

Міністерство охорони здоров'я України
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

Кваліфікаційно-наукова праця
на правах рукопису

Дорошенко Анна Ігорівна

УДК 615.015:546.57:541.182.024:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

Сорбційна та протимікробна ефективність композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом

14.03.05 – фармакологія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____

Підпис

Ініціали та прізвище здобувача

Науковий керівник Зайченко Ганна Володимирівна, доктор медичних наук,
професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Дорошенко А. І. Сорбційна та протимікробна ефективність композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом. – Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2020.

У глобальних масштабах захворювання, викликані стійкими до антибіотиків мікроорганізмами, уже зараз призводять, як мінімум, до 700 тисяч випадків смерті на рік. У разі бездіяльності цей показник може зрости до 2050 р. до 10 млн випадків смерті в світі. Без послідовних зусиль щодо стримування стійкості до протимікробних препаратів за період 2015–2050 рр. в країнах із високим рівнем доходу може померти близько 2,4 млн осіб.

У дисертаційній роботі наведено нове вирішення актуальної проблеми фармакології – за допомогою фармакологічних, бохімічних, морфологічних, планіметричних, статистичних методів дослідження теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність застосування композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом (НДК+ПГМГ-ГХ) для лікування термічних та інфікованих ушкоджень шкіри.

Дослідження гострої токсичності композиту НДК+ПГМГ-ГХ проводилося на 71 білій безпородній миші (47 самках та 24 самцях) віком 2–2,5 місяці та масою 18–22 г.

Визначення адсорбційних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ проводили на маркерних речовинах метиленовий синій, ціанокобаламін, сироватковий альбумін людський та желатин при рН = 6, що відповідає рН у рановій поверхні.

Протимікробна активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ визначалася методом серійних розведень на мікроорганізмах: *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* і *K. pneumoniae* і *C. albicans*. Також нами визначалося вивільнення

активної субстанції з сорбенту (максимальний час збереження специфічної антимікробної дії) методом дифузії у рідкі поживні середовища стосовно клінічного штаму *P. aeruginosa* 449.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на біоплівку визначали із застосуванням мікропланшета.

Дослідження впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ на термічне ураження шкіри було виконане на 24 самках статевозрілих безпородних білих щурів масою 200–250 г. Усі тварини були розподілені на 4 групи, у кожній з яких по 6 щурів: 1 – інтактні; 2 – експериментальний опік (без лікування, контроль), 3 – опік + хлоргексидин (ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна), препарат порівняння; 4 – опік + композит НДК+ПГМГ-ГХ, основна група.

Експеримент проводився на моделі термічного опіку, який викликали приладом з установленою температурною шкалою та електропаяльником, на кінці якого кріпиться насадка з металевою пластиною згідно з рекомендаціями Яковлевої Л. В. (2013). Площа опіку становила 400 мм², ступінь – II. Час експозиції нагрітої до 200 °С контактної пластинки складав 4 сек, що дозволяє викликати опік II ступеня. На наступну добу після моделювання опіку досліджувані препарати хлоргексидин та композит НДК+ПГМГ-ГХ наносили тонким шаром на уражену ділянку протягом всього періоду експерименту (28 діб). За поведінкою, харчовою та питною активністю, масою тіла та рівнем виживання визначали загальний стан експериментальних тварин. Ефективність лікування оцінювали за місцевим проявом ранового процесу: гіперемія, набряк, епітелізація, депітелізація; зменшення площі та швидкості закриття ранового дефекту, а також за морфологічними особливостями загоєння та імунологічними показниками – цитокіновим профілем, а також показниками окислювально-антиоксидантного гомеостазу.

Протимікробну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ *in vivo* проводили на моделі абсцесу, викликаного *Pseudomonas aeruginosa*. Піддослідні тварини – 24 самки безпородних білих щурів масою 200–250 г – були розподілені на 4 групи по 6 тварин: інтактні тварини; інфіковані тварини (контроль патології),

інфіковані тварини, яких лікували хлоргексидином, та інфіковані тварини, яких лікували композитом НДК+ПГМГ-ГХ.

Гнійний абсцес моделювали шляхом підшкірного введення у ділянку спини між лопатками 1,5 мл суспензії добової культури *Pseudomonas aeruginosa*. Протягом наступних п'яти діб спостерігали за клінічними проявами інфекції. На п'яту добу експерименту після формування абсцесу його розкривали, проводили евакуацію гнійного вмісту, після чого промивали 2 мл стерильного композиту НДК+ПГМГ-ГХ, а також препаратом порівняння хлоргексидином. Абсцес оброблявся щодня від дня розкриття до завершення експерименту. Протягом усієї тривалості експерименту щодня двічі на день вели спостереження за клінічними проявами інфекції. Тварин зважували безпосередньо перед зараженням, на 5 день, 7, 9 та 12 добу експерименту. На 12 день щурів виводили з експерименту за допомогою хлороформного наркозу.

При визначенні гострої токсичності композиту НДК+ПГМГ-ГХ було встановлено, що при нашкірному нанесенні у дозі 2000 мг/кг зі вмістом ПГМГ-ГХ 20 % композит НДК+ПГМГ-ГХ можна віднести до VI класу токсичності (за Сидоровим К. К.) – відносно нешкідливі речовини, а при внутрішньошлунковому введенні у дозі 2000 мг/кг зі вмістом ПГМГ-ГХ 20 % – до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.

Адсорбційні властивості композиту НДК+ПГМГ-ГХ у слабкокислому середовищі (рН 6,0) стосовно метиленового синього складала $280 \pm 12,6$ мг/г, що перевищує відповідний показник для силіксу в 7,6 разу та ентеросгелю – у 11,1 разу, адсорбція ціанокобаламіну сягає $3,6 \pm 0,2$ мг/г за значення рН 6,0, що перевищує подібний показник силіксу в 6 разів й ентеросгелю в 5,1 разу. Показники величини адсорбції білків композитом НДК+ПГМГ-ГХ є меншими та достовірно відрізняються від відповідних показників досліджуваних препаратів ентеросгелю та силіксу ($p < 0,05$).

Композит НДК+ПГМГ-ГХ проявив високу протимікробну активність проти *S. aureus* – 117,19 мкг/мл (у перерахунку на ПГМГ-ГХ – 19,53 мкг/мл), виражену активність проти *E. coli* і *S. enterica* – 234,37 мкг/мл (у перерахунку на

ПГМГ-ГХ – 39,06 мкг/мл). Найменш виражену дію композит проявляв щодо *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* – 468,76 мкг/мл (у перерахунку на ПГМГ-ГХ – 78,13 мкг/мл).

Дослідження вивільнення активної субстанції з сорбенту (максимальний час збереження специфічної антимікробної дії) методом дифузії у рідке поживне середовище показало, що композит НДК+ПГМГ-ГХ проявляє виразну, але нетривалу дію, зумовлену бактерицидним ефектом препарату, який зберігався протягом 1 доби.

Визначено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ у концентраціях 40 та 90 мкг/мл у перерахунку на ПГМГ-ГХ пригнічував плівкоутворення *P. aeruginosa* на 93,5 % та 92,1 % відповідно. Призводив до руйнування 1-добової біоплівки в концентраціях 40 та 90 мкг/мл у перерахунку на ПГМГ-ГХ на 74,3 % і 89,8 % відповідно, а 5-добової на 72,3 % і 70,4 % відповідно.

При застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ для лікування термічного опіку виявлено прискорення ступеня загоєння порівняно з контрольною групою – зменшення площі рани на 44,4 % (7 доба), на 63,4 % (14 доба), на 88 % (21 доба), на 99,5 % (28 доба). Також у тварин цієї групи мала місце більш виражена тенденція до зменшення поверхні рани порівняно з референт-препаратом. Так, на 7, 14, 11 та 28 добу спостерігалось зменшення поверхні опікової рани порівняно з групою застосування хлоргексидину (на 47 %, 70 %, 96 % і 95 % відповідно).

Виявлено, що при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ відновлюється цитокіновий профіль крові, різко порушений унаслідок термічного опіку. Композит НДК+ПГМГ-ГХ знижував до норми концентрацію IL-1 β в осередку до 28 доби. На фоні застосування композиту спостерігалось зниження вмісту IL-1 β у шкірі на 7, 14, 21 і 28 добу порівняно з референт-препаратом хлоргексидином (на 13,5 %, 35 %, 28 %, 5 % відповідно). Композит також достовірно знижував вміст TNF- α у вогнищі ураження порівняно з хлоргексидином: на 7 добу – на 42%, 14 добу – на 26%, 21 добу – на 31%, 28 добу – на 23% відповідно. При

застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ рівень ІЛ-10 в осередку збільшувався вже на 7 добу порівняно з хлоргексидином на 25,5 %.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ нормалізував вміст ДК і ТБК-АП у шкірі тварин уже на 14 добу. Рівень ДК і ТБК-АП знижувався порівняно з рівнем ДК у групі хлоргексидину на 7 добу – на 13,6 % і 11,9 %, 14 добу – на 13 % і 13,5 %, 21 добу – на 12,9 % і 9 %, 28 добу – на 11,2 % і 14,5 % відповідно.

У порівнянні з хлоргексидином активність СОД у шкірі щурів із термічним опіком при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ збільшувалася на 11,4 % (на 14 добу).

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ для лікування опікової травми вело до скорочення стадії травматичного запалення та зниження його інтенсивності, що супроводжувалися прискоренням формування та рівномірним дозріванням новоствореної сполучної тканини, збільшенням швидкості її епідермізації, що привело до скорочення термінів загоєння опікових ран у цілому.

Після промивання порожнини абсцесу композитом НДК+ПГМГ-ГХ протягом 6 діб зона некрозу значно зменшувалася, спостерігалось виражене пригнічення запального процесу. набряк на прилеглих ділянках був незначним. Серед гістіоцитарних клітин навколо абсцесу з'являлися фібробласти, тканинні базофіли. У капсулі абсцесу добре видимі колагенові волокна. Кровоносні судини проростали до центральних ділянок інфекційного ураження. Там також знаходили і фібробласти. Це свідчить про організацію уражених ділянок.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, протимікробна активність, біоплівки, сорбційна активність, термічний опік, підшкірний абсцес, нанодисперсний кремнезем, полігексаметиленгуанідину гідрохлорид, інтерлейкіни, про- і антиоксидантна система.

SUMMARY

Doroshenko A. I. Sorption and antimicrobial efficacy of nanodispersed silica composite with polyhexamethylene guanidine hydrochloride. – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree (PhD) in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2020.

Globally, diseases caused by antibiotic-resistant microorganisms already lead to at least 700,000 deaths a year. In the event of inaction, this figure could rise to 20 million deaths worldwide by 2050. Without consistent efforts to curb antimicrobial resistance in the period 2015–2050, about 2.4 million people could die in high-income countries.

The dissertation presents a new solution to the current problem of pharmacology – with the help of pharmacological, biochemical, morphological, planimetric, statistical research methods theoretically and experimentally substantiated the feasibility of using a composite of nanodispersed silica with polyhexamethylene guanidine hydrochloride (HDS+PGMG-HC).

The study of acute toxicity of the composite HDS+PGMG-HC was performed on 71 white outbred mice (47 females and 24 males) aged 2–2.5 months and weighing 18–22 g.

Determination of the adsorption properties of the HDS+PGMG-HC composite was performed on the markers methylene blue, cyanocobalamin, human serum albumin and gelatin at pH = 6, which corresponds to the pH in the wound surface.

The antimicrobial activity of the composite HDS+PGMG-HC was determined by serial dilutions on microorganisms: *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* and *K. pneumoniae* and *C. albicans*. We also determined the release of the active substance from the sorbent (maximum retention time of specific antimicrobial action) by diffusion into liquid media in relation to the clinical strain of *P. aeruginosa* 449.

The effect of HDS+PGMG-HC composite on the biofilm was determined using a microplate.

Studies of the effect of HDS+PGMG-HC composite on thermal skin lesions were performed on 24 females of adult outbred white rats weighing 200–250 g. All animals were divided into 4 groups, 6 rats in each group: 1 – intact; 2 – experimental burn (without treatment, control), 3 – burn + "Chlorhexidine" (PJSC "Chimfarmzavod" Red Star ", Ukraine), comparison drug; 4 – burn + composite NDK + PGMG-HC, the main group.

The experiment was performed on a model of thermal burns, which was caused by a device with a set temperature scale and an electric soldering iron, at the end of which a nozzle with a metal plate is attached according to the recommendations of Yakovleva LV (2013). The area of the burn was 400 mm², degree – II. The exposure time of the contact plate heated to 200 °C was 4 seconds, which allows to cause a second-degree burn. The next day after modeling the burn, the studied drugs – chlorhexidine and composite HDS+PGMG-HC were applied in a thin layer on the affected area during the entire period of the experiment (28 days). The general condition of the experimental animals was determined by behavior, food and drinking activity, body weight and survival rate. The effectiveness of treatment was evaluated by the local manifestation of the wound process: hyperemia, edema, epithelialization, depithelization; reducing the area and rate of closure of the wound defect, as well as the morphological features of healing and immunological parameters – cytokine profile, as well as indicators of oxidative-antioxidant homeostasis.

The antimicrobial activity of the composite HDS+PGMG-HC in vivo was performed on a model of an abscess caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Experimental animals – 24 females of outbred white rats weighing 200–250 g – were divided into 4 groups of 6 animals: intact animals; infected animals (pathology control), infected animals treated with chlorhexidine and infected animals treated with HDS+PGMG-HC composite.

The purulent abscess was modeled by subcutaneous injection of 1.5 ml of *Pseudomonas aeruginosa* daily culture suspension into the back between the shoulder blades. Clinical manifestations of infection were observed for the next five days. On the fifth day of the experiment, after the formation of the abscess, it was opened, the

purulent contents were evacuated, and then washed with 2 ml of sterile composite HDS+PGMG-HC, as well as the comparison drug chlorhexidine. The abscess was treated daily from the date of disclosure until the end of the experiment. Throughout the experiment, clinical manifestations of infection were observed twice daily. Animals were weighed immediately before infection, on days 5, 7, 9 and 12 of the experiment. On day 12, rats were removed from the experiment by chloroform anesthesia.

In determining the acute toxicity of the composite HDS+PGMG-HC, it was found that when applied topically at a dose of 2000 mg / kg with a content of PGMG-HC 20 % composite HDS+PGMG-HC can be classified as toxicity class VI (according to Sidorov KK) – relatively harmless substances, and at intragastric administration in a dose of 2000 mg / kg with the content of PGMG-HC of 20 % – to the IV class of toxicity – low-toxic substances.

The adsorption properties of the composite HDS+PGMG-HC in a weakly acidic environment (pH 6.0) relative to methylene blue is 280 ± 12.6 mg / g, which exceeds the corresponding figure for Silix by 7.6 times and enterosgel by 11.1 times, the adsorption of cyanocobalamin reaches 3.6 ± 0.2 mg / g at pH values of 6.0, which exceeds the similar value of Silix 6 times and enterosgel 5.1 times. Indicators of the amount of protein adsorption with the composite HDS+PGMG-HC are smaller and significantly different from the corresponding indicators of the studied drugs Enterosgel and Silix ($p < 0,05$).

Composite HDS+PGMG-HC showed high antimicrobial activity against *S. aureus* – 117.19 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (in terms of PGMG-HC – 19.53 $\mu\text{g} / \text{ml}$), pronounced activity against *E. coli* and *S. enterica* – 234, 37 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (in terms of PGMG-GC – 39.06 $\mu\text{g} / \text{ml}$). The least pronounced effect of the composite showed against *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* – 468.76 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (in terms of PGMG-HC – 78.13 $\mu\text{g} / \text{ml}$).

The study of the release of the active substance from the sorbent (maximum retention time of specific antimicrobial action) by diffusion into liquid nutrients showed that the composite HDS+PGMG-HC shows a pronounced but short-lived effect due to the bactericidal effect of the drug, which persisted for 1 day.

It was determined that the composite HDS+PGMG-HC at concentrations of 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 90 $\mu\text{g} / \text{ml}$ in terms of PGMG-GHC inhibited the film formation of *P. aeruginosa* by 93.5 % and 92.1 %, respectively. Led to the destruction of 1-day biofilm at concentrations of 40 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 90 $\mu\text{g} / \text{ml}$ in terms of PGMG-HC by 74.3 % and 89.8 %, respectively, and 5-day by 72.3 % and 70.4 % in accordance.

When using the composite HDS+PGMG-HC for the treatment of thermal burns revealed acceleration of the degree of healing compared with the control group – a decrease in wound area by 44.4 % (7 days), 63.4 % (14 days), 88 % (21 days), at 99.5 % (28 days). Also in animals of this group there was a more pronounced tendency to reduce the wound surface compared to the reference drug. Thus, on days 7, 14, 11 and 28, there was a decrease in the surface area of the burn wound compared with the chlorhexidine group (by 47 %, 70 %, 96 % and 95 %, respectively).

It was found that when using the composite HDS+PGMG-HC, the cytokine profile of the blood is restored, sharply disrupted due to thermal burns. The HDS+PGMG-HC composite reduced the concentration of IL-1 β in the cell to normal by the 28th day. Against the background of the composite, there was a decrease in the content of IL-1 β in the skin on days 7, 14, 21 and 28 compared with the reference drug chlorhexidine (13.5 %, 35 %, 28 %, 5 %, respectively). The composite also significantly reduced the content of TNF- α in the lesion compared to chlorhexidine – on the 7th day – by 42 %, on the 14th day – by 26 %, on the 21st day – by 31 %, on the 28th day – by 23 %, respectively. When using the composite HDS+PGMG-HC, the level of IL-10 in the cell increased for 7 days compared with chlorhexidine – by 25.5 %.

Composite HDS+PGMG-HC normalized the content of DC and TBA-AP in the skin of animals for 14 days. The level of DC and TBA-AP decreased compared to the level of DC in the chlorhexidine group on the 7th day – by 13.6 % and 11.9 %, on the 14th day – by 13 % and 13.5 %, on the 21st day – by 12.9 % and 9 %, on the 28th day – by 11.2 % and 14.5 %, respectively.

Compared with chlorhexidine, the activity of SOD in the skin of rats with thermal burns when using the composite HDS+PGMG-HC increased by 11.4 % (on day 14).

The use of HDS+PGMG-HC composite for the treatment of burn trauma led to a reduction in the stage of traumatic inflammation and a decrease in its intensity, which was accompanied by accelerated formation and uniform maturation of newly formed connective tissue, increasing its epidermalization rate, which led to reduced healing.

After washing the abscess cavity with composite HDS+PGMG-HC for 6 days, the area of necrosis was significantly reduced, there was a pronounced suppression of the inflammatory process. The swelling in the surrounding areas was insignificant. Among the histiocytic cells around the abscess appeared fibroblasts, tissue basophils. Collagen fibers are well visible in the capsule of the abscess. Blood vessels germinated to the central areas of the infectious lesion. Fibroblasts were also found there. This indicates the organization of the affected areas.

Key words: antibiotic resistance, antimicrobial activity, biofilms, sorption activity, thermal burn, subcutaneous abscess, nanodispersed silica, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, interleukins, pro- and antioxidant system.

ЗМІСТ

		12
	ЗМІСТ	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ		15
ВСТУП		17
РОЗДІЛ 1	СОРБЕНТИ ТА КАТІОННІ ДЕЗІНФЕКТАНТИ. ВЛАСТИВОСТІ, ПЕРСПЕКТИВИ У СТВОРЕННІ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ (аналітичний огляд літератури)	
1.1	Опікові травми як актуальна проблема сучасної медицини	24
1.2	Роль та місце медичних сорбентів у медичній практиці	28
1.3	Фармакологічні властивості та застосування дезінфікуючих та антисептичних засобів, у тому числі катіонних біоцидів (полігексаметиленгуанідину гідрохлориду)	30
1.4	Нанодисперсний кремнезем як перспективна речовина для розробки сорбентів нового покоління	43
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	50
РОЗДІЛ 3	ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ	
3.1	Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом при нашкірному нанесенні	68
3.2	Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом при внутрішньошлунковому введенні	69

РОЗДІЛ 4	ДОСЛІДЖЕННЯ СОРБЦІЙНИХ ТА АНТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДОМ <i>IN VITRO</i>	
4.1	Дослідження сорбційних властивостей композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом <i>in vitro</i>	76
4.2	Протимікробна активність композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом <i>in vitro</i>	81
4.3	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на біоплівки	85
4.4	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рухову активність <i>P. aeruginosa</i>	93
4.5.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на гідрофобність поверхні бактеріальних клітин та їх адгезивну активність	102
РОЗДІЛ 5	ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ТА РАНОЗАГОЮВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДОМ <i>IN VIVO</i>	
5.1.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на загоєння термічного опіку за умов нашкірного нанесення	106

5.1.1.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на динаміку місцевих проявів загоєння при термічному опіку	106
5.1.2.	Вплив нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень проти- та прозапальних цитокінів у крові й вогнищі ушкодження	110
5.1.3.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень метаболітів оксиду азоту в сироватці крові й вогнищі ушкодження	115
5.1.4.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на стан окислювально-антиоксидантного гомеостазу у вогнищі ушкодження	119
5.1.5.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на морфологічні зміни шкіри при термічному ушкодженні	123
5.2.	Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом за умов нашкірного нанесення у щурів з абсцесами	128
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ		136
ВИСНОВКИ		151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		153
ДОДАТКИ		172

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- IL-10 – інтерлейкін 10
IL-1 β – інтерлейкін 1 β
LD50 – середньолетальна доза
NO – оксид азоту
TNF- α – фактор некрозу пухлин α
АОС – антиоксидантна система
ГЕН – гентаміцин
ДК – дієнові кон'югати
Кат – каталаза
КУО – колонійутворюючі одиниці
ЛЗ – лікарський засіб
МБК – мінімальна бактерицидна концентрація
МІК – мінімальна інгібуюча концентрація
мкмоль/г – мікромоль на 1 грам
мкмоль/л – мікромоль на 1 літр
мм² – міліметр квадратний
МО – міжнародні одиниці
МПА – м'ясо-пептонний агар
МФК – мінімальна фунгіцидна концентрація
НДК – нанодисперсний кремнезем
нм – нанометр
нмоль/г – наномоль на 1 грам
ПАГ – поліалкіленгуанідин
пг/г білка – пікограм на 1 грам білка
пг/мл – пікограм на 1 мілілітр
ПГМГ-ГХ – полігексаметиленгуанідину гідрохлорид
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
ПС – поживне середовище

РП – рановий процес

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК-АП – тіобарбітурової кислоти активні продукти

ФР – фізіологічний розчин

ЦИП – ципрофлоксацин

ЧАС – четвертинні амонієві сполуки

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

У глобальних масштабах захворювання, викликані стійкими до антибіотиків мікроорганізмами, уже зараз призводять, як мінімум, до 700 тисяч випадків смерті на рік. У разі бездіяльності цей показник може зрости до 2050 р. до 10 млн випадків смерті в світі. Без спрямованих зусиль щодо стримування стійкості до протимікробних препаратів за період 2015–2050 рр. у країнах із високим рівнем доходу може померти близько 2,4 млн осіб [1].

Згідно з матеріалами доповіді мережі щодо епіднагляду за стійкістю до протимікробних препаратів у Центральній Азії та Східній Європі (CAESAR) за 2018 рік, в Україні у 11 ізолятів *E. coli* стійкість знаходилась у діапазоні від 0 % до імпенему/меропенему до 82 % до амоксициліну/ампіциліну. Множинна стійкість *E. coli* склала 30 %. У *K. pneumoniae* стійкість до імпенему/меропенему склала 28 % і була вищою до всіх інших обраних антибіотиків. Множинна стійкість *K. pneumoniae* дорівнювала 40 %. Виявлено 4 ізоляти *Salmonella spp.*, один з яких був стійкий тільки до ципрофлоксацину/левофлоксацину. У 9 ізолятів *P. aeruginosa* діапазон стійкості до всіх вибраних антибіотиків склав від 57 до 100 %. Множинна стійкість *P. aeruginosa* – 100 %. Стійкість *Acinetobacter spp.* складала 40 % (імпенем/меропенем) або вище. Множинна стійкість *Acinetobacter spp.* – 50 %. У 19 ізолятів *S. aureus* стійкості до метициліну (MRSA) не спостерігалось. Виявлено 6 ізолятів *S. pneumoniae*, один з яких був стійкий тільки до еритроміцину/кларитромицину/азитромицину. У *E. faecalis* стійкість до ванкоміцину не визначена. Два ізоляту *E. faecium* (17 %) були стійкі до ванкоміцину, а у одного ізоляту (8 %) виявлена стійкість до лінезоліду [2].

У рамках здійснення п'ятого стратегічного завдання експерти ВООЗ виділили список бактерій, для боротьби з якими потрібно терміново створити нові антибіотики, у тому числі *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та родини *Enterobacteriaceae*, що включає *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, and *Providencia spp.*, *Morganella spp.*

Цей список має стати орієнтиром та стимулом для досліджень щодо створення нових антибіотиків. Зокрема, у ньому підкреслюється загроза, яку несуть грамнегативні бактерії, стійкі до дії відразу декількох антибіотиків [3].

Асортимент дезінфікуючих засобів досить великий, у ньому переважають традиційні біоцидні препарати: хлорактивні, кисневмісні, четвертинні амонієві сполуки, а також сполуки, що містять солі металів (міді, срібла та ін.) [6–10]. Хлорактивні сполуки, хоча й пригнічують більшість мікроорганізмів, однак є недостатньо ефективними або зовсім неефективними щодо спорових форм (бацил), вірусів, синьогнійної палички, цист найпростіших. Кисневмісні сполуки характеризуються більш низькою ефективністю. Більшість хімічних сполук цих класів досить агресивні та токсичні, тому їх використання становить певну загрозу для здоров'я людей, є небезпечним для довкілля, викликає корозію обладнання, пошкоджує та знебарвлює матеріали. Так, дезінфектанти, що містять хлор, чинять виражену подразнювальну дію на шкіру, слизові оболонки очей і верхніх дихальних шляхів.

До найбільш перспективних дезінфекційних засобів належать високомолекулярні біоцидні препарати на основі похідного азотистої основи гуанідину – поліалкіленгуанідину (ПАГ) та його високомолекулярних солей [4, 5].

Ефективність протимікробних засобів, у тому числі катіонних дезінфектантів, може підвищуватися при їх сполученні з сорбентами, які також здатні сорбувати на собі та виводити мікроорганізми з уражених ділянок шкіри. Тому важливим є розробка композитів, що містять антимікробний компонент та сорбент, з метою покращення специфічної дії та підвищення безпечності засобу. Прикладом подібної сполуки може бути розроблений нами композит, що складається з похідного гуанідину – полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (ПГМГ-ГХ) та нанодисперсного кремнезему (НДК) – умовна назва композит НДК+ПГМГ-ГХ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України в рамках теми «Експериментальні дослідження нанодисперсного кремнезему з гуанідином» (№ державної реєстрації 0115U004157). Дисертант є співвиконавцем зазначених тем.

Мета і завдання дослідження

На підставі експериментальних досліджень встановити доцільність використання композиту НДК+ПГМГ-ГХ для лікування термічних та інфікованих ушкоджень шкіри.

Досягнення цієї мети базувалося на вирішенні таких завдань:

1. Визначити гостру токсичність композиту НДК+ПГМГ-ГХ за умов перорального та нашкірного нанесення.
2. Визначити сорбційні властивості композиту НДК+ПГМГ-ГХ *in vitro*.
3. Визначити протимікробну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ *in vitro*.
4. Встановити вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на процес формування біоплівки та здатність до її руйнування.
5. Оцінити вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на гематологічні показники, рівень про- та протизапальних цитокінів, дієнових кон'югатів та активних продуктів тіобарбітурової кислоти у крові та тканинах рани при моделюванні термічних та інфікованих ушкоджень шкіри.
6. Дослідити морфологічні прояви загоєння термічних та інфікованих ушкоджень шкіри при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція термічних та інфікованих ушкоджень шкіри.

Предмет дослідження – фармакологічна ефективність композиту НДК+ПГМГ-ГХ при експериментальних термічних та інфікованих ушкодженнях шкіри.

Методи дослідження

Використовувалися фармакологічні, мікробіологічні, токсикологічні, імуноферментні, біохімічні, фізико-хімічні, морфологічні, планіметричні, статистичні методи дослідження.

Робота з лабораторними тваринами проводилася відповідно до положень Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими цілями (Страсбург, 18.03.2006), а також Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964–2000 рр.), Статуту української асоціації з біоетики та норм GLP (1992 р.), Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісію з питань етики, затверджених наказами МОЗ України № 523 від 12.07.2012 р. та № 616 від 03.08.2012 р.

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше експериментально підтверджено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має сорбційні, протимікробні та регенеративні властивості.

Встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ не поступається за протимікробною активністю його компоненту – ПГМГ-ГХ, який застосовується як дезінфектант, проте має меншу токсичність і може використовуватися для лікування інфікованих ушкоджень шкіри, очищення та прискорення загоєння ушкоджень шкіри різного генезу, оскільки володіє ще й сорбційними властивостями завдяки наявності сорбенту НДК.

Експериментально підтверджено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має пригнічувальний вплив як на формування, так і на сформовану біоплівку.

Доведено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має виражену ранозагоювальну дію при термічному опіку в щурів, що сприяє скороченню термінів загоєння термічного опіку. За рівнем терапевтичної ефективності композит має переваги перед препаратом порівняння хлоргексидином.

Показано, що застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ веде до більш інтенсивного перебігу репаративних процесів, що підтверджується морфологічними дослідженнями: відсутністю гнійно-некротичних ускладнень,

прискоренням очищення й епітелізації термічних та інфікованих ушкоджень шкіри.

Експериментально підтверджено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ зменшує концентрацію прозапальних цитокінів, усуває дисбаланс у системі оксиду азоту та підсилює антиоксидантні процеси у вогнищі ураження.

Практичне значення одержаних результатів

На підставі проведених експериментальних досліджень обґрунтована можливість застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ як протимікробного та сорбційного засобу для лікування термічних та інфікованих ушкоджень шкіри, профілактики ускладнень та прискорення загоєння. Після подальших доклінічних і клінічних досліджень результати нашої роботи відкривають перспективи впровадження в медичну практику нового препарату, що володіє протимікробними, сорбційними, протизапальними та ранозагоювальними властивостями.

За матеріалами дисертаційної роботи видано інформаційний лист № 211 про нововведення у сферу охорони здоров'я «Іноваційні підходи до фармакологічної корекції опікових ран з використанням композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом»; автори: Г. В. Зайченко, А. І. Дорошенко, Н. О. Горчакова, Є. П. Воронін.

Результати дисертації впроваджені в навчальний процес кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету, кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакології Дніпропетровської медичної академії, кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакології, клінічної фармакології, патологічної фізіології Київського медичного університету та кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором здійснено:

- проведення патентно-інформаційного пошуку, аналіз наукової літератури за темою дисертації;
- відтворення моделей, відповідно до яких виконані експерименти;
- обробка отриманих результатів, проведення їх аналізу та узагальнення, формулювання висновків;
- написання та оформлення всіх розділів дисертації;
- підготовка матеріалів до друку.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал та основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth Nanobiotech-2015»; молодіжному форумі з нанобіотехнологій, 20–21 травня 2015 року, м. Київ, Україна; «Annual Young Medical Scientists' Conference 2017», 27–29 жовтня 2017 року, м. Київ, Україна; X Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів із клінічної фармакології: «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини», 7–8 листопада 2019 року, м. Вінниця, Україна; II Міжнародному конгресі «Рациональне застосування антибіотиків у сучасному світі. Antibiotic resistance STOP!», 15–16 листопада 2019 року, м. Київ, Україна; науковому симпозиумі з міжнародною участю «Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я», 22 листопада 2019 року, м. Київ, Україна.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 157 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, аналізу та узагальнення результатів, загальних висновків, списку використаних джерел та 6 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 103 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 40 таблицями, 27 рисунками. Список використаних джерел містить 132 найменування, з них 85 кирилицею та 47 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СОРБЕНТИ ТА КАТІОННІ ДЕЗІНФЕКТАНТИ, ЇХ ВЛАСТИВОСТІ. ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ

(аналітичний огляд літератури)

1.1 Опікові травми як актуальна проблема сучасної медицини

Опікові травми впливають на життя мільйонів людей у всьому світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у світі щорічно реєструється 11 млн випадків опіків, з яких 180 тисяч закінчуються летально [11]. Приблизно 90 % усіх опіків трапляються у країнах із низьким та середнім рівнем доходу [12]. В Україні щорічно реєструється до 80 тисяч таких випадків, у 10 % з яких опіків зазнають діти.

Майже половина випадків тяжких опіків – опіки в дітей, і 50–80 % усіх опіків трапляються в дітей віком до 5 років. Опіки серед найпоширеніших причин смерті дітей віком від 1 до 9 років посідають 11 місце і п'яте – у переліку найчастіших причин нефатальних травм. Опіки вдвічі частіше отримують хлопчики. Більшість дитячих опіків трапляються в домашніх умовах, і дуже часто їм можна запобігти.

Причиною 2/3 усіх опіків є контакт із гарячими або корозійними речовинами, і тільки чверть усіх випадків становлять травми, викликані вогнем.

Опіки, що уразили тільки поверхню шкіри, відомі як поверхневі, або опіки I ступеня. Коли пошкодження проникає в деякі з нижчих шарів, опік називають частково проникаючим, або опіком II ступеня. Глибокий опік, або опік III ступеня – це травма, що поширюється на всі шари шкіри. З опіком IV ступеня пов'язане ушкодження глибших тканин – м'язів та кісток.

Поверхневі опіки I–II ступенів, коли в опіковій рані наявний життєздатний епітелій, загоюються протягом 2–4 тижнів без хірургічного втручання з використанням ЛЗ місцевої дії, котрі посідають одне з чільних місць у терапії опіків. Широко використовуються ЛЗ у формі мазей, кремів, гелів, що містять у

своєму складі активні фармацевтичні інгредієнти з групи антибіотиків, нестероїдних протизапальних засобів тощо [13].

Найчастіше причиною смерті пацієнтів від опіків є інфекція, на яку припадає приблизно 76,3 % у структурі летальності постраждалих з опіковою травмою. Внаслідок термічного пошкодження виникає коагуляційний некроз епідермісу, різних шарів дерми та прилеглих тканин, що створює сприятливі умови для масивної мікробної інвазії. Інфекційні ускладнення погіршують перебіг репаративних процесів у рані. Інфікування опікових ран відбувається госпітальними ізолятами, зокрема мультирезистентними штамми мікроорганізмів [14–15].

Незважаючи на те, що одразу після термічної травми опікова поверхня є стерильною, з часом її колонізують мікроорганізми. Без застосування антимікробних засобів грампозитивні мікроорганізми, такі як стафілококи, що знаходяться глибоко у потових залозах та волосяних фолікулах, колонізують поверхню рани протягом перших 48 годин. Пізніше, у середньому через 5–7 днів, рана колонізується іншими мікроорганізмами, в тому числі грампозитивними та грамнегативними бактеріями і дріжджовими грибами з нормальної мікрофлори кишківника та верхніх дихальних шляхів [16].

За даними Al-Aali K. Y., з поверхні опікової рани найчастіше виділяють такі мікроорганізми:

- грампозитивні: *Staphylococcus epidermidis* 22,2 %, *Staphylococcus aureus* 20 % та *Enterococcus faecium* 4,5 %;
- грамнегативні: *E. coli* 40 %, *Pseudomonas aeruginosa* 39,5 %, *Klebsiella pneumoniae* 28,1 %, *Acinetobacter baumannii* 19,5 %, *Proteus mirabilis* 16 % та *Morganella morganii* 11,3 %;
- дріжджові гриби – *Candida glabrata* 4,5 % [17].

За даними Нагайчука В. І., у пацієнтів із тяжкими, глибокими опіками (III–IV ступеня) у перші 7 діб після травми виділено та ідентифіковано грампозитивні (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. viridans*, *S. haemolyticus*, *S. pyogenes*, *E. faecium*), грамнегативні (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *E. coli*,

E. cloacae, *K. pneumoniae*, *S. maltophilia* та ін.) мікроорганізми та *C. albicans*. Серед збудників ускладнень переважали *Acinetobacter spp.* (31,8–56,7 %), *Staphylococcus spp.* (24,2–27,6 %), *P. aeruginosa* (20–22 %), *Proteus spp.* (5,2–23,3 %), *Klebsiella spp.* (0,7–5,9 %).

Провідні позиції серед грампозитивних мікроорганізмів посіли клінічні штами *S. aureus* (9,3–27,4 %). Серед грамнегативних збудників ускладнень опікових ран у перші дні лікування переважали *A. baumannii* (34,8 %), *P. aeruginosa* (22 %). Також етіологічну значимість мали *E. cloacae* (3,7–5,9 %), *K. pneumoniae* (0,7–4,3 %), *P. vulgaris* (0,8–3,7 %), *E. coli* (0,8–2,6 %), *C. freundii* (0,7–1,7 %). Інші грамнегативні бактерії виділяли у меншій кількості хворих. Встановлено, що у 0,8–1,5 % випадків до виникнення ускладнень у тяжкохворих з опіками долучалися *C. albicans* [14].

Наявність інфекційного процесу у рані перешкоджає її загоєнню. Мікроорганізми виділяють ендотоксини, екзотоксини та протеази, які спричинюють подальше пошкодження тканин, також викликають посилену запальну реакцію, що є причиною травмування здорової тканини [18].

Для місцевого лікування опіків доцільно використовувати препарати з антибактеріальною дією, що сприяють швидкому загоєнню ран, зменшуючи ризик інфікування.

У глобальних масштабах захворювання, викликані стійкими до антибіотиків мікроорганізмами, уже зараз призводять, як мінімум, до 700 тисяч випадків смерті на рік. У разі бездіяльності цей показник може зрости в світі до 2050 р. до 10 мільйонів летальних випадків. Без спрямованих зусиль щодо стримування стійкості до протимікробних препаратів за період 2015–2050 рр. у країнах із високим рівнем доходу може померти близько 2,4 млн осіб [1].

Згідно з матеріалами доповіді мережі щодо епіднадзора за стійкістю до протимікробних препаратів у Центральній Азії та Східній Європі (CAESAR) за 2018 рік, в Україні у 11 ізолятів *E. coli* стійкість знаходилась у діапазоні від 0 % до іміпенему/меропенему до 82 % до амоксициліну/ампіциліну. Множинна стійкість *E. coli* склала 30 %. У *K. pneumoniae* стійкість до іміпенему/меропенему

склала 28 % і була вищою до всіх інших обраних антибіотиків. Множинна стійкість *K. pneumoniae* дорівнювала 40 %. Виявлено 4 ізоляти *Salmonella spp.*, один з яких був стійким тільки до ципрофлоксацину/левофлоксацину. У 9 ізолятів *P. aeruginosa* діапазон стійкості до всіх вибраних антибіотиків склав від 57 до 100 %. Множинна стійкість *P. aeruginosa* – 100 %. Стійкість *Acinetobacter spp.* складала 40 % (іміпенем/меропенем) або вище. Множинна стійкість *Acinetobacter spp.* – 50 %. У 19 ізолятів *S. aureus* стійкості до метициліну (MRSA) не спостерігалось. Виявлено 6 ізолятів *S. pneumoniae*, один з яких був стійким тільки до еритроміцину/klarитромицину/азитромицину. У *E. faecalis* стійкість до ванкоміцину не визначена. Два ізоляти *E. faecium* (17 %) були стійкі до ванкоміцину, а у одного ізоляту (8 %) виявлена стійкість до лінезоліду [2].

У рамках здійснення п'ятого стратегічного завдання експерти ВООЗ виділили список бактерій, для боротьби з якими потрібно терміново створити нові антибіотики, у тому числі *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та родини *Enterobacteriaceae*, що включає *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, and *Providencia spp.*, *Morganella spp.* Цей список має стати орієнтиром і стимулом для досліджень зі створення нових антибіотиків. Зокрема, у цьому списку підкреслюється загроза, яку несуть грамнегативні бактерії, стійкі до дії відразу декількох антибіотиків [3].

Сьогодні вважається, що переважна більшість ускладнень при інфекційних процесах асоційована зі здатністю збудників формувати біоплівку, у стані якої мікроорганізми стають більш стійкими до дії факторів довкілля, що частково сприяє їх поширенню. Вивчення факторів, що впливають на розвиток біоплівки, дозволяє розробити профілактичні заходи задля упередження початку розвитку біоплівок, що особливої актуальності набуває при дезінфекції приміщень, відпрацьованого медичного інструментарію та рук персоналу лікувальних закладів, які є потенційними джерелами поширення плівкоутворювальних штамів.

Сучасні дезінфекційні засоби, представлені широким спектром хімічних сполук різних класів, поєднані загальною здатністю до знищення

мікроорганізмів навіть у невисоких концентраціях. Однак, ці засоби застосовні лише для обробки поверхонь об'єктів, а не шкіри людини, хоча персонал, що пересувається лікарняним закладом, вважається одним із джерел поширення госпітальних штамів. Крім того, застосування більшості з дезінфекційних протимікробних засобів розраховане на неплівкові культури мікроорганізмів. Для обробки шкіри існує низка засобів, але питання про їх ефективність стосовно біоплівок також потребує вивчення. Відомо, що плівкоутворювальні штами бактерій у біоплівці проявляють посилену стійкість до антибіотиків, що значно ускладнює лікування [19].

1.2 Роль та місце медичних сорбентів у медичній практиці

Проблема лікування ран, у тому числі гнійних, залишається одним із пріоритетних завдань сучасної хірургічної практики, тому що від ефективності лікування залежить результат перебігу ранового процесу (РП) та превенція септичних ускладнень [6]. Пошук нових підходів для лікування ран у наш час набуває актуальності у зв'язку зі зростанням кількості природних і техногенних катастроф, військових конфліктів та побутового травматизму, поширенням антибіотикорезистентності. Терапія РП має бути комплексною, включати хірургічне лікування, компенсацію циркулюючої рідини, обґрунтоване застосування протимікробних засобів (антибіотиків, антисептиків), цілеспрямований вибір репаративів, фізіотерапевтичні методи (вплив магнітних полів, лазерне опромінення та ін.) [7–10].

Незважаючи на значний асортимент антибіотиків та синтез антимікробних засобів, постійно зростає кількість антибіотикорезистентних мікроорганізмів [20]. Тому до схем фармакотерапії гнійних ран активно впроваджуються методи сорбційного лікування. Сорбенти мають значну сорбційну поверхню – до сотень квадратних метрів на 1 г сорбенту. У процесі сорбції екссудат, токсичні метаболіти зв'язуються з сорбентами. Одним із сучасних методів є застосування сорбентів з метою лімфосанації та детоксикації, що базується на розумінні протективної ролі лімфатичної системи. Сорбенти можуть виконувати роль

лімфопротекторів і лімфокоректорів. Методи лімфосанації різняться, при застосуванні сорбентів для лікування ран призначають аплікаційну сорбцію [21].

У клінічній практиці як сорбенти головним чином застосовують активоване вугілля (кам'яне вугілля, торф, карбонізовані полімери), вуглецевомінеральні та мінеральні сорбенти (переважно на основі оксидів алюмінію та кремнію), полімерні сорбенти. Сорбенти розрізняють за хімічними властивостями, розміром (мікро-, мезо-, макропори), об'ємом пор, питомою сорбційною поверхнею, на якій відбуваються процеси адсорбції. У сорбентах можуть бути мікро-, мезо- та макропори, але встановлено, що ступінь адсорбції в мікропорах вищий, ніж у мезо- та макропорах. Це забезпечує високу сорбційну активність у ділянках, де речовини перебувають у незначних концентраціях. Механізм дії сорбентів прямий: тобто вони безпосередньо сорбують токсини і біологічно активні речовини з поверхні рани [22].

