

син) и системного (антибиотики, фторхинолоны) действия и предупредить развитие фагорезистентности возбудителя в процессе лечения.

Ключевые слова: декаметоксин, псевдомонадный бактериофаг, антибиотики, *Pseudomonas aeruginosa*.

Paliy G.K., Vovk I.M., Kovalenko I.M., Nazarchuk O.A., Burkot V.M.

EFFICACY OF ANTIBACTERIAL ACTION OF ANTIBIOTICS, ANTISEPTIC DECAMETOXIN AND PSEUDOMONAL BACTERIOPHAGE ON CLINICAL STRAINS OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Summary. This research presents results of combine action of decamethoxin, antipseudomonal antibiotics and pseudomonal bacteriophage on clinical isolates of *P.aeruginosa*. It is shown that antiseptics decamethoxin in dose up to 500 ?g/ml has no negative influence on bacteriophage activity. Subinhibitory concentration of decamethoxin and antibiotics enhance lytic action of pseudomonal bacteriophage in vitro. Our results allow expecting high efficacy of combine treatment at pseudomonal infection with local preparations (specific phage, decamethoxin) and parenteral antimicrobial medicines (quinolones, antibiotics), and prevent development of phage resistance in clinical strains during medical care.

Key words: decamethoxine, pseudomonal bacteriophage, antibiotics, *Pseudomonas aeruginosa*.

Рецензент - д.мед.н., проф. Ковальчук В.П.

Стаття надійшла до редакції 27.11.2015р.

Палій Гордій Кіндратович - д.мед.н., проф., засл. діяч науки і техніки України, зав. кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 57-03-79; g_paliy@ukr.net

Вовк Ірина Миколаївна - к.мед.н., доц. кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 57-03-79; vovk_ira@list.ru

Коваленко Ірина Миколаївна - к.мед.н., доц. кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 57-03-79; kovalenko.in@gmail.com

Назарчук Олександр Адамович - к.мед.н., асист. кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 097 729-37-61; nazarchukoa@gmail.com

Буркот Віта Михайлівна - ст. лаб. кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 57-03-79

© Середа К.В., Дрожжина Г.І., Гайдамака Т.Б., Віт В.В., Шаблій В.А., Лобинцева Г.С.

УДК: 617.713-002.9-089.84:618.446-036

¹Середа К.В., ¹Дрожжина Г.І., ¹Гайдамака Т.Б., ¹Віт В.В., ²Шаблій В.А., ²Лобинцева Г.С.

¹ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України" (вул. Французький бульвар, 49/51, м. Одеса, Україна, 65000), ²Інститут клітинної терапії (пр-т Космонавта Комарова, 3, м. Київ, Україна, 03680)

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ АМНІОТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ЛЮДИНИ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ТИПУ ЇЇ ФІКСАЦІЇ НА МОДЕЛІ БАКТЕРІАЛЬНОГО КЕРАТИТУ

Резюме. Актуальність роботи визначається недостатнім вивченням ефективності трансплантації амніотичної мембрани при бактеріальних кератитах. Метою дослідження було вивчити в експерименті особливості протизапальної дії життєздатної кріоконсервованої амніотичної мембрани людини при різних хірургічних техніках її фіксації на моделі бактеріального кератиту. Трансплантація життєздатної амніотичної мембрани проведена у 30 кроликів породи Шиншила на розробленій моделі бактеріального кератиту із застосуванням inlay техніки. Через 1 місяць після трансплантації амніотичної мембрани у частини кроликів спостерігали набряк стромі рогівки, точкову інфільтрацію і наявність васкуляризації у межах одного квадранту. Таким чином, при однаковій глибині поразки рогової оболонки бактеріальним інфекційним процесом перевагу слід віддавати техніці біологічного покриття, як менш травматичному виду оперативного втручання, яке супроводжується меншою інтенсивністю запальної реакції з боку тканини рогівки.

Ключові слова: бактеріальний кератит, кріоконсервована амніотическая мембрана, експеримент.

Вступ

Амніотична мембрана (АМ) людини завдяки своїм антибактеріальним, антиангіогенним, протизапальним та антифіброblastним властивостям зайняла своє місце в реконструктивній хірургії очної поверхні [11, 15, 21, 23]. Завдяки таким властивостям амніотична мембрана людини може відігравати важливу роль в лікуванні інфекційного кератиту.

У численних зарубіжних експериментальних і клінічних дослідженнях доведена ефективність трансплантації амніотичної мембрани при різних запальних, дистрофічних і дегенеративних захворюваннях рогівки

[10, 13, 16, 18, 20, 22]. Однак ефективність трансплантації при бактеріальних кератитах залишається найменш вивченою [9, 12, 14]. В даний час у офтальмології застосовується як нативна, так і консервована амніотична мембрана. Інститутом клітинної терапії м. Київ був розроблений новий метод кріоконсервації амніону людини, що забезпечує безпеку життєдіяльності епітеліальних і стромальних клітин АМ [5]. Зміст методу полягає в кріоконсервації мембрани при -196 °С під захистом 5 % диметилсульфоксиду по чотирьох етапній програмі повільного заморожування з контрольованим криста-

лоутворенням. Дана технологія криоконсервації передбачає збереження життєдіяльності клітин амніотичної мембрани після її розморожування, що зводить втрату властивостей амніону до мінімуму і може сприяти підвищенню ефективності даної методики.

