

## Экспериментальные исследования

УДК 617.713-001.31-03.93:[615.361:615.454.1-091.8-07+577.11-092.9

### Сравнительная оценка влияния гелей "Офтокорд" и "Актовегин" на регенеративные процессы после механической травмы роговицы кролика

Н. Н. Моисеева, канд. биол. наук, А. К. Гулевский, доктор биол. наук, профессор,  
О. Л. Горина, канд. биол. наук, З. А. Сейдалиева, аспирант

Институт проблем криобиологии  
и криомедицины НАН Украины  
Харьков (Украина)

E-mail: ukrainanataliy@gmail.com

***Актуальность.** При механическом повреждении роговицы в области дефекта происходит нарушение синтеза изоформ коллагена и инициация апоптоза клеток соединительной ткани, что может привести к трансформации грануляционной ткани в фиброзную. Для предотвращения таких изменений необходимо регулировать процессы заживления в поврежденной роговице с помощью лекарственных препаратов, действие которых направлено на восстановление её полноценной структуры.*

***Цель.** Изучение влияния глазного геля «Офтокорд» в сравнении с гелем "Актовегин" на динамику образования коллагена I и III типов и процессы апоптоза в роговице после механической травмы.*

***Материал и методы.** Эксперименты выполнены на кроликах (n=36) породы Шиншилла, на роговице которых воспроизводили модель стандартного дозированного дефекта. В течение 21 дня на область поврежденной роговицы одной группе животных наносили гель «Офтокорд», на основе низкомолекулярной фракции кордовой крови человека; группе сравнения – гель «Актовегин», контрольной группе – гель, не содержащий биологически активное вещество. На контрольные сутки эксперимента проводили энуклеацию глазных яблок для гистологических и гистохимических исследований. Исследование состава низкомолекулярной фракции проводили в сравнительном аспекте с «Актовегином».*

***Результаты.** Установлено, что применение геля «Офтокорд» предотвращает развитие апоптоза и способствует нормализации дисбаланса в соотношении вновь синтезируемых изоформ коллагена в роговице после повреждения. Для выяснения механизма влияния геля «Офтокорд» на метаболизм соединительной ткани был изучен состав низкомолекулярной (до 5 кДа) фракции кордовой крови человека в сравнении с препаратом «Актовегин». Выявлено отличие по количественному и качественному составу веществ во фракции и «Актовегине»; в наибольшей степени эта разница была значимой по содержанию глюкуроновой кислоты и гликопротеинов, оказывающих доминирующее влияние на метаболизм соединительной ткани.*

***Вывод.** Применение геля «Офтокорд» способствовало нормализации синтеза коллагена и снижению процента апоптотических клеток в роговице на протяжении всего периода наблюдения в сравнении с остальными группами. Сравнительный анализ состава низкомолекулярной фракции кордовой крови человека и препарата «Актовегин» выявил существенные отличия в качественном и в количественном спектре компонентов.*

**Ключевые слова:**

регенерация роговицы, апоптоз, коллаген I и III типа, низкомолекулярная фракция кордовой крови человека до 5 кДа, «Актовегин», глазной гель "Офтокорд".

**Актуальность.** Известно, что после повреждения роговицы в области дефекта происходит снижение синтеза коллагена, нарушение соотношения его изоформ и инициация апоптоза клеток соединительной ткани, что может привести к образованию бельма [13]. В связи с этим, на этапе ремоделирования раны для предотвращения трансформации грануляционной ткани в фиброзную необходимо регулировать процессы заживления в поврежденной роговице с помощью лекарственных препаратов, действие которых направлено на восстановление её полноценной структуры. В настоящее время одним из таких препаратов является гель «Актовегин», представляющий собой гемодериват из крови молочных телят. Ранее было показано, что субстанция низкомолекулярной фракции до 5 кДа кордовой крови в инъекционной форме обладает более выраженным ранозаживляющим действием по сравнению с инъекционным препаратом «Актовегин». В связи с этим мы предположили, что создание гелевой формы на основе низкомолекулярной фракции до 5 кДа, выделенной из кордовой крови человека (гель "Офторкорд") [12], будет более эффективно ускорять и способствовать восстановлению полноценной структуры роговицы после механического повреждения.

