выявили во всех экспериментальных группах на 14 глазах, кроме животных, на роговицу которых воздействовали пленками с серебром-1. *S. haemolyticus* также высевался во всех группах на 10 глазах, кроме группы контроля. После 6 дней эксперимента выявлен рост *S. aureus* в контрольной группе, группе воздействия пленками, содержащими серебро-2 и декаметоксин, всего на 10 глазах. *S. haemolyticus* был выявлен только в группах животных, получавших коллоидный раствор наночастиц серебра и пленки с декаметоксином, всего на 7 глазах. В опытной группе после 6 дней воздействия пленками с серебром-1 преобладала сапрофитная микрофлора — *S. epidermidis* на 6 глазах, а в контроле была отмечена смешанная культура — *S. epidermidis* и *Escherichia coli* на 2 глазах. У экспериментальных животных, получавших пленки с серебром-2, выявлен микст *S. aureus* и *S. epidermidis* на 4 глазах.

В результате проведенных исследований мы получили максимальный противовоспалительный эффект, быструю эпителизацию раневого дефекта и санацию конъюнктивальной полости от *S. aureus* на ранних сроках терапии в группе животных, получавших воздействие пленками,

содержащими наночастицы серебра-1, на роговицу глаза, после воспроизведения бактериального кератита средней степени тяжести, по сравнению с другими экспериментальными группами. Данный эффект может обеспечиваться за счет активации систем местного иммунитета, а именно повышения фагоцитарной активности нейтрофилов, что наблюдали мы в ранее проведенной научной работе [7].

Другие авторы также утверждают, что нанодисперсные системы могут на клеточном уровне избирательно влиять на течение воспалительного процесса, при этом основной мишенью регулирующего воздействия наночастиц являются макрофаги [18].

Предыдущими исследованиями показано, что интрадермальное введение наночастиц серебра вызывает изменения функциональной активности фибробластов, митотической активности эпителиоцитов базального слоя эпидермиса, индекса дегрануляции тучных клеток, количества макрофагов в дерме. Причем способность наночастиц повышать функциональную активность фибробластов увеличивается в ряду 20→70→30 нм [19]. Возможно, способность оказывать влияние на течение воспалительного процесса, функциональную активность эпителиальных и соединительнотканых клеток объясняет сокращение сроков эпителизации роговицы при экспериментальном бактериальном кератите. Множество авторов указывают на антибактериальную и антибиопленочную активность наночастиц серебра [2].

Следует отметить, что важна лекарственная форма воздействия, поскольку пленки с наночастицами серебра показали лучший противовоспалительный и антибактериальный эффект, нежели инстилляций. Видимо, это связано с тем, что лекарственное вещество намного дольше удерживается в слезной пленке роговицы в сравнении с минутами их ретенции после традиционных инстилляций [8]. От метода получения наночастиц серебра также зависит положительный клинический эффект терапии бактериального кератита, поскольку лучший результат наблюдался у наночастиц, полученных цитратным методом, в отличие от метода электронно-лучевого испарения и конденсации наноразмерных структур, хотя размер полученных частиц был одинаковым — 30 нм.

### Выводы

1. Анализ клинического течения и патоморфологических изменений влияния инстилляций наночастиц серебра, наносодержащих пленок и пленок с декаметоксином на течение бактериального кератита средней степени тяжести показал, что наиболее эффективным оказалось применение пленок с наночастицами серебра, полученными цитратным методом. В указанной экспери-

ментальной группе отмечена стойкая положительная динамика течения воспалительного процесса. Применение пленок с декаметоксином и инстилляций физиологического раствора (контрольная группа) не приводило к купированию воспалительного процесса к 6-м суткам. В остальных группах эксперимента к 6-м суткам наблюдения отмечались отдельные признаки воспалительного процесса.

2. На 6-е сутки экспериментальной терапии бактериального кератита средней степени тяжести у кроликов с использованием наночастиц серебра размером 30 нм в форме пленок или капель выявлено saniрующее действие на микрофлору конъюнктивальной полости.

3. Эффективность экспериментальной терапии бактериального кератита у кроликов увеличивалась в ряду: пленки с декаметоксином → пленки с наночастицами серебра, полученными методом электронно-лучевого испарения, → инстилляций коллоидного раствора наночастиц серебра размером 30 нм → пленки с наночастицами серебра, полученными цитратным методом.