Стандартної техніки трансплантації амніотичної мембрани не існує. Є безліч суперечливих публікацій з приводу правильного розташування амніону на поверхні ока. Мембрана може бути фіксована до очної поверхні основною мембраною епітелію зверненою вгору і стромальною стороною зверненою вниз до ока (краща техніка) або стромальною стороною амніону вгору. Стромальна сторона амніотичної мембрани липка як склоподібне тіло, а сторона епітеліальної мембрани блискуча і не липка.

Існує кілька принципово різних способів трансплантації амніотичної мембрани: "inlay", "overlay" і "сендвіч" техніка.

Техніка "inlay". Амніотичну мембрану розміщують безпосередньо на зону ураження рогівки, не покриваючи інтактну її поверхню за межами епітеліального дефекту, і фіксують до нього окремими швами [3, 4, 7]. В результаті амніон приймає на себе роль базальної мембрани, на яку і наростають епітеліальні клітини з навколишньої поверхні рогівки. В останні роки з'явилися різні варіанти використання даної техніки. Наприклад, додатково круглим ножом з боку стромально-епітеліального дефекту до периферії проводять кругове розшарування рогівки шириною 1,5 - 2 мм. Трансплантат розміщують епітеліальною стороною догори. За допомогою шпателя краї трансплантата заправляють в розшаровану строму рогівки [2, 8].

Техніка "overlay" має на увазі повне покриття рогівки із захопленням лімбальної зони. При цій техніці амніотична мембрана виконує насамперед роль біологічної контактної лінзи [8].

Сендвіч-техніка. Цей метод являє собою комбінацію з двох описаних вище, і в основному використовується при важких ураженнях очної поверхні, наприклад, глибоких і великих виразках рогівки [18, 19]. Основною метою покриття є захист трансплантату амніоном і сприяння його епітелізації [17, 18].

Мета - вивчити в експерименті особливості проти-запальної дії життєздатної криоконсервованої амніотичної мембрани людини при різних хірургічних техніках її фіксації на моделі бактеріального кератиту.

Матеріал та методи

Експериментальне дослідження проводилося на 30 очах 30 кроликів породи Шиншила вагою 2,5 - 3,0 кг, яких утримували при кімнатній температурі на звичайному лабораторному раціоні. Оперативні втручання виконували на базі віварію ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України" в умовах асептики і антисептики. Експеримент проводили з виконанням етичних норм, передбачених міжнародни-

ми принципами Європейської конвенції "Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та в інших наукових цілях" (Страсбург, 1986) і норм біомедичної етики, схвалених першим національним конгресом України з біоетики (2001р.), а також закону України №3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" (Київ, 2006).

Моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості проводили за запропонованим нами способом, який полягав в пошаровій трепанації рогової оболонки кролика до 2/3 товщини стромы з інфікуванням рогівки шляхом 2х-кратної інстиляції в кон'юнктивальну порожнину 1 мл бактеріальної суспензії патогенного штаму *Staphylococcus aureus* (10⁹ клітин/мл), отриманого від хворого, і подальшої субкон'юнктивальної ін'єкції 0,1 мл дипроспана [5]. Через 2 тижні після моделювання кератиту у 30 тварин (30 очей) проводили трансплантацію амніотичної мембрани. Для розморожування мембрани криопробірки виймали з посудини Дюара з рідким азотом і занурювали у водяну баню, нагріту до температури +38 - +40 °С.

Об'єктивно на момент операції спостерігали ерозію рогівки 3-5 мм в діаметрі, набряк в стромі рогівки і помірно виражену інфільтрацію. Використовували техніку inlay (1 шар) з фіксацією амніону до рогівки вісьмома вузлуватими швами нейлон 10/00. Повіки тварин зшивали двома П-подібними швами, залишаючи в медіальному боці щілину для огляду. Термін спостереження склав 1 місяць. Тварин виводили з експерименту на 7, 14 і 30 добу (по 10 тварин на кожен термін) шляхом введення в вушну вену 1,0 см³ повітря, з подальшим забором рогової оболонки для морфологічного дослідження.

Групу контролю склали 10 кроликів з модельованим бактеріальним кератитом, які отримували традиційну консервативну терапію. Для доказу життєздатності криоконсервованої мембрани проводили культивування її клітин.

Метод культивування клітин амніотичної мембрани. Криоконсервовану АМ розморожували у водяній бані при +38-40 °С до появи рідкої фази, з подальшим розморожуванням при кімнатній температурі. До АМ в розчині криопротектора повільно, по краплях, додавали розчин Хенкса у співвідношенні 1:10 з постійним помішуванням. Після цього АМ витягували з розчину, який містить ДМСО і переносили в розчин Хенкса. Амніотичну мембрану подрібнювали в розчині Хенкса ножицями до фрагментів 3x3 мм і занурювали у ростову середу альфа-MEM (HyClone), що містить 10% фетальної бичачої сироватки (HyClone), 1% розчин амінокислот RPMI (Sigma), розчин стрептоміцину 50 мкг/мл і пеніциліну 100 ОД/мл (Sigma). Культивування проводили в умовах підвищеної вологості, 5% CO₂ при 37 °С.