Исходя из вышесказанного, **целью** настоящей работы было изучение влияния глазного геля «Офторкорд» в сравнении с гелем "Актовегин" на динамику образования коллагена I и III типов и процессы апоптоза в роговице после механической травмы.

#### Материал и методы

Низкомолекулярную (до 5 кДа) фракцию (ФККЧ) получали из криогемолизата кордовой крови человека методом ультрафильтрации [11, 21]. После ультрафильтрации ФККЧ лиофилизировали и вводили в состав геля. В качестве препарата сравнения использовали коммерческие препараты 20% глазной гель и раствор для инъекций в ампулах (40 мг/мл) «Актовегин» фирмы «Nicomed» (Австрия).

Эксперименты выполнены на кроликах (n=36) породы Шиншилла массой 2,2±0,4 кг, на роговице которых воспроизводили модель стандартного дозированного дефекта под местной анестезией с помощью трепана [15]. Контроль дефекта проводился путем окрашивания поверхности роговицы 1% раствором флюоресцеина. После воспроизведения экспериментальной модели животных подразделяли на три группы и на область поврежденной роговицы 4 раза в сутки в течение 21 дня наносили: группа 1 (контроль) – гель-плацебо, не содержащий биологически активное вещество; группа 2 – гель «Офторкорд», содержащий низкомолекулярную (до 5 кДа) фракцию кордовой крови человека; группа 3 – гель «Актовегин». С целью профилактики антибактериальных осложнений во всех экспериментальных группах перед нанесением лечебных гелей на область повреждения

инстиллировали антибиотик левофлоксацин. Отдельная группа 4 – интактные животные, не подвергавшиеся экспериментальным действиям.

Энуклеацию глазных яблок для гистологических и гистохимических исследований [14] проводили по обычной хирургической методике после эвтаназии животных (3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента).

Методом иммуногистофлюоресценции определяли коллаген I и III типов с использованием моноклональных антител (МКА), FITC-меченных к соответствующим типам коллагена, и количество апоптозных клеток, экспрессирующих CD95 (NovocastraLaboratoriesLtd.). В качестве люминесцентной метки использовали F(ab)-2-фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных FITC. Реакцию иммуногистофлюоресценции изучали по методу Brozman [19], регистрацию величин яркости флюоресценции и количественное значение антигена (усл. ед.) проводили по методу Губиной-Вакулик [10].

Исследование содержания эстрадиола, свободного трийодтиронина, кортизола и прогестерона, содержащихся в ФККЧ и препарате сравнения «Актовегин», проводили с использованием закрытой тест-системы (Elecsys) для количественного определения гормонов *in vitro* в биологических жидкостях методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа «ECLIA» на автоматическом анализаторе «Hoffmann-La Roche» Elecsys 1070/2010. Количественное определение микро/макроэлементов и метаболитов (кальций ионизированный, магний, фосфор, цинк, глюкоза, креатинин) проводили с использованием закрытой тест-системы (Elecsys) для количественного определения веществ в биологических жидкостях методом электрохемилюминесцентного анализа на автоматическом биохимическом анализаторе «Hoffmann-La Roche» Elecsys 1070/2010 и Cobas C311. Исследование количества хондроитинсульфатов проводили по методу [2], гликопептидов – по методу С.Я. Штейнберг и Я.Н. Доценко [6]. Количественное определение уроновых кислот исследовали согласно методу [8]. Концентрацию суммарных сульфатированных гликозаминогликанов (ГАГ) определяли по методу [9].

Спектр низкомолекулярных веществ белково-пептидной природы, содержащихся в образцах ФККЧ и «Актовегине», оценивали при помощи жидкостной гель-хроматографии [5] на пластиковой колонке (1,6 x 40 см), заполненной поливиниловым гелем TSKGel Toyopearl 1HW-40 Fine (Toyo Soda, Япония). Объем пробы составлял 0,2 мл, концентрация «Актовегина» и ФККЧ из расчета по сухому весу соответствовала 40 мг/мл в физиологическом растворе. В качестве элюента использовали фосфатно-солевой буфер (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 30 mM, NaCl 100 mM; pH 7,4). Колонку калибровали стандартными маркерными белками: БСА (67 кДа), овальбумин (45 кДа), цитохром с (12,3 кДа), декстран голубой (2000 кДа).