**Ключові слова:** бактеріальний кератит, наночастишки срібла, експериментальна терапія.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Деев Л. А., Шаршкова М. А., Козлов Р. С., Дехнич А. В. Факторы риска, структура заболеваемости кератитом: результаты ретроспективного анализа за 2007–2009 гг. в сравнении с 1997–1999 гг. *Все новости офтальмологии*. Смоленск, 2014.
2. Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* / K. Kalishwaralal et al. Tamilnadu, India, 2010.
3. Каспарова Е. А., Собкова О. И., Ян Б. Кросслинkinг роговичного коллагена в лечении инфекционных кератитов и гнойных язв роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2017. № 6. С. 113–119.
4. Каспарова Е. А. Современные методы лечения гнойных язв роговицы. *Вестник офтальмологии*. 2016. № 5. С. 125–135.
5. New treatments for bacterial keratitis / R. L. Wong et al. *J. Ophthalmol.* 2012; 2012: 831502.
6. Чекман І. С. Нанонаука: Історичні етапи розвитку. *Інтегративна антропологія*. 2017. № 1 (29). С. 4–13.
7. Ульянов В. А., Макарова М. Б., Величко Л. Н. Влияние наночастиц серебра на местный иммунитет глаза при моделировании бактериального кератита. *Одесский медицинский журнал*. 2016. № 6 (158). С. 32–38.
8. Preparation, characterization and antimicrobial study of a hydrogel (soft contact lens) material impregnated with silver nanoparticles / B. S. Fazly Bazzaz et al. *Cont Lens Anterior Eye*. 2014.
9. Апликация контактных линз с культивированными стромальными клетками костного мозга человека животным с экспериментальной дистрофией роговицы / Ю. А. Демин и др. *Проблемы современной медицинской науки и образования*. 2008. № 6. С. 18–22.
10. Дрожжина Г. І., Вансович К. В., Гайдамака Т. Б. Спосіб моделювання бактеріального кератиту середнього

ступеня тяжкості: пат. 87119 Україна: МПК (2014.01): А61К 35/00 / заявник та патентовласник ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України». № u201308801; заявл. 15.07.2013; опубл. 27.01.2014, Бюл. № 2.

11. Влияние внешних факторов на стабильность оптических свойств наночастиц серебра / В. А. Смынгына и др. *Сенсорна електроніка і мікросистемні технології*. 2012. № 3 (9). С. 134–140.

12. Мовчан Б. О., Яковчук К. Ю. Пристрій та спосіб електронно-променевого випаровування й спрямованого осадження парового потоку на підкладку у вакуумі: пат. 98085 Україна: МПК С23С 14/24 (2006.01), С23С 14/28 (2006.01), С23С 14/30 / заявник та патентовласник Міжнародний центр електронно-променевої технології Інституту електрозварювання ім. Е. О. Патона НАН України. № а201106568; заявл. 25.05.2011; опубл. 10.04.2012, Бюл. № 7.

13. Давтян Л. Л., Тарасенко В. О., Цецура Н. В., Білоклицька Г. Ф. Стоматологічні лікарські плівки для лікування запальних стоматологічних захворювань: пат. на корисну модель 49945 Україна: А 61 К 33/00. № u 2010 02706; заявл. 10.03.2010; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9.

14. Давтян Л. Л., Рева Д. В. Обґрунтування способу введення декаметоксину та лідокаїну гідрохлориду до складу основи лікарських плівок. *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 5. С. 43–49.

15. Douset O., Lanvin M., Thillou C. Reconstituted human corneal epithelium: a new alternative to the Draize eye test for the assessment of the eye irritation potential of chemicals and cosmetic products. *Toxicol. Vitro*. 2006. Vol. 20. P. 499–512.

16. Петруня А. М., Кутайни Мухамед Абдульрахман. Изучение клинических признаков воспалительного процесса в роговой оболочке при одновременном моделировании кератита и конъюнктивита в эксперименте. *Офтальмологический журнал*. 2013. № 2. С. 83–88.

17. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів (МВ 9.9.5-143-2007): метод. вказівки. Київ, 2007. 79 с.

18. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / І. С. Чекман та ін. Київ: Поліграф плюс, 2012. 328 с.

19. Сырма Е. И., Скобеєва В. М., Ульянов В. А. Размерозависимые морфофункциональные изменения кожи крыс при введении наночастиц серебра. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 3. С. 284–287.

Поступила в редакцію 13.03.2018

Рецензент д-р мед. наук, проф. Т. В. Дегтяренко,  
дата рецензії 16.03.2018

## УДК 616.31

А. Ю. Адубецька<sup>1</sup>,

С. А. Шнайдер<sup>1</sup>, д-р мед. наук, проф.,

В. М. Скобеєва<sup>2</sup>, канд. фіз.-мат. наук, ст. н. с.

# ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА НА ЗАГОЄННЯ РАНИ ШКІРИ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

<sup>1</sup> ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії  
НАМН України», Одеса, Україна,

<sup>2</sup> Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса, Україна

---

## УДК 616.31

А. Ю. Адубецька<sup>1</sup>, С. А. Шнайдер<sup>1</sup>, В. М. Скобеєва<sup>2</sup>

# ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА НА ЗАГОЄННЯ РАНИ ШКІРИ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

<sup>1</sup> ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса, Україна,

<sup>2</sup> Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса, Україна

Досліджено вплив наночастинок срібла 30 нм і препаратів групи тіопоетинів на загоєння шкірної рани у щурів з цукровим діабетом, генетично детермінованим повільним типом ацетилювання й експериментальним пригніченням активності ферментів антиоксидантної системи. Застосування колоїдного розчину наночастинок срібла місцево та препаратів групи тіопоетинів парентерально прискорює загоєння експериментальної рани шкіри за рахунок відновлення балансу в тіол-дисульфідній системі, збільшення функціональної активності епітеліальних клітин базального шару епідермісу. Ефективність експериментальної терапії зростає в ряду: застосування колоїдного розчину наночастинок срібла 30 нм; тіопоетини; наночастинок срібла + тіопоетини.

**Ключові слова:** рана шкіри, експериментальний цукровий діабет, наночастинок срібла, тіопоетини.