Клінічне дослідження. Протягом місяця після трансплантації амніотичної мембрани проводилися щоденні огляди на предмет спроможності швів на повіках кро-

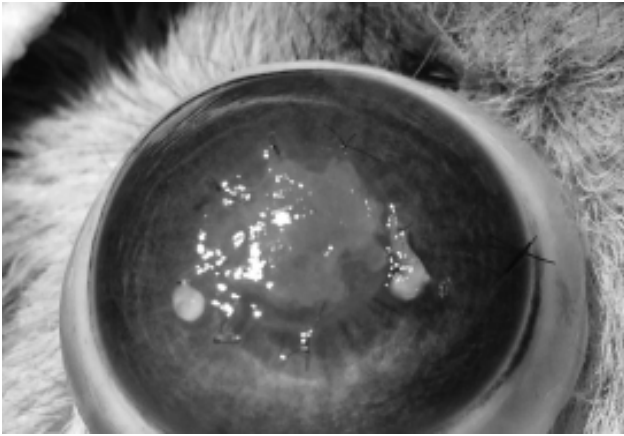


Рис. 1. Кролик № 5. Сьома доба після оперативного втручання. Кон'юнктива блідо-рожева, виділень немає. Амніотична мембрана збережена на поверхні рогівки, адаптована вузловатими швами. Помірно виражений набряк у стромі рогової оболонки.

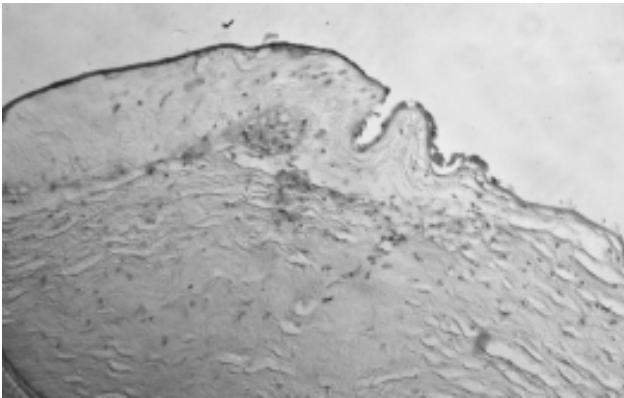


Рис. 2. Кролик № 3. Сьома доба після оперативного втручання. Набряк зовнішніх шарів стромі рогової оболонки. Нерівномірний розподіл і зменшення кількості кератоцитів. Фокальна денатурація колагенових пластин стромі. Поверхня рогової оболонки частково покрита тонкою епітеліальною тканиною, що складається з 2-3 шарів клітин. Гематоксилін-еозин. X 40.

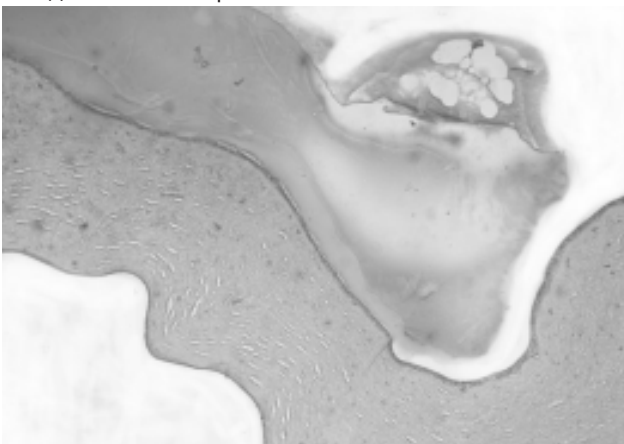


Рис. 3. Кролик № 5. Сьома доба після оперативного втручання. Рогова оболонка повністю покрита стоншеним епітелієм, що складається з 2-3 шарів епітеліоцитів без диференціації по шарам. До епітеліальної поверхні прилягає частково розсмоктана амніотична оболонка. Відсутній набряк стромі рогової оболонки. Гематоксилін-еозин. X 40.

лікв, наявності та характеру кон'юнктивального вмісту, а також наявності амніотичної мембрани на поверхні рогівки, що можливо було побачити через щілину в медіальному куті ока. На момент виведення тварин з експерименту (7, 14, 30 доба) після розкриття повік проводили флюоресцеїновий тест для оцінки ступеня епітелізації поверхні рогівки.

Морфологічне дослідження. Енуклеовані очні яблука фіксували в 10% нейтральному формаліні, заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином і за Ван-Гизоном і досліджували з використанням мікроскопа Jenamed-2.

Результати. Обговорення

На сьому добу після трансплантації амніотичної мембрани при розкритті повік спостерігали помірну гіперемію кон'юнктиви у чотирьох кроликів (4 ока) і відсутність виділень у всіх випадках (10 очей). У двох кроликів (2 ока) мембрана була збережена на поверхні рогівки, у двох (2 ока) - повністю лізована і у шести (6 очей) - частково лізована. Відзначали епітелізацію поверхні рогівки і наявність помірно вираженого набряку у стромі рогівки у восьми випадках (8 очей) і сильно вираженого в двох випадках (2 ока) (рис. 1).