Вся работа с животными проводилась в соответствии с положениями IV Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных целей ETS 123 (1986). Кроликов содержали в стандартных условиях вивария.

Статистическая обработка данных производилась с помощью статистического программного пакета "STATGRAPHIC plus for Windows" версии 2.1 с использованием t-критерия Стьюдента и Манна-Уитни. Экспериментальные данные приведены как среднее арифметическое  $\pm$  среднее квадратическое отклонение [7].

### Результаты и их обсуждение

Иммуногистохимическое исследование роговицы интактных животных выявило оба типа интерстициальных коллагенов: молодой III тип и более зрелый коллаген I типа. Локализация коллагена I и III типов была отмечена преимущественно в собственном веществе роговицы. Необходимо отметить, что в данном случае коллаген III типа преобладал над коллагеном I типа (табл. 1). После механического повреждения в группе контроля содержание коллагенов в области дефекта значительно уменьшалось по сравнению со значениями у интактных животных. В частности, на третьи сутки эксперимента оптическая плотность иммунофлюоресценции коллагена III и I типов в роговице контрольных животных не превышала  $0,112 \pm 0,005$  усл.ед и  $0,042 \pm 0,02$  усл.ед., соответственно. В последующие сроки в строме регенерирующей роговицы было выявлено избыточное накопление коллагена I и III типов

После нанесения на поврежденную роговицу геля «Офторкорд» на всех этапах эксперимента так же, как и в контроле, отмечено преобладание молодого коллагена III типа по отношению к зрелому, однако динамика коллагенообразования кардинально отличалась. В частности, оптическая плотность иммунофлюоресценции коллагена III типа в поврежденной роговице не превышала интактные значения и была достоверно меньше контрольной на протяжении всего периода наблюдения. На 14-е сутки после применения геля «Офторкорд» оптическая плотность коллагена III и I типов в регенерирующей роговице достоверно не отличалась от значений у интактных животных.

После применения геля «Актовегин» динамика образования молодого коллагена в роговице животных не отличалась от контроля. Совершенно иная тенденция была отмечена относительно зрелого коллагена I типа. В частности, на 7-е сутки концентрация коллагена I типа в регенерирующей роговице не отличалась от нормы. Однако, на 21-е сутки после механического повреждения роговицы данный показатель достигал значения  $0,079 \pm 0,004$ , что достоверно ( $p < 0,05$ ) превышало значения в интактной группе.

Таким образом, применение геля «Офторкорд» способствовало нормализации синтеза коллагенов I и III типов в области дефекта роговицы. После при-

менения глазного геля «Актовегин» в поврежденной роговице было выявлено избыточное коллагенообразование, что в более отдаленные сроки эксперимента может приводить к фиброзу роговицы и потере зрения.

В следующей серии экспериментов было изучено влияние ФККЧ в составе глазного геля «Офторкорд» на выраженность апоптозных изменений в регенерирующей роговице после механического повреждения. В результате проведенных исследований было установлено, что в лимбальной зоне и в строме роговицы у интактных животных выявлялись немногочисленные, светящиеся в люминесцентном микроскопе клетки, экспрессирующие CD95 (рис. 1), интенсивность свечения клеток расценивалась как умеренная. Из таблицы 3 видно, что в интактной группе животных количество клеток, экспрессирующих CD95, не превышало  $2,03 \pm 0,02\%$ . В контрольной группе на третьи сутки после механического повреждения роговицы количество апоптозных клеток значительно увеличилось (табл. 1).

После нанесения на область повреждения геля, содержащего ФККЧ, количество апоптозных клеток на 3, 7 и 14 сутки достоверно ( $p < 0,05$ ) превышало интактные значения, но при этом было меньше контрольных данных ( $p < 0,05$ ). На 21-е сутки количество клеток, экспрессирующих CD95, в области лимба и зрачка роговицы после нанесения геля, содержащего ФККЧ, не отличалось от интактных значений. После применения геля «Актовегин» количество апоптозных клеток на протяжении всего периода наблюдения было значительно меньше по сравнению с контролем. Тем не менее, на 21-е сутки снижения данного показателя до значений группы интактных животных отмечено не было.

