

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКАМЕРНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ПЛЁНОК ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ В ПЛАЗМЕ, НА ПРОТЕКАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ *IN VIVO* БУЛЛЁЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ

Е.О. ФИЛИППОВА^{1,2,3}, Н.М. ИВАНОВА⁴, В.Ф. ПИЧУГИН⁴

¹ Лаборатория биогибридных материалов, Томский политехнический университет, Томск, Российская Федерация

² Кафедра офтальмологии, Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

³ Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

⁴ Научно-исследовательская школа высокоэнергетических процессов, Томский политехнический университет, Томск, Российская Федерация

Цель: определить влияние внутрикамерной имплантации плёнок полимолочной кислоты (ПМК), модифицированных в низкотемпературной плазме атмосферного давления, на протекание индуцированной *in vivo* буллёзной кератопатии (БК).

Материал и методы: эксперименты *in vivo* были выполнены на 14 кроликах породы *Sylvilagus bachmani*, которые были поделены на 4 группы животных: интактная; группа модели заболевания; группа животных с индуцированной БК и после курса консервативного лечения; группа животных с индуцированной БК, после имплантации в переднюю камеру обработанных в плазме плёнок ПМК и консервативного курса лечения.

Результаты: согласно полученным данным, в группе животных с имплантированной в переднюю камеру плёнкой ПМК после плазменного воздействия образуются новые сосуды, и инфильтрируются ближе к задней пограничной мембране лейкоциты удельным объёмом не более 3,7%. Лейкоцитарная инфильтрация, представленная лимфоцитами и тучными клетками, является реакцией роговицы на искусственный материал, а также протекание первичной альтерации – воспалительного процесса вследствие индуцирования заболевания. Электронно-микроскопические данные (в цитоплазме лимфоцитов множество полисом и микровезикул) свидетельствуют об активной деятельности клеток иммунной защиты. Появления сосудов – ещё один признак течения воспаления в роговой оболочке, вызванного БК. Причём, сосуды объёмом до 6% встречались во всех группах с индуцированным заболеванием, что свидетельствует об отсутствии влияния имплантации материала на васкулогенез.

Заключение: плёнки на основе ПМК обладают свойствами, близкими к гидрофобным, воздействие плазмы уменьшает краевой угол смачивания и увеличивает значения поверхностной энергии в большей мере за счёт полярной составляющей, приближая свойства материала к гидрофильным. Имплантация плёнок ПМК, обработанных плазмой и простерилизованных γ -излучением, в переднюю камеру глаза при индуцированной БК не усугубляет процесс заболевания и может быть принят в дальнейшую разработку материала для создания из него роговичного имплантата.

Ключевые слова: буллёзная кератопатия, плёнки полимолочной кислоты, роговица, биodeградируемые материалы, полимеры.

Для цитирования: Филиппова ЕО, Иванова НМ, Пичугин ВФ. Влияние внутрикамерной имплантации плёнок полимолочной кислоты, модифицированных в плазме на протекание индуцированной *in vivo* буллёзной кератопатии. *Вестник Авиценны*. 2021;23(1):32-8. Available from: <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2021-23-1-32-38>

EFFECT OF INTRACAMERAL IMPLANTATION OF PLASMA-MODIFIED POLYLACTIC ACID FILMS ON THE COURSE OF *IN VIVO*-INDUCED BULLOUS KERATOPATHY

Е.О. FILIPPOVA^{1,2,3}, N.M. IVANOVA⁴, V.F. PICHUGIN⁴

¹ Biohybrid Materials Laboratory, Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

² Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

³ Department of Histology, Cytology and Embryology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

⁴ Research School of High-Energy Processes, Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

Objective: To determine the effect of intracameral implantation of polylactic acid (PLA) films modified in low-temperature atmospheric pressure plasma on the course of *in vivo*-induced bullous keratopathy (BK).

Methods: *In vivo* experiments were performed on 14 *Sylvilagus bachmani* rabbits divided into 4 groups: intact; a disease model group; a group of animals with induced BK and after a course of conservative treatment; a group of animals with induced BK, after implantation of PLA films into the anterior chamber and conservative treatment.