При виборі сорбентів звертають увагу на те, щоб вони не подразнювали та не пошкоджували тканини, не поглинали кисень із крові та лімфи при лікуванні гнійних ран, були селективними стосовно певного класу сполук, що складають основу гнійного ексудату, мали оптимальну сорбційну ємкість. Значну роль для сорбції має саме хімічна природа поверхні сорбенту. Вугілля є слабким обмінником, що здатний підкислювати або підлужувати біологічну рідину шляхом перерозподілу концентрації іонів Cl^- та OH^- , що є важливим для корекції кислотно-лужного балансу в організмі. Окислювальне вугілля набуває властивостей катіонного обмінника. Протоногенні групи карбоксильного та фенольного типу полегшують корекцію біологічно важливих катіонів – Na^+ , K^+ , Mg^{++} та інших, що може мати суттєве значення при місцевій терапії гнійних ран. Хімічна природа поверхні сорбенту впливає на спектр поглинання молекул та на біохімічні показники (ліпідний, білковий статус). Наявність на поверхні сорбентів різних активних груп дозволяє отримати специфічні сорбенти для корекції імунного статусу разом із місцевим впливом на рановий процес [22].

Певні перспективи в лікуванні опікових та гнійних ран відкриває аплікаційна сорбція із застосуванням іммобілізованих ферментів та

стимуляторів регенераційних процесів [23–24]. Наявність сорбентів на поверхні рани прискорює відторгнення гнійно-некротичних мас за рахунок процесів адсорбції. Це розриває патогенетичний ланцюжок, дозволяє лімфатичній системі виконувати свої головні функції – лімфодетоксикаційну, лімфодренажну, імуномодулюючу. При цьому відбувається зниження гіпергідратії та гіпоксії тканин, блокується та ліквідується комплекс локальних порушень мікроциркуляції та обмінних процесів, призупиняються біохімічні реакції, що обумовлюють виникнення ацидозу. Комплексне лікування гнійних ран із залученням аплікаційної сорбції зменшує тривалість перебігу всіх фаз РП, що дозволяє скоротити в 1,5–2,5 разів тривалість терапії, прискорити в 2–2,5 рази початок епітелізації.

При аплікації сорбентів на рані було визначено, що мігруючі в ділянку патологічного вогнища лімфоцити утворюють на поверхні сорбенту кулеподібні накопичення, що нагадують лімфоїдні фолікули. Утворення цих клітинних накопичень за часом співпадають із процесом очищення ранової поверхні від клітинного дендриту. Таким чином, у патологічному вогнищі формується тимчасова лімфоїдна структура, своєрідний «протезний» лімфатичний вузол, паренхіма якого утворюється за рахунок мігруючих лімфоцитів, у той час як елементом стромальної решітки стають гранули сорбенту. Ці спостереження дозволили зробити припущення, що тимчасова лімфатична структура є однією з форм взаємодії сорбенту з біологічною тканиною з формуванням нового біомінерального середовища, що сприяє більш ефективній терапії [24].

1.3 Фармакологічні властивості та застосування дезінфікуючих та антисептичних засобів, у тому числі катіонних біоцидів (полігексаметиленгуанідину гідрохлориду)

Сьогодні на ринку України представлені дезінфікуючі засоби на різних основах (спиртові, альдегідні, четвертинні амонієві сполуки, хлорактивні, фенольні, кисневмісні та ін.), традиційні хлоровмісні дезінфікуючі засоби (хлорамін, гіпохлорит та ін.). Однак більшість із них подразнюють шкіру та

дихальні шляхи, є канцерогенними, їх активність щодо більшості мікроорганізмів є невисокою [25].

Для дезінфекції найчастіше застосовують такі *спирти*, як етиловий, 1-пропанол, ізопропанол. Вони є екологічно безпечними і відносно нетоксичними, але не мають спороцидних властивостей, тобто не знищують спори мікроорганізмів. У концентраціях 60–90 % активні стосовно вегетативних форм бактерій і грибів, мікобактерій, однак вони не володіють миючими властивостями, фіксують органічні забруднення. Ще одним недоліком спиртів є легкозаймистість, тому при роботі з ними потрібно дотримуватися правил безпеки [26].

Препарати цього класу використовуються для обробки невеликих за площею поверхонь у приміщеннях, обладнання, предметів обстановки, приладів. Спирти є також основними складовими антисептиків для шкіри [27].

Альдегіди та засоби на їх основі мають широкий спектр антимікробної дії (бактерії, гриби, мікобактерії, віруси та бактеріальні спори), швидко діють, ефективні в присутності органічних матеріалів, добре розчиняються у воді. Але вони є нестабільними (випаровуються при кімнатній температурі), можуть викликати опіки шкіри та подразнення слизових оболонок [25].

Хлорактивні сполуки ефективні проти бактерій, грибів, мікобактерій, вірусів, спор та мають суттєві недоліки: різкий запах та подразнювальну дію на слизові оболонки та верхні дихальні шляхи, є нестабільними при зберіганні [26–27].

Дезінфікуючі засоби на основі амінів мають низку істотних переваг: широкий спектр антимікробної дії, особливо важлива їх висока активність стосовно збудників туберкульозу, відносна екологічна безпека, ефективність у присутності органічних забруднень. Водночас значна частина науковців не виключає здатність таких препаратів викликати алергії, що звужує, а то й унеможлиблює їх широке застосування в присутності пацієнтів, відвідувачів. [25–26].

Як активно діючі речовини серед *четвертинних амонієвих сполук* (ЧАС) у дезінфікуючих композиціях найчастіше використовуються катамін АБ, дидецилдиметиламоній хлорид, диоктилдиметиламоній хлорид та ін. За своїм походженням ЧАСи є катіонними поверхнево-активними речовинами – з миючою та розчинюючою активністю. Мають вузький спектр антимікробної дії, легко адсорбуються та нейтралізуються багатьма матеріалами (бавовною, шерстю), не можуть використовуватись як шкірні антисептики [28].

Антисептики характеризуються широким спектром антибактеріальної дії, активні *in vivo*, діють у кислому і лужному середовищах, добре розчиняються, мають достатню поверхневу активність, хімічно стійкі. Препарати не мають спричиняти місцевої подразнювальної дії, сенсibilізації та не орушувати фаз загоєння ран. Ці засоби не повинні абсорбуватись у кров у значній кількості, а у випадку абсорбції не викликати тяжких побічних реакцій. Обов'язкова умова – нешкідливість для макроорганізму [1, 4].

Поділ антисептичних і дезінфікуючих засобів за хімічною будовою:

I. Неорганічні сполуки – галогени і галогеновмісні речовини, окисники, кислоти, луги, сполуки важких металів;

II. Органічні сполуки аліфатичного ряду: альдегіди, спирти, детергенти (поверхнево-активні речовини);

III. Органічні сполуки ароматичного ряду: похідні фенолу (дьоготь березовий, що містить фенол, толуол, ксилол, смоли тощо);

IV. Органічні сполуки гетероциклічного ряду – сполуки нітрофурану, оксихіноліну, барвники;

V. Антибіотики для зовнішнього застосування (мікроцид, новоіманін, граміцидин).

Серед *галогенів* особливо вирізняються препарати йоду, що містять елементарний йод. Розчин йоду спиртовий призначають зовнішньо як антисептичний, подразнювальний, відволікаючий засіб при запальних та інших захворюваннях шкіри та слизових оболонок. У сучасній медичній практиці важливе місце посідають фармацевтичні композиції з йодом у молекулах

полімерних сполук. Введення йоду в молекули полімерних сполук дає змогу зберегти широкий спектр протимікробної, фунгіцидної, противірусної дії, нейтралізувати токсичність при введенні в організм вищих тварин і людини [29].

Добре відомим представником групи *окислювачів* є перекис водню, який використовується у вигляді 3 % розчину. Перекис водню чинить бактерицидну дію за рахунок виділення молекулярного кисню при контакті з органічними тканинами, особливо щодо грамнегативної мікрофлори. Плюсом даної речовини є також її гемостатичні властивості. Недоліком 3 % розчину перекису водню є відсутність здатності розчиняти некротизовані тканини та органічні залишки, тому рекомендовано почергове застосування розчинів перекису водню і гіпохлориту натрію. Реакція взаємодії між цими речовинами приводить до виділення вільного хлору і кисню, що підсилює очисні та бактерицидні властивості цих речовин [30].

Четвертинні амонієві сполуки. Декасан – 0,02 % розчин декаметоксину, ізотонований натрію хлоридом, виявляє антибактеріальні, противірусні, десенсибілізуючі та протизапальні властивості. Механізм протибактерійної дії полягає у підвищенні проникності мікробних клітин та їх деструкції, інактивації екзотоксину, пригніченні синтезу білка мікроорганізмів.

До найефективніших антисептиків належать поверхнево-активні речовини, механізм дії яких ґрунтується на дифільній структурі молекули й здатності до руйнівного впливу на оболонки прокаріот. Препарати цього класу мають широкий спектр протимікробної дії, що охоплює грампозитивні й грамнегативні бактерії, гриби-дерматофіти, дріжджоподібні гриби, найпростіші, хламідії та навіть складні віруси (збудники гепатиту, ВІЛ). Резистентність мікроорганізмів до цих препаратів формується повільно.

Хлоргексидину біглюконат (N,N''-біс (4-хлорфеніл)- 3,12-диіміно-2,4,11,13-тетраазатетрадекан-диімідамід; 0,05 % розчин) застосовують у випадку гнійно-септичних процесів, дезінфекції опікових поверхонь і операційних ран, промиванні сечового міхура. Показаннями до застосування антисептичних препаратів є гнійна хірургічна патологія, мікробні та грибкові ураження шкіри в

комбустіології, для лікування запальних процесів у стоматологічній, отоларингологічній, урологічній та акушерсько-гінекологічній практиці [29].

Проте при застосуванні хлоргексидину теоретично можливе відділення 4-хлораніліну (є потенційним канцерогеном для людини) від молекули хлоргексидину з його подальшим потраплянням у системний кровотік [31].

Серед новіших препаратів із широким колом показань до застосування вирізняють мірамистин – бензилдиметил-[3-міристоїл-аміно)-пропіл]-амонію хлорид моногідрат. Механізм дії мірамистину полягає у прямій гідрофобній взаємодії молекули з ліпідами мембран мікроорганізмів, що призводить до їх фрагментації, зміни ферментної активності мікробної клітини, пригнічення життєдіяльності мікроорганізмів і цитолізу. Мірамистин виявляє виражені протимікробні властивості щодо грампозитивних і грамнегативних, аеробних та анаеробних, споротвірних та аспорогенних бактерій у вигляді монокультур і мікробних асоціацій, а також госпітальних штамів. Під дією мірамистину знижується стійкість мікроорганізмів до антибіотиків [29].

Антисептики мають більш широкий спектр активності порівняно з антибіотиками. У той час як механізмом дії антибіотиків є вплив на певні внутрішньоклітинні специфічні цілі, антисептики мають безліч мішеней для свого впливу як на поверхні, так і всередині бактеріальних клітин. Крім того, антисептики можуть використовуватися в більш високих концентраціях при нанесенні безпосередньо на шкірні покриви, слизові оболонки і рани, таким чином руйнуючи бактерії, незважаючи на наявність антибіотикорезистентності. Проте, якщо антисептики місцево застосовуються протягом тривалого часу, можуть виникати небажані реакції у вигляді контактного дерматиту і гіперчутливості. В інших випадках антисептики можуть володіти високою ефективністю щодо мікроорганізмів, але при цьому бути значною мірою цитотоксичними [32].

Багато місцевих антимікробних засобів є цитотоксичними для кератиноцитів і фібробластів і можуть перешкоджати загоєнню ран. Тому вибір місцевого антимікробного засобу має бути балансом між необхідністю

контролювати ріст мікроорганізмів у опіковій рані та потенційним ризиком того, що антимікробний засіб може погіршити загоєння рани. На практиці серед поверхневих опіків, які, як очікується, будуть загоюватися самостійно. Найважливішим є досягнення цієї рівноваги, оскільки основною метою є загоєння таких опіків протягом 2-3 тижнів після травми, щоб зменшити ймовірність появи гіпертрофічних рубців [18].

Головна роль антисептиків – усунення або скорочення кількості мікроорганізмів у рані. З цим завданням справляються більшість розчинів, що застосовуються навіть протягом багатьох років. Іншою метою є надання позитивного впливу на проліферацію і регенерацію тканин [33]. Із цим завданням справляються далеко не всі широко використовувані нині препарати (табл. 1.1) [31].

Полігексанид (полігексаметиленбігуанід, ПГМБ) як представник групи полімерних сполук на основі солей полігексаметиленгуанідину має більшу глибину проникнення у шкіру, ніж хлоргексидин, не викликає розвитку резистентності мікроорганізмів, на відміну від інших антисептичних засобів, сприяє загоєнню ран та не викликає системних неалергічних небажаних реакцій [31].

Властивості топічних антисептиків при нанесенні їх на поверхню рани

Сполука	Час від нанесення на рану до розвитку респірованого антимікробного ефекту	Глибина проникнення антисептика у	Розвиток резистентності	Вплив на загоєння рани	Сенсибілізація	Ризик системних неалергічних небажаних реакцій
Срібло	≥24 г	3	Є ризик	Може інгібувати	Ні	Так
Хлоргексидин	3–10 г	1	Так	Не інгібує	Рідко, можливі анафілактичні реакції	Теоретично можливе відділення 4-хлораніліну від молекули хлоргексидину з його подальшим потраплянням у системний кровотік
Октенідин	3–10 г	1	Ні	Не інгібує	Ні	Ні
Полігексанід (полігексаметилен-бігуанід)	3–10 г	2	Ні	Сприяє	Рідко, можливі анафілактичні реакції	Ні
Повідон-йод	30 хв	3	Ні	Може частково інгібувати	Можлива	Так

Примітки:

- 1 – поверхневий ефект через високий ступінь зв'язування з білками;
- 2 – мала глибина проникнення;
- 3 – глибина проникнення більше, ніж при 2 (інформація базується на основі даних фізико-хімічних властивостей сполук і / або продемонстрованої абсорбції).

Серед широкого спектра біоцидних препаратів виділяється група полімерних сполук на основі солей полігексаметиленгуанідину, а саме гідрохлориди (ПГМГ-ГХ) та фосфати (ПГМГ-Ф). Ці сполуки легкодоступні, високоефективні, мають широкий спектр бактерицидної дії і при цьому є малотоксичними, не проникають через шкіру і не накопичуються в організмі, розкладаються в навколишньому середовищі. Полігуанідини – єдині відомі водорозчинні сполуки, які утворюють на оброблюваних об'єктах наноплівку, що довго зберігається [34]. До застосування дозволені такі препарати на основі солей ПГМГ, як Вітасепт, Гембар, Лізетол АФ, Полідез, Славін та ін. Попередніми дослідженнями було встановлено, що препарати на основі ПГМГ ефективні проти бактерій, але для досягнення фунгіцидного ефекту потрібно

використовувати більші концентрації робочих розчинів та збільшувати час дезінфекції, або підсилити антимікробні властивості іншою речовиною [35].

Полігуанідини – клас полімерів, що має виражену антимікробну активність [36], головним представником якої є ПГМГ-ГХ [37]. Цей полімер застосовують як дезінфікуючий засіб у медицині та сільському господарстві [38]. У вигляді гідрогелів «Ескалет» та «Біопаг-Д» полігексаметилгуанідину гідрохлорид застосовують у ветеринарії також як ранозагоювальний засіб. У зв'язку з підвищеною резистентністю мікроорганізмів до антибіотиків, особливо до групи ESKAPE (запропонована експертами ВООЗ аббревіатура за першими літерами назви збудника), що включає *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, проводиться пошук сполук, які можуть бути ефективними стосовно них. Саме у гуанідинопохідних полімерів виявили протимікробну та противірусну активність і тому вирішили визначити їх протимікробний вплив на збудників групи ESKAPE. При порівнянні протимікробної дії полігексаметилгуанідину з хлоргексидину біглюконатом встановили, що полімерна сполука мала більший вплив на метицилінрезистентні *Staphylococcus aureus*, карбапенемрезистентну *Klebsiella pneumoniae*, цефтазидимрезистентну *Enterobacter spp.*, ванкомицінрезистентні *Enterococcus faecium*, ципрофлоксацин- та левофлоксацинрезистентні *Acinetobacter baumannii* та мультирезистентний *Pseudomonas aeruginosa*. Для впливу хлоргексидину біглюконату на ці мікроорганізми потрібно було більше часу. Отримані результати обґрунтовують доцільність включення полігексаметилгуанідину гідрохлориду як мажорного (>70 %) до складу антисептиків і дезінфектантів з метою дії на антибіотикорезистентні штами [39]. ПГМГ-ГХ має широкий спектр протимікробної активності [40–41], відносно низьку токсичність, високу стабільність у водному середовищі та землі [42–43].

Експериментально встановлено, що ПАГ та його солі всмоктуються через неушкоджені шкірні покриви, проте швидкість трансепідермальної розробки через неушкоджені шкірні покриви для полімеру набагато нижча, ніж для його

аналога – хлоргексидину біглюконату. Висихаючи на поверхні шкіри, полімер утворює плівку, яка перешкоджає подальшій резорбції антисептика, тому всмоктування полімеру при контакті з шкірою швидко припиняється [5].

Антибактеріальна активність ПГМГ-ГХ була протестована на таких штаммах мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, *Метицилінрезистентний золотистий стафілокок (MRSA)*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* та *Escherichia coli* [44].

Для оцінки дезінфікуючої активності ПГМГ-ГХ визначали фенольний коефіцієнт на мікроорганізмах *S. aureus* ATCC 6538, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 та *P. aeruginosa* ATCC 15442 у жорсткій воді. Фенольний коефіцієнт ПГМГ-ГХ щодо *P. aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* та *S. aureus* склав 5; 6,1 та 7,5 відповідно [45–46]. Наведені дані свідчать про те, що ПГМГ-ГХ проявляє виражену дезінфікуючу активність. Ці результати також показали відмінності у бактеріальній стійкості до ПГМГ-ГХ. *P. aeruginosa* виявилася більш стійкою до ПГМГ-ГХ, ніж *Salmonella choleraesuis* та *S. aureus*.

Резистентність бактерій до дезінфектантів та антисептиків може залежати від характеру та складу шарів зовнішньої клітинної стінки, яка може виступати як бар'єр, а також від утворення біоплівки [47–48]. Клітинна стінка *S. aureus* складається переважно з пептидоглікану та тейхоевих кислот, які не є бар'єром для антисептиків та дезінфектантів. Чутливість *S. aureus* до ПГМГ-ГХ може виникнути у зв'язку з тим, що стінка бактерій є легкопроникною для речовини із високою молекулярною масою. Тому грамнегативні бактерії є більш резистентними до антисептиків та дезінфектантів, ніж грампозитивні, оскільки їх мембрана відіграє роль бар'єра, який зменшує потрапляння багатьох антибактеріальних агентів у цитоплазму [49]. Грамнегативні бактерії, у тому числі і *P. aeruginosa*, більш резистентні до багатьох антисептиків та дезінфектантів. Це прояв природної стійкості [50], і тому такі мікроорганізми є особливо небезпечними патогенами.

Висока резистентність грамнегативних мікроорганізмів до антисептиків та дезінфектантів може бути пояснена різницею у складі зовнішньої мембрани,

вмістом ліпополісахаридів, протеїнів та полісахаридів, а також довжиною фосфоліпідів та їх розгалуженням порівняно з *Salmonella choleraesuis* та *S. aureus*. Крім того, високій стійкості *P. aeruginosa* сприяє її властивість колонізувати поверхні у вигляді біоплівки [47].

Біоплівка є складною агрегацією мікроорганізмів, що ростуть на твердій поверхні. Вона характеризується структурною неоднорідністю, генетичною різноманітністю, складними взаємодіями між сукупністю мікроорганізмів та позаклітинною «матрицею» полімерних речовин [51]. McDonnell & Russell (1999) виявили, що біоплівка може утворювати перешкоди між клітинами всередині біоплівки та дезінфікуючими засобами. Крім того, відбувається хімічна взаємодія між дезінфікуючими речовинами та біоплівкою, а клітини у біоплівці можуть виробляти ферменти деградації, які нейтралізують хімічні речовини.

При концентраціях ПГМГ-ГХ менших за 0,04 % жодного впливу на ріст *MRSA* не було. Однак при концентраціях вищих за 0,04 % відбувалося інгібування росту *MRSA*. Для *E. coli* найменша концентрація дезінфектанту, яка припиняла ріст, складала 0,005 % [58]. Оскільки найнижчими концентраціями, які інгібують ріст *MRSA* і *E. coli*, були 0,04 та 0,005 % відповідно, ці концентрації можуть визначатися як МІК ПГМГ-ГХ для *MRSA* та *E. coli*. Аліквоти з пробірок, що містять випробовувані організми та ПГМГ-ГХ у концентрації вище МІК ($\geq 0,04$ % для *MRSA* і $\geq 0,005$ % для *E. coli*), засівали в чашки з живильним агаром без ПГМГ-ГХ. При інкубації протягом 48 год при 37 °C ніякого росту не спостерігалося, що вказує на бактерицидну дію ПГМГ-ГХ. МБК ПГМГ-ГХ складає 0,005 % для *E. coli* та 0,04 % для *MRSA*, такі ж значення МІК для обох тест-культур [47]. ПГМГ-ГХ призводить до загибелі бактеріальних клітин при найнижчій концентрації, при якій проявляє свою дію. Бактерицидний ефект ПГМГ-ГХ при МБК щодо *MRSA* та *E. coli* було досягнуто через 1,5 хв. Оскільки значення МБК для *E. coli* у вісім разів нижче за значення МБК для *MRSA*, це дає можливість припустити, що *E. coli* є у вісім разів чутливішою до ПГМГ-ГХ, ніж *MRSA* [44]. Така швидка дія та висока активність ПГМГ-ГХ навіть при

застосуванні дезінфектанту у низьких концентраціях свідчить про те, що ПГМГ-ГХ є дуже ефективним дезінфікуючим засобом і може розглядатися як перспективний антимікробний засіб для застосування у клінічній практиці.

На рисунку 1.1 продемонстровано механізм дії ПГМГ-ГХ на бактеріальну клітину. До обробки дезінфектантом клітини були неушкодженими, а клітинна оболонка і цитоплазма не були роз'єднаними (рис. 1.1, а). Клітинна стінка є основною мішенню дії ПГМГ-ГХ. Як показано на фрагменті 1.1, б, ПГМГ-ГХ проникає через клітинну оболонку, водночас пошкоджуючи клітинну стінку та мембрану. Це призводить до розриву клітинної стінки та вивільнення цитоплазматичного вмісту [44].

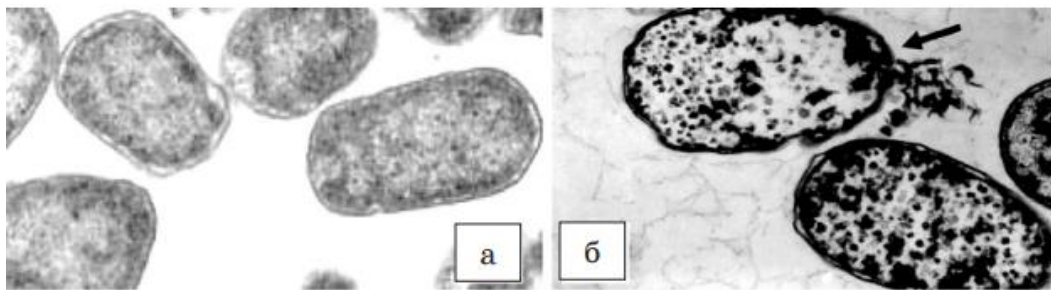


Рис. 1.1 Ультраструктура клітин *E. coli* за дії полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (трансмійна електронна мікроскопія): а) *E. coli* (контроль); б) *E. coli* після 10-хв інкубації з 0,05 % розчином ПГМГ-ГХ

Похідні гуанідину швидко притягуються до негативно зарядженої поверхні бактеріальної клітини з сильною та специфічною адсорбцією на фосфатовмісних сполуках. Цілісність зовнішньої мембрани порушується, а полімери притягуються до внутрішньої мембрани. Відбувається зв'язування похідних гуанідину з фосфоліпідами, що призводить до повної втрати функції мембрани [47]. Взаємодія ПГМГ-ГХ та мембрани призводить до втрати її функцій (таких як порушення транспорту, біосинтетичних і катаболічних можливостей) шляхом зміни середовища фосфоліпідів на межі клітини [52].

Як показано на фрагменті 1.1, б, матеріал всередині клітини осаджується, що свідчить про пряму взаємодію між ПГМГ-ГХ і цитоплазматичними компонентами мікроорганізмів. Проникнення ПГМГ-ГХ всередину цитоплазми

може викликати осадження білків і нуклеїнових кислот, викликаючи згортання цитозолу [47].

Механізм дії поліалкіленгуанідинів на бактерії базується на їх здатності змінювати властивості клітинної мембрани мікроорганізму. Високомолекулярні солі поліалкіленгуанідинів – тверді речовини, розчинні у воді, які володіють властивостями катіонного поліелектроліту та сильної органічної основи. Після дисоціації солей поліалкіленгуанідинів, що утворилися, катіони вступають у реакцію з оболонками бактерій, що мають негативний заряд. При цьому ліпофільні групи засобів сприяють дезагрегації ліпопротеїнової мембрани бактерій, внаслідок чого відбувається порушення осмотичної рівноваги, втрата калію і фосфору з клітини бактерії. Під дією засобів відбувається руйнування цитоплазматичної мембрани бактерії і порушення її осмотичної рівноваги, внаслідок чого настає загибель бактерії [5].

ПГМГ, за даними наукових джерел, належить до малонебезпечних речовин при нанесенні на шкірні покриви: ЛД₅₀>10000 мг/кг [53]. Низька токсичність ПГМГ пояснюється тим, що в організмі теплокровних є ферментні системи, здатні викликати деградацію гуанідинвмісних полімерів.

ЛД₅₀ ПГМГ-ГХ при пероральному застосуванні, за різними даними, становить від 370 (миші-самки) та 620 (миші-самці) [54] до 900 (для обох статей) мг/кг [55]. Згідно з літературними даними ПГМГ-ГХ властива політропність дії, зокрема нейротоксичність, про що свідчать клоніко-тонічні судоми, зміна характеру дихання, судинно-циркуляторні порушення. Також можуть спостерігатися набряк легень, некротичні зміни в паренхімі нирок та печінки, виражені гемодинамічні порушення. Загибель тварин може наставати внаслідок вираженої гіпоксії, зумовленої порушеннями гемодинаміки, а також пошкодженням аерогематичного бар'єру у легенях із подальшим недостатнім надходженням кисню у кров. Не виключена також можливість безпосереднього токсичного впливу ПГМГ-ГХ на структуру вищезазначених органів [54].

Слід зазначити, що за умов інгаляційного введення полігексаметиленгуанідину дослідники констатували небезпечне пошкодження

легеневої тканини, а саме розвиток запалення і фіброзу легень у людини [56]. У дослідах *in vitro* та *in vivo* встановлено, що частинки аерозолі сполуки викликають експресію прозапальних цитокінів при активації ядерного фактора каппа бі (NF- κ B) сигнальних шляхів та інтерлейкінів – як показників розвитку запалення. Раніше було встановлено, що цитокіни визначають розвиток фіброзу і запалення в легенях мишей, яким вводили блеоміцин, та підкреслювалася роль цитокінів у патогенезі запалення легень [57]. Гістологічні зміни легеневої тканини, розвиток фіброзу, викликаного полігексаметиленгуанідом, були подібні до змін, які спостерігали під впливом блеоміцину [58].

При лікуванні опікової рани у експериментальних тварин гідрогель полігексаметиленгуанідину виявляв більшу ранозагоювальну активність порівняно з референтним препаратом левомеколем, що виражалось в значному зменшенні площі поверхні рани на 10 добу лікування. Загоювання рани після застосування полігексаметиленгуанідину відбувалося швидше порівняно з контрольними тваринами, яким місцево рану обробляли плацебо (розчином натрію хлориду). Препарат підвищував у крові кількість антиоксидантів, нормалізував вміст лейкоцитів у периферійній крові [59]. Подібні результати були також отримані при застосуванні полігексаметиленгуанідину в умовах лінійної шкірно-м'язової рани. Дані патоморфологічних досліджень свідчили, що, в той час як у тварин контрольної групи ще на 8 добу зберігалася ранова щілина, під впливом гідрогелю полігексаметиленгуанідину спостерігали на 8 добу регенерацію епітелію, по краях ранового дефекту добре розвинену грануляційну тканину зі значною кількістю фібробластів, гістоцитів, мононуклеарних лейкоцитів. У грануляційній тканині спостерігали орієнтовані в горизонтальному напрямку невеликі тяжі фібробластів та ниті колагену, сформовані в пучки вертикальні капіляри, навколо яких фіксували скупчення макрофагальних елементів, практично повністю заміщуючих поліморфно-ядерні лейкоцити. Препарат нормалізував кількість лейкоцитів у периферичній крові та володів антиоксидантною активністю [60].

1.4 Нанодисперсний кремнезем як перспективна речовина для розробки сорбентів нового покоління

Вимогам, що ставляться до сорбентів, більшою мірою відповідає діоксид кремнію: він має необхідні гранулометричні та структурні параметри, мінімально травмує біологічні тканини, у разі всмоктування не виявляє токсичного впливу на організм і тканини, фіксує речовини на поверхні, відновлює морфофункціональні показники, не поглинає білок і кисень з крові і лімфи, не порушує мінеральний баланс організму. Крім того, діоксид кремнію є селективним до певного класу сполук, ідентифікованих у рані. Частинкам кремнезему притаманні властивості високої люмінісцентності та світлостабільності [61].

Діоксид кремнію має властивості не тільки сорбенту, але і каталізатора, що є корисним у розробці нових нанокompatитів на його основі в медицині та фармації [62–64].

Наприкінці 70-х років минулого століття спільними зусиллями хіміків відділу хімії поверхні Інституту фізичної хімії імені Л. В. Писаржевського АН УРСР і медиків Вінницького медінституту імені М. І. Пирогова вперше на основі аморфного непористого високодисперсного кремнезему було створено ентеросорбент у вигляді порошку для виготовлення суспензій *ex tempore*, який дістав назву «Полісорб МП». Потім аналогічні препарати випускалися і випускаються нині під назвами «Силлард П», «Силікс», «Атоксіл» (Україна) і «Полісорб МП» (РФ) [65].

Для медичних цілей використовують нанокремнезем із величиною питомої поверхні 300 м²/г, який складається з частинок сферичної форми діаметром ~ 10 нм. На поверхні наночастинок знаходяться поодинокі ізольовані гідроксильні групи ≡Si-OH (вільні силанольні групи), гідроксильні групи, які зв'язані взаємним водневим зв'язком, а також сорбована вода. З хімічної точки зору, наночастинки дисперсного кремнезему А-300 можна охарактеризувати як тривимірні жорсткі макромолекули полікремнієвої кислоти з молекулярною масою ~ 530 000 та ступенем полімеризації ~ 8700.

Частинки нанокремнезему через водневі зв'язки між вільними силанольними групами утворюють сферичні агрегати діаметром 100–200 нм, які, у свою чергу, можуть об'єднуватися в агломерати мікронних розмірів (рис. 1.2) [66].

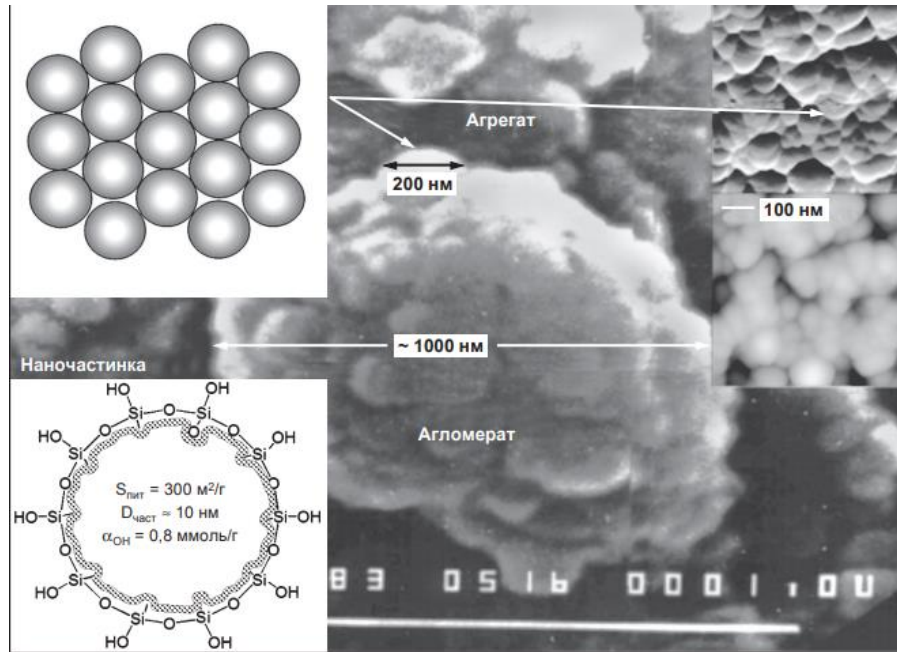


Рис. 1.2 Схематичне зображення та мікрофотографії частинок, агрегатів і агломератів нанокремнезему А-300 [66]

Препарати, виготовлені на основі аморфного нанокремнезему, виявили високу ефективність при їх використанні у комплексному лікуванні гнійно-запальних, інфекційних, онкологічних та деяких інших захворювань [67–68]. Значною мірою це зумовлено тим, що від інших сорбентів такий кремнезем вигідно відрізняється високою сорбційною ємкістю щодо білків – 500–700 мг/г і мікробів – 10^8 – 10^{10} мікробних тіл/г, незалежно від їх видової належності. За протеонектичними (білоксорбуючими) властивостями нанорозмірний кремнезем переважає більшість сучасних ентеросорбентів [65].

Оскільки у розвитку ускладнень раньового процесу значну роль відіграють мікроорганізми, що колонізують уражену ділянку, важливим є використання механічної сорбції. У досліджах було доведено, що нанодисперсний кремнезем (НДК) адсорбується на поверхні одноклітинних мікроорганізмів, що приводить зрештою до їх аглютинації з утворенням пластівцеподібних конгломератів. Було

вивчено взаємодію НДК з музейними та клінічними штамами кишкової палички, золотистого стафілокока, вульгарного протей, синьогнійної палички. Перелічені мікроорганізми належать до одноклітинних прокариотів, структура поверхні яких представлена, зокрема, складним набором рецепторів в основному глікопротеїдної природи. Добові культури бактерій вводили в контакт із сорбентом, фільтрували, і фільтрат висіювали на поживні середовища. Встановлено, що НДК у концентрації 0,33–1,33 % зв'язує 99–100 % мікроорганізмів (до 3×10^9 мікробних тіл на 1 г сорбенту), незалежно від їх виду.

Було підраховано, що аглютинація настає, якщо на 1 мікробну клітину припадає не менше ніж $6,6 \times 10^5$ частинок НДК. Бактеріологічні дослідження свідчать про міцне зв'язування мікроорганізмів сорбентом: після фільтрування через паперовий фільтр суміші сорбенту з мікробами в фільтраті не виявляються кишкові палички, хоча цей фільтр пропускає nano-SiO_2 і мікроорганізми окремо. При фільтруванні суміші, де кількість кремнезему недостатня для аглютинації, у фільтраті виявляються мікроорганізми. З приводу механізму аглютинуючої дії сорбенту передбачається, що структурами, відповідальними за взаємодію НДК з мікробною клітиною, є білки-адгезини фімбрій (пілей).

Встановлено, що кремнезем безпосередньо не має руйнівної дії на більшість полімерів, що входять до складу цитоплазматичної мембрани мікробів, і не призводить до їх лізису. Передбачається, що НДК, концентруючись на поверхні мікробної клітини, викликає порушення її функцій, зокрема нейтралізує адгезивні властивості за рахунок денатурації мембранних білків і блокування факторів адгезії [69].

Інші автори також відзначають суттєві антибактеріальні, ранозагоювальні та сорбційні властивості сорбентів на основі високодисперсного кремнезему з іммобілізованими на його поверхні антибактеріальними препаратами для лікування гнійних операційних ран, абсцесів і флегмон м'яких тканин у комплексі лікування гнійних ускладнень цукрового діабету, трофічних виразок різної етіології [70].

При окремому застосуванні нанодисперсного кремнезему у досліді на мишах, яким моделювали інфікований опік III-V ступеня, вже на 24 день спостерігалася епітелізація рани [71].

При застосуванні композиту високодисперсного кремнезему з метронідазолом знижувалася частота післяопераційних ускладнень, таких як нагноєння операційної рани, розходження швів, скорочувалися терміни загоєння гнійних ран різної локалізації. Причому, протимікробна активність метронідазолу в композиті навіть збільшувалася порівняно з монопрепаратом за рахунок сорбції мікроорганізмів [72].

Також застосування комплексного композиту високодисперсного кремнезему з левофлоксацином на моделі інфікованого термічного опіку сприяло більш швидкій нормалізації показників перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи, що може свідчити про потужні антиоксидантні, протизапальні та протимікробні властивості досліджуваної сполуки [73].

Розробка нанокремнезему дозволила підвищити його сорбційну та протимікробну дію. Одним із перспективних шляхів лікування ранового процесу вважають сумісне застосування нанодисперсного кремнезему з протимікробними засобами. Так, призначення комбінації нанодисперсного кремнезему з антисептиками (хлоргексидином та ін.) при лікуванні гнійно-ранового процесу нижньої щелепи дозволило зменшити кількість дегенеративно змінених фагоцитів, прискорити процес регенерації (інтенсифікувало розвиток сполучної тканини, появу великої кількості юних і зрілих фібробластів) [74]. Крім того, експерименти показали доцільність поєднання нанодисперсного кремнезему з іншими наночастинками, які мають антисептичні властивості, а також з полімерами, що також виявляють протимікробну активність [75].

Перспективним напрямом вдосконалення терапії ранового процесу є розробка нових лікарських препаратів за допомогою нанотехнологій, що відкриває можливість посилення фармакологічної дії існуючих лікарських засобів [76].

Для лікування ран розробили нанокompозит на основі нанодисперсного кремнезему з поверхнево-активним антисептиком та гідрофобним сорбентом поліметилсилоксаном. Цей композит має ефективну сорбційну, осмотичну активність, утримує на поверхні білки, метаболіти середньої маси та їх токсини, а також виявляє значну протимікробну активність, знижуючи патогенність мікроорганізмів при гнійно-запальних процесах у м'яких тканинах [77].

Застосування наночастинок металів для підвищення ефективності фармакологічних засобів базується на тому, що завдяки низці фізико-хімічних особливостей, пов'язаних з їх розміром, вони виявляють унікальні оптичні, електромагнітні, каталітичні та інші властивості, що зазвичай не притаманні металам [78–79]. На сьогодні одним із найбільш досліджених наночастинок металів є наночастинки срібла, які привертають особливу увагу своїми унікальними біологічними, фізичними, хімічними властивостями, що пов'язано зі значною величиною відношення площі та поверхні до об'єму та інших розмірних показників і фармакологічних властивостей [80]. Наночастинки срібла виявляють імуномодулювальну, протимікробну, протизапальну дію.

Широке застосування наночастинок срібла обумовлено, перш за все, їх електрофізичними, оптичними та каталітичними особливостями, відмінними від властивостей компактного металу. Це пояснюється збільшенням числа атомів металів на поверхні частинок порівняно з числом атомів в об'ємі [81–82]. Наносрібло застосовують для лікування ран, опіків, ранових поверхонь в онкології частіше у вигляді мазі або лініменту [83]. У мазі комбінованого складу, що містить тіотриазолін із наночастинками срібла, виявлена ранозагоювальна та антиоксидантна дія, що перевищує дію окремо монокомпонентної мазі тіотриазоліну або сульфатіазолу срібла. Застосування мазі комбінованого складу зменшує кількість прозапальних цитокінів у рані, виявляє антиоксидантну дію, відновлює систему оксиду азоту [84]. При розробці нанопрепаратів з використанням субстанцій нанометалів (наносрібла, наноміді, наноцинку, нанозаліза та ін.) необхідно проводити стандартизацію субстанції, довести її стабільність, збереження структури у лікарській формі.

Стабільність наноматеріалів досягалася різними методами, у тому числі створенням нанокомпозитів із кремнеземом, коли наночастинки срібла, міді, цинку та їх сполук пересуваються в порах або на поверхні кремній-земельних матеріалів [85–86].

Одними з перших при створенні нанопрепаратів стали похідні солей важких металів – міді, срібла, заліза та інших [86]. Встановили, що призначення наночастинок срібла та інших металів із вираженою антибактеріальною дією стимулює регенерацію рани на фоні досить вираженого антисептичного ефекту [78, 87]. Нанопохідні цих металів виявляли протимікробну дію в умовах моделювання системних інфекційних процесів тощо [88]. З метою підвищення протимікробної активності наночастинок срібла та інших металів створювали їх нанокон'югати і нанокомпозити. Так, нанокон'югат наночастинок міді з цефтриаксоном сприяв реалізації протимікробної активності, що перевищувала протимікробний ефект 0-валентної наноміді [88].

Токсичність нанопрепаратів металів значно зменшується при утворенні композитів із сорбентами і, в першу чергу, з кремнеземом [89]. Підвищена увага до неорганічних протимікробних засобів зумовлена їх неспецифічною протимікробною дією та відсутністю резистентністю мікроорганізмів до катіонів важких металів. Водночас відомо, що ізоляти деяких бактерій, таких як *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sermones*, *Proteus*, *Listeria*, отриманих з морепродуктів, проявляють стійкість до таких важких металів, як мідь, хром, кобальт, зважаючи до них за умов тривалого контакту в середовищі [90].

Таким чином, не завжди наночастинки металів мають більш виражений протимікробний ефект, ніж препарати металів у вигляді макро- або мікророзміру. Це пов'язано з тим, що методи отримання нанокомпозитів, інкорпорованими наночастинками в матриці, а також присутність інших металів може суттєво впливати на протимікробну активність [91-95]. Певну цікавість при пошуку ефективних протимікробних засобів виявляють похідні гуанідину.

Висновки до розділу I

1. Проведено аналіз літературних джерел з питань антибіотикорезистентності, проблем та особливостей застосування сучасних дезінфікуючих та протимікробних засобів, а також сорбентів у лікуванні термічних та інфікованих уражень шкіри.

2. Проаналізувавши результати досліджень, ми дійшли висновку про доцільність розробки нанокомпозиту з включенням протимікробного антиоксиданту полігексаметиленгуанідину та нанодисперсного кремнезему, що може посилити протимікробні властивості полімеру та зменшити його токсичність. Нанокремнезем у композиті здатний забезпечити лімфосанацію та захистити непошкоджені тканини від гіпоксії, а також попередити всмоктування полігексаметиленгуанідину, що буде сприяти зменшенню токсичності композиту. Подальші поглиблені дослідження протизапальних, ранозагоювальних та метаболічних властивостей нового композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідином дозволять окреслити перспективи його використання для терапії ранового процесу.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Виходячи з мети та завдань, які поставлені в роботі, були використані фармакологічні, мікробіологічні, токсикологічні, імуноферментні, біохімічні, фізико-хімічні, морфологічні, планіметричні, статистичні методи дослідження.

Речовини. Для синтезу композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом використовували субстанцію високодисперсного кремнезему марки А-300 (ТОВ «Орисіл-Калуш», Україна) та 20 % розчин ПГМГ-ГХ (ПФ «Терміт»).

З метою порівняльного дослідження сорбційних властивостей були використані «Силікс», порошок для оральної суспензії (ЗАТ «Біофарма», Україна), «Ентеросгель», паста для перорального застосування (ПрАТ «ЕОФ «КРЕОМА-ФАРМ», Україна); для порівняльного вивчення протимікробних та антибіоплівкових властивостей *in vitro* використовували ципрофлоксацин (лікарський препарат «Ципринол», 0,2 % розчин для інфузій), (KRKA, Словенія) та гентаміцину сульфат, 4 % розчин для ін'єкцій (ПАТ «Галичфарм», Україна); для порівняльного вивчення протимікробних та ранозагоювальних властивостей використовували хлоргексидин (лікарський препарат «Хлорексидин-КР», 0,05 % розчин для зовнішнього застосування), (ПАТ «Хімфармзавод "Червона зірка"», Україна); для порівняльного вивчення токсикологічних властивостей використовували розчинник «Вода для ін'єкцій» по 5 мл в ампулі, по 5 ампул у блістері, по 2 блістери в пачці ПАТ «Галичфарм», Україна.