Під час гістологічного дослідження рогових оболонок у всіх випадках виявлявся набряк стромі. При цьому зазначалося дифузне або фокальне зменшення кількості кератоцитів і їх нерівномірний розподіл. Найбільш вираженим був набряк в поверхневих шарах стромі рогівки, що проявлявся формуванням її сітчастої структури (рис. 2). У цих місцях кератоцити практично були відсутні. У більш глибоких шарах стромі відзначали фокальний мукоїдний набряк колагенових стромальних пластин. У цей період часу виражених запальних змін в центральних ділянках рогівки не вияв-

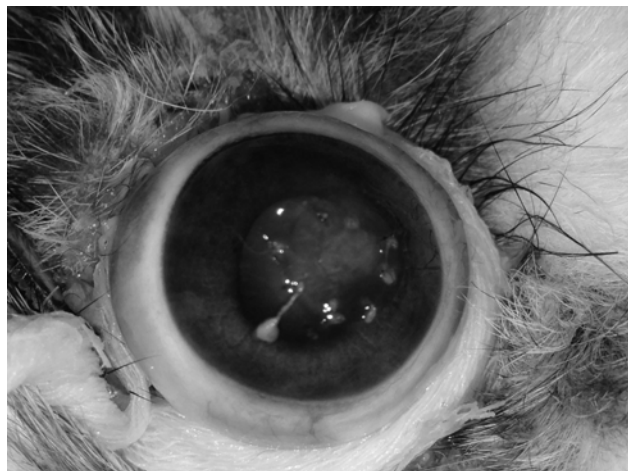


Рис. 4. Кролик № 6. Дві неділі після оперативного втручання. Кон'юнктива блідо-рожева, виділення відсутні. Амніотична мембрана частково лізована. Поверхня рогівки епітелізована, помірно виражений набряк у передніх шарах стромі.

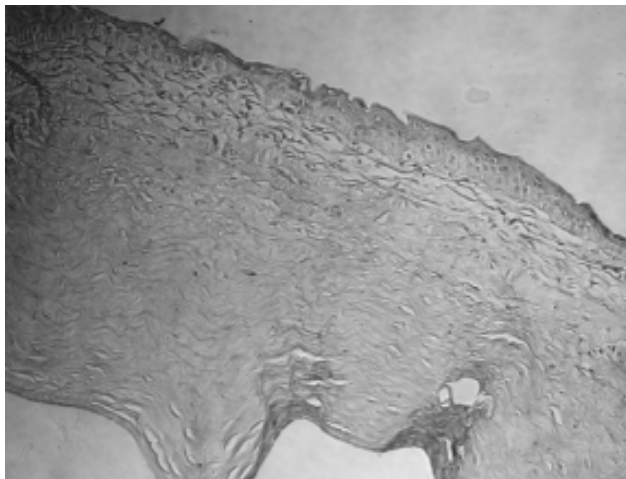


Рис. 5. Кролик № 2. Дві неділі після оперативного втручання. Повна епітелізація поверхні рогової оболонки з диференціацією епітеліоцитів по шарам. Зберігся середнього ступеня вираженості набряк передніх шарів стріми рогівки. Ознаки запалення відсутні. Ван-Гізон. X 140.

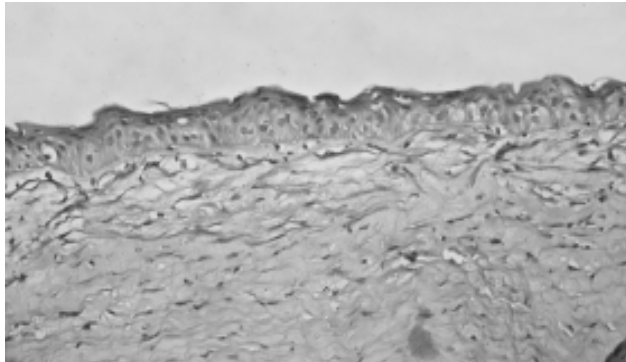


Рис. 7. Кролик № 1. Один місяць після оперативного втручання. Епітелізація центральних ділянок поверхні рогової оболонки з диференціацією клітин по шарах. Незначний набряк частини епітеліоцитів. Незначний набряк передніх шарів стріми. Ознаки запалення відсутні. Гематоксилін-еозин. X 140.

лялось. Запальні інфільтрати визначались поблизу лімба і навколо шовного матеріалу.

Уже на сьому добу спостерігали покриття поверхні рани дуже тонким епітеліальним шаром, що складався з 2-3 шарів епітеліальних клітин. При цьому відзначали часткове збереження амніотичної мембрани у стані лізису (рис. 2, 3).

Через 2 тижні після трансплантації амніотичної мембрани спостерігали помірну гіперемію кон'юнктиви у чотирьох кроликів (4 ока) і відсутність кон'юнктивального змісту у всіх випадках. У чотирьох кроликів (4 ока) мембрана була повністю збережена на поверхні рогівки, у шести (6 очей) - частково лізована. Рогівка була епітелізована у всіх випадках. У чотирьох кроликів (4 ока) характерним була наявність помірно вираженого набряку в стрімі рогівки. У двох випадках (2 ока) спостерігали васкуляризацію (рис. 4).