Results: According to the data obtained, in the group of animals with a PLA film implanted into the anterior chamber, after plasma exposure, new vessels are formed, and leukocytes with a specific volume of no more than 3.7% are infiltrated closer to the posterior boundary membrane. Leukocyte infiltration, represented by lymphocytes and mast cells, is the reaction of the cornea to artificial material, as well as the course of the primary alteration – the inflammatory process due to the induction of the disease. Electron microscopic data (there are many polysomes and microvesicles in the cytoplasm of lymphocytes) indicate the intensified activity of immune defense cells. The appearance of blood vessels is another sign of the course of inflammation in the cornea, caused by BK. Moreover, vessels with a volume of up to 6% were found in all groups with induced disease, which indicates the absence of the effect of material implantation on vasculogenesis.

Conclusions: Films based on PLA have properties close to hydrophobic, the effect of plasma decreases the contact angle and increases the values of surface energy to a greater extent due to the polar component, bringing the properties of the material closer to hydrophilic. Implantation of PLA films treated with plasma and sterilized by γ -radiation into the anterior chamber of the eye in induced BK does not aggravate the disease process and can be taken into the further development of the material for creating a corneal implant from it.

Keywords: Bullous keratopathy, polylactic acid films, cornea, biodegradable materials, polymers.

For citation: Filippova EO, Ivanova NM, Pichugin VF. Vliyanie vnutrikamernoy implantatsii plyonok polimolochnoy kisloty, modifitsirovannykh v plazme na protokanie indutsirovannoy *in vivo* bullyoznoy keratopatii [Effect of intracameral implantation of plasma-modified polylactic acid films on the course of *in vivo*-induced bullous keratopathy]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2021;23(1):32-8. Available from: <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2021-23-1-32-38>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных направлений в лечении буллёзной кератопатии (БК) является использование полимерных плёнок. Особый интерес представляют биodeградируемые материалы и мультипотентные клетки, способные заместить утраченный в ходе заболевания пул эндотелиоцитов роговицы, купировать её отёк, воспалительные явления и восстановить её прозрачность. Роль биodeградируемого полимера состоит в формировании временной подложки для подсаженной на неё культуры клеток. Однако остаются открытыми вопросы выбора нужного полимера и реакции организма на него, в частности – роговицы.

Полимо́лочная кислота (ПМК) широко распространена в медицинских приложениях: для тканевой инженерии [1], в качестве подложек, микросфер и скэффолдов для доставки и высвобождения лекарств [2], а также для производства нитей и штифтов [3]. Дegrадация указанного полимера *in vitro* в основном происходит путём гидролитического расщепления, а *in vivo* важную роль играют ферменты в иницировании процесса деградации. Продукты разложения ПМК являются нетоксичными и устраниаются в виде CO₂ и воды по циклу Кребса [4]. Хотя изделия из биodeградируемых материалов, в том числе из ПМК, имеют чаще форму микросфер, стержней и скэффолдов [5, 6], использование тонких плёнок может иметь больший интерес в офтальмологии для создания роговичного имплантата.

Существуют различные методики создания тонких биodeградируемых плёнок, из которых широко используется метод полиливания из растворов [7], так как позволяет получать плёнки определённой толщины. Данный способ имеет ряд особенностей, главной из которых является различная шероховатость сторон [8]. Несмотря на преимущества данного материала, имеется ряд недостатков, таких как гидрофобность и низкая энергия поверхности, что может резко ограничивать применение полимера в качестве подложки клеточных культур и роговичного имплантата. Одним из решений данной проблемы может быть использование низкотемпературной плазмы атмосферного давления. К выбору метода стерилизации тонких плёнок ПМК также нужно подходить аккуратно, так как велика вероятность потери приобретенных свойств в процессе стерилизации. Одним из привлекательных методов стерилизации, на наш взгляд, для ПМК является γ -излучение радионуклида ⁶⁰Co.

Несмотря на обилие литературных источников по применению ПМК в различных формах в медицине [9, 10], в частности – офтальмологии [11], информации касательно влияния данного полимера на протекание индуцированной БК при имплантации материала, мало, что и определяет цель данного исследования.