Мікроорганізми. У роботі використано 6 еталонних тест-штамів умовно-патогенних мікроорганізмів: *Escherichia coli* УКМ В-906, *Staphylococcus aureus* УКМ В-918, *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900, *Salmonella enterica* УКМ В-921, *Klebsiella pneumoniae* УКМ В-920, *Candida albicans* УКМ Y-1918 та клінічний штам *P. aeruginosa* 449, виділений від пацієнтів ДУ «Інститут урології НАМН України».

Поживні середовища. У роботі використовували поживні середовища (ПС) Лурія – Бертані (Luria-Bertani broth, Merck, Germany) (LB) – бульйон та агар, соєво-казеїновий бульйон та агар, бульйон Мюллера – Хінтон.

Приготування вихідних і робочих суспензій мікроорганізмів та препаратів, визначення мінімальних пригнічуючих концентрацій (MIC від *minimal inhibiting concentration*) досліджуваних речовин проводили у рідкому середовищі LB. Отримання добових культур мікроорганізмів, висів аліквот дослідних і контрольних суспензій для встановлення мінімальних бактерицидних/фунгіцидних концентрацій (МБК/МФК) препаратів здійснювали на щільне поживне середовище LB у чашки Петрі.

Сорбати при визначенні адсорбції. Як маркери адсорбції застосовували речовини різної молекулярної маси та іоногенності, що імітують фактори інтоксикації сполуки з низькою – метиленовий синій («Хімлаборреактив», Україна), середньою – ціанокобаламін (ПАТ «Галичфарм», Україна) та високою молекулярною масою – альбумін людський («Хімлаборреактив», Україна), желатин («Хімлаборреактив», Україна).

Лабораторні тварини. В експериментах було використано 71 білу безпородну мишу (47 самок та 24 самці) віком 2–2,5 місяці та масою 18–22 г та 48 безпородних білих щурів масою 200–250 г.

Експерименти *in vivo* проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [96]. Усіх тварин, яких використовували в експериментах, виростили у віварії НМУ імені О. О. Богомольця та утримували в стандартних умовах за температури 22–24 °С та відносної вологості 30–70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації з попереднім карантинном протягом 14 днів. План досліджень розглянутий та схвалений Комітетом з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, були дотримані.

Визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні. Для внутрішньошлункового введення композиту НДК+ПГМГ-ГХ було

використано 23 самки та 24 самці, з яких сформовано 3 дослідні та контрольна групи. Протягом 3–4 год перед введенням досліджуваних речовин тварин утримували без корму з вільним доступом до води.

Першій групі вводили композит НДК+ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %). Досліджувана речовина являла собою гомогенну суспензію білого кольору, яку вводили тваринам одноразово вранці натщесерце внутрішньошлунково в об'ємі 0,8 мл. Другій групі – суспензію НДК у дозі 2000 мг/кг, третій групі – розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг, що відповідає дозам даних компонентів у композиті. Вищезазначені дози композиту нанодисперсного кремнезему з ПГМГ-ГХ і суспензії НДК були максимально технічно можливими для введення. Мишам контрольної групи вводили через зонд розчинник – воду для ін'єкцій – у тому ж об'ємі.

Спостереження за станом тварин проводили протягом 14 діб після введення речовин. У перший день експерименту тварини перебували під безперервним наглядом. Протягом спостереження враховували зовнішній стан тварин, особливості поведінки, інтенсивність і характер рухової активності, оцінювали прийом корму та води, функціонування життєво важливих органів і систем, визначали масу тварин, реєстрували терміни розвитку інтоксикації та загибелі тварин.

Масу тварин визначали перед введенням композиту на 3, 7 і 14 добу відновного періоду. На 14 добу всіх тварин виводили з експерименту та при аутопсії вилучали головний мозок, тимус, серце, легені з бронхами, печінку, селезінку, нирки, шлунок. Після відокремлення зайвої жирової (сполучної) тканин органи промивали у фізіологічному розчині, зайву вологу прибирали за допомогою фільтрувального паперу та зважували на електронних вагах. На основі абсолютних значень маси органів розраховано відносні маси шляхом визначення співвідношення маси органу до маси тіла даної тварини [97].

Визначення гострої токсичності при нашкірному нанесенні. Дослідження гострої токсичності композиту НДК+ПГМГ-ГХ проводилося за умов одноразового нашкірного нанесення самкам мишей масою 18–22 г віком 2–2,5

місяці.

Для нашкірного нанесення композиту НДК+ПГМГ-ГХ було використано 24 тварини, з яких сформовано 3 дослідні та контрольну групи ($n = 6$).

Першій групі наносили композит НДК+ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %), другій – суспензію НДК у дозі 2000 мг/кг і третій – розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг, що відповідає дозам даних компонентів у композиті. Мишам контрольної групи наносили розчинник – воду для ін'єкцій.

Тест-зразок композиту, його компонентів та розчинника наносили на вистрижену ділянку шкіри тварин розміром 35 см², що складає приблизно 70 % від площі шкірних покривів мишей. Спостереження за станом тварин проводили протягом 14 діб після нанесення речовин. У перший день експерименту тварини перебували під безперервним наглядом. Протягом спостереження враховували зовнішній стан тварин, особливості поведінки, інтенсивність і характер рухової активності, оцінювали прийом корму та води, функціонування життєво важливих органів і систем, визначали масу тварин.

Масу тварин визначали перед нанесенням композиту та на 3, 7 і 14 добу відновного періоду. На 14 добу всіх тварин виводили з експерименту та проводили макроскопічний огляд внутрішніх органів [97].

Визначення сорбційної активності in vitro. З метою визначення величини адсорбції у пробірки з наважками сорбентів по 50 мг додавали 4–5 мл розчину маркерної речовини і помірно перемішували на апараті для збовтування протягом години. Потім пробірки центрифугували за 3000 об/хв упродовж 30 хв, у залишковій рідині визначали питому поглинання. Для визначення концентрації використовували спектрофотометричні методики. Величину адсорбції (мг/г) розраховували як відношення різниці між вихідною і рівноважною кількостями речовини у пробі до маси наважки сорбенту [96–100].

При тестуванні адсорбційних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ середовище рани моделювали 0,9 % розчином NaCl, який доводили хлорводневою кислотою до рН 6,0. Речовини порівняння Силікс та ентеросгель застосовували у вигляді суспензії з рН 7,5.

Питому поверхню кремнеземів ($S_{\text{бет}}$) розраховували за стандартним методом БЕТ за ізотермами адсорбції-десорбції азоту з використанням газоадсорбційного аналізатора NOVA 2200 (Quantachrome, США) [101].

Визначення протимікробної активності in vitro. При визначенні протимікробної активності для кожного еталонного тест-штаму мікроорганізмів готували ряд із 12 пробірок, в які вносили по 0,5 мл середовища LB. Із робочих розчинів препаратів відбирали по 0,5 мл і вносили у перші пробірки кожного ряду, після чого готували подвійні серійні розведення.

Добові культури мікроорганізмів отримували шляхом їх культивування на скошеному щільному середовищі LB протягом 18–24 год при 37 °С. Із добових культур готували вихідні бактеріальні суспензії за стандартом мутності 0,5 Од за МакФарландом (титр близько $1,5 \times 10^8$ КУО/мл). Останні розводили у співвідношенні 1:5 (за об'ємом) і отримували робочі суспензії мікроорганізмів.

У подальшому в пробірки із приготовленими подвійними розведеннями досліджуваних препаратів вносили по 0,5 мл робочих суспензій. Таким чином, кінцевий об'єм розчину в досліджуваних пробірках сягав 1 мл. При цьому титр *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* і *K. pneumoniae* становив 10^7 КУО/мл, а *C. albicans* – 10^6 КУО/мл.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на мікроорганізми досліджували, починаючи з концентрації 12,5 мг/мл суспензії нанодисперсного композиту і 2,5 мг/мл ПГМГ-ГХ. Дію НДК досліджували із концентрації 2,5 мг/мл суспензії, а ПГМГ-ГХ – 2,5 мг/мл ПГМГ-ГХ. Кінцевою досліджуваною концентрацією композиту НДК+ПГМГ-ГХ була 6,1 мкг/мл НДК і 1,22 мкг/мл ПГМГ-ГХ; НДК – 6,1 мкг/мл суспензії, а ПГМГ-ГХ – 1,22 мкг/мл.

Одночасно із дослідними зразками в проведених експериментах також готували контрольні зразки. Для отримання позитивних контролів росту мікроорганізмів у пробірки з 0,5 мл LB вносили аналогічні об'єми кожної із використаних культур без додавання досліджуваних антимікробних препаратів. Як негативні контролі росту мікроорганізмів використовували пробірки із 0,5 мл LB та 0,5 мл робочих суспензій досліджуваних культур (без внесення

препаратів), які витримували протягом 24 год при 4 °С. Негативними контролюми чистоти середовища слугували пробірки із 1 мл середовища LB без додавання бактеріальних суспензій і препаратів. Як негативні контролю чистоти препаратів використовували їх подвійні серійні розведення в концентраціях, аналогічних створюваним у дослідних зразках, до яких замість бактеріальних суспензій добавляли 0,5 мл середовища LB. Інкубування дослідних і контрольних суспензій, за винятком негативних контролів росту мікроорганізмів, здійснювали при 37 °С протягом 24 год.

Перед врахуванням результатів негативні контролю середовища і препаратів перевіряли на відсутність росту мікроорганізмів, а позитивні контролю – на наявність росту. Після цього дослідні зразки порівнювали із негативними контролюми росту мікроорганізмів, вносячи корективи на наявність мутності в суспензіях відповідно до негативних контролів чистоти препаратів. Для кожного ряду дослідних пробірок визначали першу концентрацію, при якій спостерігалась відсутність видимого росту мікроорганізмів. Дану концентрацію позначали як мінімальну пригнічуючу (інгібуючу, бактеріостатичну) концентрацію (МІК) відповідного препарату стосовно досліджуваного виду мікроорганізмів.

Наступним етапом досліджень було визначення мінімальних бактерицидних концентрацій препаратів. Для цього з усіх дослідних зразків із відсутністю видимого росту, а також з усіх контрольних пробірок здійснювали висів 200 мкл відповідних суспензій на чашки з щільним середовищем LB. Після рівномірного розподілення кожної із суспензій по поверхні агару та його підсихання, чашки інкубували при 37 °С протягом 24 год у термостаті. У подальшому в кожній зоні нанесення зразків підраховували утворені колонії, які вказували на кількість життєздатних мікроорганізмів у відповідних бактеріальних суспензіях. Цей показник виражали у колонієутворюючих одиницях (КУО). Мінімальну бактерицидну (фунгіцидну) концентрацію відповідного препарату щодо досліджуваних видів мікроорганізмів визначали за першою концентрацією, при якій у нанесених на щільне середовище аліквотах

бактеріальних суспензій виявлявся ріст менше 200 КУО. Вказані показники для *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* та *K. pneumoniae* позначали як МБК (мінімальна бактерицидна концентрація), а для *C. albicans* – як МФК (мінімальна фунгіцидна концентрація). У висівах із позитивних і негативних контролів росту оцінювали наявність газонів зливного росту, а з негативних контролів середовища і чистоти препаратів (із зразків з максимальними концентраціями препарату) – відсутність росту мікроорганізмів. При дотриманні зазначених умов для контрольних зразків проведений експеримент розглядали як поставлений коректно [102, 103].

Антимікробну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо клінічного штаму *P. aeruginosa* 449 визначали загальноприйнятим методом із визначенням МІК [102–104]. За МІК приймали максимальне розведення сполуки, при якому не реєструвався ріст мікроорганізмів. Вивчення антимікробної активності композиту проводили методом серійних мікророзведень у поживних середовищах TSB, бульйоні Мюллера – Хінтон. Посівна доза становила 10^6 КУО/мл. Досліджуваний матеріал інкубували протягом (24–48) год у термостаті при температурі 37 °С. Наявність росту визначали візуально та використовуючи рідер для мікропланшета Absorbance Microplate Reader Elx800 (BioTek, США) при довжині хвилі поглинання 405 нм та хвилі порівняння 630 нм.

Чутливість досліджуваного мікроорганізму до антимікробних засобів визначали на твердому поживному середовищі (МПА) за допомогою диско-дифузійного методу.

Визначення вивільнення ПГМГ-ГХ з композиту. Визначення максимального часу збереження специфічної антимікробної дії здійснювали, використовуючи *P. aeruginosa* 449. Інокулят готували з добової культури бактерій, вирощених на TSB. Посівна доза становила 10^7 КУО/мл. У пробірки з 4 мл поживного середовища вносили 0,4 мл суспензії мікроорганізмів. У стерильних умовах поміщали у батистовий мішечок 1 мл композиту НДК+ПГМГ-ГХ, який містить 10 мг активної речовини ПГМГ, занурювали у пробірку з бактеріями та інкубували в термостаті при 37 °С упродовж 5 діб.

Кожні 24 год цей мішечок переносили у другу пробірку зі свіжопротованою суспензією мікроорганізмів. Із попередньої пробірки робили висіви на щільне ідентифікаційне середовище № 9 для підтвердження відсутності/наявності росту [105].

Визначення антибіоплівкової активності. Оскільки для композиту НДК+ПГМГ-ГХ фармакокінетичні властивості не встановлені, у дослідженнях використані дози 90 та 40 мкг/мл.

Протимікробні препарати у дослідженнях щодо впливу на плівкоутворення та сформовану біоплівку використовували в концентраціях 0,5 та 5,0 МІК.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на біоплівку визначали двома методами: у стаціонарній системі на склі та із застосуванням мікропланшета.

1. Динаміку утворення біоплівки *P. aeruginosa* УКМ В-1 та оцінку впливу досліджуваних речовин на клітини в планктонній та біоплівковій формах визначали в стаціонарній системі на склі [106]. З цією метою в бюкси вносили 1,8 мл живильного середовища LB, покривне скло і 0,2 мл 10-кратного розведення добової культури мікроорганізмів, досягаючи в суспензії їх кінцевої концентрації 1×10^7 КУО/мл. У бюкси з дослідними зразками додавали по 100 мкл композиту НДК+ПГМГ-ГХ і НДК, а в контрольні – аналогічний обсяг ПГМГ-ГХ.

Як позитивний контроль застосовували ПГМГ-ГХ, а як негативний – НДК і МПБ. Композит НДК+ПГМГ-ГХ і ПГМГ-ГХ вносили в концентраціях 90 і 40 мкг/мл (у перерахунку на вміст чистого ПГМГ-ГХ), НДК – згідно з використаними концентраціями композиту, а МПБ – відповідно до внесених обсягів попередніх речовин (по 100 мкл).

Досліджувані зразки вносили перед додаванням бактеріальної суспензії з метою оцінки їх здатності до запобігання утворення біоплівки.

Ефективність впливу оцінювали за кількістю життєздатних бактерій у планктонній та біоплівковій формах протягом трьох діб спостереження. З цією метою щодоби протягом наглядного періоду з бюкса відбирали бактеріальну

суспензію, готували її десятикратні серійні розведення в фізіологічному розчині (ФР), які наносили на м'ясо-пептонний агар (МПА). Відповідний до описаних вище методів титр вказував на кількість життєздатних клітин *P. aeruginosa* в планктонної формі в бактеріальній суспензії. Скло, яке слугувало основою для формування біоплівки, відбирали одночасно з відбором суспензій з аналогічною періодичністю, відмивали від клітин у планктонній формі, після чого відділяли від їх поверхні біоплівковий матрикс із клітинами бактерій методом змиву. В отриманій суспензії визначали титр, який вказує на кількість життєздатних бактеріальних клітин у складі біоплівки.

Дослідження проведено в трьох повторах, а контроль поживних середовищ і розчинника – відповідно до загальноприйнятих методик. Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Краскелаолліса і критерію Ньюмена-Кейлса. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програм Excel 2007 (Microsoft Corp., США) та STATISTICA 6.0 (StatSoft, США). Усі наведені дані подано у вигляді середнього арифметичного (M) і стандартного відхилення (s).

2. Метод вивчення здатності сполук впливати на сформовану біоплівку базується на сорбції молекул барвника, із подальшою їх десорбцією в органічні розчинники. Здатність композиту НДК+ПГМГ-ГХ впливати на процес формування, а також руйнувати сформовані біоплівки досліджували на 1- та 5-добових культурах мікроорганізмів згідно з [107]. Експерименти проведені в полістиролових планшетах [108]. Для вивчення впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на плівкоутворення їх розчини вносили одночасно з суспензією бактерій на сформовані біоплівки через 24 та 120 год після внесення культури мікроорганізмів. Використовували добові культури, вирощені на рідкому поживному середовищі TSB. Для приготування інокуляту культуру у поживному середовищі розводили у 100 разів (1:100). Густина інокуляту визначали на фотоелектроколориметрі КФК-2 при довжині хвилі 590 нм. Термін інкубації з композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратами порівняння складав 24 год при 37 °С. Вміст планшетів видаляли, лунки тричі промивали дистильованою

водою, вносили 0,1 % розчин генціанвіолету та витримували (10–15) хв. Для виявлення сформованої біоплівки барвник екстрагували етанолом (15 хв). Вимірювання оптичної щільності проводили на Adsorbance Microplate Reader ELx×800 (BioTek, США) при довжині хвилі 630 нм. Контролем слугували інтактні культури мікроорганізмів, вирощені за тих самих умов без додавання композиту НДК+ПГМГ-ГХ або препаратів порівняння.

Для оцінки результатів досліджень та виявлення відмінностей між дією композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння були використані критерії Краскелаолеса та Ньюмена – Кейлса. Статистична обробка проводилась за допомогою комп'ютерної програми «Statistica» (StatSoft. Inc., USA) [109–110]. Дані досліджень представлені як $M \pm m$, де M – середнє значення, m – стандартна похибка середнього.

Визначення впливу композиту високодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на рухову активність P. aeruginosa. Для визначення впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ на фактори адгезії мікроорганізмів використовувалася культура *P. aeruginosa* 449, яку переносили у рідке поживне середовище TSB та інкубували 16 год при 37 °С. Після чого до суспензії мікроорганізмів додавалися 20 % розчин ПГМГ-ГХ та препарати порівняння у концентрації 0,5 МІК та 2,0 МІК, та проводилася інкубація 30–45 хв при температурі 37 °С.

Здатність до свіммінг-міграції вивчали з використанням 0,3 % ПС LB, в яке за допомогою проколу стерильною зубочисткою вносили нічної культури бактерій, не дістаючи до дна чашки Петрі.

Свормінг-міграцію вивчали з використанням 0,5 % ПС LB, в яке за допомогою проколу стерильним наконечником вносили 2 мкл нічної культури бактерій.

Дослідження здатності бактерій до твітчінг-міграції проводили з використанням 1,0 % ПС LB, в яке за допомогою проколу стерильною зубочисткою (до дна), вносили нічну культуру бактерій. Досліджували зростання бактерій між агаром і чашкою Петрі з ПС LB.

Після внесення мікроорганізмів у чашки Петрі їх інкубували 16–24 год при 37 °С, або 48 годин при кімнатній температурі ≈ 22 °С, чашки Петрі з 0,3 % та 0,5 % агаром по можливості не рухали, щоб не змістити агар на поверхні [111].

Визначення впливу композиту високодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на гідрофобність поверхні бактеріальних клітин та їх адгезивну активність. Для визначення гідрофобності поверхні бактеріальних клітин здійснювали пересів нічної культури *P. aeruginosa* 449 на рідке ПС (1 петля культури + 6 мл середовища TSB, інкубували протягом 14 год при 37 °С. Після чого пересівали на свіже рідке ПС (6 мл культури + 54 мл ПС TSB та інкубували при 37 °С до досягнення середини логарифмічної фази росту (4,5 год).

Після інкубації додавали 1 мл розчину досліджуваної сполуки і препаратів порівняння до 5 мл культури у логарифмічній фазі росту та 1 мл TSB до 5мл КК, інкубували 90 хв при 37 °С. Далі пробірки центрифугували 15 хв при 3000 об/хв. Осад клітин відмивали двічі розчином 0,9 % NaCl та ресуспендували в цьому розчині інокулят до щільності $OD_{600} = 0,18-0,22(A_0)$.

Величину адгезивної активності бактеріальних клітин обчислювали за формулою:

$$Ad \% = 100[1-(A/A_0)], \quad (2.1)$$

де A_0 і A – оптична густина водної фази суспензії бактерій до і після розділення фаз відповідно.

У пробірки вносили 3,0 мл суспензії клітин, у контрольні кювети – 0,9 % NaCl, додавали по 0,5 мл етилацетату та витримували 10 хв при 18–22 °С.

Проби струшували на шейкері 120 сек. Після відстоювання суспензії бактерій до повного розділення двох фаз (10–15 хв), відбирали водну фазу у кювети і знову вимірювали оптичну густина (A) [112].

Відтворення моделі термічного опіку. Щурам попередньо вибривали ділянку стегна, після цього водили у хлороформний наркоз та викликали термічний опік площею 400 мм² за допомогою керамічної пластинки, яка нагрівається до 200 °С згідно з рекомендаціями Яковлевої Л. В. [113]. Час

експозиції пластинки складав 4 сек, що дозволяє викликати опік II ступеня. На наступну добу після моделювання опіку досліджувані препарати хлоргексидин та композит НДК+ПГМГ-ГХ наносили тонким шаром на уражену ділянку протягом всього періоду експерименту (28 діб). За поведінкою, харчовою та питною активністю, масою тіла та рівнем виживання визначали загальний стан експериментальних тварин.

Площу опіку вираховували за формулою:

$$S = \pi R^2, \quad (2.2)$$

де π – константа ($\approx 3,14$);

R – радіус кола.

Швидкість загоєння визначали за швидкістю зменшення поверхні рани, яку розраховували за формулою [114]:

$$V = \frac{(S - S_n)}{S} \times 100, \quad (2.3)$$

де V – швидкість зменшення поверхні рани;

S – площа рани при попередньому вимірі;

S_n – площа рани в день вимірювання.

Скорочення терміну загоєння рани визначали за формулою [115–116]:

$$C_3 = (T_k - T_d) \times 100 / T_k, \quad (2.4)$$

де T_k – час (доба) загоєння в контролі;

T_d – час (доба) загоєння в експерименті.

Методика визначення цитокінів у сироватці крові та вогнищі ураження.

Рівень прозапальних цитокінів IL-1 β і TNF- α та протизапального цитокіну IL-10 у крові та вогнищі запалення визначали імуноферментним методом [117].

Рівень IL-1 β та IL-10 визначали відповідно до інструкції набору тест-систем Bender MedSystem (Австрія). У кожен лунку планшета додавали 0,25 мл розчину для промивання та проводили інкубацію протягом 30 хв при $t^\circ = 37^\circ\text{C}$. Після цього розчин з лунок видаляли і додавали по 0,1 мл робочого буфера та по 0,1 мл проб (кров, шкіра з осередку ураження), інкубували протягом 2-х годин при $t^\circ = 37^\circ\text{C}$. Після чого лунки тричі промивали буфером і в кожен додавали по

0,1 мл кон'югату IL-1 β чи IL-10 відповідно. Інкубували протягом години при $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$. Потім лунки знову тричі промивали буфером, додавали по 0,1 мл субстратного розчину і залишали при кімнатній температурі на 30 хв у темряві. Після чого додавали у кожен лунку по 0,05 мл стоп-реагенту. Проводили спектрофотометричний аналіз при довжині хвилі 450 нм. Рівень IL-1 β та IL-10 визначали за калібрувальною кривою, яку будували паралельно з визначенням рівня цитокінів у пробах із використанням стандартів, наданих у наборі [117].

Визначення рівня TNF- α також проводили згідно з інструкцією. У кожен лунку планшета додавали 0,25 мл розчину для промивання та інкубували 30 хв при $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації розчин з лунок видаляли, додавали по 0,1 мл робочого буфера і по 0,1 мл проб та інкубували протягом 2 годин при $t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$. Після чого лунки тричі промивали буфером, у кожен лунку додавали по 0,1 мл кон'югату-1 для TNF- α та інкубували 30 хв при $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$. Потім лунки знову три рази промивали розчином для промивання, додавали по 0,2 мл кон'югату-2 для TNF- α та інкубували 30 хв при $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$. Потім лунки знову тричі промивали буфером, додавали по 0,1 мл субстратного розчину і залишали при кімнатній температурі на 30 хв у темряві. Після чого додавали у кожен лунку по 0,05 мл стоп-реагенту. Проводили спектрофотометричний аналіз при довжині хвилі 450 нм. Рівень TNF- α визначали за калібрувальною кривою, яку будували паралельно з визначенням рівня TNF- α у пробах із використанням стандартів, наданих у наборі.

Рівень IL-1 β , IL-10 та TNF- α у пробах виражали у пікограмах на мілілітр (пг/мл) у крові та пікограмах на грам білка (пг/г білка) у тканинах.

Методика визначення рівня сумарних метаболітів NO, нітрит-аніонів та нітратів у сироватці крові та вогнищі ураження. Сироватку крові розводили 96 % етиловим спиртом у співвідношенні 1:2, викликаючи осадження білків. Отриману суміш струшували та центрифугували при 2000 об/хв протягом 15 хв. У 1 мл етилового спирту гомогенізували наважку тканини і також центрифугували при 2000 об/хв протягом 15 хв. Для аналізу використовували надосадову рідину.

Визначення *рівня сумарних метаболітів NO* проводили за методом L. C. Green та співавт., що був модифікований В. А. Метельською та Н. Г. Гумановою [118]. У 0,5 мл надосадової рідини додавали 0,5 мл 0,025 % розчину реактиву Грісса в 15 % оцтовій кислоті та 0,5 мл 0,8 % розчину хлористого ванадію, що відновлює нітрати у нітрити. Проби інкубували протягом 30 хв у прохолодному місці та фотометрували при довжині хвилі 540 нм. Рівень сумарних метаболітів розраховували в мкмоль за калібрувальним графіком.

Визначення *рівня нітрит-аніонів* проводили за методикою Т. В. Звягінової [119]. У 0,5 мл надосадової рідини додавали 0,5 мл 0,025 % розчину реактиву Грісса в 15 % оцтовій кислоті. Проби інкубували протягом 30 хв у прохолодному місці та фотометрували при довжині хвилі 540 нм. Рівень нітрит-аніонів вираховували в мкмоль за калібрувальним графіком.

Рівень нітратів розраховували як різницю показників рівня сумарних метаболітів оксиду азоту та нітрит-аніонів.

Рівень усіх метаболітів NO виражали у мікромолі на мілілітр (мкмоль/мл) у крові або мікромолі на грам (мкмоль/г) у тканині.

Методика визначення показників ПОЛ та АОС. Визначення показників ПОЛ та АОС проводили на зразках шкіри з вогнища ураження. Стан ПОЛ визначали за наявністю та рівнем у досліджуваних зразках первинних – ДК та вторинних продуктів – ТБК-АП. Функціонування АОС визначали за активністю головних антиоксидантних ферментів – Кат і СОД.

Для визначення показників ПОЛ та АОС наважку шкіри гомогенізували з додаванням 1 мл 0,9 % розчину NaCl, після чого центрифугували протягом 10 хв при 1000–1500 об/хв. Відбирали надосадову рідину та ставили в морозильну камеру (–90 °С). Далі проводили визначення показників.

Визначення рівня дієнових кон'югатів проводили за методикою І. Д. Стальної, модифікованої В. І. Скорняковим та співавт. [120]. До 0,5 мл надосадової рідини додавали 4,5 мл суміші гептану з ізопропіловим спиртом у співвідношенні 1:1. Струшували протягом 10 хв та додавали 0,5 мл дистильованої води. Після розшарування проби з верхньої (гептанової) фази

відбирали в окрему пробірку 0,5 мл рідини та додавали 2,5 мл 96 % етилового спирту. Оптичну щільність проби визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 233 нм (проти етилового спирту). Рівень ДК обчислювали за формулою:

$$A = E \times K \times OX, \quad (2.5)$$

де E – оптична щільність проби;

K – коефіцієнт молярної екстинції $2,2 \times 10^{-5} \text{M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$;

OX – розведення проби.

Рівень ДК у пробах визначали в мікромольх на грам (мкмоль/г) тканини.

Визначення рівня ТБК-реактантів проводили за методом Uchiyama M. and Michara M. у модифікації Волчегорського І. А. та співавт. за тестом з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [121]. До 0,5 мл надосадової рідини додавали до 3 мл 0,8 % розчину ТБК в 3 % ортофосфорній кислоті. Пробу витримували 45 хв на киплячій водяній бані, охолоджували та додавали 5 мл бутилового спирту. Через 10–12 год визначали оптичну щільність при довжині хвилі 535 і 580 нм. Вміст ТБК-реактантів розраховували за формулою:

$$A = (E_{535} - E_{580}) \times K \times OX, \quad (2.6)$$

де E_{535} та E_{580} – оптичні щільності проби при цих довжинах хвиль;

K – коефіцієнт молярної екстинції $1,88 \times 10^{-5} \text{M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$;

OX – розведення проби.

Рівень ТБК-реактантів у пробах визначали в наномольх на грам (нмоль/г) тканини.

Активність каталази визначали за методом Барабоє В. А., що базується на здатності перекису водню (H_2O_2) утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [122]. До 0,1 мл гомогенату тканини додавали 2 мл 0,03 % розчину H_2O_2 , а через 10 хв – 1 мл 4 % розчину молібдату амонію. Паралельно кожній дослідній пробі ставили холосту, куди додавали всі реактиви, а замість гомогенату – 0,1 мл води. Далі пробу спектрофотометрували при довжині хвилі 410 нм. Активність Кат розраховували за формулою:

$$D = (E_x - E_d) \times 4,44, \quad (2.7)$$

де E_x та E_d – оптична щільність холостої та дослідної проби;

4,44 – коефіцієнт перерахунку.

Активність Кат виражали в умовних одиницях (ум. од.).

Активність СОД визначали за методом окислення кверцетину у модифікації В. А. Костюка [123]. До 0,05 мл гомогенату тканини додавали 0,5 мл 0,015 М фосфатного буфера (рН 7,8); 0,5 мл розчину, що містить 0,08 мМ ЕДТА і 0,8 мМ ТМЕДА; 3,5 мл води та 0,1 мл 0,14 мМ розчину кверцетину в ДМСО. Для кожної дослідної проби ставили холосту, в яку додавали всі реактиви, крім досліджуваної рідини. Оптичну щільність проб визначали при довжині хвилі 406 нм відразу та через 20 хв інкубації при $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$. Активність СОД розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta D_{\text{к}} - \Delta D_{\text{д}}}{\Delta D_{\text{к}}} \times 8 \quad (2.8)$$

де $\Delta D_{\text{к}}$ – різниця через 20 хв між показниками холостої проби;

$\Delta D_{\text{д}}$ – різниця через 20 хв між показниками дослідної проби;

8 – коефіцієнт перерахунку в умовних одиницях.

Активність СОД виражали в умовних одиницях сироватки крові або грам тканини.

Протимікробна активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ на моделі абсцесу, викликаного Pseudomonas aeruginosa. Піддослідні тварини – 24 самки безпородних білих щурів масою 200–250 г – були розподілені на 4 групи по 6 тварин: інтактні тварини; інфіковані тварини (контроль патології), інфіковані тварини, яких лікували хлоргексидином, та інфіковані тварини, яких лікували композитом НДК+ПГМГ-ГХ.

Для моделювання гнійного абсцесу шурам під місцевою анестезією у ділянку спини між лопатками вводили 1,5 мл суспензії добової культури *Pseudomonas aeruginosa* ($0,5 \times 10^8$ КУО мікроорганізму в 1 мл суспензії) з порошком активованого вугілля, масова частка якого в суспензії складала 8 %. Наявність активованого вугілля у суспензії забезпечувала адсорбцію мікробних клітин на гранулах вугілля та мінімізувала ризик генералізації інфекції. Концентрацію мікроорганізмів у суспензії визначали за стандартом

МакФарланда. Протягом наступних п'яти діб спостерігали за клінічними проявами інфекції. Після формування абсцесу на 5 добу експерименту абсцес розкривали, видаляли гнійний вміст, потім промивали стерильною суспензією композиту НДК+ПГМГ-ГХ, а також препаратом порівняння хлоргексидином. Усі маніпуляції проводили під хлороформним наркозом. Абсцес оброблявся щодня від дня розкриття до завершення експерименту. Протягом усієї тривалості експерименту щодня двічі на день вели спостереження за клінічними проявами інфекції. Тварин зважували безпосередньо перед зараженням, на 5 день, 7, 9 та 12 добу експерименту. На 12 день щурів виводили із експерименту за допомогою хлороформного наркозу [124, 125].

Морфологічні дослідження. Матеріалом для морфологічних досліджень були тканини (шкіра, підшкірна клітковина), вилучені із зони термічного ураження стегна щурів усіх дослідних груп у відповідні терміни експерименту. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні, після чого вирізалися фрагменти шкіри завтовшки приблизно 0,004 м. Матеріал піддавали спиртовій проводці та парафіновій заливці, виготовляли зрізи завтовшки 5–6 мкм. Препарати, забарвлені гематоксиліном та еозином, використовували для загальної оцінки стану досліджуваних тканин. Фарбування препаратів пікрофуксином за методом Ван Гізона використовувалося для виявлення та диференціювання сполучнотканинних структур. Гістологічні та гістохімічні методики виконувалися за прописами, викладеними в інструкціях з гістологічної техніки та гістохімії [126–127].

Методики статистичної обробки. На основі числових значень показників розраховували середнє арифметичне (M) і стандартну похибку середнього (m). Після перевірки нормальності розподілу здійснювали визначення значущості відмінностей між середніми величинами в групах та динаміці із параметричного t -критерію Стюдента. U -тест Манна-Уїтні використовували для порівняльного аналізу двох незалежних вибірок з дисперсії ненормального розподілу. Множинні порівняння проводилися за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) для нормального розподілу та рангового критерію Крускала Уолліса

для ненормального розподілу. Для перевірки значущості відмінностей між величинами дисперсій для серій даних застосовували тест Фішера. Різницю між показниками вважали значущою при рівні статистичної значимості понад 95 % ($p < 0,05$). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерних програм «STATISTICS» (Statsoft, США) та Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США).

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ

3.1 Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлориду при нашкірному нанесенні

Оскільки основним способом лікування термічних опіків та раневих ушкоджень шкіри є місцеве нанесення лікарських засобів, що забезпечує максимальний вплив на уражені ділянки. Тому доцільним було визначити гостру токсичність композиту при нашкірному нанесенні.

Після нанесення композиту НДК+ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг його компонентів НДК та ПГМГ-ГХ у дозах 2000 та 400 мг/кг відповідно та розчинника – води для ін'єкцій – протягом двох тижнів спостереження у мишей усіх чотирьох груп не було виявлено ознак інтоксикації, шкіра та рефлекторна збудливість були у нормі. Тварини були активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушень дихання та судом не спостерігалось. Загибелі тварин не відбувалося.

Для оцінки токсичного впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ проводили дослідження динаміки маси тіла тварин. Отримані результати порівнювали з динамікою маси тіла тварин інтактної групи (табл. 3.1).

Динаміка маси тіла в групах тварин після нашкірного застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ, НДК та ПГМГ-ГХ протягом терміну спостереження статистично не відрізнялася від групи мишей, яким на шкіру наносили воду для ін'єкцій.

Таблиця 3.1

**Динаміка маси тіла мишей (самки) після нанесення композиту
НДК+ПГМГ-ГХ ($M \pm m$)**

Групи тварин	Кількість тварин у групі	Маса тварин, г ($M \pm m$)			
		Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
НДК+ПГМГ-ГХ	6	19,8±0,2	20,8±0,2	22,0±0,5	23,7±0,5
НДК	6	19,7±0,2	20,6±0,4	21,8±0,4	23,5±0,3
ПГМГ-ГХ	6	19,8±0,2	20,7±0,2	21,7±0,3	23,8±0,4
Розчинник-контроль	6	19,9±0,3	21,1±0,3	22,2±0,5	24,1±0,9

Примітки:

1. P = 95;
2. M – середнє значення маси тіла тварин за вибіркою, г;
3. m – стандартна похибка середнього значення, г.

Після закінчення терміну спостереження (14 діб) було проведено розтин та макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин. При макроскопічному огляді внутрішніх органів тварин не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патологічних процесів. За розміром, кольором, консистенцією та розташуванням внутрішні органи тварин не виходили за межі норми і не відрізнялися від внутрішніх органів мишей групи інтактного контролю.

Виходячи з отриманих даних, можна зробити висновок, що за умов нашкірного нанесення композит НДК+ПГМГ-ГХ можна віднести до VI класу токсичності (за Сидоровим К. К.) – відносно нешкідливі речовини, і подальше визначення LD50 за нашкірного нанесення не є доцільним.

3.2 Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом при внутрішньошлунковому введенні

Результати дослідження свідчать про відсутність загибелі мишей при внутрішньошлунковому одноразовому введенні композиту нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %) та суспензії НДК у дозі 2000 мг/кг (табл. 3.2). Було встановлено, що композит нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ та суспензія НДК у застосованих

дозах викликали у тварин незначні токсичні явища: млявість, зменшення рухової активності та тимчасову відмову від їжі впродовж 6–12 год, що пов'язано з шлунковим дискомфортом, викликаним уведенням значної кількості нанокompозиту. Тварини залишились живими, їхній стан повернувся до норми протягом кількох годин.

Таблиця 3.2

Показники гострої токсичності композиту НДК+ПГМГ-ГХ при внутрішньошлунковому введенні

Групи тварин	Кількість тварин у групі	Кількість тварин, що загинули/кількість тварин у групі
Композит нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %)	12	0/12
Суспензія НДК у дозі 2000 мг/кг	11	0/11
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	12	7/12
Розчинник-контроль	12	0/12

Під час спостереження за тваринами протягом 14 днів видимих ознак впливу на загальний стан, поведінку, апетит, стан шкіри та слизових оболонок не було зареєстровано. При введенні розчину ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг через 2 год спостерігали випадки смерті тварин, яким передувало пригнічення рухової активності, що чергувалося з періодами моторного збудження та швидкого неупорядкованого руху кінцівок.

Тварини, що вижили, у перші дні після введення були менш активні, відзначалися незначна слабкість та млявість, які потім зникали.

Стан тварин, що вижили, нормалізувався та на 14 добу за більшістю ознак відповідав такому у групі контролю, що свідчить про оборотність токсичного впливу ПГМГ-ГХ.

Після одноразового введення суспензії НДК динаміка маси тіла мишей не відрізнялася від контролю. В обох зазначених групах (НДК і контроль) на 7 і на 14 добу спостереження зареєстровано значуще зростання маси тіла порівняно із початковим рівнем показника (табл. 3.3, 3.4).

Таблиця 3.3

**Динаміка маси тіла самців мишей після введення композиту
НДК+ПГМГ-ГХ ($M \pm m$)**

Групи тварин	Маса тварин, г ($M \pm m$)				
	Вихідні дані	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Композит НДК+ПГМГ-ГХ (n = 6)	21,0±0,2	21,0±0,2	19,5±0,3	19,3±0,7	21,9±0,7
Суспензія НДК (n = 6)	20,7±0,3	20,7±0,3	20,4±0,3 ^{***}	21,5±0,3 ^{**}	23,1±0,4
Розчин ПГМГ-ГХ (n = 4)	21,1±0,2	21,2±0,2	19,3±0,5 ^{*#}	20,5±0,4 ^{***}	23,2±0,3 [#]
Розчинник-контроль (n = 6)	21,0±0,3	21,0±0,3	20,6±0,3	22,4±0,5 [#]	24,4±0,9 [#]

Примітки:

1. n – кількість тварин у групі;
2. M – середнє значення маси тіла тварин за вибіркою, г;
3. m – стандартна похибка середнього значення, г.
4. * – різниця статистично значима порівняно з контролем (* – p < 0,05; ** – p < 0,01);
5. # – різниця статистично значима порівняно з вихідним рівнем ([#] – p < 0,05; ^{##} – p < 0,01);
6. P = 95.

Таблиця 3.4

**Динаміка маси тіла самок мишей після введення композиту
НДК+ПГМГ-ГХ ($M \pm m$)**

Групи тварин	Маса тварин, г ($M \pm m$)				
	Вихідні дані	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Композит НДК+ПГМГ-ГХ (n = 6)	19,8±0,2	19,8±0,2	18,4±0,2	18,2±0,6	20,7±0,6
Суспензія НДК (n = 5)	19,7±0,2	19,7±0,2	19,4±0,2	20,4±0,3	21,7±0,4
Розчин ПГМГ-ГХ (n = 3)	19,9±0,2	19,8±0,1	17,8±0,3	18,9±0,1	21,8±0,4
Розчинник-контроль (n = 6)	19,9±0,3	19,9±0,3	19,5±0,3	21,2±0,5	23,0±0,9

Примітки:

1. n – кількість тварин у групі;
2. M – середнє значення маси тіла тварин за вибіркою, г;
3. m – стандартна похибка середнього значення, г;
4. * – різниця статистично значима порівняно з контролем (* – p < 0,05; ** – p < 0,01);
5. # – різниця статистично значима порівняно з вихідним рівнем ([#] – p < 0,05; ^{##} – p < 0,01);
6. P = 95.

На противагу цьому в групах ПГМГ-ГХ і НДК+ПГМГ-ГХ на 3-тю і 7 добу після введення субстанцій спостерігали значуще зниження маси тіла порівняно з контролем, що, найбільш вірогідно, пов'язано із впливом ПГМГ-ГХ.

Однак на 14 добу маса тіла тварин нормалізувалась, оскільки статистично значущої різниці виявлено не було. Це є свідченням оборотності токсичного впливу ПГМГ-ГХ.

При макроскопічному огляді внутрішніх органів тварин не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патологічних процесів. За розміром, кольором, консистенцією та розташуванням внутрішні органи тварин не виходили за межі норми і не відрізнялися від внутрішніх органів групи мишей інтактного контролю. Вірогідних відмінностей між масовими коефіцієнтами внутрішніх органів дослідних та контрольних груп не виявлено (табл. 3.5, 3.6).

Таблиця 3.5

Масові коефіцієнти внутрішніх органів самців мишей після внутрішньошлункового введення композиту НДК+ПГМГ-ГХ ($M \pm m$)

Групи тварин	Кількість тварин у групі, n	Показник	Середня маса тіла, г	Відносна маса органів, %					
				Головний мозок	Печінка	Нирки (права/ліва)	Серце	Легені	Селезінка
Композит нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %)	6	M	21,9	1,96	0,29	0,60/0,62	0,45	1,06	0,88
		m	0,7	0,06	0,32	0,05/0,02	0,02	0,09	0,29
Суспензія НДК у дозі 2000 мг/кг	6	M	23,1	1,91	6,04	0,52/0,54	0,48	0,82	0,7
		m	0,4	0,04	0,10	0,03/0,02	0,02	0,01	0,04
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	4	M	23,2	1,97	5,70	0,62/0,55	0,44	1,53	0,54
		m	0,3	0,04	0,10	0,03/0,02	0,04	0,16	0,03
Розчинник-контроль	6	M	24,4	1,80	6,06	0,55/0,57	0,50	1,16	0,73
		m	0,9	0,09	0,24	0,03/0,03	0,06	0,10	0,07

Примітки:

1. n – кількість тварин у групі;
2. M – середнє значення маси тіла тварин за вибіркою, г;
3. m – стандартна похибка середнього значення, г;
4. P = 95.