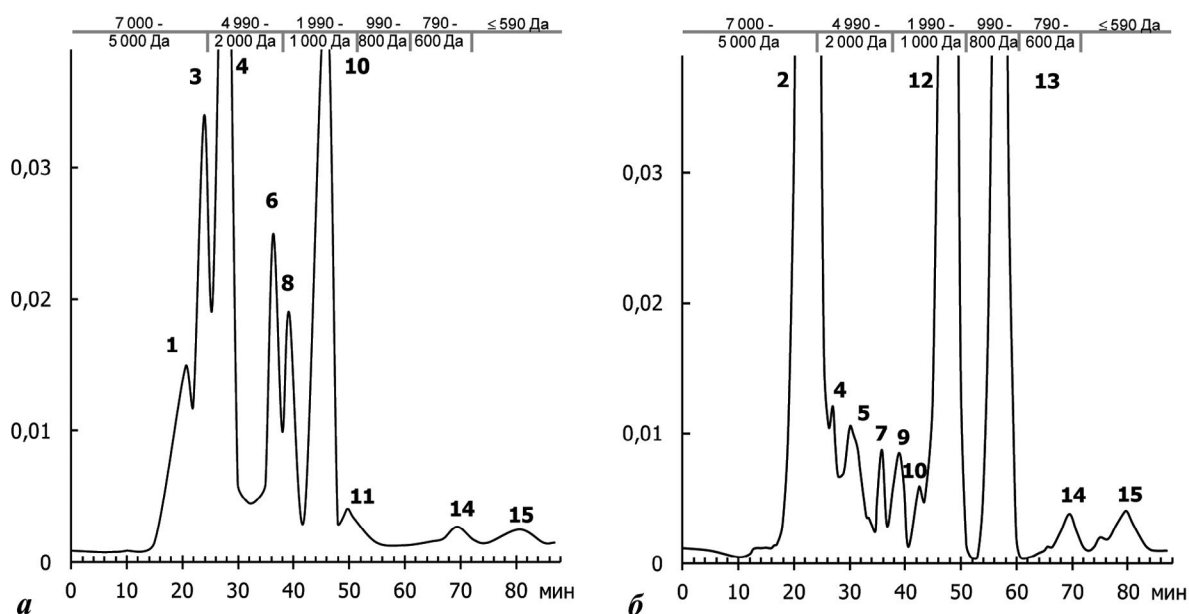
Таким образом, в проведенных исследованиях было установлено, что применение глазного геля «Офторкорд» предотвращает развитие апоптоза и дисбаланса в соотношении вновь синтезируемых изоформ коллагенов I и III типов, блокируя избыточное рубцевание в поврежденной роговице [4].

Для выяснения механизма влияния геля «Офторкорд» на процессы коллагенообразования был изучен состав его главного действующего вещества – низкомолекулярной (до 5 кДа) фракции кордовой крови человека в сравнении с препаратом «Актовегин», представленным в виде раствора для инъекций в концентрации 40 мг/мл сухого вещества. Спектр компонентов белково-пептидной природы ФККЧ и препарата сравнения оценивали с использованием гельпроникающей хроматографии. В ходе сравнительного анализа полученных хроматографических профилей обнаружены существенные отличия в расположении выявленных пиков и количественном содержании присутствующих в них веществ белково-пептидной природы с молекулярной массой от 0,3 до 5 кДа (рис. 1). Из представленных хроматограмм следует, что относительные площади пиков низкомолекулярной фракции кордовой крови человека

**Таблица 1.** Оптическая плотность свечения коллагена III типа, коллагена I типа и апоптозный индекс клеточных элементов роговицы в области зрачка глаза экспериментальных животных (усл.ед.)