Через два тижні після операції гістологічно виявля-

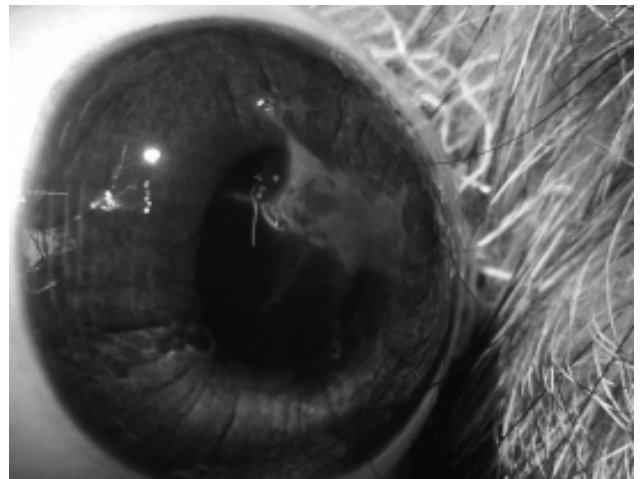


Рис. 6. Кролик № 7. Один місяць після оперативного втручання. Кон'юнктива блідо-рожева, виділення відсутні. Амніотична мембрана повністю лізована. Нерівномірне неінтенсивне помутніння рогівки, поверхня епітелізована, набряк у стрімі відсутній.

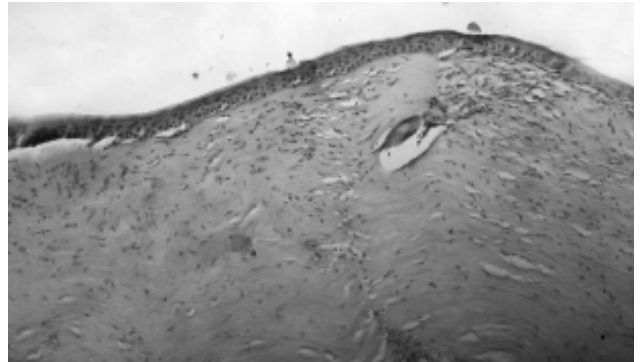


Рис. 8. Кролик № 4. Один місяць після оперативного втручання. Епітелізація передньої поверхні рогової оболонки, включаючи місце розташування шовного матеріалу. Відзначається відсутність кератоцитів і гомогенізація колагенових волокон уздовж проходження шовного матеріалу. Незначна лімфоїдна інфільтрація стріми. Гематоксилін-еозин. X 70.

лось збереження набряку стріми рогової оболонки, але у меншій кількості тварин і в меншій мірі вираженості (рис. 5). Поверхня рогової оболонки повністю покрита шаром епітеліальних клітин, що складалися із 5-6 шарів епітеліоцитів вже частково диференційованих по шарам. Необхідно відзначити, що подібна диференціація була відсутня в місцях розташування шовного матеріалу. У частині випадків епітелізація в цих місцях повністю відсутня, а навколо шовного матеріалу утворювався запальний інфільтрат, що складався переважно з лімфоцитів.

Через 1 місяць після трансплантації амніотичної мембрани у шести кроликів (6 очей) спостерігали блідо-рожеву кон'юнктиву і у чотирьох кроликів (4 ока) - слабку гіперемію кон'юнктиви. У чотирьох кроликів (4 ока) мембрана залишалася збереженою на поверхні рогівки, у чотирьох кроликів (4 ока) частково лізована і у двох (2 ока) - повністю лізована. У двох випадках (2 ока) набряк в стрімі рогівки був відсутній, у двох (2

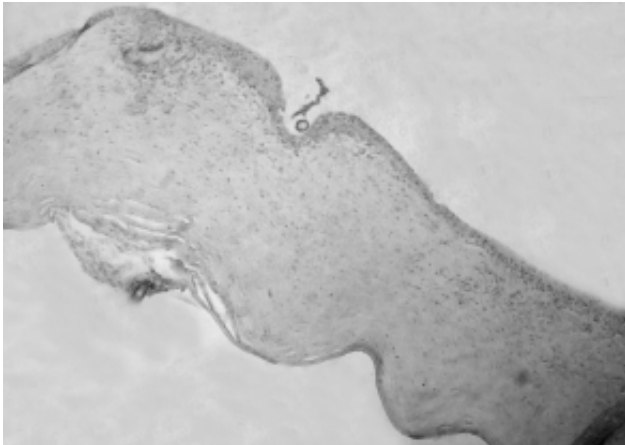


Рис. 9. Кролик № 8. Один місяць після оперативного втручання. Передня поверхня рогівки покрита багатошаровим плоским епітелієм диференційованим по шарам, включаючи місце розташування шовного матеріалу. Реактивна проліферація ендотеліальних клітин з утворенням багатошарової волокнистої тканини. Ван-Гізон. Х 70.

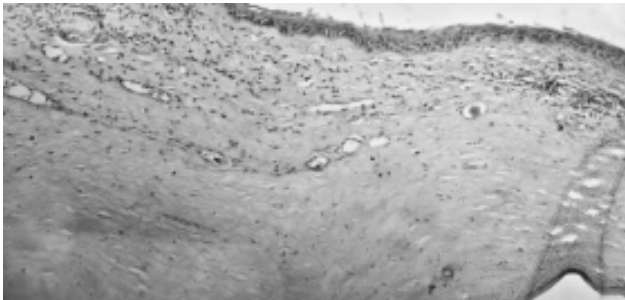


Рис. 10. Кролик № 12. Один місяць після оперативного втручання. Васкуляризація поверхневих шарів строми рогівки з незначними ознаками залишкових запальних змін. Гематоксилін-еозин. Х 70.