Таблиця 3.6

Масові коефіцієнти внутрішніх органів самок мишей після внутрішньошлункового введення композиту НДК+ПГМГ-ГХ (M±m)

Групи тварин	Кількість тварин у групі, n	Показник	Середня маса тіла, г	Відносна маса органів, %					
				Головний мозок	Печінка	Нирки (права/ліва)	Серце	Легені	Селезінка
Композит нанодисперсного кремнезему та ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20 %)	6	M	20,7	1,95	6,26	0,60/0,62	0,44	1,05	0,87
		m	0,6	0,05	0,32	0,05/0,02	0,02	0,09	0,28
Суспензія НДК у дозі 2000 мг/кг	5	M	21,7	1,88	5,97	0,52/0,53	0,48	0,82	0,72
		m	0,4	0,04	0,11	0,04/0,02	0,02	0,01	0,05
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	3	M	21,8	1,96	5,60	0,63/0,55	0,41	1,55	0,55
		m	0,4	0,06	0,10	0,03/0,03	0,04	0,22	0,04
Розчинник-контроль	6	M	23,0	1,79	6,04	0,55/0,57	0,50	1,15	0,73
		m	0,9	0,09	0,24	0,03/0,03	0,06	0,10	0,07

Примітки:

1. n – кількість тварин у групі;
2. M – середнє значення маси тіла тварин за вибіркою, г;
3. m – стандартна похибка середнього значення, г;
4. P = 95.

До складу композиту НДК+ПГМГ-ГХ входить 20 % ПГМГ-ГХ. Відповідно при внутрішньошлунковому введенні композиту (2000 мг/кг) доза ПГМГ-ГХ становила 400 мг/кг маси тіла, що не спричинювало токсичних ефектів у дослідних тварин.

Для порівняння: LD50 ПГМГ-ГХ за різними даними становить від 370 (миші-самки) та 620 (миші-самці) [53] до 900 (для обох статей) мг/кг [54].

Згідно з даними літературних джерел, ПГМГ-ГХ властива політропність дії, зокрема нейротоксичність, про що свідчать клоніко-тонічні судоми, зміна характеру дихання, судинно-циркуляторні порушення. Також можуть спостерігатися набряк легень, некротичні зміни в паренхімі нирок та печінки, виражені гемодинамічні порушення. Загибель тварин може наставати внаслідок

вираженої гіпоксії, умовленої порушеннями гемодинаміки, а також пошкодженням аерогематичного бар'єру у легенях із подальшим недостатнім надходженням кисню у кров. Не виключена також можливість безпосереднього токсичного впливу ПГМГ-ГХ на структуру перелічених органів.

Виходячи з вищезазначеного, можна зробити висновок, що ПГМГ-ГХ у складі композиту зменшує свою токсичну дію. А доза 2000 мг/кг маси тіла при внутрішньошлунковому введенні характеризує композит НДК і ПГМГ-ГХ як малотоксичний відповідно до класифікації речовин за токсичністю. Оскільки за одноразового внутрішньошлункового введення композиту НДК і ПГМГ-ГХ летальних випадків серед мишей не зареєстровано, цей композит можна класифікувати як малотоксичний згідно з класифікацією речовин за токсичністю (за Сидоровим К. К.).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Гребельник А. І. Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Nanobiotech – 2015. Молодіжний форум з нанобіотехнологій», 20–21 травня 2015 року, м. Київ, Україна. – *Український науково-медичний молодіжний журнал: Спец. випуск. 2015. № 2 (87). С. 119–120.* (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).
2. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О. Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів».* У 2 т., 14–15 березня 2019 року, м. Харків, Україна. Харків, 2019. Т. 2. С. 87–88. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

3. Дорошенко А. І. Вивчення гострої токсичності композиту високодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 2. С. 69–76. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).
4. Дорошенко А. И. Исследование токсичности высокодисперсного кремнезема, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и их композита при однократном пероральном введении самцам мышей. *Рецепт*. 2018. Т. 21. № 1. С. 42–48. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

РОЗДІЛ 4

**ДОСЛІДЖЕННЯ СОРБЦІЙНИХ ТА АНТИМІКРОБНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ
З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДОМ *IN VITRO***

4.1 Дослідження сорбційних властивостей композиту композиту
нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом *in vitro*

У порівняльному аспекті визначали адсорбційні властивості композиту НДК+ПГМГ-ГХ, а також суспензії нанодисперсного кремнезему – силіксу та ентеросгелю точково, шляхом вимірювання величини адсорбції у стандартних умовах.

Результати дослідження адсорбційних властивостей кремнійвмісних препаратів представлені у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

**Адсорбційна властивість тест-зразків за різних значень рН середовища
(мг/г) (n = 7)**

Маркерна речовина, вихідна концентрація	Величина адсорбції, мг/г		
	НДК+ПГМГ-ГХ	Силікс	Ентеросгель
	рН 6,0	рН 6,0	рН 6,0
Метиленовий синій, $C_0 = 1 \%$	280,0±12,6 ^{*#}	36,9±1,8 [#]	25,2±1,2 [*]
Ціанокобаламін, $C_0 = 0,05 \%$	3,6±0,2 ^{*#}	0,6±0,1	0,7±0,1
Сироватковий альбумін людський, $C_0 = 1 \%$	26,2±1,2 ^{*#}	253,3±9,5 [#]	300,2±4,4 [*]
Желатин, $C_0 = 0,3 \%$	28,5±1,6 ^{*#}	248,6±4,6 [#]	196,3±4,4 [*]

Примітки:

1. n – кількість спостережень;
2. C_0 – вихідна концентрація маркерної речовини;
3. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з силіксом;
4. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з ентеросгелем.

Встановлено, що показники величини адсорбції величини адсорбції композиту НДК-ПГМГ-ГХ (рН 6,0) стосовно всіх маркерних речовин достовірно

відрізняються від відповідних показників адсорбції інших кремнійвмісних препаратів ($p < 0,05$).

Заразом адсорбційна властивість композиту НДК+ПГМГ-ГХ поступається іншим кремнійвмісним препаратам при застосування як маркерів білків (сироваткового альбуміну людського та желатину). Перед визначенням адсорбційної властивості кремнійвмісних препаратів на одиницю площі розраховували величину їх питомої поверхні. Як зазначено у таблиці 4.2, розроблений композит НДК+ПГМГ-ГХ характеризується найменшою площею питомої поверхні порівняно з іншими кремнеземними сорбентами, що пояснюється процесом модифікації поверхні композиту.

Таблиця 4.2

Результати визначення величини питомої поверхні тест-зразків сорбентів ($\text{м}^2/\text{г}$) ($n = 6$)

Сорбент	Величина питомої поверхні ($\text{м}^2/\text{г}$)
НДК+ПГМГ-ГХ	$250 \pm 2,4^{* \#}$
Силікс	$332 \pm 3,5^{\#}$
Ентеросгель	$278 \pm 2,6^{*}$

Примітки:

1. n – кількість спостережень;
2. C_0 – вихідна концентрація маркерної речовини;
3. $*$ – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з силіксом;
4. $\#$ – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з ентеросгелем.

Ефективність сорбційних властивостей досліджуваних сполук відобразили у перерахунку одержаних величин адсорбції з $\text{мг}/\text{г}$ на одиницю площі ($\text{мг}/\text{м}^2$) (табл. 4.3). Результати такого перерахунку свідчать про значне підвищення сорбційних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо низько- та середньомолекулярних сполук порівняно з іншими досліджуваними сорбентами.

Таблиця 4.3

**Адсорбційна властивість тест-зразків у перерахунку на одиницю площі
за різних значень рН середовища (мг/м²) (n = 7)**

Маркерна речовина, вихідна концентрація	Величина адсорбції, мг/г		
	НДК+ПГМГ-ГХ	Силікс	Ентеросгель
	рН 6,0	рН 6,0	рН 6,0
Метиленовий синій, C ₀ = 1 %	1,12±0,1 ^{*#}	0,12±0,01 [#]	0,2±0,01 [*]
Ціанокобаламін, C ₀ = 0,05 %	0,014±0,002 [*]	0,003±0,001 [#]	0,016±0,002 [*]
Сироватковий альбумін людський, C ₀ = 1 %	0,1±0,02 ^{*#}	0,78±0,01 [#]	1,07±0,1 [*]
Желатин, C ₀ = 0,3 %	0,13±0,01 ^{*#}	0,76±0,02	0,8±0,01

Примітки:

1. n – кількість спостережень;
2. C₀ – вихідна концентрація маркерної речовини.
3. * – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з силіксом;
4. # – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з ентеросгелем.

При цьому спостерігалось зниження сорбційної активності композиту НДК+ПГМГ-ГХ стосовно високомолекулярних сполук порівняно з іншими кремнеземвмісними сорбентами. Це пов'язано з модифікуванням поверхні та можливим утворенням незначних пористих конгломератів. Такі конгломерати сприятимуть сорбції низькомолекулярних сполук та зниженню кількості вільних силанольних груп, що відповідають за зв'язування з високомолекулярними сполуками, що є недоліком у застосуванні композиту для лікування ранових ушкоджень шкіри, оскільки основними сорбатами при даному типі ушкоджень є саме високомолекулярні сполуки. Проте цей недолік нівелюється сильними протимікробними властивостями даного композиту.

За адсорбційною здатністю як до метиленового синього, так і до ціанокобаламіну найбільшу активність виявив композит НДК+ПГМГ-ГХ. Сорбція ціанокобаламіну у слаболужному середовищі незначна, оскільки проявляється електростатичне відштовхування між аніонами. Ентеросгель за величиною сорбції перевершує силікс, однак демонструє у 4,6 разу меншу активність порівняно з композитом НДК+ПГМГ-ГХ.

Головними адсорбційними центрами кремнеземної поверхні для білка є гідроксильні групи – як неіонізовані, так і в іонізованій формі (меншою мірою).

У кислому середовищі певним внеском в адсорбцію є водневий зв'язок. Найвищий показник сорбції білка серед усіх сорбентів має ентеросгель. Оскільки основними чинниками інтоксикації у багатьох захворюваннях є саме токсини білкової природи, силікс стає незамінним засобом для проведення вульнеро- та ентеросорбції. Препарат виводить з організму токсини екзогенного й ендogenous походження, харчові та бактеріальні алергени, мікроорганізми, ендотоксини, продукти гниття білків у кишечнику.

Значне зниження величини сорбції білків композитом НДК+ПГМГ-ГХ пояснюється тим, що частина гідроксильних груп зайнята молекулами ПГМГ-ГХ, тому стає неможливим їх повна участь у зв'язуванні білків.

Проаналізувавши графіки адсорбції, залежної від рН середовища, можна зрозуміти, наскільки сильно рН середовища впливає на взаємодію адсорбентів з білками. На них чітко продемонстроване зміщення максимуму поглинання білків композитом НДК+ПГМГ-ГХ у кисле середовище (рис. 4.1).

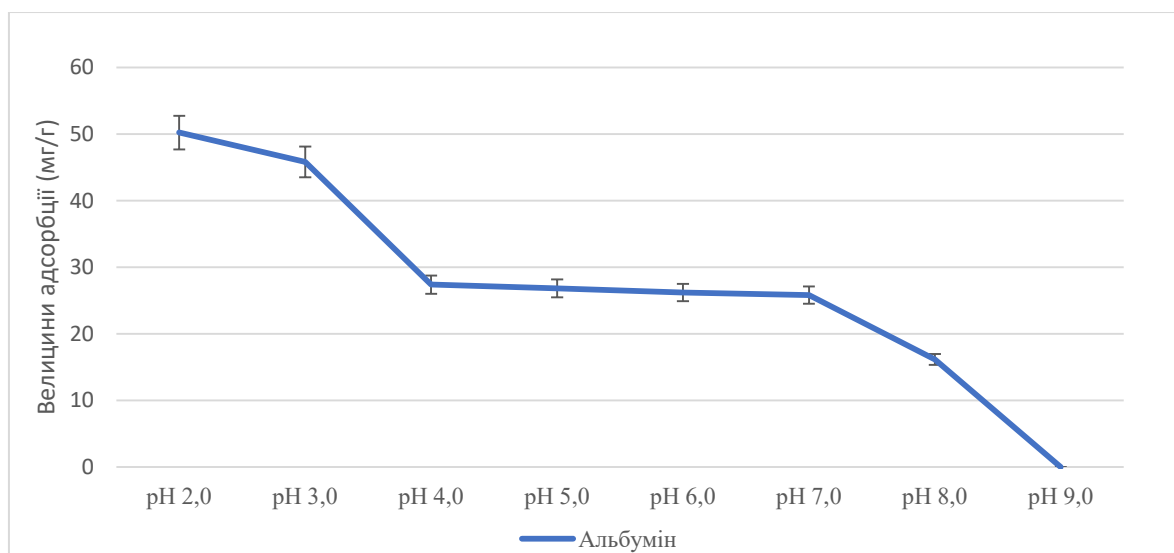


Рис 4.1 Кінетика сорбції альбуміну композитом НДК+ПГМГ-ГХ (мг/г) залежно від рН середовища

Важливим показником, що має клінічне значення, є швидкість сорбції токсинів білкової природи. Кінетику адсорбції модельних білків ентеросгелем, силіксом та нанокмполитом НДК+ПГМГ-ГХ вивчали, вимірюючи величину

адсорбції через фіксовані проміжки часу (табл. 4.4). Встановлено, що силіксу достатньо 10 хв для повного зв'язування білків. Ентеросгель перші 10 хв сорбує приблизно 90 % білка, а потім поступово зв'язує решту. Попри низькі показники сорбції, композит НДК+ПГМГ-ГХ так само швидко, як і силікс, зв'язує сорбат: 96 % сорбату зв'язується за 5 хв, через 10 хв – 100 %.

Таблиця 4.4

**Швидкість сорбції білків Силіксом, ентеросгелем та композитом
НДК+ПГМГ-ГХ**

Час, хв.	Желатин			Сироватковий альбумін людини		
	СИЛ, */#	ЕНТ, */#	НДК+ПГМГ-ГХ, */#	СИЛ, */#	ЕНТ, */#	НДК+ПГМГ-ГХ, */#
1	231/93	157/80	26,5/93	193/76	225/75	24/92
5	239/96	167/85	27/94	228/90	258/86	25/96
10	249/100	175/89	28/99	253/100	261/87	25,9/99
20	249/100	183/93	28,5/100	253/100	300/100	26/100
30	249/100	196/100	28,5/100	253/100	300/100	26/100

Примітки:

1. СИЛ – Силікс;
2. ЕНТ – Ентеросгель;
3. НДК+ПГМГ-ГХ – композит НДК+ПГМГ-ГХ;
4. * – величина сорбції;
5. # – ступінь сорбції, %.

Отримані дані також зумовлюються природою синтезованого нанокompозиту, в основі синтезу якого використано субстанцію високодисперсного кремнезему.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ виявляє виражену адсорбційну активність щодо сполук з низькою (метиленовий синій), середньою (ціанокобаламін) та незначну щодо сполук із високою молекулярною масою (альбумін людський, желатин) за значень рН 6,0, що моделюють кислотно-основне середовище рани.

Адсорбційні властивості композиту НДК+ПГМГ-ГХ у слабкокислому середовищі (рН 6,0) стосовно метиленового синього композитом складає $280 \pm 12,6$ мг/г, що перевищує відповідний показник для силіксу в 7,6 разу та ентеросгелю – в 11,1 разу (при рН 6,0), адсорбція ціанокобаламіну сягає $3,6 \pm 0,2$ мг/г за значень рН 6,0, що перевищує подібний показник силіксу в 6 разів й ентеросгелю в 5,1 разу. Показники величини адсорбції білків композитом

НДК+ПГМГ-ГХ є меншими та достовірно відрізняються від відповідних показників досліджуваних препаратів ентеросгелю та Силіксу ($p < 0,05$).

Композит НДК+ПГМГ-ГХ та Силікс порівняно з ентеросгелем характеризуються вищою швидкістю зв'язування білків, однак композит НДК+ПГМГ-ГХ має знижену сорбційну ємність щодо цих сорбатів, що може пояснюватися зниженням площі питомої поверхні з 332 м² до 250 м².

4.2 Протимікробна активність композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом *in vitro*

Аналізуючи отримані результати з дослідження антимікробної активності тест-зразків композиту НДК+ПГМГ-ГХ, силіксу та ПГМГ-ГХ (табл. 4.5, 4.6) необхідно зазначити, що наведені зразки характеризувалися неоднаковим впливом на досліджувані мікроорганізми. Показники МІК композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявилися найнижчими щодо *S. aureus* та *C. albicans* і становили 48,83/9,77 мкг/мл. Тут і далі при зазначенні діючих концентрації складових компонентів композиту НДК+ПГМГ-ГХ першим показником наводили концентрацію в досліджуваному зразку суспензії НДК, а другим – ПГМГ-ГХ.

Дещо вищі показники МІК композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявлялись стосовно *E. coli* – 97,66/19,53 мкг/мл. Таким чином, серед використаних у дослідженнях представників родини *Enterobacteriaceae* найвищою чутливістю до дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ характеризувались ешеріхії. Натомість, для досягнення МІК щодо *S. enterica* концентрація даного тест-зразка мала бути вдвічі вищою і досягати 195,31/39,06 мкг/мл. Мікроорганізми *K. pneumoniae* виявилися найбільш стійкими і для пригнічення розмноження потребували внесення в середовище 390,63/78,13 мкг/мл компонентів композиту НДК+ПГМГ-ГХ. Бактерії *P. aeruginosa* також характеризувалися доволі високою стійкістю до дії зазначеного тест-зразка, оскільки їх МІС співпадала з такою щодо *S. enterica* і становила 195,31/39,06 мкг/мл. Таким чином, композит

НДК+ПГМГ-ГХ найбільш ефективно пригнічував розмноження *S. aureus* та *C. albicans*, а найменш виражений вплив було відмічено щодо *K. pneumoniae*.

Визначення МБК показало, що бактеріостатична концентрація композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо *S. enterica* і *K. pneumoniae* виявилася також і бактерицидною. Натомість, для забезпечення бактерицидного (фунгіцидного) ефекту щодо інших досліджуваних мікроорганізмів концентрація композиту має перевищувати МІК у два рази. Таким чином, найнижчі показники МБК/МФК композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявлялися щодо *S. aureus* та *C. albicans* і становили 97,66/19,53 мкг/мл. Найвищі значення МБК були притаманні стосовно *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* – 390,63/78,13 мкг/мл (табл. 4.5, 4.6).

У проведених дослідженнях наявність антимікробних властивостей перевіряли також у тест-зразку НДК одного з компонентів композиту НДК+ПГМГ-ГХ. Встановлено, що зазначена речовина не виявляла антимікробного впливу на усі досліджувані мікроорганізми. Внесення НДК у максимально допустимій для описаних експериментів концентрації 12500 мкг/мл не спричиняло затримки росту використаних тест-штамів у рідкій культурі. Висів із пробірок з усіма концентраціями цього препарату на щільне середовище підтвердив життєздатність досліджуваних мікроорганізмів, оскільки в місцях їх нанесення спостерігався зливний ріст. Виходячи із наведеного, можна зробити висновок, що основний компонент композиту НДК+ПГМГ-ГХ – суспензія НДК не спричиняла антимікробного впливу на використані культури мікроорганізмів.

За результатами перевірки дії ПГМГ-ГХ на досліджувані тест-штами показано високий рівень антимікробної активності. Показники МІК даного препарату виявились найнижчими щодо *S. aureus* та *C. albicans* і становили 4,88 мкг/мл. Меншою чутливістю до впливу ПГМГ-ГХ характеризувались *E. coli* і *S. enterica*, які не розмножувались при наявності у ростовому середовищі 19,53 мкг/мл даного зразка. Серед використаних у дослідженнях представників родини *Enterobacteriaceae* найвища резистентність була притаманна *K. pneumoniae*, оскільки бактеріостатичний ефект спостерігався лише при

внесенні ПГМГ-ГХ у концентрації 39,06 мкг/мл. Аналогічною стійкістю до досліджуваного препарату характеризувались і *P. aeruginosa*. Таким чином, тест-зразок ПГМГ-ГХ найбільш активно пригнічував розмноження *E. coli* та *S. enterica*, тоді як щодо *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* був у 8 разів менш ефективним (табл. 4.5).

Підводячи підсумки проведеного аналізу антимікробної активності досліджуваних зразків, необхідно відзначити високу активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо *C. albicans* і *S. aureus*, а також виражений вплив на *E. coli* і *S. enterica*. Найменш виражену дію тест-зразка композиту НДК+ПГМГ-ГХ було відмічено щодо *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa*, проте щодо псевдомонад вплив досліджуваного композиту був співставним з активністю ПГМГ-ГХ.

За кратністю різниці між МІК і МБК/МФК для відповідних мікроорганізмів композит нанодисперсного кремнезему з ПГМГ-ГХ наближається до ПГМГ-ГХ. Так, підвищення концентрації обох препаратів удвічі щодо *P. aeruginosa* та *C. albicans* призводить до зміни бактеріо- або фунгістатичного ефекту на бактери- або фунгіцидний. Стосовно *S. aureus* ПГМГ-ГХ є ефективнішим, оскільки для досягнення описаного ефекту необхідно збільшити концентрацію препарату відповідно в 2 рази, тоді як композиту НДК+ПГМГ-ГХ – у чотири. ПГМГ-ГХ ефективніше впливає на *E. coli*, оскільки співвідношення МБК/МІК становить 1, тоді як у композиту НДК+ПГМГ-ГХ – 2.

Для інших мікроорганізмів співвідношення МБК/МІК становить 2 як для композиту НДК+ПГМГ-ГХ, так і ПГМГ-ГХ (табл. 4.5).

Оскільки до складу клітинної стінки грампозитивних мікроорганізмів входить до 70 % муреїнових компонентів, а у грамнегативних лише до 10 %, проте наявні також ліпополісахаридні компоненти, можна припустити, що ПГМГ-ГХ зв'язується переважно з муреїновими компонентами мембрани, про що свідчить вища чутливість саме грампозитивних бактерій, і нижча грамнегативних. Проте це припущення потребує подальшого вивчення.

Таблиця 4.5

Антимікробна активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо тест-штамів мікроорганізмів

Штами мікроорганізмів	Композит НДК+ПГМГ-ГХ			
	МІК, мкг/мл		МБК, мкг/мл	
	Композит НДК+ПГМГ-ГХ (вміст ПГМГ-ГХ)	ПГМГ-ГХ	Композит НДК+ПГМГ-ГХ (вміст ПГМГ-ГХ)	ПГМГ-ГХ
<i>Escherichia coli</i> UCM B-906	117,19 (19,53)	19,53	234,37 (39,06)	19,53
<i>Staphylococcus aureus</i> UCM B-918	58,6 (9,77)	4,88	117,19 (19,53)	19,53
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UCM B-900	234,37 (39,06)	39,06	468,76 (78,13)	78,13
<i>Salmonella enterica</i> UCM B-921	234,37 (39,06)	19,53	234,37 (39,06)	19,53
<i>Klebsiella pneumoniae</i> UCM B-920	468,76 (78,13)	39,06	468,76 (78,13)	39,06
<i>Candida albicans</i> UCM Y-1918	58,6 (9,77)	4,88	117,19 (19,53)*	9,77*

Примітки:

1. * – визначалася мінімальна фунгіцидна концентрація (МФК).
2. МІК – мінімальна інгібуюча концентрація;
3. МБК – мінімальна бактерицидна концентрація;
4. ПГМГ-ГХ – полігексаметиленгуанідину гідрохлорид.

Враховуючи дані літературних джерел щодо дослідження антимікробної активності ПГМГ-ГХ та оцінку даних проведеного дослідження, можна зробити висновок, що протимікробна активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ зівставна з такою розчину ПГМГ-ГХ.

Оскільки ПГМГ-ГХ іммобілізований на поверхні НДК, то нами було досліджено спектр дії, визначено ступінь інгібуючого ефекту (метод серійних розведень у рідких поживних середовищах) та встановлено особливості вивільнення активної субстанції з сорбенту (максимальний час збереження специфічної антимікробної дії) методом дифузії у рідкі поживні середовища (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Максимальний час збереження інгібуючої дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ
щодо *P. aeruginosa* 449**

Речовина	Термін спостереження				
	1 доба	2 доба	3 доба	4 доба	5 доба
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	–	+	+	+	+

Примітки:

1. – – ріст мікроорганізмів відсутній;
2. + – повноцінний ріст мікроорганізмів.

Вивчення антибактеріальних властивостей зразку композицій з урахуванням особливостей вивільнення активної субстанції (максимального часу збереження специфічної антимікробної дії) щодо клінічного штаму *P. aeruginosa* 449 показало, що композит НДК+ПГМГ-ГХ проявляє виразну дію, зумовлену бактерицидним ефектом препарату, який зберігався протягом доби. Експериментально встановлено, що композит впливає на ріст та розмноження клінічного штаму синьогнійної палички. В усіх пробірках (окрім першої), які містили мішечки зі зразком композиту та тест-бактерії, через 48 год інкубації відмічався ріст тест-мікроорганізмів.

4.3 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на біоплівки

Оскільки в клінічній практиці мікроорганізми все частіше виявляються у вигляді біоплівок, у подальших експериментах ми дослідили активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ щодо біоплівок (попередження утворення біоплівок та її руйнування).

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на біоплівку визначали двома методами: у стаціонарній системі на склі та із застосуванням мікропланшета.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на біоплівку в стаціонарній системі на склі. Проведеними дослідженнями встановлено, що превентивне внесення композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл однаково ефективно впливає як на планктонні мікроорганізми, так і біоплівку *P. aeruginosa* (рис. 4.2,

4.3). При цьому кількість клітин у планктонній формі вже на першу добу спостережень знижувалася до нуля порівняно з негативним контролем. Під час проведення досліджень у цих умовах було підтверджено, що ефективність композиту НДК+ПГМГ-ГХ еквівалентна дії позитивного контролю – ПГМГ-ГХ.

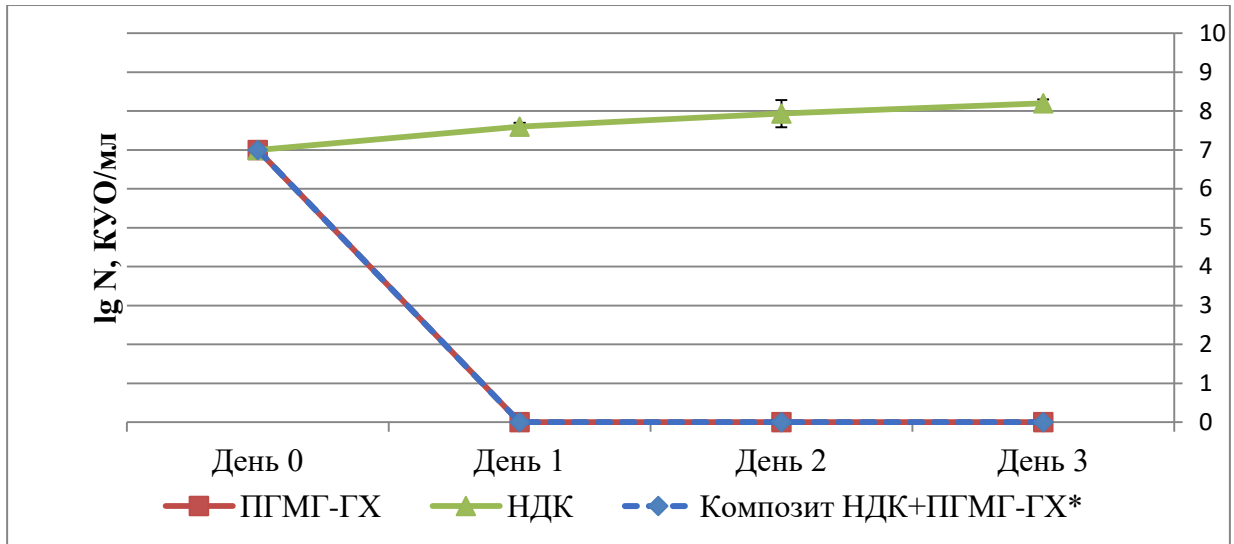


Рис. 4.2 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл (у перерахунку на вміст чистого ПГМГ-ГХ) на формування планктонної форми *P. Aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

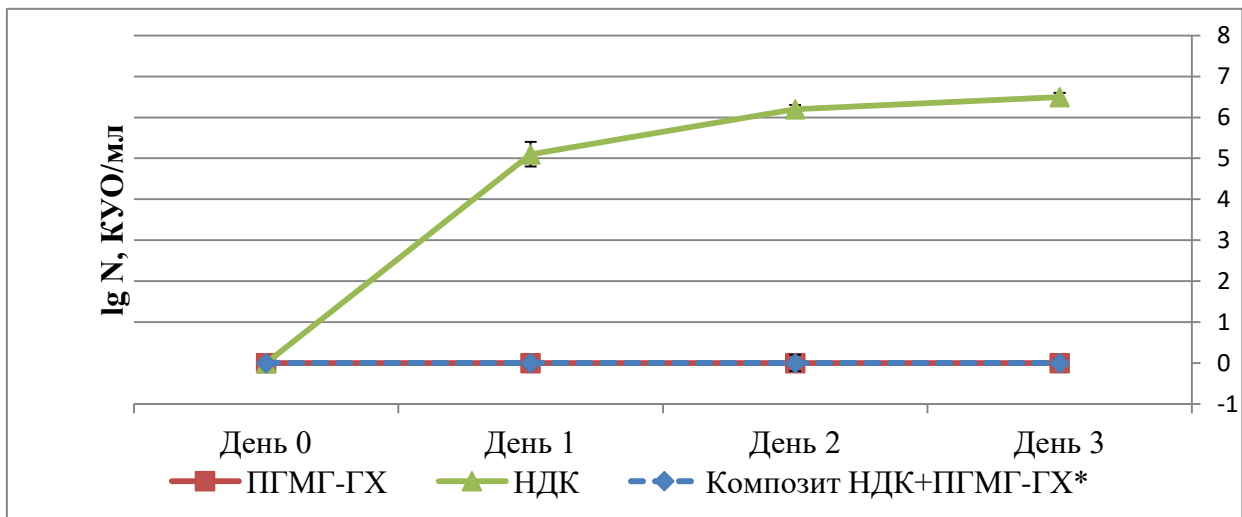


Рис. 4.3 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл (у перерахунку на вміст чистого ПГМГ-ГХ), на формування біоплівки *P. Aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

Дія композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл на сформовану планктонну форму *P. aeruginosa* характеризувалася високою ефективністю (рис. 4.4). Відзначено виражений вплив даного тест-зразка на клітини в планктонній

формі, кількість яких знижувалася до нуля вже на першу добу спостереження. Підтверджено виражену протимікробну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ як на формування, так і на вже сформовану планктонну форму *P. aeruginosa*.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл пригнічує розвиток сформованої біоплівки *P. aeruginosa* (рис. 4.5). Причому, життєздатних клітин у біоплівковій формі, а також формування організованих структур біоплівки не виявлено навіть на третю добу проведення експерименту.

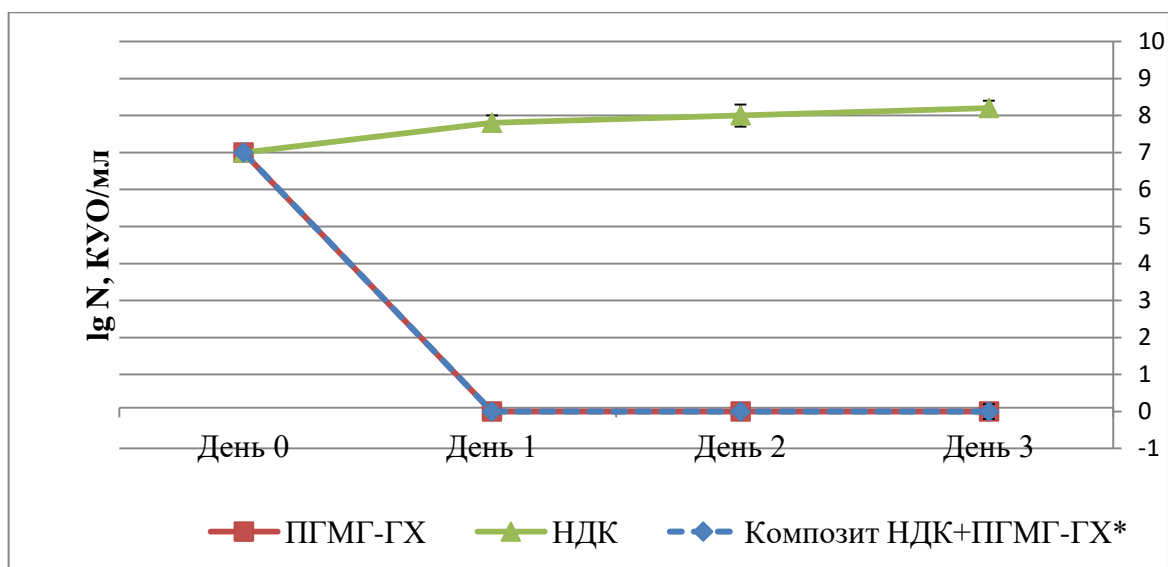


Рис. 4.4 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл на планктонну форму *P. aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

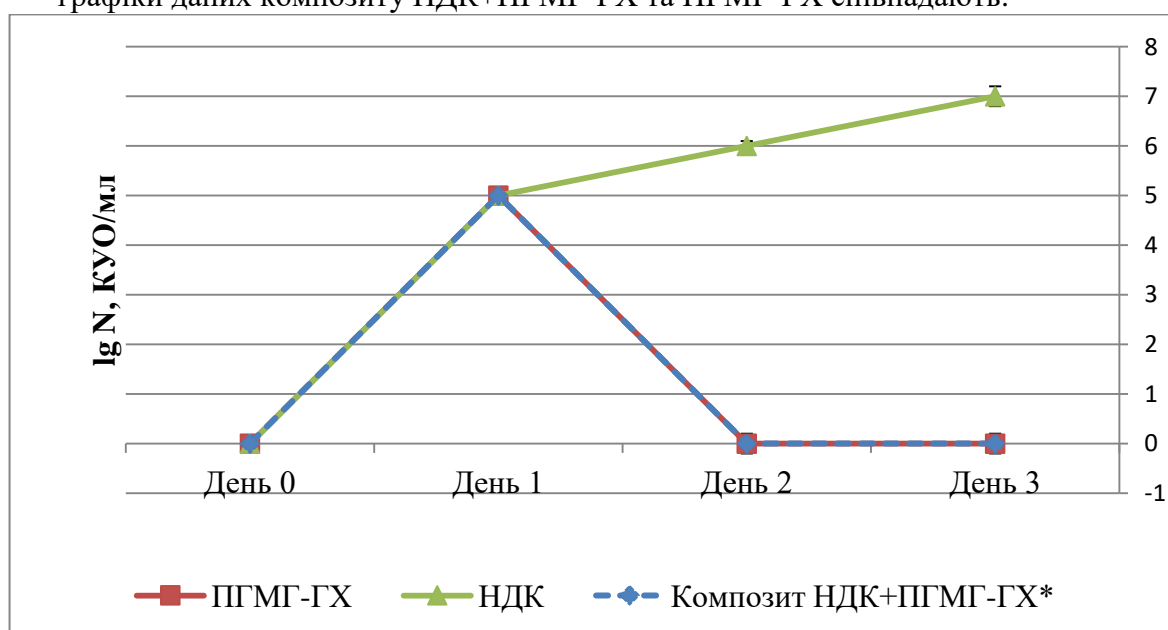


Рис. 4.5 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл на сформовану біоплівку *P. aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

Попереднє застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл призводило до зниження кількості клітин *P. aeruginosa* у планктонній формі до нульового показника (рис. 4.6).

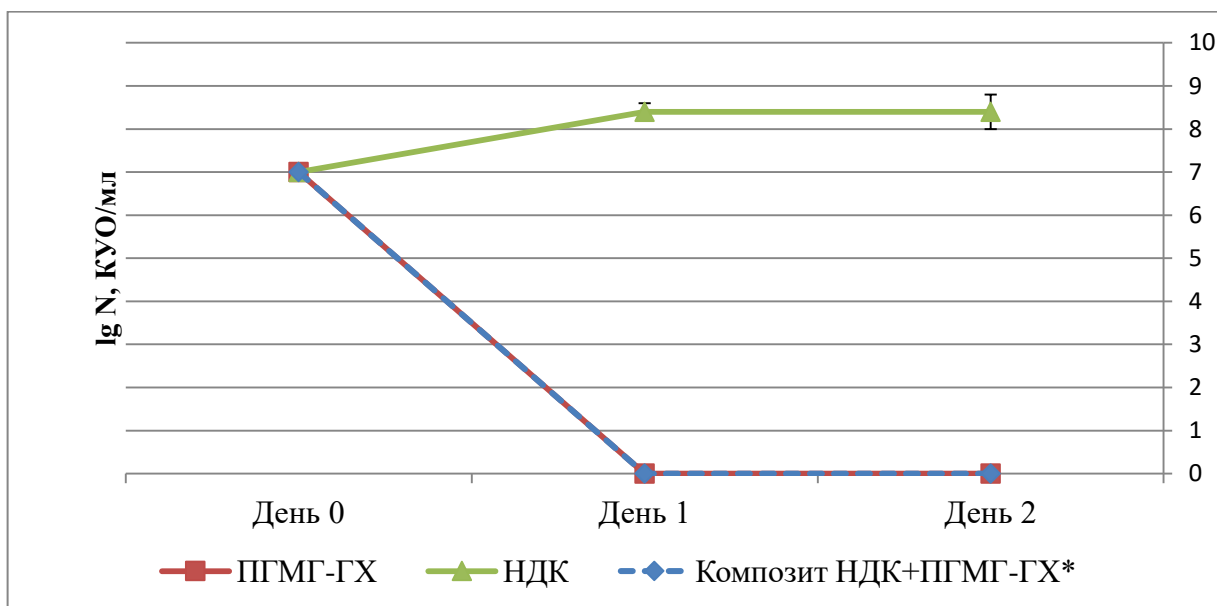


Рис. 4.6 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл на планктонну форму *P. aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

Відзначено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ і ПГМГ-ГХ є ефективними щодо планктонної форми *P. aeruginosa*, оскільки знижують кількість клітин до нульових показників (рис. 4.2; рис. 4.6).

Аналогічне дослідження з вивчення протимікробної активності на формування біоплівки *P. aeruginosa* встановило, що превентивне застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл призводить до повного знищення клітин *P. aeruginosa* (рис. 4.7).

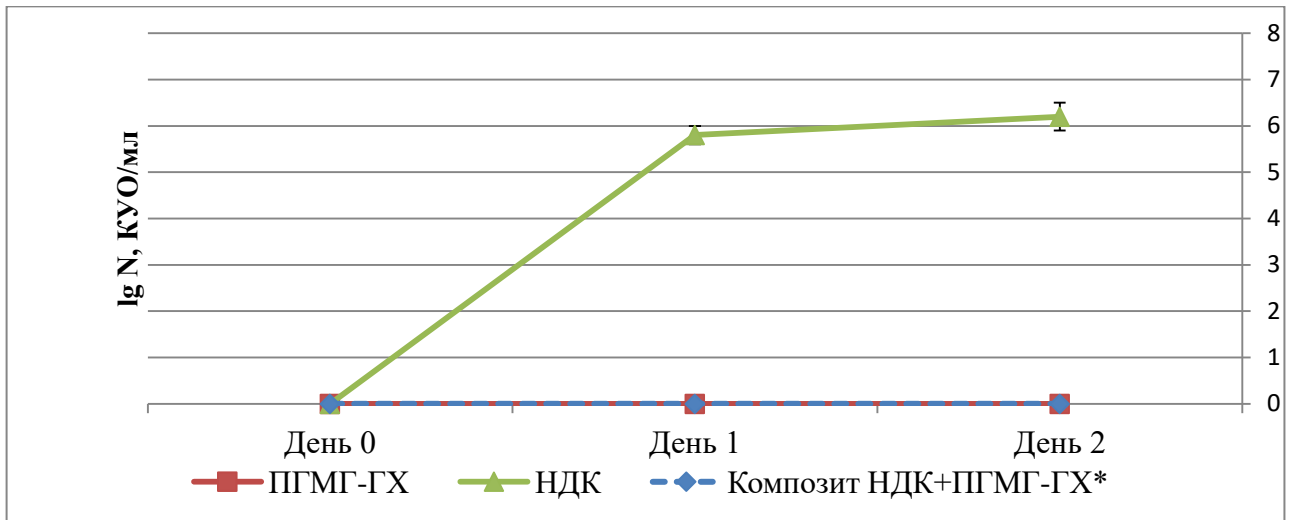


Рис. 4.7 Вплив превентивного внесення композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл на формування біоплівки *P. aeruginosa*

* – графіки даних композиту НДК+ПГМГ-ГХ та ПГМГ-ГХ співпадають.

Також зазначені тест-зразки характеризуються високою ефективністю щодо псевдомонад у біоплівковій формі, після обробки якими кількість живих клітин знижувалася до нуля (рис. 4.6). Аналогічна закономірність спостерігалася і за відсотком покриття скла біоплівкою. Позитивною особливістю композиту НДК+ПГМГ-ГХ є здатність до запобігання утворенню біоплівки, оскільки навіть на третю добу спостереження ніяких сформованих утворень на поверхні скла не виявлялося (рис. 4.7).

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ і ПГМГ-ГХ в однакових концентраціях у перерахунку на вміст чистого ПГМГ-ГХ призводило до зниження кількості клітин у біоплівці та планктонній формі до нульових показників і неможливості відновлення популяції протягом всього періоду спостереження.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на біоплівку із застосуванням мікропланшета. Вивчення впливу композиту на процес формування біоплівки *P. aeruginosa* досліджували в концентраціях 40 та 90 мкг/мл. Мінімальна інгібуюча концентрація препаратів порівняння гентаміцину та ципрофлоксацину як антисиньогнійних щодо клінічного тест-штаму *P. aeruginosa* 449 складає 0,39 та 0,25 мкг/мл відповідно. У дослідженні застосовувалися концентрації препаратів порівняння, що відповідають 0,5 та 5,0 МІК.

Отримані на рисунку 4.8 результати свідчать, що композит НДК+ПГМГ-ГХ в обох концентраціях майже повністю пригнічує плівкоутворення синьогнійної палички. Так, за умови присутності в інкубаційному середовищі композиту в концентрації 40 мкг/мл формування біоплівки складало 6,5 %, при 90 мкг/мл – 7,9 % у порівнянні з контролем. Композит за ступенем інгібуючої активності має переваги перед ципрофлоксацином та гентаміцином.

Серед препаратів порівняння найактивнішим виявився ципрофлоксацин, для якого характерна дозозалежна дія. Його антибіоплівкова дія спостерігається тільки у бактерицидній концентрації і складає 79,8 %.

Дозозалежна дія також характерна для гентаміцину, який пригнічує плівкоутворення на 16,2 та 29,1 % (5,0 та 0,5 МІК відповідно).

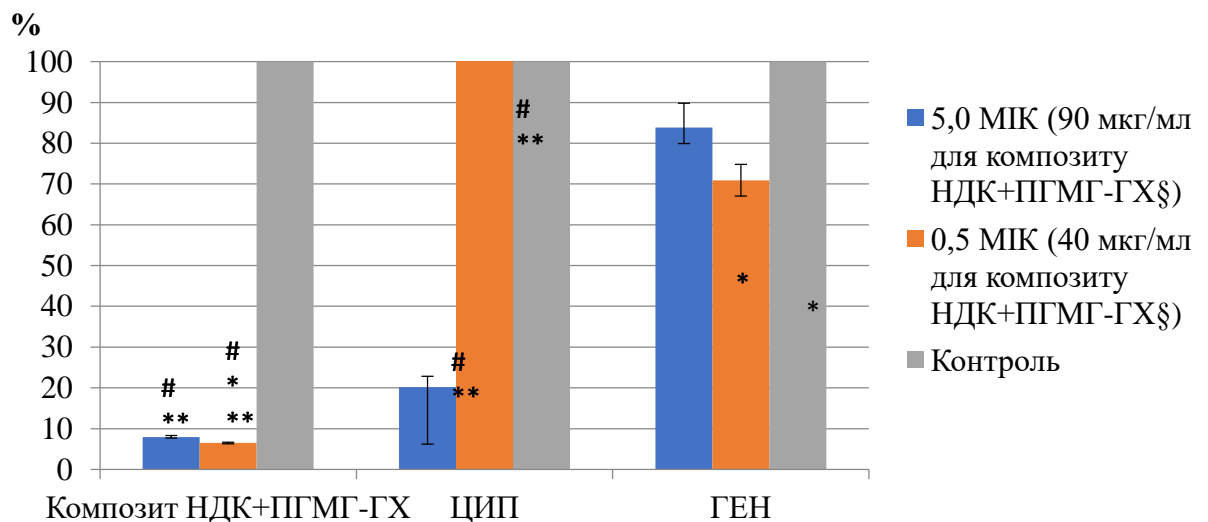


Рис. 4.8 Інтенсивність формування біоплівки *P. aeruginosa* 449 у присутності композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння (% утвореної біоплівки)

Примітки:

1. § – у перерахунку на вміст ПГМГ-ГХ у композиті;
2. * – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації ципрофлоксацину;
3. ** – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації гентаміцину;
4. # – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактної культури;
5. ГЕН – гентаміцин;
6. ЦІП – ципрофлоксацин.