Группа животных	Сроки эксперимента, сутки			
	3	7	14	21
<b>Оптическая плотность свечения коллагена III типа</b>				
Интакт	0,123±0,003			
Контроль	0,112±0,005 #	0,134±0,006 # §	0,139±0,003 #	0,135±0,005 #
«Офтокорд»	0,094±0,005 #	0,111±0,006 * # §	0,121±0,002 * §	0,124±0,003 * §
«Актовегин»	0,097±0,006 #	0,125±0,003 *	0,135±0,003 #	0,142±0,003 #
<b>Оптическая плотность свечения зрелого коллагена I типа</b>				
Интакт	0,068±0,003			
Контроль	0,042±0,003 #	0,046±0,002 # §	0,056±0,003 §	0,089±0,004 §
«Офтокорд»	0,044±0,002 #	0,055±0,003 * #	0,069±0,003 *	0,063±0,003 * §
«Актовегин»	0,046±0,003#	0,057±0,003 * #	0,072±0,003 *	0,079±0,004 #
<b>Количество клеток, экспрессирующих на своей мембране CD95</b>				
Интакт	2,03±0,02			
Контроль	5,61±0,03 # §	6,02±0,06 # §	5,13±0,07 #	4,93±0,05 # §
«Офтокорд»	3,91±0,05 * #	4,07±0,03 * #	3,55±0,04 * #	2,12±0,01 *
«Актовегин»	3,96±0,02* #	4,99±0,08 * #	4,23±0,05 * #	3,00±0,04 *

Примечания: \* – отличия достоверны в сравнении со значением соответствующего показателя в контроле; # – отличия достоверны в сравнении со значением соответствующего показателя в группе интактных животных; § – отличия достоверны в сравнении со значением соответствующего показателя в группе животных, которым на область дефекта роговицы наносили гель «Актовегин». Степень достоверности различий во всех вариантах составляла  $p < 0,05$ .



**Рис. 1.** Типичные хроматограммы низкомолекулярной (до 5 кДа) фракции кордовой крови человека (а) и препарата «Актовегин» (б) на колонке с поливиниловым гелем TSK Toyoreas 1HW-40 Fine. По оси абсцисс – время удерживания (минуты); по оси ординат – поглощение при 260 нм (А 260); 1-15 – выявленные пики.

и «Актовегина» значительно отличаются. В целом, хроматографический профиль ФККЧ содержит 10 основных пиков, в том числе не характерных для препарата «Актовегин» – это пики 2, 5, 7, 9, 12, 13. Значительная часть компонентов ФККЧ находится в пике 2 (53,38%), молекулярная масса которых лежит в пределах 5-5,2 кДа. Данный пик не был выявлен в препарате сравнения. Основную часть веществ белково-пептидной природы «Актовегина» содержит пик 4 (34,98%), выявленный также в ФККЧ (1,11%). Молекулярная масса этих веществ находится в пределах 4-4,2 кДа.

Полученные результаты указывают на то, что в качественном отношении низкомолекулярная фракция кордовой крови человека и препарат «Актовегин» различны, однако обнаруженные различия не исключают того, что они имеют общий активный компонент. Можно предположить, что в проявлении биологической активности каждого препарата определенную роль могут играть не только компоненты, которые преобладают в составе, но и вещества, представленные в незначительном количестве [22]. Нельзя также исключать суммарный эффект влияния всех низкомолекулярных компонентов, входящих в состав геля «Офторкорд», как и препарата «Актовегин».

Результаты определения некоторых компонентов в составе ФККЧ в сравнении с препаратом «Актовегин» представлены в табл. 2. Как видно из таблицы, установлена существенная количественная разница между препаратами по содержанию четырех исследованных в данной работе гормонов. Так, во фракции до 5 кДа из кордовой крови человека содержание низкомолеку-

**Таблица 2.** Сравнительный анализ состава низкомолекулярной фракции до 5 кДа из кордовой крови человека и препарата «Актовегин»