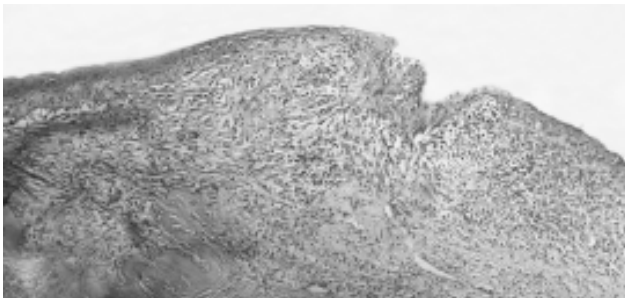


Рис. 11. Кролик № 15. Один місяць після оперативного втручання. Виражена фібробластична реакція строми рогової оболонки з залишковими явищами запалення і набряку в місцях проходження шовного матеріалу. Гематоксилін-еозин. Х 70.

ока) - був дифузним, в шести (6 очей) - слабо вираженим. У чотирьох кроликів (4 ока) спостерігали точкову інфільтрацію і наявність васкуляризації в межах одного квадранту (рис. 6).

На тридцять добу після операції відзначалася повна епітелізація поверхні рани, але при цьому диференціація по шарам була присутня тільки в центральних ділян-

ках рогової оболонки (рис. 7). Поблизу шовного матеріалу епітеліальний шар був витончений, а епітеліоцити були дегенеративно змінені. У цих місцях зберігався набряк строми рогової оболонки. Необхідно відзначити, що дегенеративні зміни строми відзначалися на всьому протязі де проходив крізь строму шовний матеріал (рис. 8). При цьому в області внутрішніх шарів строми рогової оболонки поблизу шовного матеріалу відзначалася реактивна проліферація ендотеліальних клітин з утворенням багатошарової волокнистої тканини (рис. 9). У ряді випадків відзначалися явища початкової васкуляризації строми рогової оболонки, особливо в поверхневих шарах і поблизу шовного матеріалу.

Через місяць після проведення оперативного втручання гістологічно відзначалась повна диференціація епітеліальних клітин по шарах, хоча місцями відзначалось потовщення епітелію і незначний його акантоз. Незначна кількість подібних клітин піддалася вакуольній дегенерації. Супроводжувався цей процес зниженням інтенсивності набряку строми рогівки. В області лімба і шовного матеріалу зберігався набряк і запальна інфільтрація рогівки. У деяких випадках виражена васкуляризація поверхневих шарів строми рогівки і її фіброз (рис. 10, 11). Більш виражена запальна реакція в разі пошарової трансплантації може бути обумовлена особливостями техніки оперативного втручання (накладення вузлуватих швів на рогівку) і відповідно більшою травматизацією рогової оболонки. В післяопераційному періоді перебування швів на поверхні рогівки супроводжується посиленою секрецією протеолітичних ферментів і надає механічне подразнення, що сприяє розвитку запальної реакції з появою васкуляризації до кінця спостереження у чотирьох тварин. Ймовірно, що менші розміри амніотичної мембрани при використанні пошарової техніки, в порівнянні з біологічним покриттям, зумовлюють і менш виражений протизапальний ефект.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При використанні пошарової техніки трансплантації амніотичної мембрани з її фіксацією вузлуватими швами до поверхні рогівки спостерігалася більш виражена, в порівнянні з технікою біологічного покриття запальна реакція [2]. Про це свідчить наявність на 30 добу після пошарової трансплантації помірно вираженого набряку строми рогівки в центрі у шести тварин і дифузного набряку у двох тварин. У чотирьох випадках характерним була наявність точкової інфільтрації в навколишній рогівці.

2. При однаковій глибині дефекту рогової оболонки бактеріальним інфекційним процесом перевагу слід віддавати техніці біологічного покриття, як менш травматичному виду оперативного втручання, яке супроводжується меншою інтенсивністю запальної реакції з боку тканини рогівки.

У перспективі планується проведення клінічних випробувань щодо використання криоконсервованої амніотичної мембрани у пацієнтів з інфекційними кератитами.