Отримані дані щодо вивчення здатності 30 % розчину ПГМГ та препаратів порівняння впливати на сформовану впродовж 24 год біоплівку *P. aeruginosa* 449 наведені на рисунку 4.9.

Отримані результати показали, що композит НДК+ПГМГ-ГХ також виявився активним відносно 1-добової біоплівки синьогнійної палички, який у концентрації 90 мкг/мл призводить до руйнування біоплівки на 89,8 %. Зниження концентрації до 40 мкг/мл супроводжується незначним зменшенням інгібуючої активності та становить 74,3 % (рис. 4.9).

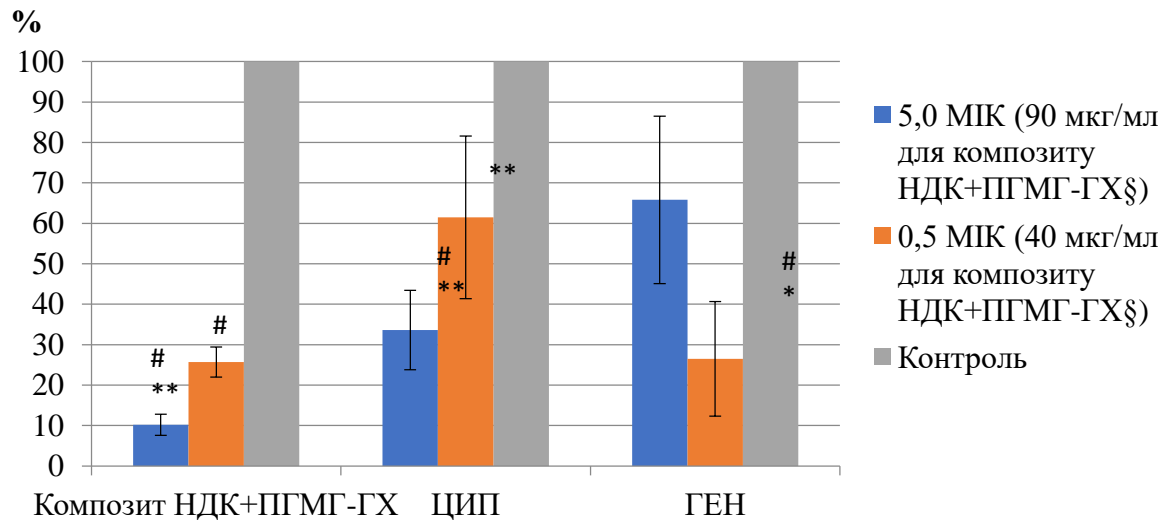


Рис. 4.9 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на 1-добову біоплівку *P. aeruginosa* 449 (% утворення біоплівки)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації ципрофлоксацину;
2. ** – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації гентаміцину;
3. # – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактної культури;
4. ГЕН – гентаміцин;
5. ЦИП – ципрофлоксацин.

Серед препаратів порівняння найбільш активними виявився гентаміцин – у концентрації 5,0 МІК інгібуюча дія становить 34,2 %, а при 0,5 МІК вона збільшується і дорівнює 73,5 %. Ципрофлоксацин порушує сформовану біоплівку *P. aeruginosa* 449 у концентраціях 0,5 та 5,0 МІК на 38,5 та 66,4 % відповідно.

Дані наукових джерел свідчать, що біоплівки різного віку відрізняються за чутливістю до антимікробних препаратів [128–130]. Тому в наступних дослідженнях нами було оцінено вплив сполук та препаратів на 5-добову біоплівку *P. aeruginosa*.

Отримані дані (рис. 4.10) свідчать, що 5-добова біоплівка є менш чутливою, порівняно з 1-добовою до дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ. Дослідженнями встановлено, що активність композиту практично не залежить від концентрації. Так, композит НДК+ПГМГ-ГХ у досліджених концентраціях викликає деструкцію біоплівки у концентрації 5,0 МІК (90 мкг/мл) – на 70,4 %, у концентрації 0,5 МІК (40 мкг/мл) – на 72,3 %.

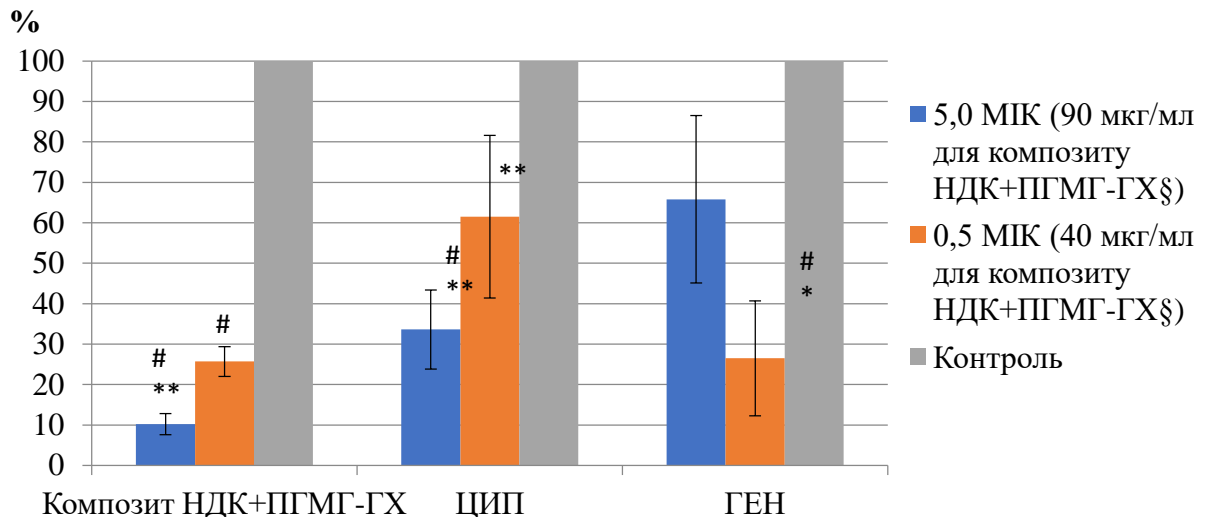


Рис. 4.10 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на 5-добову біоплівку *P. aeruginosa* 449 (% утворення біоплівки)

Примітки:

1. § – у перерахунку на вміст ПГМГ-ГХ у композиті;
2. * – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації ципрофлоксацину;
3. ** – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації гентаміцину;
4. # – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактної культури;
5. ГЕН – гентаміцин;
6. ЦИП – ципрофлоксацин.

Встановлено, що серед препаратів порівняння найбільш активним виявився ципрофлоксацин, який у концентрації 5,0 МІК руйнує зрілу біоплівку на 94,4 %, в концентрації 0,5 МІК – на 50,9 %. Важливим є той факт, що гентаміцин проявляє інгібуючу дію у низькій концентрації (0,5 МІК). Підвищення концентрації до 5,0 МІК супроводжується зниженням антибіоплівкової активності препарату.

Таким чином, доведено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ виявляє інгібуючий ефект щодо процесу плівкоутворення та сформованих біоплівок синьогнійної

палички на різних етапах формування. Встановлено, що активність розчину ПГМГ майже не залежить від концентрації. Показано, що 5-добова біоплівка *P. aeruginosa* була більш стійкою до дії ПГМГ та препаратів у порівнянні з 1-добовою.

Отже, проведені експерименти свідчать що композит НДК+ПГМГ-ГХ проявляє активність щодо синьогнійної палички, інгібує ріст та розмноження планктонних мікроорганізмів і бактерій у формі біоплівок. Композит НДК+ПГМГ-ГХ впливає як на процес плівкоутворення, так і руйнує вже сформовані біоплівки *P. aeruginosa*. До дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ більш чутливі біоплівки, які знаходяться на стадії її формування, ніж сформовані біоплівки, що свідчить про профілактичну направленість дії та перспективність створення препаратів для попередження плівкоутворення.

4.4 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з

полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рухову активність *P. aeruginosa*

Важливу роль в утворенні біоплівок та колонізації ними засобів медичного призначення відіграє наявність у бактерій декількох механізмів переміщення. Здатність до рухливості спрямованим чином надає мікроорганізмам потенційні переваги для пошуку джерела поживних речовин, уникнення ксенобіотиків (у тому числі антимікробних препаратів), доступу до оптимальних місць колонізації та розповсюдження у навколишньому середовищі під час передачі від пацієнта до здорової людини чи тварини тощо. Вважається, що саме здатність до рухливості є одним із факторів адгезії та утворення біоплівки на різних субстратах [131].

Відомо, що бактерії роду *Pseudomonas* можуть переміщуватися на поверхні чи у товщі середовища різними способами.

Для встановлення впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ на рухливість грамнегативних бактерій у дослідженні використовували клінічні ізоляти *P. aeruginosa* 449. Препаратами порівняння слугували гентаміцин та ципрофлоксацин. Концентрації досліджуваного композиту НДК+ПГМГ-ГХ

складали 40 та 90 мкг/мл у перерахунку на ПГМГ-ГХ, препаратів порівняння – 0,5 та 2,0 МІК.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів на свіммінг-міграцію.
У рідкому середовищі індивідуальні клітини бактерій рухаються за типом «плавання» (від англ. *swimming*), переміщаючись завдяки джгутику [131].

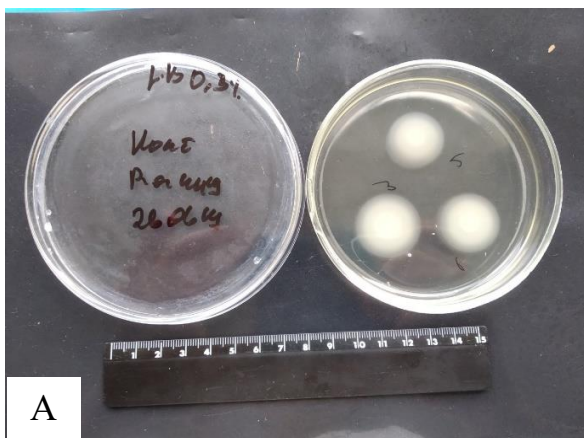
Таблиця 4.7

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл та препаратів порівняння у субінгібуючій концентрації (0,5 МІК) на свіммінг-міграцію *P. aeruginosa* 449

Сполуки та препарати	D, мм	ΔD , %
Контроль	23,0±2,0	100,0
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	21,0±1,5	- 8,7
Гентаміцин	21,3±11,1	- 7,4
Ципрофлоксацин	22,0±1,0	- 4,3

Примітка: D – діаметр колонії.

Проте не всі штами бактерій мають джгутики та здатні до зазначеного виду рухливості. Композит НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл і препарати порівняння гентаміцин та ципрофлоксацин у субінгібуючій концентрації майже не впливають на рухливість синьогнійної палички за типом «плавання» (табл. 4.7 та рис. 4.11).



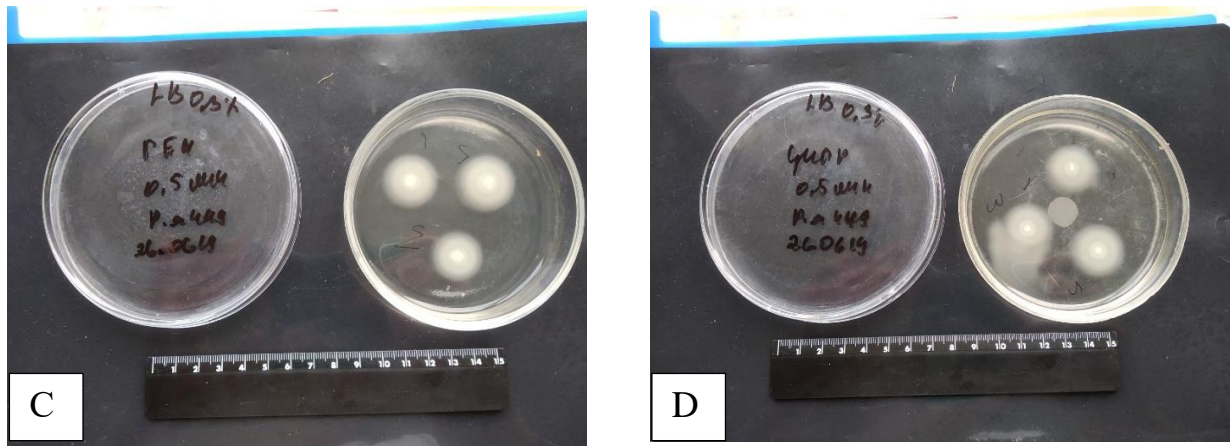


Рис. 4.11 Свіммінг-міграція *P. aeruginosa* 449 при дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 0,5 МІК

Примітки:

1. А – інтактний контроль;
2. В – композит НДК+ПГМГ-ГХ;
3. С – гентаміцин;
4. D – ципрофлоксацин.

Підвищення концентрації композиту НДК+ПГМГ-ГХ до концентрації 90 мкг/мл та гентаміцину до концентрації 2,0 МІК супроводжувалося пригніченням росту та зменшенням діаметру зони міграції синьогнійної палички (табл. 4.8 та рис. 4.12).

Таблиця 4.8

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 2,0 МІК на свіммінг-міграцію *P. aeruginosa* 449

Сполуки та препарати	D, мм	ΔD , %
Контроль	23,0±2,0	100,0
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	19,3±1,1 ^{##}	- 16,1
Гентаміцин	16,5±0,5 ^{##}	- 28,3
Ципрофлоксацин	21,3±0,5	- 7,4

Примітки:

1. D – діаметр колонії;
2. ## – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактного контролю.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ також дещо знижує рухливість бактерій, у концентрації 90 мкг/мл діаметр зони міграції зменшується на 16,1 %. Препарат порівняння ципрофлоксацин у досліджуваній концентрації практично не впливає

на свіммінг-міграцію синьогнійної палички (зменшення зони міграції на 7,4 %), при дії гентаміцину реєструється зменшення діаметра зони міграції на 28,3 %.

Таким чином, проведені експерименти показали, що композит НДК+ПГМГ-ГХ виявляє дозозалежний ефект на свіммінг-міграцію *P. aeruginosa*.

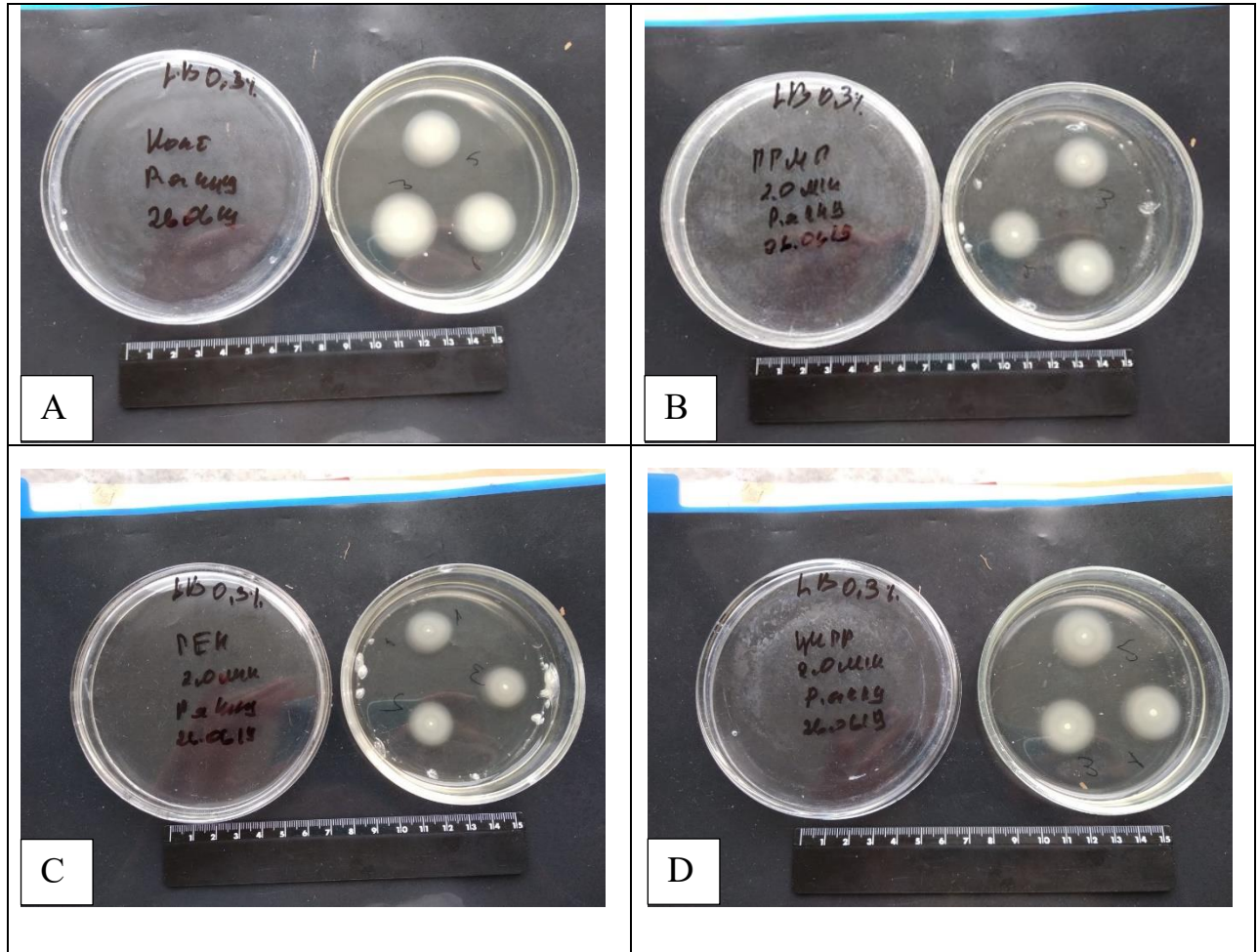


Рис. 4.12 Свіммінг-міграція *P. aeruginosa* 449 при дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 2,0 мкг

Примітки:

1. А – інтактний контроль;
2. В – композит НДК+ПГМГ-ГХ;
3. С – гентаміцин;
4. D – ципрофлоксацин.

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів на свормінг-міграцію.

У напіврідкому середовищі грамнегативні мікроорганізми здатні до швидкого руху по типу «роїння» (від англ. *swarming*), що здійснюється за участю джгутиків та пілей IV типу [132].

Для встановлення впливу сполук на свормінг-міграцію було проведено дослідження з використанням клінічних ізолятів *P. aeruginosa* 449. Отримані дані наведено у таблицях 4.9 та 4.10.

Таблиця 4.9

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 0,5 МІК на свормінг-міграцію *P. aeruginosa* 449

Сполуки та препарати	D, мм	ΔD , %
Контроль	8,2±1,1	100,0
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	7,7±0,43	- 6,1
Гентаміцин	9,0±0,05	+ 9,8
Ципрофлоксацин	7,83±0,55	- 4,5

Примітка: D – діаметр колонії.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл та ципрофлоксацин зменшували свормінг-міграцію на 6,1 та 4,5 % відповідно, а застосування гентаміцину у концентрації 0,5 МІК супроводжувалось стимуляцією свормінг-міграції *P. aeruginosa*. Отримані дані відображено у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 2,0 МІК на свормінг-міграцію *P. aeruginosa* 449

Сполуки та препарати	D, мм	ΔD , %
Контроль	8,2±1,1	100,0
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	10,0±0,5	+ 22,0
Гентаміцин	8,5±0,5	+ 3,7
Ципрофлоксацин	7,3±0,9	-11,0

Примітка: D – діаметр колонії.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл стимулює рухливість *P. aeruginosa* на 22 %, а гентаміцин концентрації 2,0 МІК – на 3,7 %. Ципрофлоксацин, навпаки, пригнічує рухову активність синьогнійної палочки, зона міграції зменшується 11 % (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 40 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 0,5 МІК на твітчінг-міграцію *P. aeruginosa* 449

Сполуки та препарати	S, мм ²	ΔS, %
Контроль	871,35±31,4	100
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	682,9±114,62 ^{##}	- 21,6
Гентаміцин	715,1±155,9	- 17,9
Ципрофлоксацин	817,5±91,4	- 6,2

Примітки:

1. S – площа колонії;
2. ## – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактного контролю.

Таким чином, композит НДК+ПГМГ-ГХ справляє незначний негативний вплив на свормінг-міграцію синьогнійної палички лише у концентрації 40 мкг/мл. Схожість дії композиту та препаратів порівняння може пояснюватися тим, що при цьому типі руху, окрім пілей IV типу, також задіяні джгутики.

При зростанні концентрації композиту НДК+ПГМГ-ГХ та антибіотиків культура клітин *P. aeruginosa* реагує на ксенобіотики більш виразно, тому спостерігається стимуляція руху бактерій від негативного фактора і реєструється зростання зон міграції.

Вплив композит НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на твітчінг-міграцію. Вид переміщення бактерій по вологій поверхні називається твітчінг-міграцією (від англ. *twitching*), який здійснюється ривкоподібними рухами за допомогою пілей IV типу [133].

Цей вид рухливості є характерним для більшості представників грамнегативних та грампозитивних паличкоподібних бактерій. При культивуванні на поверхні щільного поживного середовища в чашках Петрі цей тип переміщення виявляють у просторі між шаром агару та дном чашки.

Результати впливу сполук та препаратів порівняння на твітчінг-міграцію *P. aeruginosa* 449 наведено у таблицях 4.11 і 4.12 та рис. 4.13.

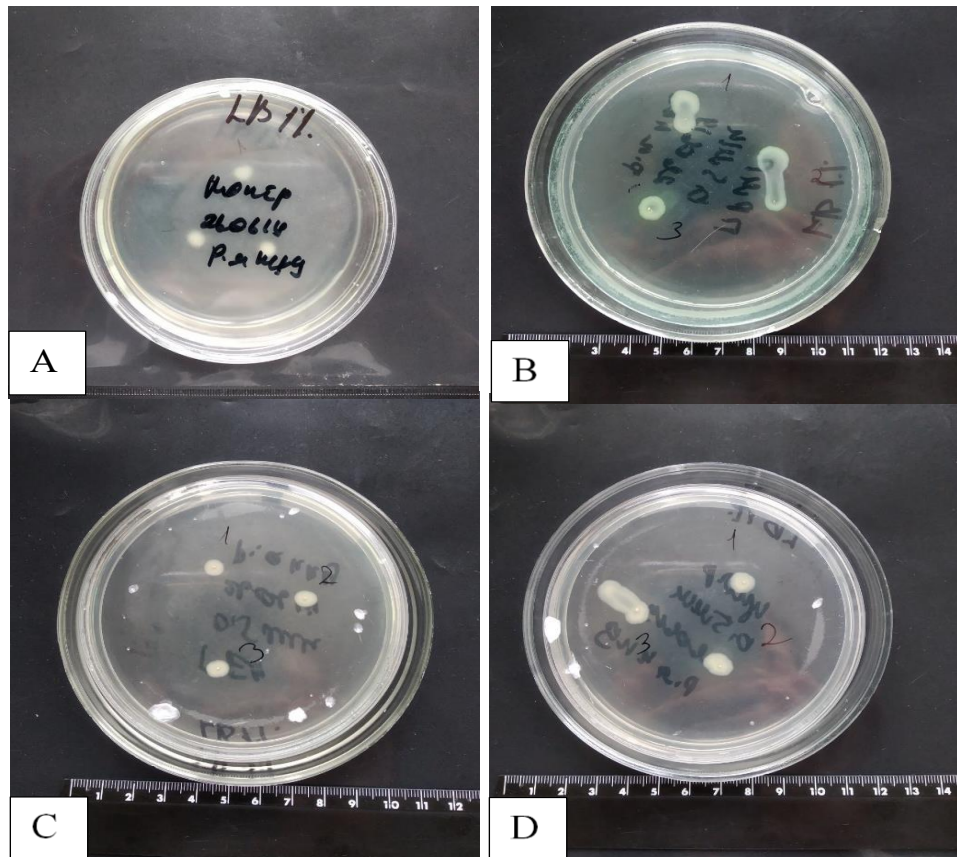


Рис. 4.13 Твітчинг-міграція *P. aeruginosa* 449 при дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння у концентрації 0,5 МІК

Примітки:

1. А – інтактний контроль;
2. В – композит НДК+ПГМГ-ГХ;
3. С – гентаміцин;
4. D – ципрофлоксацин.

Отримані результати свідчать, що зона твітчинг-міграції інтактної культури *P. aeruginosa* у агаризованому середовищі становить $(871,35 \pm 31,4)$ мм² (рис. 4.13, А).

При збільшенні концентрації розчину ПГМГ та препаратів до 2,0 МІК супроводжувалось невілюванням або стимуляцією твітчинг-міграції *P. aeruginosa* (окрім ципрофлоксацину). Отримані дані відображено у таблиці 4.12.

Таблиця 4.12

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 2,0 МІК на твітчинг-міграцію *P. aeruginosa* 449

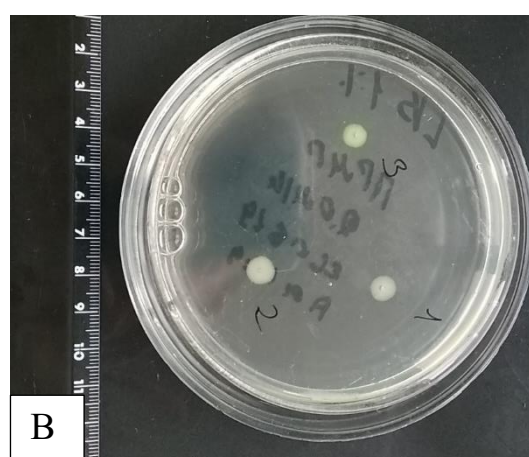
Сполуки та препарати	S, мм ²	ΔS, %
Контроль	871,35±31,4	100
Композит НДК+ПГМГ-ГХ	869,3±127,0	- 0,2
Гентаміцин	1044,6±213,7 ^{##}	- 19,9
Ципрофлоксацин	994,9±132,0	+ 14,2

Примітки:

1. S – площа колонії;
2. ## – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо інтактного контролю.

Експериментально встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ не впливає на *P. aeruginosa* у концентрації 90 мкг/мл, реєструється зменшення рухової активності лише на 0,2 %. Найбільш виражене інгібування спостерігається при дії препарату порівняння гентаміцину, площа міграції знижується на 19,9 % (табл. 4.12).

Препарат порівняння ципрофлоксацин у концентрації 2,0 МІК стимулює рухову активність *P. aeruginosa*, зона міграції збільшується на 14,2 %, порівняно з інтактним контролем.



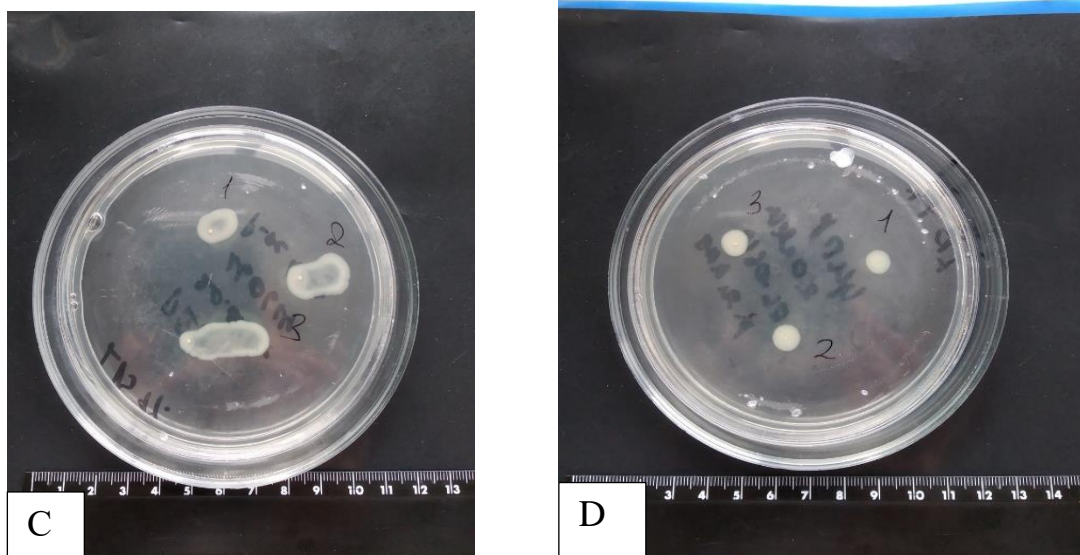


Рис. 4.14 Твітчинг-міграція *P. aeruginosa* 449 при дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ у концентрації 90 мкг/мл та препаратів порівняння у концентрації 2,0 МК

Примітки:

1. А – інтактний контроль;
2. В – композит НДК+ПГМГ-ГХ;
3. С – гентаміцин;
4. D – ципрофлоксацин.

Встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ виявився більш ефективним у концентрації 40 мкг/мл, перешкоджаючи адгезії бактерій *P. aeruginosa* до абіотичних поверхонь (зокрема скла, медичних інструментів).

Таким чином, експериментально встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ, а також препарати порівняння більш виразно пригнічують рухливість синьогнійної палички, обумовлену пілями IV типу (твітчинг-міграція). Проте слід зауважити, що підвищення концентрації композиту НДК+ПГМГ-ГХ до 90 мкг/мл при дії на рух за типом твітчинг *P. aeruginosa*, навпаки, зменшує свою активність щодо переміщення клітин на абіотичній поверхні. Композит НДК+ПГМГ-ГХ або не впливав (у концентрації 40 мкг/мл), або стимулював (у концентрації 90 мкг/мл) рухливість бактерій за типом свормінг («роїння»). Серед препаратів порівняння найбільш активним виявився представник фторхінолонів ципрофлоксацин, який пригнічував свормінг-міграцію синьогнійної палички в обох досліджуваних концентраціях, порівняно з гентаміцином. При дослідженні руху за типом «плавання» (свїммінг-міграція) у *P. aeruginosa* композит

НДК+ПГМГ-ГХ та препарати інгібували рухливість клітин. Що характерно, тут ми спостерігали дозозалежний ефект, тобто можна зробити висновок про те, що композит НДК+ПГМГ-ГХ та антибіотики здійснюють негативний вплив саме на пілі IV типу а не на джгутики мікроорганізмів.

4.5 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на гідрофобність поверхні бактеріальних клітин та їх адгезивну активність

Процес формування біоплівки включає в себе дві основні функціональні фази: первинну адгезію з адаптацією бактерій до поверхні та формування багатошарових клітинних кластерів, обумовлених продукуванням позаклітинного полімерного матриксу.

На початковій стадії бактеріальної колонізації виникають короточасні контакти бактерій з поверхнею. У цей період первинна адгезія мікроорганізмів значною мірою визначається фізико-хімічними властивостями поверхонь як бактеріальних клітин, так і субстрату. Головними факторами на цьому етапі є Ван-дер-Ваальсові сили, рівень гідрофобності клітинної поверхні, величина заряду клітин, а також гідрофобність, заряд, шорсткість і хімічний склад поверхні субстрату.

Гідрофобність поверхні бактеріальних клітин визначається складом їх клітинних стінок (присутністю поверхнево-асоційованих білків), який відображає фізіологічний стан та умови життєдіяльності бактерій. Вона є важливим фізичним чинником, що визначає інтенсивність адгезії, особливо коли поверхня субстрату має виражені гідрофобні властивості. Було встановлено, що гідрофобні бактерії адгезуються краще, ніж гідрофільні [134–136].

Для дослідження впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на гідрофобність клітин грамнегативних бактерій (*P. aeruginosa*), культури попередньо, перед осадженням, інкубували протягом 90 хв при 37 °С зі сполуками у концентраціях 0,5 та 2,0 МІК.

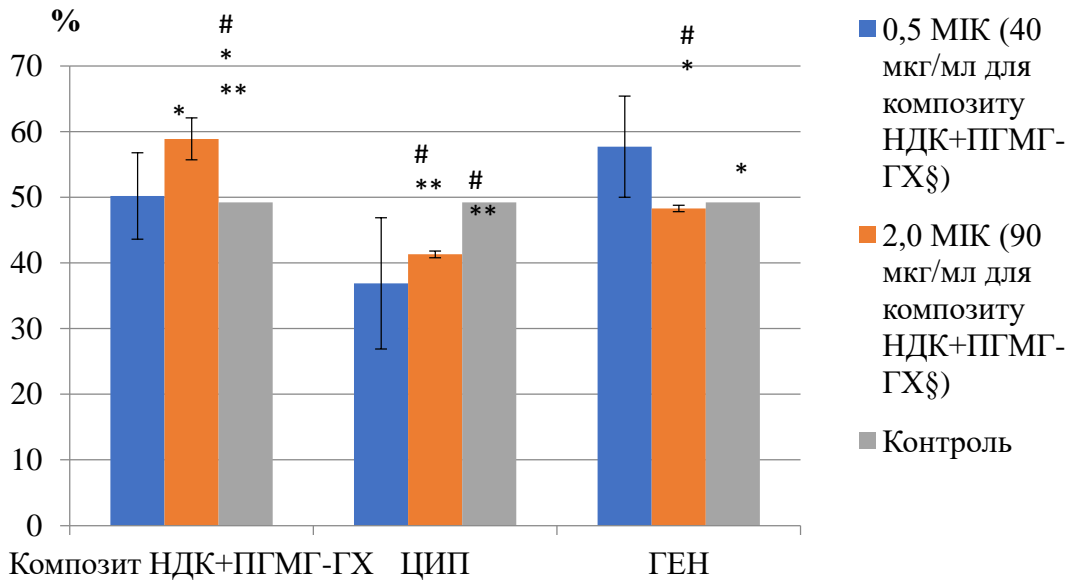


Рис. 4.15 Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння на гідрофобність бактеріальних клітин *P. aeruginosa* 449 (% гідрофобності)

Примітки:

1. ЦИП – ципрофлоксацин;
2. ГЕН – гентаміцин;
3. § – у перерахунку на вміст ПГМГ-ГХ у композиті;
4. * – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації ципрофлоксацину (ЦИП);
5. ** – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо відповідної концентрації гентаміцину (ГЕН);
6. # – $p < 0,05$ вірогідне зниження щодо контролю.

Результати дослідження показали, що штами характеризувалися різним ступенем адгезивної активності (Ad %): *P. aeruginosa* – 49,2 %.

Отримані дані щодо зміни гідрофобності поверхні синьогнійної палички при дії композит НДК+ПГМГ-ГХ та препаратів порівняння (рис. 4.15) показали, що композиту НДК+ПГМГ-ГХ практично не впливав на гідрофобні властивості *P. aeruginosa* у концентрації 40 мкг/мл. Цей показник збільшувався на 0,9 %, або збільшував на 8,7 % (у концентрації 90 мкг/мл) у порівняння з інтактним контролем ($p < 0,05$).

Найвиразніший ефект було виявлено у ципрофлоксанину. При дії препарату у концентрації 0,5 МІК гідрофобність поверхні клітин зменшувалась на 22 %, а при 2,0 МІК реєструвалося несуттєве збільшення на 4,4 %.

Гентаміцин у досліджених концентраціях також суттєво не змінював гідрофобні властивості клітин синьогнійної палички. При дії препарату в

субінгібуючий концентрації (0,5 МІК) спостерігали стимуляцію гідрофобних властивостей клітин синьогнійної палички на 16,3 %. При збільшенні концентрації гентаміцину до 2,0 МІК гідрофобність клітин знижувалась на 9,4 % порівняно з інтактним контролем.

Таким чином встановлено, що досліджуваний композит НДК+ПГМГ-ГХ сприяв незначному збільшенню гідрофобності клітин бактерій залежно від концентрації на 0,9 % (у концентрації 40 мкг/мл) та 8,7 % (у концентрації 90 мкг/мл), у порівняння з інтактним контролем ($p < 0,05$). Більш суттєвий вплив на зменшення гідрофобності клітин *P. aeruginosa* мав лише ципрофлоксацин у обох концентраціях: при 2 МІК – на 7,9 %, при 0,5 МІК – на 12,3 %. Гентаміцин у концентрації 2 МІК не впливав на гідрофобність клітин, а у концентрації 0,5 МІК збільшував на 8,5 %.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Дорошенко А. І., Балко О. Б., Воронін Є. П., Дорошенко А. М., Зайченко Г. В. Антимікробна активність *in vitro* нанодисперсного кремнезему і композиту полігексаметиленгуанідину гідрохлориду для лікування місцевих інфекцій (англ.). Клінічна фармація. 2019. Т. 23. № 1. С. 30-36.

2. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О. Порівняльні дослідження адсорбуючих властивостей кремнійвмісних сорбентів. Фітотерапія: Часопис. 2019. № 2. С. 24–29.

3. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., 2019, Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів. Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції (14–15 березня 2019 року м. Харків)

2. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В. 2019, Матеріали III Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині» (19 квітня 2019 року).

3. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Суворова З. С., 2019, Матеріали науково-практичної internet-конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» 22–23 жовтня 2019 р.

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ТА РАНОЗАГОЮВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПОЗИТУ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДОМ *IN VIVO*

5.1 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на загоєння термічного опіку за умов нашкірного нанесення

5.1.1 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на динаміку місцевих проявів загоєння при термічному опіку

Загоєння ранового процесу, зокрема й опікової рани – це складний динамічний процес, в якому розрізняють три фази: 1 – фазу запалення, що ділиться на період судинних змін і період очищення рани від загиблих некротичних тканин; 2 – фазу регенерації, утворення та дозрівання грануляційної тканини, 3 – фазу реорганізації рубця та епітелізації [137–138]. Тяжкість перебігу опікової травми значною мірою залежить від площі та глибини ушкодження тканин. Ми викликали опік II ступеня.

Опікова рана порівняно з ранами, викликаними механічними факторами, більш схильна до розвитку неконтрольованого запалення та переходу у хронічну форму, що продовжує час загоєння та ускладнює лікування.

Характеристиками, за якими ми можемо визначати ефективність лікування, є наявність набряку, зміна площі поверхні дефекту та зменшення часу загоєння.

У тварин контрольної патології (КП) відразу після моделювання опікової рани шкіра навколо опіку була набрякла та незначно гіперемована, за дві доби опік покривався сухим світло-коричневим струпом, а на 5 добу у тварин

контрольної групи відбувалося завершення формування опікової рани, що характеризувалося стовщенням струпа. З 6 доби струп розм'якшувався і при натисканні спостерігалось виділення серозно-гнійного ексудату, а тканини на дні рани залишалися набряклими. До 21–22 доби дослідження у центрі опікової рани відзначався рановий дефект.

До 28 доби відбувалася часткова епітелізація опіку, утворювався тонкий рубець, проте повного загоєння не відзначалося (рис. 5.1).

У тварин контрольної групи спостерігалася така динаміка зміни площі рани: на 7 добу – на 10,7 %, 14 добу – 41,9 %, 21 добу – 60,6 %, 28 добу – 85 % (табл. 5.1).

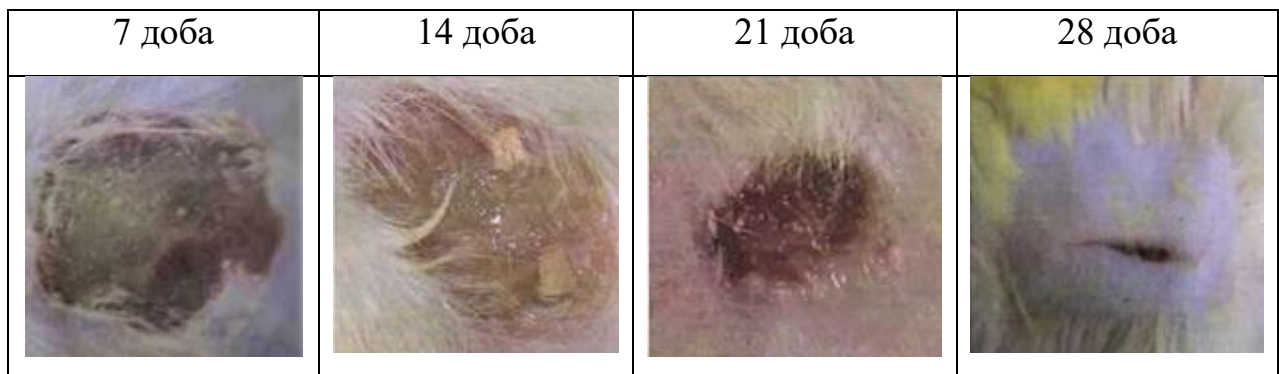


Рис. 5.1 Динаміка загоєння опікової рани в групі контролю (без лікування)

У групі тварин, яких лікували хлоргексидином (КП+хлоргексидин), опікова рана була виражено гіперемована і покрилася сухим світло-коричневим струпом. Починаючи з 3 доби також спостерігалось розм'якшення центральної частини товстого струпа, але, на відміну від опікової рани у тварин контрольної групи, при натисканні з-під нього виділявся серозний ексудат. Протягом наступних двох тижнів спостереження (до 21-ї доби) відбувалося розплавлення струпа та епітелізація ранового дефекту, які проходили швидше, ніж у групі без лікування, але гірше, ніж у групі із застосуванням композиту НДК+ПГМГ-ГХ.

До 28 доби рановий дефект був практично повністю епітелізований з утворенням ніжного рубця (рис. 5.2).

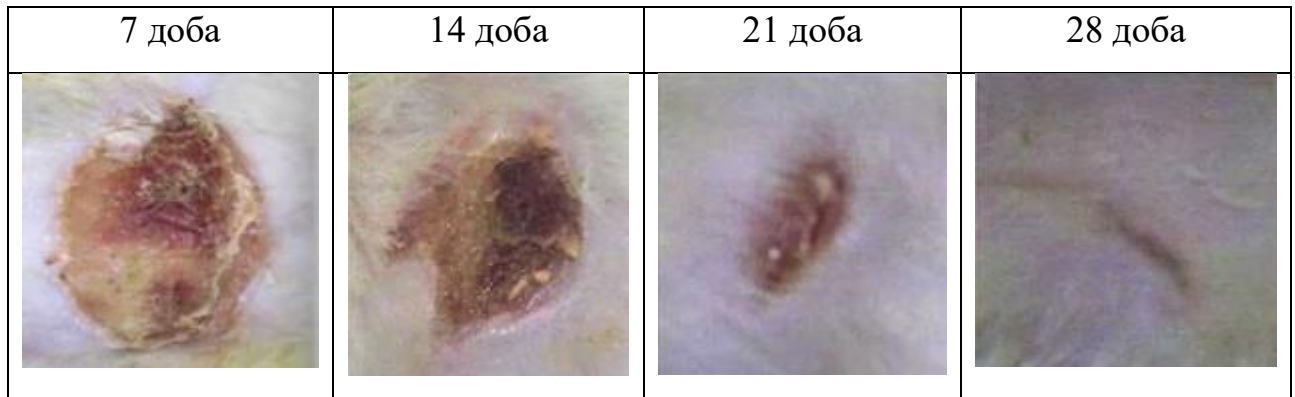


Рис. 5.2 Динаміка загоєння опікової рани під впливом хлоргексидину

У тварин, яких лікували хлоргексидином, спостерігалось більш швидке зменшення площі термічного опіку: на 7 добу – на 17 %, 14 добу – 49 %, 21 добу – 76 %, 28 добу – 89 % порівняно з площею нанесеного опіку (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на площу рани (мм²) при термічному опіку (M±m, n = 6)

Групи	Площа рани у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
КП	340,34±29,50	162,5±22,15	58,7±8,30	3,17±0,36
КП+хлоргексидин	282,07±20,16*	129,85±16,66*	38,68±5,52*	1,89±0,08*
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	149,26±32,91*#	38,35±16,58*#	1,25±0,23*#	0,01±0,01*#

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

У групі застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ (КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ) лікування виявилось більш ефективним, ніж при застосуванні хлоргексидину. З першої доби гіперемія була невираженою, у подальшому спостереженні утворювався струп світло-коричневого кольору. На третю добу центральна частина струпа пом'якшувалася практично без виділення ексудату. набряк і гіперемія рани також були менш виражені, ніж у групах без лікування та із застосуванням хлоргексидину. При подальших спостереженнях епітелізація опікової рани відбувалася швидше, ніж у групі лікування хлоргексидином. У половини тварин до 21–22 доби утворювався рубець. До 28 доби опікова рана повністю загоювалася в усіх тварин (рис. 5.3).