Компонент	ФККЧ (1 мг/мл)	«Актовегин» (1 мг/мл)
Эстрадиол, пг/мл	4,650	1,064
Трийодтиронин свободный, пкмоль/л	1,130	0,023
Кортизол, нмоль/л	3,430	0,341
Прогестерон, нг/мл	0,129	<0,0005
Кальций ионизированный, ммоль/л	0,145	<0,002
Магний, ммоль/л	0,130	0,004
Фосфор, ммоль/л	0,100	0,102
Цинк, мкмоль/л	2,115	<0,002
Глюкоза, ммоль/л	0,100	0,305
Креатинин, мкмоль/л	7,500	8,225
Хондроитинсульфаты общие, мг/л	0,850	-
Уроновые кислоты, мг/л	4,890	1,295
Гликопротеины, мг/л	0,750	30,000
Суммарные ГАГ, Ед.	0,004	-

лярного гормона эстрадиола составляет 4,650 пг/мл, а в препарате «Актовегин» – 1,064 пг/мл. Эстрадиол является наиболее сильнодействующим природным эстрогеном и продуцируется в основном плацентой и яичниками. По-видимому, источником получения ФККЧ и можно объяснить превалирование данного гормона [1]. Содержание прогестерона, который также относится к группе стероидных гормонов, в низкомолекулярной фракции составляет 0,129 нг/мл, тогда как в «Актовегине» – менее 0,0005 нг/мл. Концентрация свободного трийодтиронина в ФККЧ в 49 раз превышает таковую в препарате сравнения. Содержание низкомолекулярного глюкокортикоида кортизола в ФККЧ и «Актовегине» существенно отличается и составляет 3,430 и 0,341 нмоль/л, соответственно. Согласно полученным результатам, в составе низкомолекулярной фракции были выявлены ионы кальция (ионизированный кальций), магния, фосфора и цинка, являющиеся регуляторами клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза, синтеза нуклеиновых кислот и белков, энергетического обмена [17, 18, 20]. При этом количество ионов кальция, магния и цинка значительно больше, чем в препарате сравнения. В то же время количество ионов фосфора и в ФККЧ, и в «Актовегине» находится на одном уровне.

В ФККЧ, в отличие от «Актовегина», определено наличие общих хондроитинсульфатов и суммарных ГАГ, которые, уменьшая воспалительный ответ на операционную травму, модулируют процессы заживления без развития фиброза [16]. Концентрация уроновой кислоты с примесями гексоз, участвующих в метаболических путях синтеза важнейших для процессов репаративной регенерации биологически активных молекул, в ФККЧ в 4 раза превышала данный показатель в «Актовегине». Концентрация гликопротеинов в препарате сравнения составляет 30,000 мг/л, что достоверно выше значений данного показателя в ФККЧ (0,750 мг/л). Гликопротеинам, которые выявляются в крови как ответ организма на действие стрессоров и развитие патологических процессов, свойственна иммуномодулирующая и антиоксидантная активность, а также способность ингибировать протеиназы [3].

Таким образом, проведенный сравнительный анализ состава низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) из кордовой крови человека и препарата «Актовегин» показал существенные отличия – как в качественном, так и в количественном отношении. Выявленные различия по содержанию уроновой кислоты и гликопротеинов, оказывающих доминирующее влияние на метаболизм соединительной ткани, позволяют предположить, что характер действия гелей «Офторкорд» и «Актовегин» на процессы коллагенообразования в поврежденной роговице может кардинально отличаться.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что одним из перспективных направлений в офтальмологии для ускорения регенерации роговицы после механического повреждения и предотвраще-

ния образования бельма, является исследование применения препаратов на основе естественных пептидных биорегуляторов, в частности низкомолекулярных фракций кордовой крови.

### Выводы

1. После нанесения на область повреждения геля, содержащего ФККЧ, процент количества клеток, экспрессирующих на своей мембране CD95, на протяжении всего периода наблюдения был меньше контрольных значений ( $p < 0,05$ ), что может быть следствием преобладания процессов восстановления.

2. Сравнительный анализ состава низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) из кордовой крови человека и препарата «Актовегин» выявил существенные отличия в качественном и количественном спектре компонентов, в наибольшей степени по содержанию уриновой кислоты и гликопротеинов, что объясняет отличия в процессах коллагенообразования после применения гелей.

3. Нормализация синтеза коллагенов I и III типов в области дефекта роговицы при применении геля "Офтокорд" в более ранние сроки по сравнению с гелем "Актовегин" указывает на возможность предотвращения образования бельма в области повреждения в более отдаленные сроки после заживления.