Цель исследования

Определить влияние внутрикамерной имплантации плёнок полимо́лочной кислоты, модифицированных в плазме, на протекание индуцированной *in vivo* буллёзной кератопатии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты *in vivo* были выполнены в два этапа на 14 кроликах породы *Sylvilagus bachmani* массой 2,5-3,0 кг. На первом этапе 12 животным моделировали буллёзную кератопатию (БК) путём механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз. Спустя 2 недели, на втором этапе эксперимента, кролики были поделены на следующие группы: I группа – интактная группа (n=2) – служила контролем. II группа – группа модели заболевания – животные с воспроизведением БК (n=4). III группа – группа сравнения – животные с индуцированной БК (n=4), которым проводили консервативное лечение в виде инстилляций 0,3% раствора Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день. IV группа – основная группа – животные с индуцированной БК (n=4), которым осуществляли имплантацию в переднюю камеру глаза тонких плёнок полимо́лочной кислоты (ПМК) после обработки плазмой. В послеоперационном периоде закапывали растворы Тобрекса по 1 капле 4 раза в день, препарата 0,01% Баларпана по 1 капле 3 раза в день, закладывания 5% Корнерегеля за нижнее веко по 4 раза в день.

Плёнки ПМК изготавливали путём растворения порошка ПМК с молекулярным весом, Mw=121 кДа (PURASORB® PL 10, The Netherlands) в хлороформе (CHCl₃) (Экрос, Россия). Готовый раствор по 10 г выливался в чашки Петри, которые помещались в вытяжной шкаф до полного испарения растворителя (48 часов). Толщина плёнок составила 15,0±0,1 мкм. После получения плёнок ПМК материал с каждой стороны обрабатывали низкотемпературной плазмой атмосферного давления на экспериментальной установке (ТПУ) продолжительностью 30 секунд для формирования гидрофильной поверхности полимера. Стерилизацию материала осуществляли с использованием γ -установки «Исследователь №52» в дозе 15 кГр. Комбинированное влияние плазмы и γ -стерилизации на полученные плёнки ПМК оценивали при помощи атомно-силового микроскопа «SolverHV» (NT-MDT, Россия), расчёта параметров шероховатости в программе Gwyddion 2.47, с помощью Фурье-спектрометра Thermo Nicolet 5700 (Thermo Electron Corporation, USA), прибора «KRÜSS EasyDrop DSA 20» (Germany) для определения краевого угла смачивания и расчёта свободной энергии поверхности, спектрофотометра Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer (USA) для получения спектров пропускания и поглощения, а также при помощи дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) на совмещённом ТГА/ДСКА анализаторе SDT Q600 (USA) для определения степени кристалличности полимера.

В ходе эксперимента животным проводили наружный осмотр, оптическую когерентную томографию (ОКТ) роговицы на оптическом когерентном томографе 3D OCT-1 (Maestro, USA). Выведенным из эксперимента животным (на 30 сутки от начала второго этапа эксперимента) выполняли энуклеацию, полученный материал фиксировали для световой микроскопии и

окрашивали гематоксилином и эозином. Работа выполнялась с согласия локального этического комитета (№ 7892 от 13.05.2019 г). Электронно-микроскопическое исследование роговицы проводилось на электронном микроскопе JEM-100 CXII (JEOL, Japan). Подсчёт удельного объёма сосудов, клеток, щелей между коллагеновыми волокнами осуществлялся при помощи окулярной сетки Автандилова.

Для статистического анализа полученных результатов исследований применялся статистический пакет IBM SPSS Statistics 20 (USA). Рассчитывали параметры распределений: для физических параметров – величину среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD), для биологических параметров – медиану (Me), 25% квартиль (Q₁) и 75% квартиль (Q₃). Поскольку по многим параметрам распределение не являлось нормальным, для расчётов использовались методы непараметрической статистики. Для оценки различий использовали критерии Манна-Уитни, Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что плёнки ПМК имели различную топографию: внешняя сторона, контактировавшая с атмосферой, была более рельефная, чем внутренняя, контактировавшая с чашкой Петри. Средняя шероховатость (Ra) внешней поверхности исходной плёнки ПМК составила $7,5 \pm 2,0$ нм, среднеквадратичная шероховатость (Rq) – $11,5$ нм, максимальное значение параметра шероховатости (Rz) – 115 нм. Ra внутренней стороны поверхности ПМК составила $5 \pm 1,0$ нм, Rq – $7,0$ нм, Rz – 42 нм. Воздействие плазмы в течение 30 секунд приводило к уменьшению параметра Ra в 2 раза, составив $3,7 \pm 1,0$ нм. Стерилизация обработанных в плазме образцов увеличивала Ra плёнок до $9,2$ нм, что фактически не отличалось от значений данного параметра исходной ПМК, $p > 0,05$.