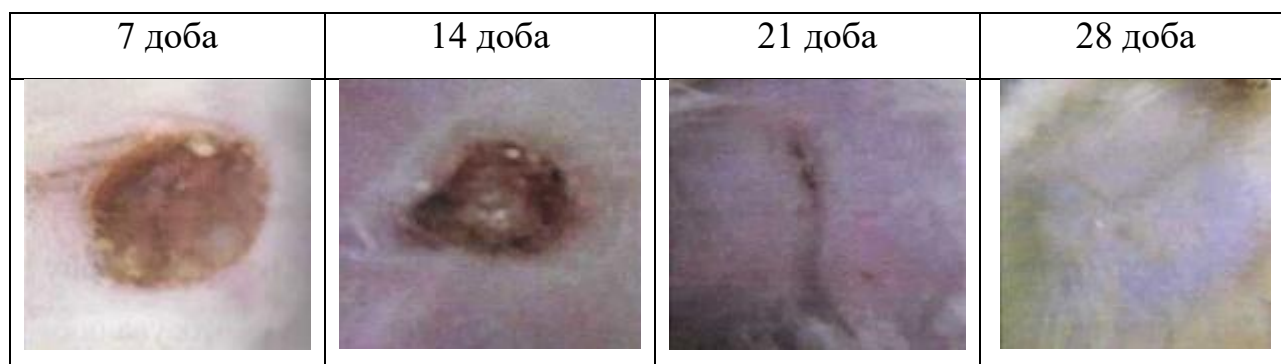


Рис. 5.3 Динаміка загоєння опікової рани під впливом композиту НДК+ПГМГ-ГХ

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ прискорювало загоєння опікової рани, порівняно з групою препарату порівняння хлоргесидину – площа рани зменшувалася на 44,4 % (7 доба), 63,4 % (14 доба), 88 % (21 доба), 99,5 % (28 доба) при порівнянні з площею нанесеного опіку (табл. 5.1, табл. 5.2).

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ скорочувало термін загоєння ран (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Швидкість зменшення площі поверхні опіку та скорочення терміну загоєння опіку при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину

Препарати	% зменшення площі рани				Скорочення терміну загоєння ран, %
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба	
КП+хлоргексидин	17	49	76	89	7
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	44	63	88	99	30

Таким чином, композит НДК+ПГМГ-ГХ проявляє виражену ранозагоювальну дію при лікуванні неінфікованого термічного опіку у щурів. Композит сприяє зменшенню запалення в опіковій рані, зменшенню площі опіку та часу загоєння. За цими показниками композит НДК+ПГМГ-ГХ перевищував активність препарату порівняння хлоргексидину.

5.1.2 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень проти- та прозапальних цитокінів у крові й вогнищі ушкодження

Запалення, що виникає у опіковій рані, характеризується підвищенням рівня прозапальних та виникненням дефіциту протизапальних цитокінів, дисбаланс яких призводить до подовження запального процесу. Тому наступним етапом нашого дослідження з метою визначення протизапальних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ було визначення його впливу на рівень про- та протизапальних інтерлейкінів.

У сироватці крові щурів спостерігався підвищений рівень ІЛ-1 β до достовірно значущих показників протягом всього періоду спостереження, максимум його підвищення спостерігався на 14 добу, коли він перевищував норму у 2,2 разу, надалі спостерігалось зниження, але навіть на 28 добу спостереження нормалізації не відбувалося і його рівень перевищував показники тварин без лікування на 22 % (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень ІЛ-1 β (пг/мл) у сироватці крові щурів при термічному опіку ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень ІЛ-1 β у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	68,23 \pm 4,89			
КП	126,16 \pm 6,06*	152,39 \pm 5,02*	105,62 \pm 4,32*	83,56 \pm 2,89*
КП+хлоргексидин	114,78 \pm 5,67*#	96,14 \pm 4,09*#	82,59 \pm 2,57*#	66,67 \pm 2,48*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	94,36 \pm 5,34*#&	78,89 \pm 2,75*#&	70,56 \pm 2,56*#&	63,34 \pm 1,74*#&

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Динаміка зміни рівня ІЛ-1 β у вогнищі опіку групи контролю була співставною: рівень прозапального цитокіну був вищим за показники інтактних тварин протягом всього експерименту – на 7, 14, 21 та 28 добу – у 2,3; 2,2; 2,1; 2,0 рази відповідно (табл. 5.4).

У тварин, що отримували лікування хлоргексидином, спостерігався більш низький рівень ІЛ-1 β у крові порівняно з групою тварин, що не отримували лікування, на 7, 14, 21 і 28 добу – на 9 %, 37 %, 22 %, і 20 % відповідно. Рівень ІЛ-1 β у шкірі при застосуванні хлоргексидину знижувався на 14 добу спостереження на 22 %, на 21 і 28 добу – на 27 % і 20 % (табл. 5.3, 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та препарату порівняння на утримання ІЛ-1 β (пг/г білка) у вогнищі ураження в щурів при термічному опіку (M \pm m, n = 6)

Групи	Рівень ІЛ-1 β у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	34,23 \pm 3,89			
КП	78,45 \pm 3,95*	89,56 \pm 5,19*	76,88 \pm 3,21*	41,45 \pm 2,24*
КП+хлоргексидин	80,18 \pm 3,19*#	69,88 \pm 2,56*#	55,78 \pm 2,34*#	36,55 \pm 2,02*
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	69,33 \pm 2,38*#&	45,28 \pm 3,13*#&	39,89 \pm 2,39 *#&	34,30 \pm 1,85#&

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

При застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ рівень ІЛ-1 β у крові щурів з опіковою травмою нормалізувався вже до 21 доби, у вогнищі ураження – до 28-ї (табл. 5.1, 5.2). При застосуванні композиту порівняно з хлоргексидином рівень ІЛ-1 β у сироватці крові знижувався на 7, 14, 21 і 28 добу на 18 %, 18 %, 15 % і 5 % відповідно, а у шкірі вогнища запалення – на 13,5 %, 35 %, 28 % і 5 % відповідно.

Виходячи з цього, можна зробити висновок, що хлоргексидин не має суттєвого впливу на рівень прозапального цитокіну ІЛ-1 β , оскільки лише знижував його у крові щурів, на відміну від композиту НДК+ПГМГ-ГХ, що сприяв нормалізації даного показника у крові вже на 21 добу, у шкірі – на 28 добу спостереження.

Нами також було визначено динаміку зміни рівня TNF- α у крові та вогнищі ураження. У групі тварин, які не отримували лікування, рівень TNF- α у крові

достовірно перевищував показники інтактних тварин вже на 7 добу у 3,9 разу, на 14 і 21 – у 3,7 і 3,0 рази відповідно, а на 28 добу – на 41 %. Аналогічні зміни показників спостерігалися у шкірі вогнища ураження. Рівень TNF- α був вищим у 4,7, 2,8 і 2,0 рази на 7, 14 та 21 добу відповідно, а на 28 добу – на 79 % (табл. 5.5, 5.6).

Таблиця 5.5

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень TNF- α (пг/мл) у сироватці крові щурів при термічному опіку ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень TNF- α у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	26,31 \pm 5,19			
КП	104,49 \pm 13,91 [*]	98,13 \pm 11,58 [*]	79,62 \pm 8,47 [*]	44,93 \pm 5,11 [*]
КП+хлоргексидин	60,07 \pm 2,58 ^{*#}	47,24 \pm 2,63 ^{*#}	38,02 \pm 1,75 ^{*#}	30,49 \pm 2,23 ^{*#}
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	47,58 \pm 2,54 ^{*#&}	39,21 \pm 2,23 ^{*#&}	28,73 \pm 2,31 ^{*#&}	22,45 \pm 0,69 ^{*#&}

Примітки:

1. ^{*} – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. [#] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. [&] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

При застосуванні хлоргексидину рівень TNF- α у крові щурів та вогнищі ураження майже нормалізувався на 28 добу із попереднім зниженням його на 42,5 %, 52 %, 52 % і 32 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно. У вогнищі ураження динаміка зниження була 27,8 %, 20,7 %, 11,0 % і 25,3 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.5, 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень TNF- α (пг/г білка) у вогнищі ураження в щурів при термічному опіку ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень TNF- α у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	4,32 \pm 0,45			
КП	20,32 \pm 2,08 [*]	12,34 \pm 1,38 [*]	8,69 \pm 0,49 [*]	7,74 \pm 0,27 [*]
КП+хлоргексидин	14,67 \pm 1,32 ^{*#}	9,78 \pm 0,32 ^{*#}	7,73 \pm 0,46 ^{*#}	5,78 \pm 0,62 ^{*#}
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	8,46 \pm 0,83 ^{*#&}	7,21 \pm 0,41 ^{*#&}	5,32 \pm 0,18 ^{*#&}	4,45 \pm 0,32 ^{*#&}

Примітки:

1. ^{*} – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. [#] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. [&] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Порівняно з хлоргексидином композит НДК+ПГМГ-ГХ виявився більш ефективним, проте нормалізація TNF- α у сироватці крові та вогнищі не відбувалася раніше 28 доби із попереднім зниженням у крові: на 7 добу – на 20,7 %, 14 добу – 17 %, 21 добу – 24 %, на 28 добу – на 26 % відповідно (табл. 5.5, 5.6). У вогнищі ураження динаміка зниження: на 7 добу – на 42 %, 14 добу – 26 %, 21 добу – 31 %, 28 добу – 23 % відповідно.

Також нами було доведено, що рівень протизапального IL-10 різко знижується у сироватці крові та шкірі після утворення термічного опіку, з його подальшим підвищенням. Проте навіть на 28 добу спостереження не відбувалося його нормалізації.

Рівень IL-10 у крові щурів групи контрольної патології був достовірно нижчим за норму на 52,6 %, 37 %, 23 % і 15 % на 7, 14, 21 і 28 добу спостереження (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень IL-10 (пг/мл) у сироватці крові щурів при термічному опіку ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень IL-10 у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	53,42 \pm 2,34			
КП	25,32 \pm 1,85*	33,41 \pm 4,33*	41,23 \pm 3,18*	45,42 \pm 2,73*
КП+хлоргексидин	24,61 \pm 2,82*	34,67 \pm 2,72 [#]	45,21 \pm 3,46 [#]	52,01 \pm 2,41 [#]
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	33,41 \pm 1,64 ^{*#&}	38,83 \pm 1,89 ^{*#&}	47,21 \pm 1,62 ^{*#&}	52,00 \pm 2,43 ^{*#&}

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Аналогічна динаміка зміни цього показника спостерігалася і у шкірі з вогнища ураження. Рівень IL-10 був нижчим за показники інтактних тварин на 50 %, 27 %, 15,5 % і 9,8 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.8).

При застосуванні хлоргексидину на 7 добу спостереження рівень IL-10 у крові був нижчим на 53 % за показник інтактного контролю, у шкірі – на 44 %.

До 14 доби рівень IL-10 у крові та шкірі підвищився і був на 3,7 % і 6,5 %

відповідно вищим за показники у тварин, які не отримували лікування. До 21 доби рівень ІЛ-10 майже нормалізувався, а у крові був всього на 9,6 % нижчим за його рівень у крові інтактних тварин, що свідчить про виражену місцеву дію досліджуваного композиту. Рівень ІЛ-10 нормалізувався у крові та вогнищі ураження на 28 добу (табл. 5.7, 5.8).

Таблиця 5.8

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень ІЛ-10 (пг/г білка) у вогнищі ураження в щурів при термічному опіку (M±m, n = 6)

Групи	Рівень ІЛ-10 у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	22,41±1,85			
КП	11,12±1,34*	16,38±1,21*	18,92±2,47*	20,21±1,96*
КП+хлоргексидин	12,64±1,44*#	17,45±1,32*#	19,14±3,09*	21,98±3,45*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	15,87±1,54*#	18,46±1,32*#&	20,78±2,32*#&	22,54±1,78*#&

Примітки:

- * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
- # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
- & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ більш виражено підвищував рівень ІЛ-10 у крові та шкірі щурів із термічним опіком (табл. 5.7, 5.8). При застосуванні композиту рівень ІЛ-10 у крові був вищим за показники у тварин, що отримували лікування хлоргексидином, на 36 %, 12 % і 4 % на 7, 14 та 21 добу відповідно. До 28 доби відбувалася нормалізація рівня ІЛ-10.

Рівень ІЛ-10 у шкірі при застосуванні збільшувався вже на 7 добу на 25,5 % порівняно з показниками щурів, які отримували лікування хлоргексидином.

Виходячи з цього, можна стверджувати, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має виражений протизапальний ефект, про що свідчить зниження рівня ІЛ-1 β і TNF- α та збільшення ІЛ-10 у крові та шкірі протягом всього дослідження.

5.1.3 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень метаболітів оксиду азоту в сироватці крові й вогнищі ушкодження

Оскільки підвищення рівня прозапальних цитокінів призводить до збільшення рівня оксиду азоту і, відповідно, його метаболітів, нами було досліджено вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на динаміку рівня метаболітів оксиду азоту.

Таблиця 5.9

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень загальних метаболітів NO (мкмоль/л) у сироватці крові щурів при термічному опіку (M±m, n = 6)

Групи	Рівень загальних метаболітів NO у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	31,71±1,28			
КП	67,54±5,32*	56,31±4,24*	44,5±3,21*	37,11±3,45*
КП+хлоргексидин	51,34±2,34*#	39,64±3,19*#	36,76±1,56*#	33,26±2,43*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	41,76±2,31*#&	35,78±2,54*#&	33,12±1,56*#&	31,58±1,23*#

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Протягом усього часу спостереження рівень загальних метаболітів оксиду азоту був значно підвищеним порівняно з показниками тварин інтактного контролю. Рівень сумарних метаболітів NO у крові щурів, що не отримували лікування, був вищим за норму у 2,1 разу, на 77 %, 40 % і 17 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно. У шкірі вогнища ураження – у 3 рази, 2,5 рази, 89 % і 50 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.9, 5.10).

Таблиця 5.10

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень загальних метаболітів NO (мкмоль/г) у вогнищі ураження в щурів при термічному опіку ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень загальних метаболітів NO у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	19,11±1,23			
КП	58,29±5,91 [*]	48,43±3,12 [*]	36,11±2,45 [*]	28,65±2,23 [*]
КП+хлоргексидин	48,34±3,64 ^{*#}	36,23±2,23 ^{*#}	29,11±1,34 ^{*#}	24,12±1,34 [#]
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	42,98±1,23 ^{*#&}	31,89±1,11 ^{*#&}	26,73±2,59 ^{*#&}	20,05±1,27 ^{#&}

Примітки:

1. ^{*} – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. [#] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. [&] – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

Рівень нітрит-аніонів також був підвищеним порівняно з тваринами інтактного контролю у сироватці крові у 5,6 разу, у 4,6 разу, 2,6 разу та 63 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно. Аналогічна динаміка спостерігалася і щодо показника нітрит-аніонів у шкірі вогнища ураження, порівняно з групою інтактних тварин – збільшення рівня у 3,9 разу, 3,0 рази, 2,73 і 2,03 разу на на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.9, 5.10).

Рівень нітратів у крові тварин з термічним опіком, які не отримували лікування, був вищим у 1,8 разу вже на 7 добу, та на 56,8 %, 33 % і 9,5 % на 14, 21 і 28 добу відповідно, а у шкірі – у 2,7 разу на 7 добу, та на 84,5 %, 66,5 % і 33 % на 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.13, 5.14).

Із вищезазначеного можна зробити висновок, що при термічному опіку спостерігається підвищення рівня метаболітів оксиду азоту і в сироватці крові, і у шкірі з вогнища ураження, що не нормалізується до кінця періоду спостереження.

У тварин, які отримували лікування хлоргексидином, спостерігалася зниження рівня метаболітів оксиду азоту. У крові щурів цієї групи рівень даного показника знижувався на 24 %, 29,6 %, 17,4 % і 10,4 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно, а у шкірі на 17 %, 25,2 %, 19,4 %, і 15,8 % на 7, 14, 21 і 28 добу

відповідно (табл. 5.9, 5.10).

Таблиця 5.11

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень нітрит-аніонів (мкмоль/л) у сироватці крові щурів при термічному опіку

($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень загальних нітрит-аніонів у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	3,26±1,21			
КП	18,34±2,30*	15,02±1,89*	8,45±1,31*	5,31±1,42*
КП+хлоргексидин	11,25±1,46*#	6,24±1,32*#	5,01±1,24*#	4,01±0,89*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	10,01±1,11*#&	6,02±1,02*#	4,25±1,34*#&	3,41±1,28*#&

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з хлоргексидином.

У тварин, які отримували лікування хлоргексидином, спостерігалось також зниження рівня нітрит-аніонів у сироватці крові порівняно з групою без лікування на 38,6 %, 58,5 %, 40,7 % 24,5 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно. Вплив хлоргексидину на рівень нітрит-аніонів у шкірі був більш вираженим, і показник зменшувався на 27,9 %, 29,3 %, 35,3 % і 38,3 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.11, 5.12).

Аналогічна динаміка спостерігалася і щодо рівня нітратів. Під час лікування хлоргексидином їх рівень у крові зменшувався на 25,1 %, 27,8 %, 17 % і 3,9 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно, у шкірі – на 18,5 %, 11 %, 18,8 %, 15,6 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.13, 5.14).

Виходячи з вищезазначеного, можна зробити висновок, що хлоргексидин сприяє зниженню рівня всіх метаболітів оксиду азоту, особливо у вогнищі ураження, проте не відновлює їх навіть до 28 доби експерименту.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ мав значно виражений вплив на рівень загальних метаболітів оксиду азоту, нормалізуючи їх уже за три тижні спостереження.

Таблиця 5.12

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень нітрит-аніонів (мкмоль/г) у вогнищі ураження у щурів (M±m, n = 6)

Групи	Рівень загальних нітрит-аніонів у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	4,43±1,19			
КП	17,32±1,89*	13,23±1,45*	12,08±1,32*	9,03±1,11*
КП+хлоргексидин	12,49±1,21*#	9,36±0,09*#	7,81±0,42*#	5,57±0,27*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	9,73±0,48*#&	8,06±1,12*#&	6,11±0,34*#&	4,96±0,45*#&

Примітки:

1. * – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. & – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ сприяло зниженню рівня метаболітів оксиду азоту у крові на 18,6 %, 9,7 %, 9,9 % на 7, 14 і 21 добу відповідно, на 28 добу значення даного показника нормалізувалися (табл. 5.9). Аналогічна тенденція спостерігалася і щодо зниження рівня метаболітів оксиду азоту у шкірі вогнища ураження на 11 %, 12 %, 8 % і 16,9 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.10).

Порівняно з хлоргексидином композит НДК+ПГМГ-ГХ більш ефективно знижував концентрацію нітрит-аніонів у крові на 11 % на 7 добу, на 15 % – 21 добу та 15 % – 28 добу (табл. 5.11).

Таблиця 5.13

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень нітратів (мкмоль/л) у сироватці крові (M±m, n = 6)

Групи	Рівень нітратів у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	27,78±1,63			
КП	50,04±3,13*	43,56±3,11*	36,98±1,13*	30,42±1,45*
КП+хлоргексидин	37,46±1,79*#	31,46±1,34*#	30,67±0,42*#	29,22±1,13*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	33,38±2,41*#&	29,03±2,29*#&	28,37±0,76*#&	27,86±1,67*#

Примітки:

1. * – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. & – p < 0,05 – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

Аналогічна динаміка зниження рівня нітрит-аніонів спостерігалася і у шкірі щурів порівняно даним показником у щурів, які отримували лікування хлоргексидином. Уже на 7 добу рівень нітрит-аніонів зменшувався на 22 %, на 13,9 %, 21,7 %, 11 % на 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.11, 5.12).

Композит НДК+ПГМГ-ГХ нормалізував рівень нітратів у шкірі осередку ураження вже на 21 добу, а у крові на 21, із попереднім зниженням на 11 %, 7,7 % і 7,5 % на 7, 14, 21 добу відповідно (див. табл. 5.13).

Таблиця 5.14

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на рівень нітратів (мкмоль/г) у вогнищі ураження ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень нітратів у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	15,04±2,23			
КП	40,78±2,75*	27,75±2,5*	25,04±1,75*	20,01±1,46*
КП+хлоргексидин	33,23±1,13*#	24,67±1,13*#	20,32±0,11*#	16,89±0,78*#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	30,75±2,34*#&	21,45±2,46*#&	17,23±1,27*#&	15,68±1,15*#&

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

Виходячи з вищезазначеного, можна зробити висновок, що порівняно з хлоргексидином як антисептичним засобом, який застосовується для промивання опіків, композит НДК+ПГМГ-ГХ володіє окрім антимікробних ще й протизапальними властивостями, про що свідчить зниження рівня загальних метаболітів азоту, нітрит-аніонів та нітратів як у крові, так і шкірі.

5.1.4 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему

з полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на стан окислювально-антиоксидантного гомеостазу у вогнищі ушкодження

Термічний опік характеризується вираженим порушенням окислювально-антиоксидантного гомеостазу. Збільшення рівня метаболітів оксиду азоту, особливо нітрит-аніонів, активує процеси перекисного окиснення ліпідів та інші

механізми тканинного ушкодження [139-140]. Надлишкова активація реакцій вільнорадикального окиснення призводить до утворення вільнорадикальних форм кисню, інтенсифікації процесів ПОЛ – виснаженню АОС [141–142].

Тому нами було досліджено вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ на стан окиснювально-антиоксидантного гомеостазу у вогнищі ураження.

Згідно з нашими дослідженнями у щурів із термічним опіком вільнорадикальні процеси у вогнищі ураження активувалися протягом усього періоду спостереження (табл. 5.15, 5.16). Нами визначалися два найбільш показові показники – рівень дієнових кон'югатів (ДК) та активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП).

Таблиця 5.15

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на утримання ДК (мкмоль/г) у вогнищі ураження ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень ДК у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	14,12±2,18			
КП	25,24±1,11*	22,78±1,45*	20,12±1,86*	19,21±1,13*
КП+хлоргексидин	20,21±1,46*#	18,43±2,11*#	17,29±1,12*#	15,97±1,42#
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	17,46±2,34*#&	16,02±2,13*#&	15,06±1,36*#&	14,18±1,13*#&

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

Вже на 7 добу спостереження рівень дієнових кон'югатів у вогнищі ураження перевищував цей показник у щурів інтактного контролю на 78 %, на 14 добу – на 61 %, на 21 і 28 добу – на 42,5 % і 36 % відповідно. Аналогічна динаміка характерна і для рівня активних продуктів тіобарбітурової кислоти – більше показників інтактних тварин на 66 %, 79 %, 42 % і 20,4 % на 7, 14 добу, 21 і 28 добу відповідно.

Хлоргексидин сприяв нормалізації рівня ДК до 28 доби, а ТБК-АП – до 21 доби (табл. 5.15, 5.16), що свідчить про зменшення запальних процесів у вогнищі ураження.

Таблиця 5.16

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на вміст ТБК-АП (нмоль/г) у вогнищі ураження ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи	Рівень ТБК-АП у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	5,01±0,35			
КП	8,32±0,45*	8,98±0,12*	7,11±0,56*	6,03±0,71*
КП+хлоргексидин	7,23±0,21*#	6,89±0,32*#	6,20±0,06#	5,94±0,43
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	6,37±0,34*#	5,96±0,41*#&	5,64±0,23#	5,08±0,13#

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. # – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. & – $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

У тварин, які отримували лікування хлоргексидином, рівень ДК порівняно з тваринами інтактного контролю знижувався на 20 %, 19 %, 14 % і 17 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно. Рівень ТБК-АП знижувався на 13,1 %, 23,3 % і 12,8 % на 7, 14 і 21 добу відповідно, на 28 добу рівень ТБК-АП нормалізувався.

При застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ рівень ДК і ТБК-АП у шкірі нормалізувався значно швидше – уже на 14 добу.

У тварин, що отримували лікування композитом, активність ДК знижувалася на 13,6 %, 13 %, 12,9 % та 11,2 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно порівняно з групою, що отримувала лікування хлоргексидином.

Аналогічна динаміка спостерігалася і щодо активності ТБК-АП, яка знижувалася на 11,9 %, 13,5 %, 9 % і 14,5 % на 7, 14, 21 і 28 добу відповідно порівняно з групою, що отримувала лікування хлоргексидином (табл. 5.15, 5.16).

Також нами було визначено, що активність антиоксидантних ферментів, таких як каталаза (Кат) і супероксидисмутаза (СОД), у тварин, що не отримували лікування термічного опіку, є нижчою порівняно з тваринами інтактного контролю.

Активність Кат знижувалася порівняно з тваринами інтактного контролю вже на 64 % на 7 добу, на 50 %, 26,5 % і 14 % – на 14, 21 і 28 добу відповідно. Активність СОД також знижувалася майже на третину – 27,2 % на 7 добу, і на

24,3 %, 14,7 % і 17,1 % на 14, 21 і 28 добу відповідно (табл. 5.17, 5.18).

Таблиця 5.17

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на активність Кат (МО) у вогнищі ураження (M±m, n = 6)

Групи	Активність Кат у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	4,03±0,12			
КП	1,45±0,37*	2,02±0,32*	2,96±0,29*	3,47±0,45*
КП+хлоргексидин	2,11±0,13*	2,35±0,15*	3,14±0,22 [#]	3,95±0,34 [#]
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	2,38±0,23*	3,63±0,31 ^{#&}	3,92±0,14 [#]	4,03±0,03 [#]

Примітки:

1. * $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. [#] $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з контролем;
3. [&] $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

У тварин, що отримували лікування опіку хлоргексидином, активність Кат збільшувалася на 45,5 %, 16,3 %, 6 % і 13,8 % на 7, 14, 21 та 28 добу відповідно порівняно з тваринами без лікування. На 28 добу активність Кат майже нормалізувалася.

Активність СОД під впливом хлоргексидину збільшувалася більш виражено і складала 12,1 %, 14,7 % і 22 % на 14, 21 та 28 добу відповідно порівняно з тваринами, які не отримували лікування (табл. 5.18).

Таблиця 5.18

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на активність СОД (ум. од.) у вогнищі ураження (M±m, n = 6)

Групи	Активність СОД у різні терміни спостереження після нанесення опіку			
	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Інтактні	4,56±0,63			
КП	3,32±0,12*	3,45±0,17*	3,61±0,34*	3,78±0,26*
КП+хлоргексидин	3,42±0,19*	3,87±0,33 [#]	4,14±0,48 [#]	4,61±0,43 [#]
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	3,79±0,31 ^{#&}	4,31±0,68 ^{#&}	4,51±0,21 ^{#&}	4,58±0,3 [#]

Примітки:

1. * $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з інтактними;
2. [#] $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП;
3. [&] $p < 0,05$ – відмінності достовірні порівняно з КП+хлоргексидин.

Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ сприяло більш вираженій нормалізації активності Кат і СОД у шкірі порівняно з тваринами, які отримували лікування хлоргексидином. Активність Кат відновлювалася на 21 добу, а СОД – на 7 добу (табл. 5.18).

Із вищезазначеного можна зробити висновок, що композит НДК+ПГМГ-ГХ чинить виражений вплив на нормалізацію окиснювально-антиоксидантного гомеостазу, що проявляється у нормалізації рівня ДК і ТБК-АП уже на 14 добу, відновленням активності Кат і СОД на 21 і 7 добу спостереження порівняно з хлоргексидином.

5.1.5 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на морфологічні зміни шкіри при термічному ушкодженні

Оскільки композит НДК+ПГМГ-ГХ мав позитивний вплив на загоєння опікової рани, скорочуючи час регенерації та площі ураження, для підтвердження планіметричних та візуальних спостережень було проведено морфологічне дослідження.

При мікроскопічному дослідженні в шкірі інтактних щурів виявляються такі шари: епідерміс, дерма та підшкірна клітковина (гіподерма) (рис. 5.4). Епідерміс складається з багатошарового плоского епітелію, диференційованого на базальний (паростковий), шипуватий і роговий шари. Розпластані форми базальні клітини містять овальне базофільне ядро, у частині клітин наявне гіперхромне ядро, спостерігаються нечисленні мітози. У ростковому шарі серед кератиноцитів візуалізуються поодинокі клітини Лангерганса.

Дерма чітко розділяється на два шари – сосочковий і сітчастий. Сосочки дерми сплюснені, широкі, сформовані з пухкої волокнистої сполучної тканини. У сполучній тканині при забарвленні за Ван-Гізеном визначаються тонкі пучки фуксинофільних колагенових волокон, тонкі еластичні волокна, нечисленні фібробласти, макрофаги, тканинні базофіли, лімфоцити. Ендотелій судин дещо сплюснений, зі слабо гізофільною цитоплазмою та дещо витягнутим помірно

базофільним ядром, адвентиціальні клітини витягнуті з помірно базофільним сплющеним ядром.

У сітчастому шарі дерми переважають інтенсивно фуксинофільні пучки колагенових волокон, розташованих паралельно поверхні шкіри та під кутом до неї. Визначаються тонкі еластичні волокна, зустрічаються нечисленні фібробласти та фіброцити. Придатки шкіри представлені численними волосяними фолікулами та сальними залозами. Навколо придатків шкіри зустрічаються дрібновогнищеві лімфогістоцитарні інфільтрати (рис. 5.4).

Тонкі помірно фуксинофільні пучки колагенових волокон із сітчастого шару дерми продовжуються в гіподерму, де міститься невелика кількість жирової тканини. Жирові клітини з оптично порожньою цитоплазмою та дрібним базофільним ядром. Спостерігаються нервові стовбури зі слабо базофільною цитоплазмою та округлими або дещо витягнутими помірно базофільними ядрами.

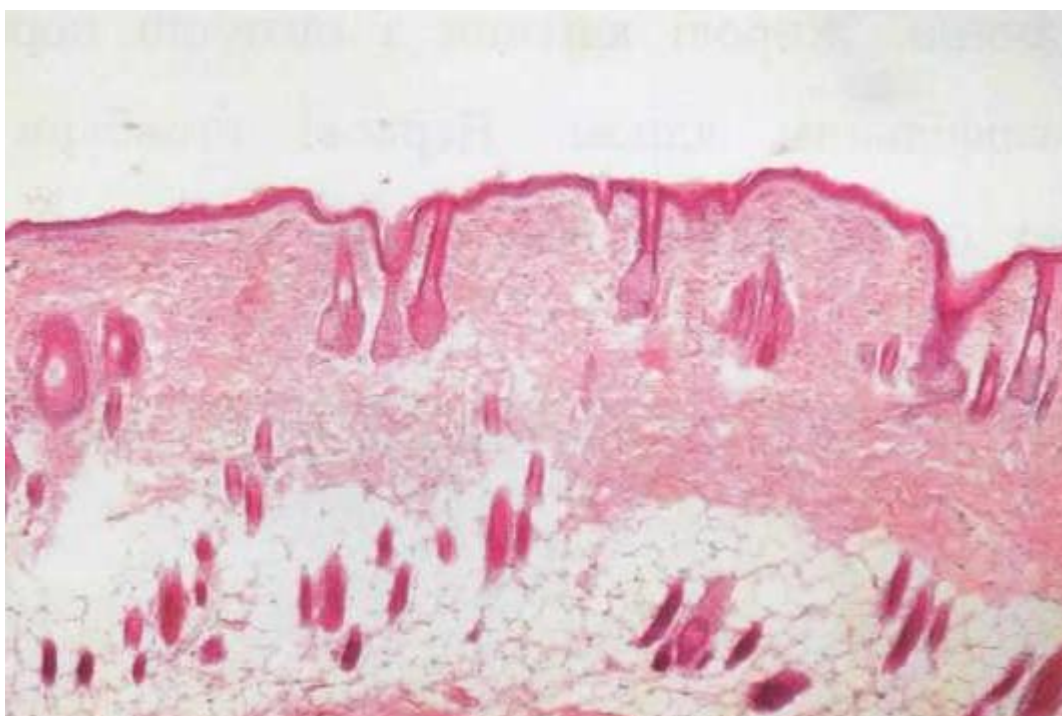


Рис. 5.4 Нормальна гістологічна будова шкіри щура. Група інтактних тварин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 40$

На 28 добу експерименту у групі без лікування мікроскопічно спостерігається практично повна епідермізація зони ушкодження. У новому

епідермісі спостерігаються ділянки гіперплазії. Клітини базального та шипуватого шарів укрупнені, спостерігається 6–7 рядів епідермоцитів, до 11–13 в осередках акантозу. Базальні кератиноцити циліндричної форми зі світлою цитоплазмою та гіперхромним ядром, у частини з них визначаються фігури мітозу, в осередках акантозу їх кількість збільшується. У епідермоцитах шипуватого шару наявне велике округле помірно базофільне ядро та світла цитоплазма. Поодинокі клітини шипуватого шару знаходяться у стані вакуольної дистрофії, мають пікнотичне ядро та оптично порожню цитоплазму. Роговий шар пухкий, об'ємний, із поширеним паракератозом.

Широкий шар дозріваючої сполучної тканини спостерігається під новим епідермісом. Дозріваюча сполучна тканина представлена у вигляді пучків фуксинофільних колагенових волокон, розташованих паралельно поверхні шкіри на периферії, ближче до центру колагенові волокна стоншуються та розташовані без певної орієнтації. У сполучній тканині зустрічаються фібробласти, фіброцити, нечисленні макрофаги, а також клітини лімфоїдного ряду. Судини різного діаметру, нерівномірно розподілені, ближче до периферії їх кількість зменшується. Під епідермою спостерігаються ділянки грануляційної тканини, у якій розташовані тонкостінні судини. Придатки шкіри у зоні відновленої тканини не спостерігаються. Кількість судин зменшується ближче до периферії, судини різного діаметра, у зоні відновленої тканини розташовані нерівномірно. Ендотелій сплющений, ядра витягнуті, помірно базофільні, цитоплазма слабо базофільна.

Шкіра, прилегла до зони відновленої тканини, нормальної гістологічної будови (рис. 5.5).

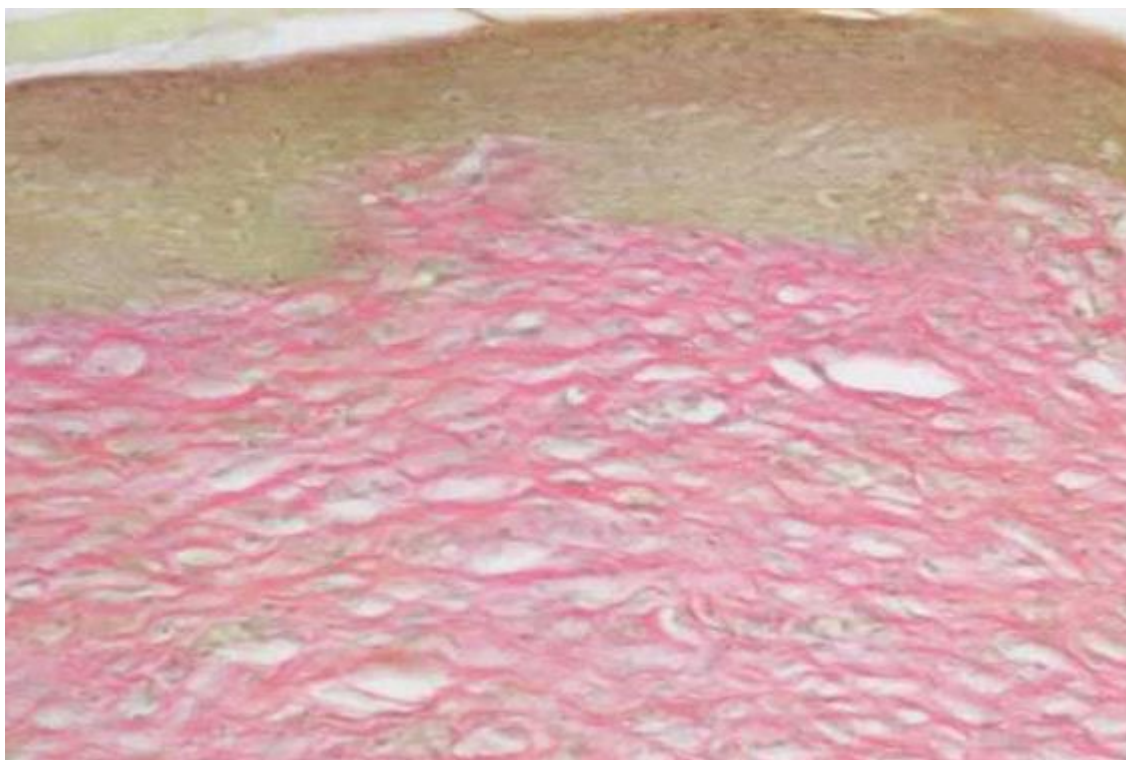


Рис. 5.5 Зона регенерата. Група КП, 28 доба. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізеном, $\times 400$

При застосуванні хлоргексидину на 28 добу зона відновленої тканини була повністю вкрита епітелієм. У новому епідермісі чітко розрізняються його шари, у 60 % спостережень спостерігаються вогнища гіперплазії. Шипуватий шар складається з 3–4 клітин, в осередках гіперплазії їх кількість збільшується до 5–6. Клітини великого розміру, цитоплазма слабо базofilьна, ядро округлої форми, помірно базofilьне.

У зоні відновленої тканини спостерігаються в основному пучки колагенових волокон (рис. 5.6). У судинних стінках розрізняються шари. Ендотелій сплющений, помірно базofilьні ядра, витягнутої форми, цитоплазма світла. Серед клітин переважають фібробласти, ближче до периферії їх вміст зменшується і збільшується кількість фіброцитів. Волосяні фолікули та сальні залози у ділянці відновленої тканини не спостерігаються. Тканини, прилеглі до зони відновлених тканин, нормальної гістологічної будови.

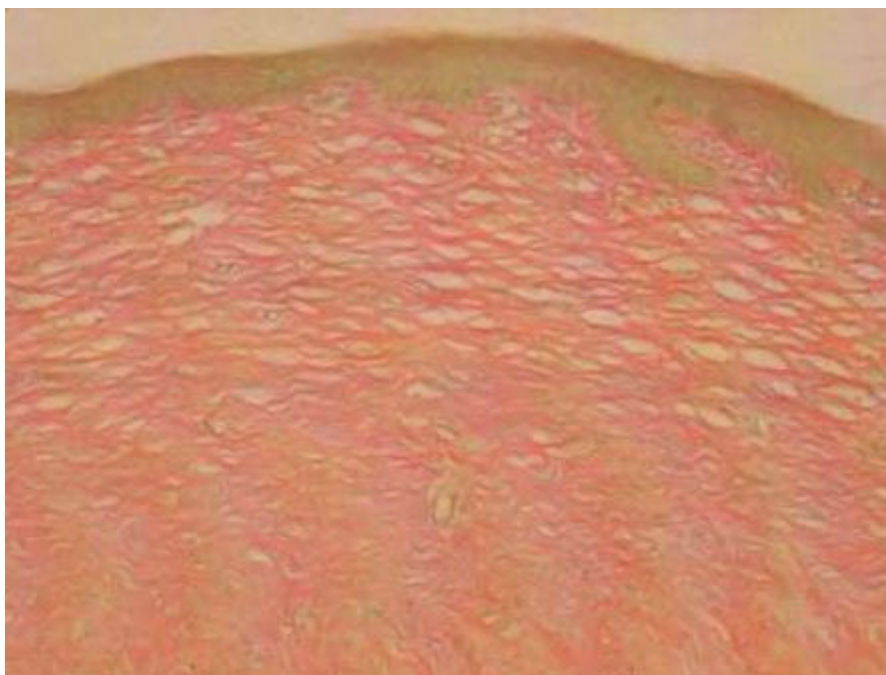


Рис. 5.6 Будова шкіри у місці термічного ураження у тварин, що отримували лікування хлоргексидином, 28 доба. Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, $\times 100$

При застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ на 28 добу вся зона термічного ураження повністю покрита епідермісом. Клітини шипуватого шару гіпертрофовані та гіперплазовані, розташовані у 3–4 ряди. Клітини базальних епідермоцитів з округлої форми помірно базофільним ядром та слабо базофільною цитоплазмою. Еозинофільні пучки колагенових волокон утворюють дрібнопористу мережу у верхніх відділах відновленої тканини. Також спостерігаються порожні судини, фібробласти та фіброцити (рис. 5.7). У нижніх відділах зони відновленої тканини пучки колагенових волокон стають товщими і зустрічаються частіше, зростає кількість фіброцитів, а кількість судин зменшується. У зоні відновленої тканини придатків шкіри не спостерігається. Тканини, прилеглі до зони відновленої тканини, нормальної гістологічної будови.



Рис. 5.7 Будова шкіри у місці термічного ураження у тварин, що отримували лікування композитом НДК+ППМГ-ГХ. 28 доба. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізоном, $\times 400$

Із вищезазначеного витікає, що на 28 добу експерименту в усіх досліджуваних групах опікова рана повністю вкривалася новоствореним епітелієм, місцями спостерігалися вогнища його дистрофії та гіперплазії. Проте, у групі тварин, що отримували лікування композитом НДК+ППМГ-ГХ, подібні деструктивно-проліферативні зміни не спостерігалися.

Отже, застосування досліджуваного композиту сприяло скороченню періоду запалення, зменшенню його інтенсивності, що супроводжувалося збільшенням швидкості епітелізації опікової рани та скороченням часу загоєння.

5.2 Вплив композиту нанодисперсного кремнезему

з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом за умов нашкірного нанесення у щурів з абсцесами

Інфекції шкіри і м'яких тканин є серйозною проблемою охорони здоров'я у зв'язку з їх провідною роллю у структурі позалікарняних і нозокоміальних інфекційних захворювань у пацієнтів різного віку, пов'язаними з ними ускладненнями, зростанням резистентності збудників до препаратів для

лікування інфекцій шкіри і м'яких тканин, і, як наслідок, зростанням вартості терапії [143].

Лікування абсцесів, як правило, є комплексним, часто включає першочергову хірургічну обробку як основний метод лікування і супутню терапію, спрямовану на етіопатогенетичні механізми розвитку захворювання. Спільними принципами лікування інфікованих ран є:

- хірургічна обробка та етапні некректомії (за потреби);
- туалет рани та адекватне дренивання;
- застосування оптимальних антисептиків або антибіотиків для боротьби з інфекцією;
- транспорт у рану необхідних речовин за допомогою перев'язувального матеріалу або лікарських засобів для місцевого застосування відповідно до фаз ранового процесу [144].

Тому нашим завданням було визначити ефективність застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ при лікуванні гнійного абсцесу, викликаного *Pseudomonas aeruginosa*.

Через 24 години після підшкірного внесення культури в місці ін'єкції спостерігалися припухлість, місцеве підвищення температури та болісні відчуття при дотику, про що свідчила неспокійна поведінка тварин. На 5 добу абсцес розкрили і виявили наповнену гнійним вмістом фіброзну капсулу.