### Литература

- Биохимия : учебник для мед. вузов / Северин С. Е., Глухов А. И., Голенченко В. А. [и др.] ; под ред. чл.-корр. РАН, проф. Е.С. Северина. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 660 с.
- Біохімічні методи дослідження крові тварин : Методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій вет. медицини України, слухачів підвищення кваліфікації та студентів факультету ветеринарної медицини / Левченко В. І., Новожицька Ю. М., Сахнюк В. В. [та ін.] – К., 2004. – 105 с.
- Зорин Н. А.** Роль альфа-2- макроглобулина при онкологических заболеваниях / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина // Вопросы онкологии. – 2004. – № 5. – С. 515-519.
- Изучение влияния низкомолекулярной фракции (до 5кДа) кордовой крови в составе геля на регенерацию роговицы после механического повреждения / Ю. А. Демин, А. К. Гулевский, Н. Н. Моисеева [и др.] // Світ медицини та біології. – 2013. – № 3. – С. 7-11.
- Исследование уровня пептидов "средних молекул" в плазме крови больных с различными формами острых нарушений мозгового кровообращения / А. М. Белоус, А. Н. Мохамед, А. Ю. Семенченко [и др.] // Доповіді НАН України. – 1997. - № 8. – С. 177-181.
- Колб В. Г., Камышников В. С.** Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 336 с.
- Лапач С. Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – 2-е изд., перераб. и доп. – К. : Морион, 2001. – 408 с.
- Медицинские лабораторные технологии. Руководство по клинической лабораторной практике : [в 2-х т.] / [Под ред. А. И. Карпищенко]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т.2. – 2013. – 792 с.
- Пат. на корисну модель 29198 Україна, МПК G01N33/48. Спосіб визначення фракцій сульфатованих гексозаміногліканів / Леонтьєва Ф. С., Філіпенко В. А., Тимошенко О. П. [та ін.] ; заявник ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Сітенка АМНУ», Харківська Державна Зооветеринарна Академія. – № u200708505 ; заявл. 24.07.07 ; опубл. 10.01.08, Бюл. № 1.
- Пат. на корисну модель 46489 Україна, МПК G01N33/00. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Губіна-Вакулик Г. І., Сорокіна І. В., Марковський В.Д. [та ін.] ; заявник Харківський Національний Медичний Університет. – № u200906730 ; заявл. 26.06.09 ; опубл. 25.12.09, Бюл. № 4.
- Пат. на корисну модель 69652 Україна, МПК A61K 35/14. Спосіб отримання низькомолекулярної фракції із крові великої рогатої худоби / Гулевський О. К., Моисеева Н. М., Абакумова О. С. [та ін.] ; заявник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. – № u201112006; заявл. 12.10.11; опубл. 10.05.12, Бюл. № 9.
- Пат. на корисну модель 91142 Україна, МПК A61F 9/01, A61P 27/02. Засіб «Офтокорд» для лікування дефектів рогівки після механічного ушкодження / Гулевський О. К., Дьомін Ю. А., Сейдалієва З. А. [та ін.] ; заявник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. – № u201315493 ; заявл. 30.12.13; опубл. 25.06.14, Бюл. № 12.
- Петров С. Ю.** Современная концепция избыточного рубцевания в хирургии глаукомы / С. Ю. Петров, Д. М. Сафонова // Офтальмология. – 2015. – № 4. – С. 9-17.
- Пирс Э.** Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Эверсон Пирс ; [Под ред. В. В. Португалова]. – М.: Изд. иностранной литературы, 1962. – 962 с.
- Халимов А.Р.** Средство для диагностики травм и заболеваний роговицы / А. Р. Халимов, А. Э. Бабушкин // Вестник ОГУ. – 2009. – № 12. – С. 151-152.
- Експериментальні та клінічні дослідження дренажа коллагенового для антиглаукоматозних операцій / С. И. Анисимов, С. Ю. Анисимова, Е. В. Ларионов [и др.] // Клиническая офтальмология. – 2006. – № 2. – С. 73-76.
- Alam S.** Cellular mechanisms of zinc dysregulation: a perspective on zinc homeostasis as an etiological factor in the development and progression of breast cancer / S. Alam, S. L. Kelleher // Nutrients. – 2012. – V. 4. – P. 875-903.
- Berndt T.** Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis / T. Berndt, R. Kumar // Physiology (Bethesda). – 2009. – V. 24. – P. 17-25.
- Brozman M.** Iramunohistochemical analysis of formalaldehyde- and trypsin- or pepsin-treated material // Acta Histochem. – 1978. - V. 63. – P. 251-260.
- Castiglioni S.** Magnesium and cancer: a dangerous liason / S. Castiglioni, J. A. M. Maier // Magnes. Res. – 2011. – V. 24. – P. s92-s100.
- Gulevsky A. K.** Influence of low-molecular (below 5 kDa) fraction from cord blood and actovegin on phagocytic activity of frozen-thawed neutrophils / A. K. Gulevsky, N. N. Moiseyeva, O. L. Gorina // CryoLetters. – 2011. – № 2. – P.131–140.
- Very low-dose tolerance with nucleosomal peptides controls lupus and induces potent regulatory T cell subsets / H. K. Kang, M. A. Michaels, B. R. Berner, S. K. Datta // J. Immunol. – 2005. – V.174. – P. 3247-3255.