Список літератури

1. Драваджян З. Х. Применение амниотической мембраны при перфорациях роговицы / З.Х. Драваджян, А.В. Амбариумян, А.В. Овакимян // Сборник научных трудов. Российский общенациональный офтальмологический форум. - Т. 2. - М., 2009. - С. 280-284.
2. Влияние биологического покрытия роговицы жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраной на особенности течения моделированного бактериального кератита / Г.И. Дрожжина, Е.В. Середа, Т.Б. Гайдамака [и др.] // Офтальмолог. журнал. - 2015. - № 1. - С. 103-109.
3. Новицкий И. Я. Место трансплантации амниотической оболочки влечения заболеваний роговицы, сопровождающихся неоваскуляризацией / И.Я. Новицкий // Вестник офтальмологии. - 2003. - № 6. - С. 9-11.
4. Новицкий И. Я. Трансплантация амниотической оболочки с фиксацией в слоях роговицы / И.Я. Новицкий, М.Н. Сарахман, Т.М. Смаль // Офтальмохирургия. - 2003. - № 3. - С. 4-7.
5. Патент Украины № 49759 "Спосіб здійснення роботи низькотемпературного банку біологічних об'єктів" / Лобынцева Г.С. опубл. Бюл. № 11. 15.11.2004.
6. Патент Украины № 87119 "Спосіб моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості" / Г.И. Дрожжина, Е.В. Вансович, Т.Б. Гайдамака. опубл. Бюл. № 2. 27.01.2014.
7. Степанов В. К. Применение амниотической оболочки в качестве защитного биопокрытия пораженной роговицы и роговичного трансплантата при кератопластике / В.К. Степанов, О.В. Иванов // Материалы IX Съезда офтальмологов России. - Москва, - 2010. - С. 319.
8. Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction / A. Azuara-Blanco, C.T. Pillai, H.S. Dua // Br. J. Ophthalmol. - 1999. - Vol. 35. - P. 399-402.
9. Amniotic membrane transplantation in severe bacterial keratitis / J.J. Gicquel, R.A. Bejjani, P. Elies [и др.] // Cornea. - 2007. - Vol. 26. - P. 27-33.
10. Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders / O. Gris, Z. Del Campo, C. Wolley-Dod [et al.] // Cornea. - 2002. - Vol. 21. - P. 22-27.
11. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane / Y. Hao, D.H. Ma, D.G. Hwang [et al.] // Cornea. - 2000. - Vol. 19. - P. 348-352.
12. Barequet I. S. Effect of Amniotic Membrane Transplantation on the Healing of Bacterial Keratitis / I.S. Barequet, Z. Habot-Wilner, N. Keller [et al.] // IOVS. - 2007. - Vol. 23. - P. 124-130.
13. Amniotic membrane transplantation in refractory neurotrophic corneal ulcers: a randomized, controlled clinical trial / S. Khokhar, T. Natung, P. Sony, [et al.] // Cornea. - 2005. - Vol. 24. - P. 654-660.
14. Amniotic membrane transplantation in infectious corneal ulcer / J.S. Kim, J.C. Kim, T.W. Hahn, W.C. Park // Cornea. - 2001. - Vol. 20. - P. 720-726.
15. Antibacterial properties of human amnion and chorion in vitro / N. Kjaergaard, M. Hein, L. Hyttel [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. - 2001. - Vol. 94. - P. 224-229.
16. Prabhasawat P. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation / P. Prabhasawat, N. Tesavibul, W. Komolsuradej // Br. J. Ophthalmol. - 2001. - Vol. - 85. - P. 1455-1463.
17. Histopathology and ultrastructure of human corneas after amniotic membrane transplantation / B. Seitz, M. D. Resch, U. Schlotzer-Schrehardt [et al.] // Arch. Ophthalmol. - 2006. - Vol. 124. - P. 1487-1490.
18. Seitz B. Amniotic membrane transplantation. An indispensable therapy option for persistent corneal epithelial defects / B. Seitz // Ophthalmologie. - 2007. - Vol. 104. - P. 1075-1079.
19. Sippel K.C. Amniotic membrane surgery / K.C. Sippel, J.J. Ma, C.S. Foster // Curr. Opin. Ophthalmol. - 2001. - Vol. 12. - P. 269-281.
20. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetoceles, and deep ulcers / A. Solomon, D. Meller, P. Prabhasawat [et al.] // Ophthalmology. - 2002. - Vol. 109, № 4. - P. 694-703.
21. Antibacterial properties of human amniotic membranes / W.P. Talmi, L. Sigler, E. Inge [et al.] // Placenta. - 1991. - Vol. 12. - P. 285-288.
22. Thatte S. Amniotic membrane transplantation: An option for ocular surface disorders / S. Thatte // Oman. J. Ophthalmol. - 2011. - Vol. 4, № 2. - P. 67-72.
23. Tseng S.C. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix / S.C. Tseng, D.Q. Li, X. Ma // J. Cell Physiol. - 1999. - Vol. 179. - P. 325-335.

Середа Е.В., Дрожжина Г.И., Гайдамака Т.Б., Вит В.В., Шаблій В.А., Лобынцева Г.С. ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ЧЕЛОВЕКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ЕЕ ФИКСАЦИИ НА МОДЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА

Резюме. Актуальность работы определяется недостаточным изучением эффективности трансплантации амниотической мембраны при бактериальных кератитах. Целью исследования было изучить в эксперименте особенности противовоспалительного действия жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека при различных хирургических техниках ее фиксации на модели бактериального кератита. Трансплантация жизнеспособной амниотической мембраны проведена у 30 кроликов породы Шиншилла на разработанной модели бактериального кератита с применением inlay техники. Через 1 месяц после трансплантации амниотической мембраны у части кроликов наблюдали отек стромы роговицы, точечную инфильтрацию и наличие васкуляризации в пределах одного квадранта. Таким образом, при одинаковой глубине поражения роговой оболочки бактериальным инфекционным процессом предпочтение следует отдавать технике биологического покрытия, как менее травматическому виду оперативного вмешательства, которое сопровождается меньшей интенсивностью воспалительной реакции со стороны ткани роговицы.