Після розкриття абсцесу уражена ділянка була очищена від гнійного вмісту і промита хлоргексидином або композитом, НДК+ПГМГ-ГХ. На 2 добу лікування у тварин, що отримували лікування композитом гнійний процес було локалізовано, у тварин, які отримували лікування хлоргексидином, – на 3 добу. На 5 добу уражені ділянки були без гною. У тварин, що отримували лікування композитом, навіть спостерігалися ознаки початку загоєння – зменшення набряку порівняно з групою хлоргексидину та початок утворення струпа.

Оскільки абсцес здатний перейти у генералізовану інфекцію, що спричиняє погіршення стану тварин та зниження їх маси, нами була досліджена

динаміка маси тіла щурів, що отримували лікування композитом НДК+ПГМГ-ГХ (табл. 5.19).

Таблиця 5.19

Динаміка маси тіла щурів при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ, (M±m)

Групи	Маса тіла у різні терміни спостереження після моделювання абсцесу			
	0 доба	5 доба	9 доба	10 доба
Інтактні	220,4±2,3	218,0±1,6	227,0±2,7*	233,5±0,61*
КП	218,0±3,7	213,0±3,1*	208,2±5,6*	202,4±4,1*
КП+хлоргексидин	221,8±8,3	212,6±3,8*	217,00±6,0*	222,3±5,6
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	225,2±5,5	214,2±4,5*	220,0±4,2	227,3±6,3

Примітка: * – середнє значення дослідної групи статистично значущо відрізняється від контрольного ($p < 0,05$).

Виходячи з наведених даних, як хлоргексидин, так і композит НДК+ПГМГ-ГХ мали позитивний вплив на динаміку маси тіла щурів при лікуванні гнійного абсцесу.

Щоб дізнатися про розвиток генералізованої інфекції, нами після виведення тварин з експерименту на 12 добу було проведено дослідження крові на стерильність (табл. 5.20).

Таблиця 5.20

Мікробіологічний аналіз крові на стерильність

Групи	Середня кількість колоній, що висівалися у пробах матеріалу, (КУО/см ³)
Інтактні	0*
КП	$3,4 \times 10^4$
КП+хлоргексидин	$1,1 \times 10^4$
КП+композит НДК+ПГМГ-ГХ	0*

Примітка: * – мікроорганізмів з проб не висівалося.

За результатами дослідження можна зробити висновок, що при лікуванні підшкірного абсцесу композитом НДК+ПГМГ-ГХ з крові досліджуваних тварин мікроорганізми не висівалися, що свідчить про високу антимікробну активність композиту.

Гематологічні дослідження крові. При застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ у лікуванні абсцесу були відмічені статистично значущі зміни показників відсоткового вмісту лімфоцитів, моноцитів та базофілів. У групі інфікованих тварин, які не отримували лікування, спостерігалось значне підвищення відсоткового вмісту моноцитів у 4,12 разу, зниження відсотка лімфоцитів у 1,56 разу, а базофілів у 1,6 разу, що свідчить про розвиток інфекційного запального процесу. При застосуванні хлоргексидину та композиту НДК+ПГМГ-ГХ відсоток моноцитів знижувався у 2,8 та 3,4 разу відповідно порівняно з групою контролю без лікування, і цей показник статистично не відрізнявся від показників інтактного контролю. Також у групах хлоргексидину і композиту НДК+ПГМГ-ГХ відмітили значне підвищення відсотка ліфоцитів – у 1,2 та 1,45 разу відповідно порівняно з контролем без лікування. Рівень базофілів також підвищувався – у групі хлоргексидину на 16 %, у групі композиту НДК+ПГМГ-ГХ – у 1,4 разу. Рівень нейтрофілів знизився у 1,4 рази у групі хлоргексидину, і 1,78 разу у групі, яка отримувала лікування композитом НДК+ПГМГ-ГХ (табл. 5.21).

Таблиця 5.21

Вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ та хлоргексидину на гематологічні показники щурів (M±m)

Групи тварин	Показник			
	Лімфоцити %	Моноцити %	Базофіли %	Нейтрофіли %
Інтактні	76,32±5,49	5,01±0,73	3,48±0,26	14,26±0,89
КП	52,63±1,23	20,67±0,76	2,13±0,11	27,1±0,91
Абсцес+хлоргексидин	65,51±2,21*	10,34±0,42*	2,47±0,17*	19,17±0,87
Абсцес+композит НДК+ПГМГ-ГХ	76,58±1,97*	6,07±0,25*	3,01±0,19*	15,23±1,94

Примітка. * – середнє значення дослідної групи статистично значущо відрізняється від контролю без лікування ($p < 0,05$).

Дані результати свідчать про високу протизапальну дію композиту НДК+ПГМГ-ГХ.

Також для визначення процесу загоєння проводилося морфологічне дослідження. У тварин із нелікованим абсцесом спостерігалися ознаки активного

запального процесу, а також скупчення лейкоцитів у прилеглих до ділянки абсцесу зон (рис. 5.8).

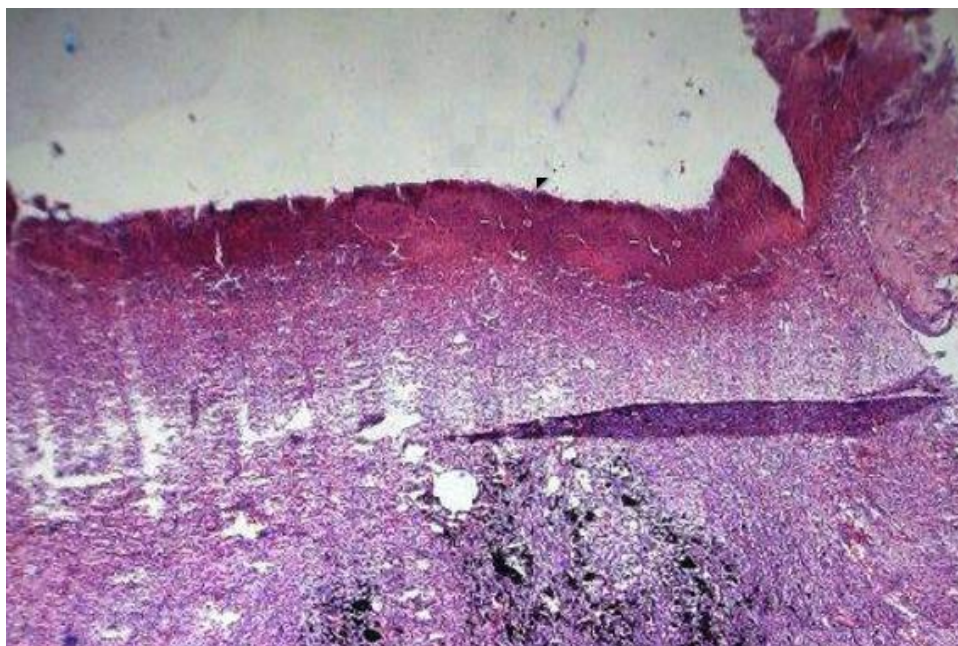


Рис. 5.8 Гнійно-септичні утворення у тварин з розкритим нелікованим абсцесом. Забарвлення: гематоксилін-еозин, збільшення $\times 200$

Спостерігалось повнокрів'я прилеглих до капсули абсцесу капілярів, у порожнину абсцесу з них проходили лейкоцити (рис. 5.9).

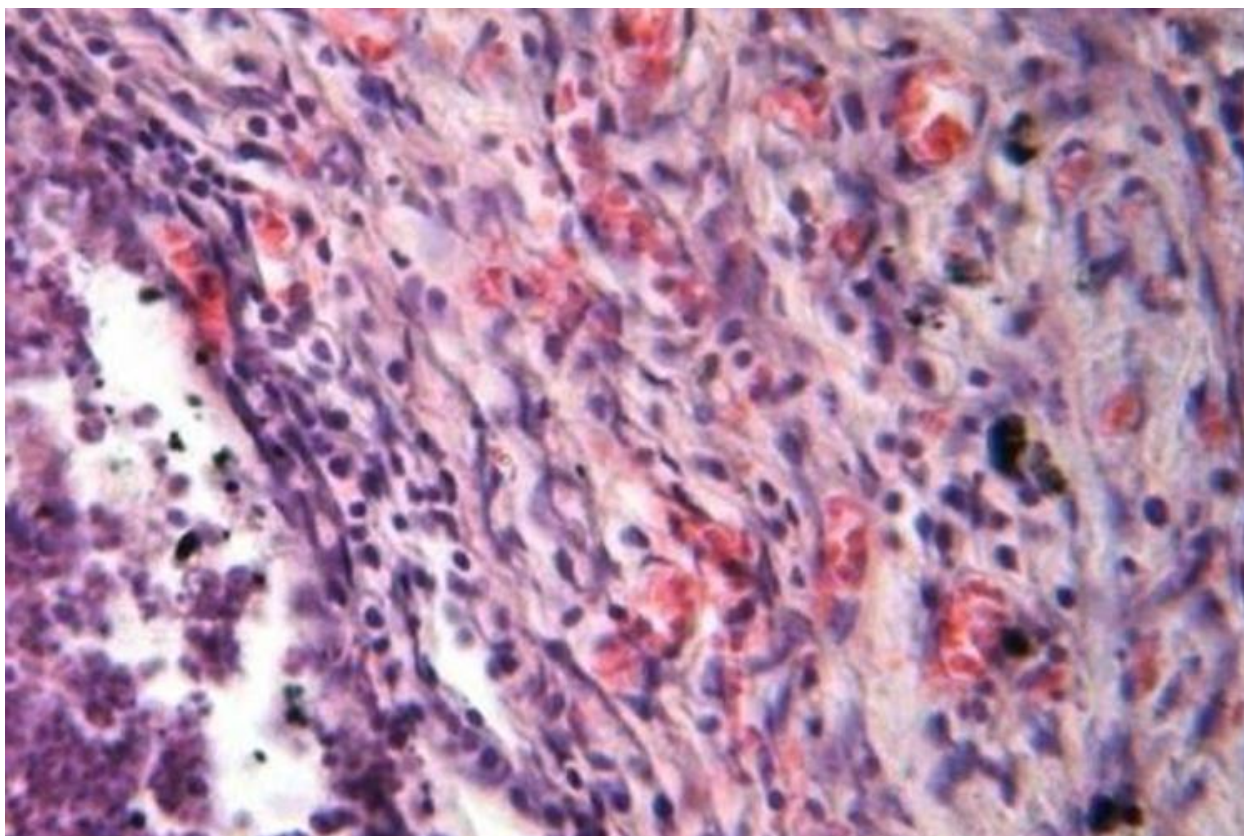


Рис. 5.9 Мікрофотографія капсули абсцесу. Забарвлення: гематоксилін-еозин, збільшення $\times 200$

Після промивання порожнини абсцесу композитом НДК+ПГМГ-ГХ протягом 6 діб зона некрозу значно зменшувалась. У сполучній тканині переважно спостерігалися фібробласти та макрофаги, у незначній кількості лейкоцити. Це може свідчити про відсутність бактеріальних агентів, які викликають міграцію лейкоцитів, що також свідчить про високу антимікробну активність композиту.

У зоні абсцесу спостерігалися тканинні базофіли нормальної будови, що свідчить про послаблення запальних процесів. У макрофагах знаходилася значна кількість чужорідних елементів, осередки зруйнованих лейкоцитів були невеликими, що свідчить про наявність у цих ділянках інфекції. Спостерігалися незначний набряк прилеглих ділянок, а також фібробласти та тканинні базофіли. У капсулі абсцесу добре розрізняються колагенові волокна. У макрофагах знаходилася велика маса часточок вугілля, на якому сорбувалися мікроорганізми. Змінювався клітинний склад у мікрооточенні абсцесу – здебільшого спостерігалися макрофаги і фібробласти, невелика кількість

лейкоцитів (рис. 5.10). Кровоносні судини проростали до центральних ділянок інфекційного ураження. Там також знаходили і фібробласти. Це свідчить про організацію уражених ділянок (рис. 5.10).

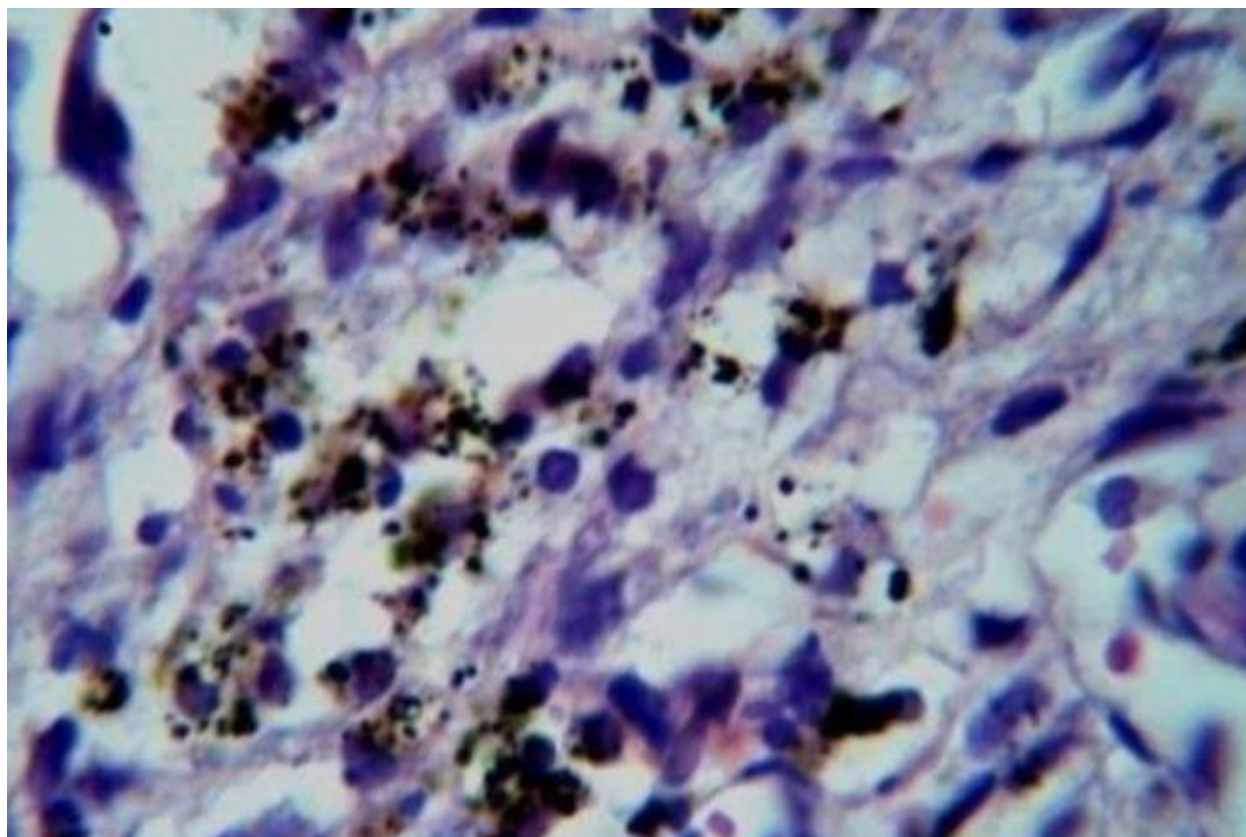


Рис. 5.10 Мікрофотографія сполучної тканини, прилеглої до зони абсцесу, після лікування композитом НДК+ПГМГ-ГХ. Забарвлення: гематоксилін-еозин, $\times 400$

Таким чином було доведено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має виражену протимікробну дію, що характеризується очищенням ураженої ділянки від гнійного вмісту вже на 2 добу лікування та регенеративну дію, що характеризується прискоренням загоєння рани.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Doroshenko A., Gorchakova N., Zaychenko G. Effect of a nanodispersion silica composite with polyhexamethylene guanidine hydrochloride on immunological indicators and indicators of oxidation and antioxidant homeostasis in

rats with thermal burn. *ScienceRise : Pharmaceutical Science*. 2019. № 4 (20). С. 45–52.

2. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О.. Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень метаболітів азоту у щурів з неінфікованим термічним опіком. *Фітотерапія : часопис*. 2019. № 3. С. 10–14.

3. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О.. Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на швидкість та морфологічні показники загоєння опікових ран. *Фітотерапія : часопис*. 2020. № 1. С. 8–11.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Проблема лікування ран, у тому числі гнійних, опіковий травматизм залишаються одним із пріоритетних завдань сучасної практичної медицини, зокрема хірургії, адже від ефективності лікування залежить результат перебігу ранового процесу та попередження виникнення септичних уражень.

Зростання кількості резистентних до антибіотиків штамів мікроорганізмів змушує дослідників звернути увагу на антисептичні лікарські засоби (хлоргексидин та ін.) і методи сорбційного лікування. Однак препарати для лікування ран повинні також мати репаративну, антиоксидантну та імуномодулюючу активності, зважаючи на те, що процес загоєння супроводжується морфологічними порушеннями, оксидативним стресом і змінами імунних процесів. Засоби, що володіють цими якостями, доцільно сполучати з кремнійвмісними сорбентами, адже наявність сорбентів на поверхні рани прискорює відторгнення гнійно-некротичних мас за рахунок процесів адсорбції, розриваючи патогенетичний ланцюг і дозволяючи лімфатичній системі виконувати свої головні функції – лімфодетоксикаційну, лімфодренажну та імунологічну.

Це сприяло створенню нового нанокompозиту з сорбційними і протимікробними властивостями, який може також мати регенеративну та протизапальну дію. До складу даного композиту було включено полігексаметиленгуанідину гідрохлорид, який має широкий спектр протимікробної активності, високу стабільність у водному середовищі, швидке проникнення крізь мембрани. Крім того, в експериментах на щурах ця сполука проявляла ранозагоювальні властивості. До складу композиту були включені наночастинки кремнезему, який володіє високою сорбційною та детоксикаційною активністю. Поєднання полігексаметиленгуанідину гідрохлориду з наночастинками кремнію мало підвищити протимікробну активність, знизити токсичність та забезпечити прояви інших видів активності,

необхідних для загоєння ран. Новий композит досліджували під умовною назвою НДК+ПГМГ-ГХ.

Для синтезу композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом використовували субстанцію високодисперсного кремнезему марки А-300 (ТОВ «Орисіл-Калуш», Україна) та 20 % розчин полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (ПФ «Терміт»). Композит було синтезовано від Інституті хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України.

На першому етапі дослідження встановили нешкідливість композиту НДК+ПГМГ-ГХ порівняно з його складовими при внутрішньошлунковому та нашкірному застосуванні. Перший шлях було обрано з метою дослідження можливих проявів системної дії при потраплянні композиту в організм порівняно з його складовими. Адже, за літературними даними, сам полігексаметиленгуанідину гідрохлорид може проявляти небажані ефекти. Нашими дослідженнями встановлено, що у дозі 400 мг/кг спостерігається загибель тварин, у той час як у дозі 400 мг/кг у складі композиту летальних випадків не спостерігалось.

За даними літератури та результатами власних досліджень, композит НДК+ПГМГ-ГХ, як і його складова нанокремнезем є малотоксичними сполуками. Маса тіла мишей після введення суспензії НДК зростала, а під впливом ПГМГ-ГХ та НДК+ПГМГ-ГХ на 3 та 7 добу знижувалася, а на 14 добу нормалізувалася.

Головним шляхом застосування лікарських форм для лікування ран є нашкірний. Тому головну увагу було приділено дослідженню гострої токсичності композиту НДК+ПГМГ-ГХ при нашкірному нанесенні щурам. У цих групах тварини після нанесення композиту НДК+ПГМГ-ГХ, НДК та ПГМГ-ГХ встановили відсутність статистично значущої різниці у динаміці маси тіла протягом 14 днів. При макроскопічному огляді внутрішніх органів тварин не виявлено зміни кольору та інших ознак інтоксикації або інших проявів патологічного процесу, що дозволяє говорити про нешкідливість сполуки при нашкірному застосуванні.

За літературними даними, LD50 ПГМГ-ГХ становить від 370 (миші-самки) та 620 (миші-самці) [55] до 900 (для обох статей) мг/кг [54].

Згідно з даними наукових джерел, ПГМГ-ГХ властива політропність дії, зокрема нейротоксичність, про що свідчать клоніко-тонічні судоми, зміна характеру дихання, судинно-циркуляторні порушення. Також можуть спостерігатися набряк легень, некротичні зміни в паренхімі нирок та печінки, виражені гемодинамічні порушення. Загибель тварин може наставати внаслідок вираженої гіпоксії, яка зумовлена порушеннями гемодинаміки, а також пошкодженням аерогематичного бар'єру в легенях із подальшим недостатнім надходженням кисню у кров. Не виключена також можливість безпосереднього токсичного впливу ПГМГ-ГХ на структуру зазначених органів [54].

У дослідженні гострої токсичності гідрогелю ПГМГ-ГХ на білих безпородних мишах було виявлено, що при одноразовому додаванні у корм досліджуваної речовини у дозах 1000, 3000, 5000 і 8000 мг/кг протягом 14 діб не спостерігалось загибелі тварин [145]. За іншими даними, гостра токсичність дезінфікуючого засобу на основі солей ПГМГ при внутрішньошлунковому введенні складала 3726,67 мг/кг, що дозволяє віднести цей засіб до IV класу – малотоксичні речовини. При нанесенні засобу на шкіру та слизову оболонку очей кролів подразнювальна дія не спостерігалася, а індекс первинного подразнення дорівнював нулю [146].

Величини середньосмертельних доз нанодисперсного кремнезему при пероральному шляху введення незалежно від виду та статі тварин визначалися як > 2000 мг/кг, що свідчить про відсутність різниці у видовій та статевій чутливості тварин. Такі результати дозволяють віднести цей засіб до V класу токсичності [147].

За іншими даними, LD50 нанодисперсного кремнезему за умов внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам (білим щурам) є більшою за 5000 мг/кг [148].

При одноразовому внутрушньошлунковому введенні водної суспензії нанорозмірного діоксиду кремнію у дозі 10 000 мг/кг не спостерігалось явищ інтоксикації та загибелі піддослідних тварин [149].

Наступним етапом було проведення дослідження фармакологічних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ. Зважаючи на значну адсорбційну активність нанодисперсного кремнезему, порівнювали сорбційні властивості композиту НДК+ПГМГ-ГХ із нанодисперсним кремнеземом та препаратом порівняння ентеросгелем. В експериментах із застосуванням тест-зразків маркерних речовин встановлено, що за адсорбційними властивостями стосовно метиленового синього та ціанокобаламіну досліджуваний композит перевищує Силікс та ентеросгель. Водночас даний композит поступається вищезазначеним сорбентам у сорбції білків, що пов'язано при цьому з найменшою площею питомої поверхні порівняно з іншими кремнійвмісними сорбентами. Це пояснюється процесами модифікації поверхні композиту з можливістю утворення незначних пористих конгломератів. Зниження величини сорбції білків композитом НДК+ПГМГ-ГХ пояснюється тим, що частина гідроксильних груп зайнята молекулами ПГМГ-ГХ, тому унеможлиблює їх повну участь у зв'язуванні білків. Встановлена також залежність від рН середовища зміщення максимуму адсорбції білків кремнійвмісними сорбентами. Таким чином показники адсорбції білків є меншими порівняно із Силіксом та ентеросгелем у зв'язку з пониженою об'ємною ємністю. Однак композит і Силікс порівняно з ентеросгелем характеризуються більшою швидкістю зв'язування білків.

Аналіз літературних даних свідчить, що чистий нанодисперсний кремнезем проявляє виражену сорбційну активність відносно високомолекулярних сполук, таких як желатин та сироватковий альбумін людини [150].

Головною властивістю протимікробних засобів для лікування ран є їх протимікробна властивість. З цією метою визначали МІК композиту порівняно з його складовими – НДК та ПГМГ-ГХ. Серед використаних у дослідженнях представників родини *Enterobacteriaceae* найвища чутливість до дії композиту

була встановлена у ешерихій. Мікроорганізми *K. pneumonia* виявилися найбільш стійкими. Доволі високою стійкістю характеризувалися також *P. aeruginosa* співпадаючи зі значенням *S. enterica*. У композиту бактеріостатична концентрація стосовно до *S. enterica* та *K. pneumonia* визначалася бактерицидною. Найнижчі показники МБК/МФК композиту виявилися щодо *C. albicans*, найвищі значення МБК були притаманні щодо *K. pneumonia* та *P. aeruginosa*.

На відміну від композиту, його структурний компонент НДК у максимально допустимій концентрації не виявив антимікробної активності щодо всіх досліджуваних мікроорганізмів, у той час як другий компонент композиту – ПГМГ-ГХ – володів значною протимікробною активністю стосовно *E. coli* та *S. enterica*, менш активним щодо *K. pneumonia* та *P. aeruginosa*, найнижчими щодо *S. aureus*, *C. albicans*.

Згідно з літературними даними, аналогічна за структурою до ПГМГ-ГХ речовина полігексаметиленгуанідину фосфат у концентрації 1 % проявляє виражену протимікробну активність щодо *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* та *C. albicans* [151], а полігексанід (полігексаметиленбігуанід) виявив протимікробну активність відносно метицилін-резистентного золотистого стафілокока (MRSA) [152]. У дослідженнях Т. Koburger та співавт. було доведено, що полігексанід є більш ефективним відносно *S. aureus* (у тому числі MRSA), *E. faecalis* (у тому числі ванкоміцин-резистентного *Enterococcus*), *S. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. perfringens*, *H. influenzae* та *C. albicans* порівняно з іншими антисептиками, у тому числі триклозаном та хлоргексидином [153]. Аналогічне дослідження проводили Florian H. H. Brill та співавт., у якому визначали високу протимікробну активність полігексаніду стосовно *S. aureus*, *E. hirae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* та *K. pneumonia* [154].

Важливим є наявність тривалої інгібуючої дії композиту щодо синьогнійної палички. Композит впливає на ріст і розмноження мікроорганізму протягом п'яти діб. Превентивне внесення композиту в середовище в

концентрації 90 мкг/мл однаково ефективно впливає на мікроорганізми та біоплівку *P. aeruginosa*, при цьому дія композиту на сформовану планктонну форму *P. aeruginosa* характеризувалася високою ефективністю щодо формування, і на вже сформовану планктонну форму *P. aeruginosa*, пригнічуючи розвиток. Попереднє застосування композиту в концентрації 40 мкг/мл приводило до зниження кількості клітин *P. aeruginosa* у планктонній формі до нульового показника. Наноккомпозит у концентрації 40 мкг/мл веде до повного знищення клітин *P. aeruginosa*. Як композит, так і ПГМГ-ГХ є високоефективними до псевдомонад, тому що знижують кількість клітин у планктонній формі та біоплівці.

Позитивною особливістю композиту є те, що він здатний запобігати утворенню біоплівки. Застосування композиту та ПГМГ-ГХ в однакових концентраціях сприяло зниженню кількості клітин у біоплівці та планктонній формі до нульових показників, викликало неможливість відновлення популяції протягом періоду спостереження.

За даними літературних джерел полігексанід демонструє високу антибіоплівкову активність порівняно з хлоргексидином відносно біоплівки, сформованої *S. aureus* [155], а також відносно змішаної та моновидової біоплівки, утворення *S. aureus* та *P. aeruginosa* [156]. Антисептик, до складу якого входить полігексанід, проявив найбільшу антимікробну активність щодо біоплівкових форм *S. aureus* та *P. aeruginosa*, виділених з опікових ран, порівняно з іншими антисептичними засобами [157].

Полігексаметилenguанідину гідрохлорид виявив високу антибіоплівкову активність відносно зрілої біоплівки *C. albicans* [158], біоплівки, сформованої *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* [159], *Streptococcus mutans* [158], *Staphylococcus aureus* [160].

Антибактеріальна та ранозагоювальна дія композиту була досліджена на моделі термічного опіку за морфологічними показниками. Спочатку вивчали вплив композиту порівняно з хлоргексидином на динаміку місцевих проявів загоєння при термічному опіку. Визначили, що застосування композиту було

більш ефективним, ніж застосування хлоргексидину щодо динаміки загоєння опікової рани та впливу на площу рани. При застосування композиту спостерігалось прискорення ступеня загоєння рани, більш швидке скорочення терміну загоєння, що свідчить про більшу репаративну активність композиту.

Однією з головних властивостей композиту НДК+ПГМГ-ГХ, що відрізняє його від інших антисептичних препаратів, стала ранозагоювальна дія при експериментальному термічному опіку. Встановлено, що термічне ушкодження стегна щурів викликало утворення опікової рани з подальшою динамікою розвитку. Після моделювання опіку рана покривалася сухим світло-коричневим струпом, а тканини навколо були гіперемовані. Завершувалося формування опікової рани на 5 добу, а з 6 доби починалося розм'якшення центральної частини струпа. У тканинах дна рани зберігався набряк із утворенням грануляційної тканини. У тварин, яких лікували хлоргексидином, спостерігалось поступове зменшення площі термічного опіку, що на 7 добу склало 17 %, але на 28 добу – 89 %. Водночас застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявилось більш ефективним. Зона ураження до 21 доби зменшувалася набагато швидше, епітелізація ранового дефекту відбувалася активніше, ніж при застосуванні хлоргексидину. До 28 доби у 100 % тварин опікова рана була повністю епітелізована. Використання композиту НДК+ПГМГ-ГХ сприяло також більш швидкому скороченню терміну загоєння рани, більш вираженій епітелізації та зменшенню поверхні рани.

Саме макроскопічні дослідження дозволили виявити ранозагоювальну дію композиту НДК+ПГМГ-ГХ, що характеризувалася зменшенням ранової поверхні, запальних процесів у рані, скороченням площі опіку та термінів загоєння. Репаративна дія композиту НДК+ПГМГ-ГХ перевищувала активність препарату порівняння хлоргексидину.

Наступним важливим етапом нашої роботи стало вивчення механізмів репаративних та протизапальних ефектів композиту НДК+ПГМГ-ГХ в опіковій рані, які можуть відбуватися за участю цитокінів, що регулюють етапи розвитку запалення та імунної відповіді [161].

У низьких концентраціях цитокіни формують адекватну відповідь у вогнищі запалення, а у високих концентраціях викликають розвиток системних проявів запальної реакції. Важливе значення у розвитку запалення має TNF- α – медіатор, що запускає цитокіновий каскад. IL-1 β має значення у розвитку і регуляції неспецифічного захисту та специфічного імунітету. Заразом найважливіша протизапальна роль належить протизапальному цитокіну IL-10 [162–166].

Нашим дослідженням було показано, що при термічному опіку у щурів рівень IL-1 β у сироватці крові та вогнищі ураження був підвищений. У сироватці крові рівень IL-1 β збільшувався протягом періоду спостереження, сягаючи максимуму на 14 добу, перевищуючи норму у 2,2 разу. Далі вміст IL-1 β суттєво знижувався, однак не нормалізувався до 28 доби і був на 22 % вищим порівняно з рівнем у інтактних тварин. Спрямованість змін вмісту IL-1 β у вогнищі ушкодження у контрольних тварин була подібною, і показник був вищим протягом періоду спостереження.

Під впливом хлоргексидину спостерігалася більш низка концентрація IL-1 β у крові порівняно з групою контрольної патології. На 7 добу під впливом хлоргексидину рівень IL-1 β достовірно не відрізнявся від контрольних значень, у той час як надалі він знижувався, досягаючи зменшення на 20 % на 28 добу. Композит НДК+ПГМГ-ГХ, на відміну від хлоргексидину, знижував концентрацію IL-1 β у крові до рівня, що спостерігався у інтактних тварин у крові на 21 добу, а в осередку ураження – на 2 добу. Тобто композит НДК+ПГМГ-ГХ порівняно з хлоргексидином знижував рівень прозапального цитокіну IL-1 β як у крові, так і у вогнищі ураження. У тому ж напрямку композит НДК+ПГМГ-ГХ та референтний препарат хлоргексидин знижували рівень іншого прозапального цитокіну – TNF- α у крові та вогнищі запалення. Вміст цього цитокіну у крові та вогнищі запалення у контрольних тварин був підвищеним навіть на 28 добу на 41 % та 79 % відповідно. Хлоргексидин знижував концентрацію TNF- α у крові на 28 добу на 32 %, в осередку запалення – на 25 % порівняно з контролем. Застосування композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявилось більш ефективним,

знижуючи рівень TNF- α на 28 добу в сироватці крові на 26 %, у вогнищі ураження на 23 %. Паралельно зі зростанням вмісту прозапальних цитокінів (TNF- α та IL-1 β) у сироватці крові та вогнищі запалення при термічному опіку у контрольних тварин знижувався рівень протизапального цитокіну IL-10 протягом всього періоду спостереження. Концентрація IL-10 у крові щурів контрольної групи була нижчою з 7 до 28 доби (від 59,6 % до 15 %).

Аналогічні зміни відмічалися і в осередку ураження: рівень IL-10 був меншим на 7 добу на 50 %, на 28 добу – на 9,8 %. На 7 добу вміст IL-10 у крові та шкірі під впливом хлорексидину практично не змінювався порівняно з контрольною групою (був на 53 % та 44 % вищим за показники інтактних тварин). Надалі рівень IL-10 поступово зростав як у сироватці крові, так і в шкірі і наближався до значень показників інтактних тварин на 28 добу. Найбільш виражену дію на вміст IL-10 у крові та вогнищі ураження мав композит НДК+ПГМГ-ГХ. Ця сполука сприяла більш швидкому та значному підвищенню рівня IL-10 у крові та шкірі порівняно з контролем протягом всього періоду спостереження. Водночас на 28 добу при використанні композиту рівень IL-10 у крові щурів та вогнищі ураження достовірно не відрізнявся від рівня IL-10 у групі застосування препарату порівняння.

Таким чином, композит НДК+ПГМГ-ГХ зменшує різко зростаючу внаслідок термічного опіку концентрацію IL-1 β та TNF- α у вогнищі ураження та сироватці крові щурів, відновлюючи їх до 28 доби, і нормалізує рівень протизапального цитокіну, дефіцит якого спостерігається при опіковій травмі. За впливом на цитокіновий профіль композит НДК+ПГМГ-ГХ перевищує ефект препарату порівняння. Отже, створення композиту НДК+ПГМГ-ГХ веде до більш швидкого та значного відновлення цитокінового балансу. Системне порушення біосинтезу та метаболізму цитокінів веде до порушень імунологічного характеру, що, в свою чергу, пов'язано з активацією оксиду азоту та вільних радикалів [141–142, 161–162].

Оксид азоту є важливим фактором імунологічної реактивності, саме неспецифічного імунітету, та бере участь у реалізації цитопротекторних процесів

[166]. Шкідлива дія NO реалізується значно більш високими концентраціями, ніж його регуляторний та захисний вплив. Протекторна дія NO взаємопов'язана із захистом від токсичної дії цитокінів. Прозапальні цитокіни є тригером надмірної кількості NO, що веде до порушення імунологічного статусу.

Наступним завданням наших досліджень було вивчення впливу композиту НДК+ПГМГ-ГХ на вміст метаболітів оксиду азоту у сироватці крові та вогнищі ураження. Виявлено, що загоєння опікової рани контрольних щурів супроводжується зростанням рівня сумарних метаболітів NO як в крові, так і у вогнищі запалення порівняно з інтактними тваринами та становить на 7 добу в 2,1 і 3,0 рази відповідно. Були також підвищені рівні нітрит-аніонів та нітратів у сироватці крові та вогнищі ураження. Максимальне підвищення вмісту нітрит-аніонів у сироватці крові та вогнищі ураження спостерігалось на 7 добу у 5,6 та 3,9 рази відповідно, перевищуючи показники інтактних тварин.

Ці показники залишалися підвищеними протягом 28 днів. Таким чином, термічний опік супроводжується тривалим і стійким підвищенням усіх метаболітів NO як в сироватці крові, так і у вогнищі ураження та не нормалізується до 28 доби. Хлоргексидин знижував рівень загальних метаболітів NO у сироватці крові та шкірі щурів при термічному опіку більше на 7 добу на 24 % і 17 %, менше на 28 добу – на 10,4 % та 15,8 % відповідно. Вміст нітрит-аніонів при нанесенні хлоргексидину у крові та шкірі також був меншим: на 7 добу – на 24 % та 17 %, на 14 добу – на 8,6 % та 27,9 %, а на 28 добу – 24,5 % і 38,3 % відповідно. Хлоргексидин також знижував рівень загальних нітритів у сироватці крові: на 7 добу – на 25,1 % та 18,5 %, а на 28 добу на 3,9 % та 15,6 % відповідно. Тобто хлоргексидин, що був обраний референтним препаратом, знижує рівень усіх метаболітів оксиду азоту як в сироватці крові, так і у вогнищі ураження. Більший ефект порівняно з хлоргексидином на показники метаболітів NO мав композит НДК+ПГМГ-ГХ, це стосувалося як рівня загальних метаболітів NO, так і нітрит-аніонів та нітратів.

Отримані дані дозволили встановити, що композит НДК+ПГМГ-ГХ порівняно з хлоргексидином має більш виражений вплив на рівень усіх

метаболітів NO – загальних метаболітів, нітрит-аніонів та нітратів як у сироватці крові, так і у вогнищі ураження, що є проявом протизапальної та імунокорегуючої дії.

Особливу увагу слід приділити більш швидкому порівняно з хлоргексидином відновленню рівня нітрит-аніонів у крові та вогнищі ураження під впливом композиту НДК+ПГМГ-ГХ. При запаленні, що супроводжує опік, різко зростає продукування супероксиданіону макрофагами та нейтрофілами з утворенням пероксинітриту.

Пероксинітрит володіє більшою реакційною здатністю, ніж NO та супероксиданіон. Він пригнічує мітохондріальні ферменти, що веде до енергетичної дестабілізації та загибелі клітини, пригнічує ферменти, які беруть участь у поділі клітини (ДНК-реплікатори), має цитотоксичну дію, безпосередньо ушкоджує генетичний апарат клітини, активує процеси перекисного окислення ліпідів та інші механізми тканинного ушкодження. Значна активізація реакцій вільнорадикального окислення веде до утворення вільнорадикальних форм кисню та до оксидативного стресу.

Термічний опік супроводжується порушенням про- та антиоксидантних систем, розвитку оксидативного стресу, що веде до порушення мікроциркуляції, гіпоксії. При цьому спостерігаються гіперпродукція АФК та інтенсифікація ПОЛ при одночасному виснаженні антиоксидантних систем, зменшення активності антиоксидантних ферментів, формування оксидативного стресу [132]. Таким чином, динаміка метаболізму NO, особливо нітрит-аніонів, при опіковій хворобі пов'язана зі станом окиснювально-антиоксидатного гомеостазу. Тому надалі вивчали вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ, порівняно з хлоргексидином, на вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів – дієнових кон'югатів (ДК) та ТБК-АП, а також антиоксидантних ферментів (супероксидисмутази, каталази). У щурів із термічним опіком без лікування відбувається виражена активація перекисного окислення ліпідів у вогнищі ураження протягом всього часу спостереження. Так, вміст ДК та ТБК-АП

перевищував норму на 7 добу на 78 % та 66 %, на 28 добу – на 36 % та 20 % відповідно.

При дослідженні антиоксидантної системи у шкірі тварин при опіковому ураженні було встановлене зниження активності як каталази, так і супероксидисмутази протягом експерименту. Препарат порівняння хлоргексидин був ефективним при профілактиці підвищення активності первинних процесів ПОЛ у шкірі щурів із опіковою травмою до 28 доби, а вторинних – до 21 доби. Хлоргексидин нормалізував активність каталази на 28 добу експерименту. Більш виражений вплив хлоргексидину спостерігався на активність СОД, нормалізуючи її вміст у вогнищі ураження щурів із опіковою травмою на 14 добу. Більший ефект на показники ПОЛ та активність антиоксидантних ферментів мав композит НДК+ПГМГ-ГХ.

Таким чином, композит НДК+ПГМГ-ГХ порівняно з хлоргексидином мав більш ефективну дію на показники окислювально-антиоксидантного гомеостазу при термічному опіку, ніж препарат порівняння хлоргексидин.

При лікуванні опікової рани у експериментальних тварин гідрогель полігексиметиленгуанідину виявляв більшу ранозагоювальну активність порівняно з референтним препаратом левомеколем, що виражалось в більшому зменшенні площі поверхні рани на 10 добу лікування. Загоювання рани після застосування полігексаметиленгуанідину відбувалося швидше порівняно з контрольними тваринами, яким місцево рану обробляли плацебо (розчином натрію хлориду). Препарат підвищував у крові кількість антиоксидантів, нормалізував вміст лейкоцитів у периферійній крові [59].

Подібні результати були також отримані при застосуванні полігексаметиленгуанідину в умовах лінійної шкірно-м'язової рани. Дані патоморфологічних досліджень свідчили, що, в той час як у тварин контрольної групи ще на 8 добу зберігалася ранова щілина, під впливом гідрогелю полігексаметиленгуанідину спостерігали на 8 добу регенерацію епітелію, по краях ранового дефекту добре розвинену грануляційну тканину зі значною кількістю фібробластів, гістоцитів, мононуклеарних лейкоцитів. У

грануляційній тканині спостерігали орієнтовані в горизонтальному напрямку невеликі тяжі фібробластів та ниті колагену, сформовані в пучки вертикальні капіляри, навколо яких фіксували скупчення макрофагальних елементів, практично повністю заміщуючих поліморфно-ядерні лейкоцити. Препарат нормалізував кількість лейкоцитів у периферичній крові та володів антиоксидантною активністю [60].

У дослідженнях також була встановлена виражена ранозагоювальна активність гідрогелю ПГМГ-ГХ на моделі лінійної рани [169].

Полігексанід сприяв загоєнню поверхневих асептичних ран через 22,9 дня, порівняно з плацебо через 24,1 дня та 28,3 дня при застосуванні антисептика октенідину, що свідчить про його виражену ранозагоювальну активність [170]. Пов'язки з 0,04 % розчином полігексаніду також використовувалися для лікування термічних опіків кисті II ступеня та сприяли їх загоєнню вже на 10 день [171–172].

Щоб встановити механізми ранозагоювальної дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ, були проведені дослідження щодо впливу сполуки на морфологічні зміни шкіри при термічному ушкодженні.

При виникненні ран можливі абсцеси, лікування яких має бути комплексним, що включає першочергову хірургічну обробку та супутню терапію, спрямовану на етіопатогенетичні механізми розвитку захворювання. Завданням дослідження було визначити вплив композиту НДК+ПГМГ-ГХ при лікуванні гнійного абсцесу, викликаного *P. aeruginosa*, який розвився через 24 години. На 5 добу без лікування абсцес розкрили і виявили наповнену гнійним вмістом фіброзну капсулу, яку промили від гнійного вмісту або хлоргексидином, або композита НДК+ПГМГ-ГХ. Виявили локалізацію гнійного процесу під впливом композиту НДК+ПГМГ-ГХ на 2 добу лікування, а хлоргексидином – на 3 добу. Водночас як хлоргексидин, так і композит НДК+ПГМГ-ГХ мали позитивний вплив на динаміку маси тіла щурів при лікуванні гнійного абсцесу. Крім того, за результатами дослідження можна зробити висновок, що при лікуванні абсцесу як хлоргексидином, так і композитом НДК+ПГМГ-ГХ

мікроорганізми не виявлялися, що свідчило про високу протимікробну активність препаратів.

При проведенні гематологічних досліджень при абсцесі було встановлене підвищення рівня моноцитів, зменшення рівня лімфоцитів і базофілів, що свідчило про розвиток інфекційного запального процесу. При застосуванні хлоргексидину та композиту НДК+ПГМГ-ГХ відсоток моноцитів знизився у 3,16 та 3,4 разу відповідно порівняно з групою контролю без лікування. Також у групі хлоргексидину і композиту відмітили підвищення відсотка лімфоцитів у 1,3 та 1,45 разу відповідно. Рівень базофілів підвищувався в групі хлоргексидину в 1,3 разу, у групі композиту – у 1,4 разу. Були також зафіксовані морфологічні зміни у порожнині абсцесу після застосування хлоргексидину та композиту.