Поступила 23.03.2017

## Порівняльна оцінка впливу гелів "Офтокорд" та "Актовегін" на регенеративні процеси після механічної травми рогівки кролика

Моїсєєва Н. М., Гулевський О.К., Горіна О.Л., Сейдалієва З. А.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків (Україна)

**Актуальність.** При механічному ушкодженні рогівки в області дефекту відбувається порушення синтезу ізоформ колагену та ініціація апоптозу клітин сполучної тканини, що може привести до трансформації грануляційної тканини у фіброзну. Для попередження таких змін необхідно регулювати процеси загоєння у пошкодженій рогівці за допомогою лікарських препаратів, дія яких спрямована на відновлення її повноцінної структури.

**Мета.** Вивчення впливу очного гелю «Офтокорд» у порівнянні з гелем "Актовегін" на динаміку утворення колагену I та III типів та процеси апоптозу у рогівці після механічної травми.

**Матеріал та методи.** Експерименти виконані на кроликах ( $n=36$ ) породи Шинишля, на рогівці яких відтворювали модель стандартного дозованого дефекту. Протягом 21 дня на область пошкодженої рогівки одній групі тварин наносили гель «Офтокорд», на основі низькомолекулярної фракції кордової крові людини, групі порівняння – гель «Актовегін», контрольній групі – гель, що не містить біологічно активних речовин. На контрольну добу експерименту проводили енуклеацію очних яблук для гістологічних та гістохімічних досліджень. Дослідження складу низькомолекулярної

фракції проводили у порівняльному аспекті з «Актовегіном».

**Результати.** Встановлено, що застосування гелю «Офтокорд» запобігає розвитку апоптозу та сприяє нормалізації дисбалансу у співвідношенні ізоформ колагену, що знов синтезуються, в рогівці після пошкодження. Для з'ясування механізму впливу гелю «Офтокорд» на метаболізм сполучної тканини в роботі було вивчено склад низькомолекулярної (до 5 кДа) фракції кордової крові людини в порівнянні з препаратом «Актовегін». Виявлено відмінності у кількісному та якісному складі речовин у фракції й «Актовегіні»; найбільшою мірою ця різниця була значною за вмістом глюкуронової кислоти та глікопротеїнів, що надає домінуючий вплив на метаболізм сполучної тканини.

**Висновок.** Використання гелю «Офтокорд» сприяло нормалізації синтезу колагену та зниженню відсотка апоптотичних клітин в рогівці протягом усього періоду спостереження в порівнянні з іншими групами. Порівняльний аналіз складу низькомолекулярної фракції кордової крові людини та препарату «Актовегін» виявив суттєві відмінності у якісному та кількісному спектрі компонентів.

**Ключові слова:** регенерація рогівки, апоптоз, колаген I и III типа, низькомолекулярна фракція кордової крові людини до 5 кДа, «Актовегін», очний гель "Офтокорд"