Ключевые слова: бактериальный кератит, криоконсервированная амниотическая мембрана, эксперимент.

Sereda K.V., Drozhzhyna G.I., Gaidamaka T.B., Vit V.V., Shablii V.A., Lobintseva G.S. FEATURES OF INFLUENCE OF CRYOPRESERVED HUMAN AMNIOTIC MEMBRANE DEPENDING ON THE TYPE OF ITS FIXATION ON THE BACTERIAL KERATITIS MODEL

Summary. *The study is important due to insufficient investigation of amniotic membrane transplantation efficiency in bacterial keratitis. The objective was to study in the experiment features of anti-inflammatory action of viable cryopreserved human amniotic membrane on the model of bacterial keratitis using different surgical techniques. Transplantation of viable cryopreserved amniotic membrane was performed in 30 Chinchilla rabbits on the developed model of bacterial keratitis using inlay technique. In one month after transplantation in several rabbits corneal edema infiltration and vascularization were found. At the same depth of the corneal destruction by bacterial infectious process biological covering technique should be preferred as less traumatic surgical intervention, which is accompanied by a lower inflammatory response.*

Key words: bacterial keratitis, cryopreserved amniotic membrane, experiment.

Рецензент - д.мед.н., ст.н.с. Усов В.Я.

Стаття надійшла до редакції 20.11.2015 р.

Середа Катерина Віталіївна - врач-офтальмолог, аспірант ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України"; +38 097 906-32-85; evsereda08@gmail.com

Дрожжина Галина Іванівна - проф., д.мед.н., зав. відділом патології рогівки ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України"; +38 050 103-73-22

Гайдамака Тетяна Борисівна - д.мед.н., ст.н.с. відділу патології рогівки ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України"; +38 067 481-74-32; drgaydamaka@gmail.com

Віт Валерій Вікторович - д.мед.н., проф., зам директора з наукової роботи ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України"; +38 067 945-90-27

Шаблій Володимир Анатолійович - к.б.н., зам директора Кріобанку Інституту клітинної терапії; +38 050 444-78-24; v_shabliy@ukr.net

Лобинцева Галина Степанівна - к.б.н., директор Кріобанку Інституту клітинної терапії; +38 044 206-66-72

© Чернявская Е.А., Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В.

УДК: 616.12-092.18-056.52-092.4:612.649.011.87:615.014.41

Чернявская Е.А., *Невзоров В.П., Бабийчук В.Г., Мартынова Ю.В., Кулик В.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, отдел криофизиологии (г. Харьков, ул. Переяславская, 23, 61015, Украина); *ГУ Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины лаборатория патоморфологии и экспериментальной хирургии (въезд Балакирева, 1, г. Харьков, 61018, Украина)

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК КАРДИОМИОЦИТОВ МИОКАРДА МОЛОДЫХ КРЫС С АЛИМЕНТАРНЫМ ОЖИРЕНИЕМ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА КОРДОВОЙ КРОВИ

Резюме. *Целью исследования было изучить динамику изменений ультраструктурной архитектоники кардиомиоцитов миокарда молодых крыс с алиментарным ожирением на фоне введения криоконсервированного препарата ядродержащих клеток кордовой крови. Моделирование алиментарного ожирения осуществляли по методике В.Г. Баранова путем содержания животных на гиперкалорийном рационе. Размороженный препарат ядродержащих клеток кордовой крови человека, вводили внутривенно, однократно. В ходе исследования было установлено, что ультраструктурная организация кардиомиоцитов миокарда молодых контрольных животных характеризовалась высокой метаболической активностью этих клеток. У молодых крыс с алиментарным ожирением развиваются катаболические процессы, структурно проявляющиеся в появлении в цитоплазме кардиомиоцитов включений липидов, липофусцина и вторичных лизосом. Через сутки после введения препарата молодым животным с ожирением наблюдается умеренное повышение метаболической и репаративной активности в кардиомиоцитах миокарда, о чем свидетельствует увеличение полисом, рибосом и гранул гликогена, а также снижение количества вторичных лизосом, включений липидов и липофусцина. Описанные изменения сохраняются в отдаленные сроки экспериментальных исследований.*

Ключевые слова: алиментарное ожирение, ядродержащие клетки кордовой крови, кардиомиоциты, митохондрии, крысы.

Введение

Ожирение без преувеличения можно назвать эпидемией мирового масштаба, поскольку количество лиц, как среди взрослого, так и среди детского населения, которые имеют избыточную массу тела, постоянно увеличивается [3]. Ожирение является хроническим полиэтиологическим заболеванием, связанным с влиянием ряда генетических и неврологических факторов, изменением функций эндокринной системы, стилем жизни и пищевым поведением пациента, а также с на-

рушением энергетического баланса [6]. Особенно неблагоприятным в прогностическом плане является алиментарное ожирение (АО). К наиболее частым болезням, которые ассоциируются с АО относят артериальную гипертензию, нарушение углеводного обмена, сердечную и дыхательную недостаточность и др. [4] Ожирение считается неинфекционной эпидемией XXI века в связи с высоким риском развития сердечно-сосудистой патологии, ранней инвалидизацией и преждевре-