Після промивання порожнини абсцесу композитом протягом 6 діб зона некрозу зменшилася. У сполучній тканині навколо скупчень вугільних частинок переважали фібробласти та макрофаги, незначна кількість лейкоцитів, що свідчить про відсутність бактеріальних агентів. Крім того, послабилося наповнення капілярів кров'ю, значно послабився запальний процес. Зберігалися лише невеликі осередки зруйнованих лейкоцитів у прилеглих ділянках, менш розвинута сітка кровоносних судин. Були також гістоцитарні клітини навколо абсцесу та змінився клітинний склад у мікрооточенні абсцесу, переважно за рахунок макрофагів і фібробластів. Морфологічні дані довели, що композит очищає уражену ділянку від гнійного вмісту вже на 2 добу лікування, має репаративну дію, що характеризується прискоренням загоєння ран.

Згідно з дослідженнями Roth та співавт., після застосування 0,04 % розчину полігексаніду спостерігалася найнижча частота інфікування післяопераційної рани порівняно з антисептиками повідон-йод та перекис водню [173].

У клінічному дослідженні пацієнти з інфікованими протезами кульшового суглоба разом зі стандартною системною антибіотикотерапією та обробкою рани отримували лікування полігексанідом. За результатами

досліджень зроблено висновок, що полігексанід був ефективним протимікробним засобом, який може застосовуватися у хірургії [174].

Пацієнтам після двоетапної ревізіної операції з приводу інфікування кульшового суглоба застосовували розчин полігексаніду для струминного промивання кістки та навколишніх м'яких тканин. Частота повторного інфікування складала 6,3 %, що свідчить про високу антимікробну активність полігексаніду [175].

Пацієнтам з інфікованими MRSA хронічними ексудативними виразками на обох нижніх кінцівках проводили комбіноване хірургічне та протеолітичне очищення. Після чого виразку лікували нанесенням гідрогелю, що містить 0,1 % полігексаніду. Через 8 днів спостерігалася повна ерадикація MRSA, а ще через 9 днів – повне загоєння виразок [173].

ВИСНОВКИ

На сьогодні лікування опікових ран є важливою медико-соціальною проблемою.

У дисертаційній роботі наведено експериментальне обґрунтування й нове рішення актуального наукового завдання, спрямованого на підвищення ефективності фармакотерапії термічних та інфікованих уражень шкіри шляхом використання нового композиту НДК+ПГМГ-ГХ, які одночасно виявляють сорбційний, протимікробний, антибіоплівковий, протизапальний та ранозагоювальний ефекти.

1. За результатами вивчення гострої токсичності встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ у дозі 2000 мг/кг (400 мг/кг у перерахунку на ПГМГ-ГХ) належить до IV класу токсичності «малотоксичні речовини» при внутрішньошлунковому введенні та VI класу токсичності «відносно нешкідливі речовини» при нашкірному нанесенні (Сидоров К. К., 1973).

2. Доведено виражену сорбційну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ відносно низькомолекулярних сполук (метиленовий синій) – $280 \pm 12,6$ мг/г, середньомолекулярних сполук (ціанокобаламін) – $3,6 \pm 0,2$ мг/г у слабкокислому середовищі. За умов зниження рН адсорбція високомолекулярних сполук (білків) збільшується майже у два рази – з $26,2 \pm 1,29$ до $50,2 \pm 2,5$ мг/г. Отже, розроблений композит проявляє більш виражену сорбційну активність при низьких значеннях рН, таких що відповідають умовам інфекційно-запальних ран.

3. Визначена висока протимікробна активність щодо планктонних форм мікроорганізмів. Найбільш чутливими до дії композиту НДК+ПГМГ-ГХ виявилися грампозитивні мікроорганізми та грибки – МБК *S. aureus* та МФК *C. albicans* склала $19,53$ мкг/мл (у перерахунку на ПГМГ-ГХ). Найменш чутливими – грамнегативні мікроорганізми – МБК *E. coli* і *S. enterica* склала $39,06$ мкг/мл; *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* – $78,13$ мкг/мл (у перерахунку на ПГМГ-ГХ).

4. Встановлено, що композит НДК+ПГМГ-ГХ має високу антибіоплівкову активність відносно *P. aeruginosa*. У концентраціях 40 та 90 мкг/мл (у перерахунку на ПГМГ-ГХ) пригнічував плівкоутворення на 93,5 та 92,1 %, призводив до руйнування 1-добової біоплівки на 74,3 і 89,8 %, а 5-добової на 72,3 і 70,4 % відповідно ($p < 0,05$).

5. Підтверджено, що термічний опік супроводжується запальними реакціями (підвищення рівня прозапальних цитокінів – ІЛ-1 β , TNF- α , зниження рівня протизапальних цитокінів – ІЛ-10) та порушення окисно-антиоксидантної системи (підвищення рівня ДК та ТБК-АП, зниження активності антиоксидантних ферментів Кат і СОД). Проведення терапії композитом НДК+ПГМГ-ГХ приводило до нормалізації цитокінового профілю та відновлення стану окисно-антиоксидантної системи, що свідчить про виражену протизапальну активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ.

6. Планіметричними дослідженнями підтверджено скорочення термінів загоєння опікової травми при застосуванні композиту НДК+ПГМГ-ГХ – на 28 добу експерименту зменшення площі рани складало 99,5 %, проти 89 % у тварин, яких лікували хлоргексидином. На 28 добу експерименту в усіх досліджуваних групах опікова рана повністю вкривалася новоствореним епітелієм, місцями виявлялися вогнища його дистрофії та гіперплазії. Проте у групі тварин, що отримували лікування композитом НДК+ПГМГ-ГХ, подібні деструктивно-проліферативні зміни не спостерігалися.

7. Доведена протимікробна, протизапальна та ранозагоювальна активність композиту НДК+ПГМГ-ГХ у лікуванні тварин із гнійним абсцесом, викликаним *Pseudomonas aeruginosa*, що підтверджується нормалізацією маси тіла на 10 добу спостереження (у контролі залишалася зниженою на 13 %) ($P < 0,05$), відсутністю генералізованої інфекції (з проб крові тварин, що отримували лікування композитом НДК+ПГМГ-ГХ не висівалися мікроорганізми) та морфологічними показниками – на 12 добу лікування була відсутня зона некрозу, спостерігалася виражене пригнічення запального процесу, набряк у прилеглих до абсцесу ділянках був незначним, відбувалося проростання кровоносних судин до

центральных ділянок інфекційного ураження, спостерігалися колагенові волокна, що свідчить про організацію уражених ділянок.

8. Отримані результати є підґрунтям для цілеспрямованої розробки комбінованого топічного лікарського препарату з мультимодальною дією, що включає сорбційну, протимікробну, антибіоплівкову, протизапальну і ранозагоювальну активності та проведення подальших поглиблених преклінічних та клінічних досліджень з метою розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для лікування термічних та інфікованих уражень шкіри.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

ВСТУП

1. No Time to Wait – Securing the Future from Drug-resistant Infections. Report to the Secretary General of the Nations. / IACG United, 2019. URL: https://www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/IACG_final_summary_EN.pdf?ua=1 (Last accessed: 20.10.2019)
2. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2017. World Health Organization Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark. / 2017. URL: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/354434/WHO_CAESAR_Annual_Report_2017.pdf?ua=1. (Last accessed: 20.10.2019)
3. Tacconelli E, Carmell Y, Harbarth S, Kahlmeter G, Kluytmans J, Mendelson M, et al. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *WHO Press Release*. 2017. URL: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1 (Last accessed: 20.10.2019)
4. Prasanthi K. Murty D. S. Saxena N. K. Evaluation of antimicrobial activity of surface disinfectants by quantitative suspension method. *International Journal of Research in Biological Sciences*. 2012. Vol. 2, № 3. P. 124–127.
5. Светлый С. С., Воронина В. М., Рудая Л. А. Токсикологические свойства дезинфекционных средств на основе полигексаметиленгуанидина – «Фортисепт», «Чисто», «Полидез». *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. 2017. № 4. С. 27–38.

РОЗДІЛ 1

1.1

6. Мохова О. С. Современные методы лечения гнойных ран. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2013. № 4, т. 2. С. 15–21.
7. Доброквашин С. В., Измайлов А. Г., Волков Д. Е. Новые технологии в лечении гнойных ран и полостей. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2011. № 4, т. 4. С. 822–823.

8. Исаев У. М. Лечение гнойных ран при местной озонотерапии на фоне низкочастотных магнитных полей. *Вестник новых медицинских технологий*. 2008. № 1. С. 111–112.
9. Мнихович М. В., Еремин Н. В. Экспериментально-морфологический анализ гистогенеза кожной раны под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения. *Вестник новых медицинских технологий*. 2013. № 2, т. 20. С. 113–120.
10. Глухов А. А., Новомлинский В. В., Иванов В. М. Применение эндоскопической гидропрессивной санации и программного дренирования в комплексном лечении больных с флегмонами и абсцессами мягких тканей. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2009. № 2, т. 2. С. 122–128.
11. World Health Organization. Burns. *WHO Press Release* 2018. URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/burns>. Last accessed: 20.10.2019)
12. Recent trends in burn epidemiology worldwide: a systematic review / С. Smolle et al. *Burns*. 2017. Vol. 43. P. 249–257. doi: 10.1016/j.burns.2016.08.013.
13. Вонс Б. В., Чубка М. Б., Грошовий Т. А. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11. № 1. С. 119–125. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/apfimntp_2018_11_1_22. (дата звернення: 12.10.2019).
14. Нагайчук В. І., Назарчук О. А., Палій І. Г., Буркот В. М., Гончар О. О. До характеристики сучасних інфекційних ускладнень у хворих з опіками. *Український медичний часопис*. 2014. № 5. С. 123–126. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UMCh_2014_5_31. (дата звернення: 12.10.2019).
15. Surgical skin and soft tissue infections. Russian national recommendations. / В. R. Gel'fand et al. *Moscow: MAI Publishing House*. 2015. 109 p. URL: <http://nasci.ru/?id=3392&download=1> (Last accessed: 20.10.2019)
16. New Nanotechnologies for the Treatment and Repair of Skin Burns Infections/ Souto E. B. et al. *Int J Mol Sci*. 2020 № 21 (2). P. 393–402. doi: 10.3390/ijms21020393
17. AL-Aali K. Y. Microbial Profile of Burn Wound Infections in Burn Patients, Taif, Saudi Arabia. *Arch Clin Microbiol*. 2016. Vol. 7, № 2. P. 1–9.

18. Cartotto R. Topical antimicrobial agents for pediatric burns. *Burns Trauma*. 2017. Vol. 5. P. 33. doi:10.1186/s41038-017-0096-6
19. Сіда Л. Л., Воронкова О. С., Сірокваша О. А., Шевченко Т. М., Вінніков А. І. Вплив антисептиків і дезінфекційних препаратів на плівкоутворювальні бактерії. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2015. № 2. С. 59–67. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/MiB_2015_2_9. (дата звернення: 12.10.2019).

1.2

20. Шостакович-Корецкая, Л. Р. Проблема антимикробной резистентности в терапии острых респираторных заболеваний у детей. *Современная педиатрия*. 2012. № 1. С. 70–75.
21. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения / Ю. И. Бородин и др. *Успехи современной биологии*. 2014. № 3, т. 134. С. 236–248.
22. Фенелонов В. Б. Введение в физическую химию формирования супрамолекулярной структуры адсорбентов и катализаторов. Новосибирск : Изд-во Сиб. отд-ния РАН, 2004. 495 с.
23. Бадронов Р. Р., Ниязова Ф. Р., Габитов В. Х. Структурные изменения в мягких тканях гнойной раны на фоне аллоксанового диабета при сорбционной детоксикации. *Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии : Материалы междунар. симпозиума*. Новосибирск, 2000. С. 30–33.
24. Аппликационно-лимфокорригирующая местная терапия гнойных ран на фоне сахарного диабета. / М. С. Любарский и др. *Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии : Материалы междунар. симпозиума*. Новосибирск, 2000. С. 188.

1.3

25. Легеза К. М. Універсальні засоби дезінфекції: плюси та мінуси. *Управління закладом охорони здоров'я*. 2010. № 1. С. 64–73.
26. Худяков А. А. Эффективная дезинфекция и подбор дезинфектанта. *Ветеринария*. 2010. № 2. С. 18–22.

27. Малюга В. Д. Оптимизация выбора дезинфицирующих средств. *Практика управления медицинским учреждением*. 2011. № 3. С. 7.
28. Основы фармацевтической микробиологии / В. А. Галынкин и др. СПб. : «Проспект Науки», 2008. 304 с.
29. Михалик О. І. Про рідкі лікарські форми антисептичної дії. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 1. С. 107–114. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/apfimntp_2015_1_25 (дата звернення: 12.10.2019).
30. Зотова А. С., Коннов С. В, Микаилова В. А. Антисептики для обработки корневых каналов, используемые при пульпитах и периодонтитах: (разновидности и особенности) [Электронный ресурс] II стоматологическая конференция студентов и молодых ученых «Практическая биомеханика». *Бюллетень медицинских Интернет-конференций*, 2016. Т. 6, № 6. URL: <https://medconfer.com/node/6728> (дата звернення: 12.10.2019).
31. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. / A. Kramer et al. *Skin Pharmacol Physiol*. 2018. Vol. 31, № 1. P. 28–58. doi: 10.1159/000481545
32. Assadian O. Octenidine dihydrochloride: chemical characteristics and antimicrobial properties. *J. Wound Care*. 2016. Vol. 25, № 3. P. S3–S6. doi: 10.12968/jowc.2016.25.Sup3.S3.
33. Родин А. В. Выбор местного антисептика для лечения и профилактики раневой инфекции. *Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия*. 2019. № 3/4. P. 44–54).
34. Лисиця А. В. Механізми бактерицидної дії полігексаметиленгуанідину. [Електронний ресурс]. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2011. Т. 25, № 3. URL: http://www.nbuv.gov.ua/ejournals/Nd/2011_3/11lav.pdf. (дата звернення: 12.10.2019).
35. Поликарпов Н. Действие ПАГов на микро- и макроорганизмы – две стороны одной медали. *Барьер безопасности : Экологический журнал*. 2004. № 1. С. 9–12.
36. Полимерные биоциды-полигуанидины в ветеринарии: монография / Наумов М. М. и др. Курск : Изд-во Курской гос. с.-х. акад., 2010. 84 с.

37. Воинцева И. И., Гембицкий П. А. Полигуанидины – дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы. М. : ЛКМ-пресс, 2009. 303 с.
38. Григорьев И. А., Полиенко Ю. Ф., Войнов М. А. рН-чувствительные нитроксильные радикалы: структурные требования, проблемы молекулярного дизайна и синтетические подходы. *Химия ароматических, гетероциклических и природных соединений (НИОХ СО РАН 1958–2008 гг.)*. Новосибирск, 2009. С. 501–535.
39. Zhou Z, Wei D, Lu Y. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride shows bactericidal advantages over chlorhexidine digluconate against ESKAPE bacteria. *Biotechnology and applied biochemistry*. 2015. Vol. 62, № 2. P. 268–74.
40. Walczak M, Richert A, Burkowska-But A. The effect of polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMG) derivatives introduced into polylactide (PLA) on the activity of bacterial enzymes. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2014. Vol. 41, № 11. P. 1719–1724.
41. Gendaszewska D, Szuster L, Wyrębska Ł, Piotrowska M. Antimicrobial Activity of Monolayer and Multilayer Films Containing Polyhexamethylene Guanidine Sulphanilate. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*. 2018. Vol. 26, № 2. P. 73–78.
42. Lucas A. D. Environmental fate of polyhexamethylene biguanide. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2012. Vol. 88, № 3. P. 322–325.
43. Lysytsya AV. Research on the impact of polyhexamethyleneguanidine on the plant component of biocenoses. *Biosyst Divers*. 2017. Vol. 25, № 2. P. 89–95.
44. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections / M. K. Oulé et al. *J. Med. Microbiol*. 2008. Vol. 57. P. 1523–1528.
45. Beloian A. Disinfectants. In Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edn. Edited by W. Horwitz & G. W. Latimer. *Jr. Association of Official Analytical Chemists International*. 2005. P. 133–146.
46. Springthorpe S. La de'sinfection des surfaces et de l'e'quipement. *J. Can. Dent Assoc*. 2000. Vol. 66. P. 558–560.

47. McDonnell G., Russell A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999. Vol. 12. P. 147–179.
48. Russell A. D. Mechanisms of bacterial resistance to biocides. *Int Biodeterior Biodegradation.* 1995. Vol. 36. P. 247–265.
49. Paulsen I. T., Park J. H., Choi P. S., Saier M. H. A family of Gram-negative outer membrane factors that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals from Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997. Vol. 156. P. 1–8.
50. Kumar A., Schweizer H. P. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005. Vol. 57. P. 1486–1513.
51. Ishii S., Shimoyama T., Hotta Y., Watanabe K. Characterization of a filamentous biofilm community established in a cellulose-fed microbial fuel cell. *BMC Microbiol.* 2008. Vol. 8. P. 6–18
52. Gilbert P., Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J. Appl Microbiol.* 2005. Vol. 99. P. 703–715.
53. Ефимов К. М., Гембицкий П. А., Снежко А. Г. Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия. *Дезинфекционное дело.* 2000. № 4. С. 28–32.
54. Муратова Н. М. Токсиколого-гигиенические аспекты действия полигексаметиленгуанидин гидрохлорида – нового препарата полигуанидинового ряда : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.07. Иркутск, 1994. 27 с.
55. Лифенцова М. Н., Горпинченко Е. А. Определение острой токсичности препарата роксацин. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* 2016. № 121. С. 1–7
56. A cluster of lung injury associated with home humidifier use: clinical, radiological and pathological description of a new syndrome / S. B. Hong et al. *Thorax.* 2014. Vol. 69, № 8. P. 694–702.
57. Moore B. B., Hogaboam C. M. Murine models of pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology.* 2008. Vol. 294, № 2. P. L152–L160.

58. Changes in expression of cytokines in polyhexamethylene guanidine-induced lung fibrosis in mice: comparison of bleomycin-induced lung fibrosis / M. S. Kim et al. *Toxicology*. 2018. Vol. 393. P. L185–L192.
59. Ранозаживляющее действие гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида при ожогах / С. Н. Лебедева и др. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017. № 2. С. 93–96.
60. Репаративное действие гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. / С. Н. Лебедева и др. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018. Т. 17, № 1. С. 112–120.

1.4

61. Co-delivery of doxorubicin and Bcl-2 siRNA by mesoporous silica nanoparticles enhances the efficacy of chemotherapy in multidrug-resistant cancer cells. / A. M. Chen et al. *Small*. 2009. Vol. 5, № 23. P. 2673–2677.
62. Рамбиди Н. Г. Нанотехнологии и молекулярные компьютеры. М. : *Физмалит*, 2018. 256 с.
63. Whitesides G. M. Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*. 2005. Vol. 1, № 2. P. 172–179.
64. Маркелов Д. А., Ницак О. В., Геращенко И. И. Сравнительное изучение адсорбционной активности медицинских сорбентов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2008. Т. 42, № 7. С. 30–33.
65. Геращенко І. І. Ентеросорбенти: лікарські засоби і дієтичні добавки. Київ : НАН України, ІХП ім. О. О. Чуйка, 2014. 250 с.
66. Властивості нанорозмірного кремнезему як медичного сорбенту / Є. П. Воронін та ін. *Інтегративна антропологія*. 2017. № 1. С. 44–48.
67. Кремнеземы в медицине и биологии : сб. науч. тр. / под ред. А. А. Чуйко. Киев : Ставрополь, 1993. 259 с.
68. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / под ред. А. А. Чуйко. Киев : Наукова думка, 2003. 416 с.

69. Геращенко И. И., Ильченко А. В., Пентюк А. А. Перспективы создания лекарств на основе высокодисперсного кремнезема. *Химия, физика и технология поверхности*. 2002. Вып. 3. С. 10–14.
70. Обґрунтування антимікробної ефективності аплікаційних біонаноккомпозитів для лікування опікової інфекції, спричиненої *S. aureus* та *P. Aeruginosa* / Г. М. Чернякова та ін. *Клінічна хірургія*. 2017. № 12. С. 48–51.
71. Беляева О. А., Нешта В. В., Процюк Р. Р. Применение аппликационных сорбентов нового поколения в гнойной хирургии *Клінічна хірургія*. 2007. № 11/12. С. 5–6.
72. Чернякова Г. М., Мінухін В. В., Воронін Є. П. Сучасний погляд на місцеве лікування опіків з інфекційною складовою. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. № 4, т. 1. С. 68–72.
73. Чернякова Г. М., Мінухін В. В., Горбач Т. В. Порівняльне дослідження біохімічних показників мишей з опіковою *Pseudomonas*-інфекцією при лікуванні новими аплікаційними сорбентами. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2017. № 4. С. 15–21.
74. Беляєв П. В., Вільцанюк О. А. Порівняльна цитологічна оцінка перебігу ранового процесу у хворих з гнійно-запальними процесами щелепно-лицьової ділянки при місцевому лікуванні різними методами. *Клиническая хирургия*. 2017. № 11. С. 2–5.
75. Шитов Д. Ю., Бабина К. С., Панчина А. Н., Кравченко Т. П. Наноккомпозиты на основе полиэтилена. *Успехи в химии и химической технологии*. 2014. № 3, т. 28. С. 152.
76. Сімонов П. В. Фармакологічна активність наночастинок міді в умовах експериментальної моделі абсцесів шкіри і м'яких тканин. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2015. № 4. С. 134–140.
77. Вільцанюк О. А., Беляєв П. В., Вільцанюк О. О., Вернигородський С. В. Порівняльна оцінка ефективності використання композиції на основі нанодисперсного кремнезему з антимікробними властивостями для місцевого лікування гнійно-запальних процесів. *Клиническая хирургия*. 2017. № 2. С. 13–15.

78. Бабушкина И. В. Влияние наночастиц металлов на регенерацию экспериментальных ран. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2013. № 3, т. 6. С. 217–221.
79. Григорьев М. Г., Бабич Л. Н. Использование наночастиц серебра против социально значимых заболеваний. *Молодой ученый*. 2015. № 9. С. 396–401.
80. Rizzello L, Pompa P. P. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines. *Chemical Society Reviews*. 2014. Vol. 43, № 5. P. 1501–1518.
81. Inactivation of microbial infectiousness by silver nanoparticles-coated condom: a new approach to inhibit HIV-and HSV-transmitted infection / A. M. Fayaz et al. *International journal of nanomedicine*. 2012. Vol. 7. P. 5007.
82. Gurunathan S., Han J. W., Kwon D. N., Kim J. H. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale research letters*. 2014. Vol. 9, № 1. P. 373.
83. *In vivo* effect of silver nanoparticles on serum ALT, AST and ALP activity in male and female mice / J. Cheraghi et al. *Advances in Environmental Biology*. 2013. Vol. 1. P. 116–123.
84. Гринь И. В., Звягинцева Т. В. Влияние мази на основе тиотриазолина и наночастиц серебра на провоспалительные цитокины при экспериментальном термическом ожоге. *Международный студенческий научный вестник*. 2015. № 2. С. 207.
85. Чекман І. С. Нанофармакологія. Київ : Задруга, 2011. 424 с.
86. Чекман І. С., Ульберг З. Р., Маланчук В. О. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація. Київ : Поліграф плюс, 2012. 328 с.
87. Затолокин В. Д., Мошкин А. С. Influence of water dispersions oxides nanostructures of metals on a current of purulent wounds. *Journal of Experimental and Clinical Surgery*. 2010. Vol. 3, № 1. P. 44–51.
88. Сімонов П. В. Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей наночастинок міді та їх кон'югату з цефтріаксоном : дис. ... канд. фармац. наук : 14.03.05 / НФаУ. Харків, 2016. 368 с.

89. Савченко Д. С. Дослідження протимікробних властивостей нанокompозиту Високодисперсного кремнезему-кластерів срібла, препарату Силікс і срібла нітрату. *Запорожский медицинский журнал*. 2012. № 4. С. 124–128.
90. Resistance to antibiotics, biocides, preservatives and metals in bacteria isolated from seafoods: co-selection of strains resistant or tolerant to different classes of compounds / J. L. Romero et al. *Frontiers in microbiology*. 2017. Vol. 8. P. 1650.
91. Rai M., Yadav A., Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*. 2009. Vol. 27, № 1. P. 76–83.
92. Jaiswal S., McHale P., Duffy B. Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2012. Vol. 94. P. 170–6.
93. Ag-nanoparticle-loaded mesoporous silica: spontaneous formation of Ag nanoparticles and mesoporous silica SBA-15 by a one-pot strategy and their catalytic applications / J. Han et al. *Langmuir*. 2012. Vol. 28, № 10. P. 4768–4775.
94. Nischala K., Rao T. N., Hebalkar N. Silica-silver core-shell particles for antibacterial textile application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2011. Vol. 82, № 1. P. 203–208.
95. Biocide activity of diatom-silver nanocomposite / M. Suárez et al. *Materials Letters*. 2010. Vol. 64, № 19. P. 2122–2125.

РОЗДІЛ 2

2.1

96. European Convention for the protection of Vertebrate Animal Used for experimental and Other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg : Council of Europe, 1986. 53 p.
97. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. 527 с.
98. Тараховский М. Л., Бурушкин Т. Н., Грецькая Е. В. Разработка и доклиническая оценка сорбентов медицинского назначения : метод. рекомендации. Київ, 1993. 21 с.

99. Савченко Д. С. Порівняльна характеристика сорбційних властивостей нанокompозиту високодисперсного кремнезему з наночастинками срібла та сучасних ентеросорбентів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2012. № 2. С. 121-126.
100. Савченко Д. С. Експериментальне обґрунтування протимікробної та сорбційної активності ентеросорбенту з наносріблом : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 14.03.05 / Савченко Дмитро Сергійович ; Нац. фармацевт. Ун-т. – Харків, 2014. – 20 с.
101. Носач Л. В., Савченко Д. С., Власенко О. М. Одержання і характеристика кластерів срібла на поверхні нанодисперсного кремнезему. *Український науковий медичний молодіжний журнал*. 2011. № 4. С. 178–179.
102. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания МУК 4.2.1890-04 / Н. А. Семина, С. В. Сидоренко, С. П. Резван и др. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004. № 4, т. 6. С. 306–359.
103. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: метод. вказівки МВ 9.9.5-143-2007 / МОЗ України ; уклад. : Л. С. Некрасова, В. М. Свита, Т. Г. Глушкевич та ін. Київ, 2007. 73 с.
104. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. Рек. / МОЗ України ; уклад. : Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов та ін. Київ, 2004. 38 с.
105. Volyansky Y. L., Hrytsenko I. S., Shyrobokov V. P. The study of the specific activity of antimicrobial drugs : guideline of MoH of Ukraine. K: Health Publisher (Zdorovja), 2004. 45 p.
106. Балко А. Б., Балко О. И., Авдеева Л. В. Формирование биопленки штаммами *Pseudomonas aeruginosa* украинской коллекции микроорганизмов. *Мікробіологічний журнал*. 2013. № 2, т. 75. С. 50–56.
107. O'Toole G. A. Microtiter dish biofilm formation assay. *J. Vis. Exp.* 2011. № 47. P. 2437.

108. Образование биопленок – пример «социального» поведения бактерий / Ю. М. Романова и др. *Микробиология*. 2006. Т. 75, № 4. С. 556–661.
109. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : Морион, 2001. 408 с.
110. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Фисенко В. П. и др. М. : ЗАО «ИИА Ремедиум», 2000. 450 с.
111. Rashid M. H., Kornberg A. Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*. *PNAS*. 2000. Vol. 97. P. 4885–4890.
112. Bellon-Fontaine M.-N., Rault J., van Oss C. J. Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*. 1996. Vol. 7, № 1/2. P. 47–53.
113. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: метод. рек. / Яковлева Л. В. та ін. Харків : НФаУ, 2013. 52 с.
114. Фенчин К. М. Заживление ран. Киев: Здоровье, 1979. 166 с.
115. Саркисов Д. С., Ремезов П. И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте / под ред. А. А. Вишневого. М., 1960. 780 с.
116. Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований / под ред. Н. В. Лазарева. М. : Медгиз, 1964. 392 с.
117. Сенников С. В., Силков А. Н. Методы определения цитокинов. *Цитокины и воспаление*. 2005. Т. 4, № 1. С. 22–27.
118. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2005. № 6. С. 15–18.
119. Звягина Т. В. Метаболиты оксида азота в крови и моче здоровых людей: их связь с цитокинами и гормонами. *Вестн. неотложной и восстановительной медицины*. 2002. Т. 3, № 2. С. 302–304.

120. Скорняков В. И., Кожемякин Л. А., Смирнов В. В. Продукты перекисного окисления липидов в спинномозговой жидкости у больных с черепно-мозговой травмой. *Лабораторное дело*. 1988. № 8. С. 14–16.
121. Карпищенко А. И. Спектрофотометрическое определение продуктов перекисного окисления липидов. СПб. : Интермедика, 1997. С. 48–52.
122. Барабой В. А., Орел В. Э., Карнаух И. М. Методические особенности исследования перекисного окисления. Киев : Наукова думка, 1991. С. 52–75.
123. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*. 1990. № 2. С. 88–91.
124. Mölne L., Tarkowski A., An Experimental Model of Cutaneous Infection Induced by Superantigen-Producing *Staphylococcus aureus*. *Journal of Investigative Dermatology*. 2000. Vol. 114, № 6. P. 1120–1125.
125. Animal models of external traumatic wound infections / T. Dai et al. *Virulence*. 2011. Vol. 2, № 4. P. 296–315.
126. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М. : Мир, 1960. 648 с.
127. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная). М. : Иностран. лит., 1962. 962 с.

РОЗДІЛ 4

4.3

128. Lamfon H., Porter S. R., McCullough M., Pratten, J. Susceptibility of *Candida albicans* biofilms grown in a constant depth film fermentor to chlorhexidine, fluconazole and miconazole: a longitudinal study. *Antimicrob. Chemother.* 2004. Vol. 53, № 2. P. 383–385.
129. Monzón M., Oteiza C., Leiva J., Amorena B. Synergy of different antibiotic combinations in biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001. Vol. 48, № 6. P. 793–801.
130. Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed *in vitro* / B. Amorena et al. *J. Antimicrob. Chemother.* 1999. Vol. 44, № 1. P. 43–55.

4.4

131. Потапенко К. С., Захарова Ю. Ю., Зінченко О. Ю. Вплив ізонікотиноїлгідрозону 2-гідрокси-1-нафтальдегіду на різні види рухливості *Pseudomonasaeruginosa*. *Літні наукові читання* : матеріали V міжнар. наук.-практ. Конф. ; Київ, 31 черв. 2017 р. Ч. 1. Київ : Центр наук. публікацій, 2017. С. 25–28.
132. Kearns D. B. A field guide to bacterial swarming motility. *Nature Reviews Microbiology*. 2010. Vol. 8, № 9. P. 634.
133. Maier B., Wong G. C. L. How bacteria use type IV pili machinery on surfaces. *Trends Microbiol.* 2015. Vol. 23, № 12. P. 775–788.

4.5

134. Effect of antibiotics on cell surface hydrophobicity of bacteria causing orthopedic wound infections / T. Kustos et. al. *Chemotherapy*. 2003. Vol. 49, № 5. P. 237–242.
135. The Role of Hydrophobicity in Bacterial Adhesion / R. Oliveira et al. *BioLine*. 2001. P. 11–22.
136. Ерошенко Д. В. Влияние факторов внешней среды на первые этапы образования биопленок бактериями *Staphylococcus epidermidis* : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / РАН, УрО, Ин-тэкологии и генетики микроорганизмов. Пермь, 2015. 137 с.

5.1.1

137. Раны и раневая инфекция / под ред. М. И. Кузина, Б. М. Костюченка. М. : «Книга по требованию», 2012. 592 с.
138. Оболенский В. Н. Хроническая рана : обзор современных методов лечения. *РМЖ*. 2013. № 5. С. 282–286.

5.1.4

139. Барышников Е. Н. Клиническое и прогностическое значение оксида азота при воспалительных заболеваниях кишечника (клинико-экспериментальное исследование) : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.05. М., 2008. 136 с.

140. Мохаммед З. Д. Пероксидное окисление, антиоксидантная система и оксид азота при ожоговой травме : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Воронеж. 2004. 200 с.
141. Перетягин С. П., Костина О. В. Состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза, прооксидантного и антиоксидантного потенциалов в динамике ожоговой болезни. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011. № 4. С. 33–35.
142. Microstructural modeling of thermal conductivity of high burn-up mixed oxide fuel / M. Teague et al. *Journal of Nuclear Materials*. 2014. № 444. P. 161–169.

5.2

143. Никулин А. А., Хачатрян Н. Н. Далбаванцин в терапии инфекций кожи и мягких тканей. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018. Т. 20, № 4. С. 320–340.
144. Голуб А. В., Привольнев В. В. Местная антибактериальная терапия хирургических инфекций кожи и мягких тканей в амбулаторных условиях: слагаемые успеха. *Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б. М. Костюченка*. 2014. № 1. С. 33–38.

АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ

145. Острая токсичность гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида / С. Н. Лебедева и др. *Acta biomedica scientifica*. 2020. Т. 5, № 4. С. 103–107.
146. Колодій Г. В. Токсикологічне обґрунтування застосування дезінфікуючого засобу на основі солей полігексаметиленгуанідину : автореф. дис. канд. вет. наук : 16.00.04 / Колодій Галина Володимирівна ; Львів. нац. ун-т вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Ґжицького. Львів, 2018. 20 с.
147. Соседова Л. М., Вокина В. А., Кондратьев В. В., Ермолович Е. В., Березин А. А. Оценка биологических свойств концентрата наноструктур на основе диоксида кремния. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2017. Т. 2, № 4. С. 97–100.
148. Коцюмбас І. Я., Патерега І. П., Жила М. І., Кисців О. С., Кабанець А. С. Дослідження сорбенту на основі діоксиду кремнію: визначення параметрів

токсичності. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*. 2018. Вип. 19, № 2. С. 178–182.

149. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. Параметры острой токсичности. / Н. В. Зайцева и др. *Вопросы питания*. 2014. Т. 83, № 2. С. 42–49. doi:10.24411/0042-8833-2014-00018

150. Геращенко И. И., Крупская Т. В., Туров В. В. Сравнительная оценка способности энтеросорбентов связывать вещества белковой природы. *Современная фармация*. 2018. № 7. С. 28–34.

151. Antimicrobial activity of polyhexamethylene guanidine phosphate in comparison to chlorhexidine using the quantitative suspension method / A. Vitt et al. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2014. Vol. 14, №36. URL: <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0097-x>

152. Impact of Exposure of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* to Polyhexanide / A. Renzoni et al. *In Vitro and In Vivo. Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2017. Vol. 61, № 10. P. e00272-17.

153. Koburger T., Hübner N.-O., Braun M., Siebert J., Kramer A. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010. Vol. 65, № 8. P. 1712–1719.

154. Decolonization potential of 0.02 % polyhexanide irrigation solution in urethral catheters under practice-like in vitro conditions / F. Brill et al. *BMC urology*. 2018. Vol. 18, № 1. P. 49.

155. Еньчева Ю. А., Кузнецова М. В., Рубцова Е. В., Афанасьевская Е. В., Самарцев В. А. Влияние хлоргексидина и «Пронтосана» на биопленку, сформированную *Staphylococcus aureus* (исследование in vitro). *Пермский медицинский журнал*. 2015. Т. 32, № 1. С. 84–91.

156. Кузнецова М. В., Еньчева Ю. А., Самарцев В. А. Влияние хлоргексидина и Пронтосана на смешанную и моновидовые биоплёнки, образованные

Staphylococcus aureus и *Pseudomonas aeruginosa*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2015. Т. 60, № 11–12. С. 15–22.

157. Чувствительность к антисептикам биоплёночных форм *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из ожоговых ран / С. В. Андреева и др. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018. Т. 20, № 3. С. 249–256.

158. Garcia I. M., Rodrigues S. B., Leitune V. C. B., Collares F. M. Antibacterial, chemical and physical properties of sealants with polyhexamethylene guanidine hydrochloride. *Braz. Oral Res.* 2019. Vol. 33. P. e019.

159. Walczak M., Brzezinska M. S., Richert A., Kalwasińska A. The effect of polyhexamethylene guanidine hydrochloride on biofilm formation on polylactide and polyhydroxybutyrate composites. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2015. Vol. 98. P. 1–5.

160. Yan Mei C. Y. X. L. A simple approach to constructing antibacterial and anti-biofouling nanofibrous membranes. *Biofouling*. 2014. Vol. 30. P. 313–322.

161. Миронченко С. И., Звягинцева Т. В. Метаболиты оксида азота при ультрафиолетиндуцированных повреждениях кожи морских свинок. *Актуальні проблеми сучасної медицини : вісн. Укр. мед. стомат. акад.* 2014. № 3, т. 14. С. 231–234.

162. Миронченко С. И., Звягинцева Т. В. Про- и антиоксидантные механизмы ультрафиолетиндуцированных повреждений кожи и их экспериментальная терапия. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2016. Т. 44, № 4. С. 133–137.

163. A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression / J. W. Shupp et al. *Journal of burn care & research*. 2010. Vol. 31, № 6. P. 849–873.

164. Динамика уровня провоспалительных цитокинов при ожоговой травме у крыс под влиянием керамидов и их комбинаций с декспантенолом / Я. А. Бутко и др. *Вестник фармації*. 2015. Т. 67, № 1. С. 101–106.

165. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis / Noh, M. K. et al. *Experimental and therapeutic medicine*. 2013. Vol. 6, № 3. P. 847–851.

166. Mohammed A. A., Muheel M. H., Mujbel F. A. Microbial drug resistance and potential immune response by IL7 and IL10 in burn patients with septic and death cases. *International Journal of Advanced Research*. 2014. Vol. 2, Issue 4. P. 286–292.
167. Effects of nitric oxide on skin burn wound healing / S. Zhu et al. *Journal of burn care & research*. 2008. Vol. 29. P. 804–814.
168. Звягинцева Т. В., Александрова А. В. Влияние синтетического ингибитора матричных металлопротеиназ доксициклина на состояние процессов про- и антиоксидантной системы при лечении ожоговых ран в эксперименте. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2012. № 2. С. 5–8.
169. Очиров О. С., Разуваева Я. Г., Бадмаев Н. С., Стельмах С. А., Могнонов Д. М. Ранозаживляющее действие гидрогеля на основе полигуанидинов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016. Vol. 1, № 5. P. 117–120.
170. Kramer A., Roth B., Müller G., Rudolph P., Klöcker N. Influence of the antiseptic agents polyhexanide and octenidine on FL cells and on healing of experimental superficial aseptic wounds in piglets. A double-blind, randomised, stratified, controlled, parallel-group study. *Skin Pharmacol Physiol*. 2004. Vol. 17, № 3. P. 141–146. doi: 10.1159/000077241.
171. Feasibility and clinical applicability of polihexanide for treatment of second-degree burn wounds / G. Daeschlein et al. *Skin Pharmacol Physiol*. 2007. Vol. 20. P. 292–296.
172. Guanidine derivative inhibits *C. albicans* biofilm growth on denture liner without promote loss of materials' resistance / I. M. Garcia et al. *Bioactive materials*. Vol. 5, № 2. P. 228–232. doi:10.1016/j.bioactmat.2020.02.007
173. Roth B, Assadian O, Wurmitzer F, Kramer A. Surgical site infections after primary antiseptic cleansing of dirty-contaminated wounds by polihexanide, PVP iodine resp hydrogen peroxide. *GMS Krankenhaushyg Interdiszip*. 2007. Vol. 2. P. 58.
174. Wirksamkeit eines neuartigen Antiseptikum in der Behandlung kontaminierter Weichteilwunden / K. Schmit-Neuerburg et al. *Chirurg*. 2001. Vol. 72. P. 61–71.

175. Roth B., Baltzer K. Preventive intraoperative irrigation in wound management with Lavasept. Report of experiences with 1,610 cases. *Z Unfallchir Versicherungsmed.* 1990. Vol. 83. P. 224–226.

ДОДАТКИ

Додаток 1

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гребельник А. І. Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Nanobiotech – 2015. Молодіжний форум з нанобіотехнологій», 20–21 трав. 2015 р., м. Київ, Україна. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спецвипуск № 2 (87).* – С. 119–120.
2. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О. Дослідження гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. *Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів».* У 2 т., 14–15 берез. 2019 р., м. Харків, Україна. Харків, 2019. Т. 2. С. 87–88.
3. Дорошенко А. І. Вивчення гострої токсичності композиту високодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. *Фармацевтичний журнал.* 2017. № 2. С. 69–76.
4. Дорошенко А. И. Исследование токсичности высокодисперсного кремнезема, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и их композита при однократном пероральном введении самцам мышей. *Рецепт.* 2018. Т. 21. № 1. С. 42–48
5. Дорошенко А. І., Балко О. Б., Воронін Є. П., Дорошенко А. М., Зайченко Г. В. Антимікробна активність *in vitro* нанодисперсного кремнезему і композиту полігексаметиленгуанідину гідрохлориду для лікування місцевих інфекцій (англ.). *Клінічна фармація.* 2019. Т. 23, № 1. С. 30–36.
6. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О. Порівняльні дослідження адсорбуючих властивостей кремнійвмісних сорбентів // *Фітотерапія : часопис.* 2019. № 2. С. 24–29.

7. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В. Дослідження протимікробної дії композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду, *Матеріали III Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Нанотехнології і наноматеріали у фармації та медицині»*. 19 квіт. 2019 р., м. Харків, Україна. Харків, 2019. С. 30.
8. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Суворова З. С., Визначення вивільнення полігексаметиленгуанідину гідрохлориду з композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом, *Матеріали науково-практичної internet-конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації»* 22-23 жовт. 2019 р., м. Харків, Україна. Харків, 2019. С. 302-303.
9. Doroshenko, N. Gorchakova, G. Zaychenko Effect of a nanodispersion silica composite with polyhexamethylene guanidine hydrochloride on immunological indicators and indicators of oxidation and antioxidant homeostasis in rats with thermal burn. *ScienceRise : Pharmaceutical Science*. 2019. № 4 (20). С. 45–52.
10. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О.. Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на рівень метаболітів азоту у щурів з неінфікованим термічним опіком. *Фітотерапія : часопис*. 2019. № 3. С. 10–14.
11. Doroshenko Anna, Gorchakova Nadiya, Zaychenko G. V. Determination of the median lethal dose of highly dispersed silica and polyhexamethylene guanidine hydrochloride composite, 2019, Proceedings of the VII International Conference of European Academy of Sciences & Reserch April – May, 2019, Bonn, Germany.
12. Дорошенко А. І., Зайченко Г. В., Горчакова Н. О.. Вплив композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом на швидкість та морфологічні показники загоєння опікових ран. *Фітотерапія : часопис*. 2020. № 1. С. 8–11.
13. Зайченко Г. В., Дорошенко А. І., Горчакова Н. О., Воронін Є. П. Іноваційні підходи до фармакологічної корекції опікових ран з використанням композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину

гідрохлоридом: *Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 211 – 2019*. Укрмедпатентінформ МОЗ України. Випуск 4 з проблеми «Фармакологія». К., 2019 р. 4 с.

14. Спосіб визначення гострої токсичності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду: пат. на корисну модель Україна № 124891 U / І. С. Чекман, Є. П. Воронін, А.І. Дорошенко, А.М. Дорошенко; заявл. 16.11.2017; опубл. 24.04.2018, Бюл. № 8.

15. Спосіб визначення протимікробної активності композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду: пат. на корисну модель Україна № 124890 U / І. С. Чекман, Є. П. Воронін, А.І. Дорошенко, А.М. Дорошенко; заявл. 16.11.2017; опубл. 24.04.2018, Бюл. № 8.

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth Nanobiotech – 2015», молодіжному форумі з нанобіотехнологій», 20–21 травня 2015 року, м. Київ, Україна; «Annual Young Medical Scientists' Conference 2017», 27–29 жовтня 2017 року, м. Київ, Україна; X Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології: «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини», 7–8 листопада 2019 року, м. Вінниця, Україна; II Міжнародному конгресі «Раціональне застосування антибіотиків у сучасному світі. Antibiotic resistance STOP!», 15–16 листопада 2019 року, м. Київ, Україна; науковому симпозиумі з міжнародною участю «Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я», 22 листопада 2019 року, м. Київ, Україна.