Краевой угол смачивания поверхности исходных плёнок ПМК составил $71^\circ \pm 3,8^\circ$ для внутренней стороны и $70^\circ \pm 4,1^\circ$ для внешней стороны поверхности, разница между которыми была статистически незначима, $p > 0,05$. Кроме того, выявленный угол свидетельствовал о приближении свойств плёнки к гидрофобным. Свободная энергия поверхности (СЭП) плёнок ПМК составила 34 ± 1 мДж/м² с большим преобладанием дисперсионной составляющей. Воздействие плазмы уменьшало контактный угол смачивания внутренней и внешней сторон на 13° - 15° , что соответствовало 9-11%, и увеличивало за счёт полярной составляющей СЭП до 41 мДж/м². Стерилизация не изменяла смачиваемость и значения СЭП обработанных в плазме плёнок ПМК, $p > 0,05$.

Во всех ИК спектрах плёнок наблюдались полосы поглощения, характерные для ПМК [12]. В спектрах плёнок после плазмы и γ -стерилизации установлено исчезновение пиков 1312 , 1269 ($(\delta(\text{CH}))$, $(\delta(\text{CH}) + \nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}))$), 1095 см⁻¹ (валентных симметричных $\nu_3(\text{C}-\text{O}-\text{C})$), уширение 872 см⁻¹ (валентные связи $\nu(\text{C}-\text{COO})$),

сдвиг пиков $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ из области колебаний 1189 см⁻¹ в область высокочастотных 1214 см⁻¹, смещение полосы поглощения 1760 см⁻¹ (валентные колебания карбонильной группы (C=O)) [13].

Согласно данным спектров пропускания максимальное значение коэффициента пропускания T исходных ПМК находилось в области 90-92%, что свидетельствует о высокой степени прозрачности плёнки. Комбинированное воздействие плазмы и стерилизации несколько снижало (от 3% до 8%) коэффициент, что можно расценить как кристаллизацию материала вследствие γ -излучения [13]. Данный факт согласуется с результатами ДСК: стерилизация увеличивает степень кристалличности плёнки на 8,5% (с 38,4% до 47%).

Согласно данным наружного осмотра глаз животных II группы, признаки дистрофии роговой оболочки, проявляющиеся в виде светобоязни, слёзотечения, расширения сосудов конъюнктивы глазного яблока и диффузного отёка роговицы, обнаруживались уже через 2 недели после индуцирования заболевания. По ОКТ отмечалось увеличение за счёт отёка толщины роговой оболочки в 2 раза по сравнению с нормальным показателем (350 мкм), составляя в среднем 745 мкм.

Спустя месяц после имплантации у животных IV группы отмечалось снижение отёка роговицы, отсутствие блефароспазма и слёзотечения. Необходимо отметить преимущества используемого материала – его прозрачность (в экспериментах на биологических моделях *in vivo* полимер фактически не заметен), что немаловажно, учитывая предназначения будущего имплантата. Данный факт согласуется с полученными значениями коэффициента пропускания плёнок. Согласно ОКТ через месяц после имплантации толщина роговицы уменьшилась на 14,2% по сравнению с исходным показателем (табл. 1).

У животных III группы сохранялись умеренно выраженный отёк роговицы и слабо выраженное слёзотечение. Блефароспазм, расширение сосудов конъюнктивы глазного яблока отсутствовали. Согласно ОКТ толщина роговицы у третьей группы на 12,6% меньше исходного – до лечения – значения. Стоит отметить, что данный показатель статистически не отличался от значений четвёртой группы (табл. 1).

По данным световой микроскопии у животных II группы в переднем эпителии обнаруживались дистрофически изменённые эпителиоциты. Передняя пограничная мембрана была неравномерна по своей толщине. Коллагеновые волокна собственного вещества роговицы местами гидратированы, с повышено извитым ходом, между ними обнаруживались пространства удельным объёмом 30,4%, которые можно расценить как наличие отёка в строме роговой оболочки. Задняя пограничная мембрана утолщена, эндотелий отсутствовал. Местами обнаруживались новообразованные сосуды в собственном веществе роговицы (табл. 2).

У животных IV группы передний эпителий представлял собой пласт эпителиоцитов. Между коллагеновыми волокнами собственного вещества визуализировались пространства-щели

Таблица 1 Толщина роговицы животных (Me (Q₁-Q₃)), мкм

Группы	До лечения	После лечения	p ₁
III группа	739 (670-806)	645 (587-703)	<0,05
IV группа	742 (680-804)	633 (589-677)	<0,05
p ₂	>0,05	>0,05	-

Примечание: p₁ – по критерию Вилкоксона; p₂ – по критерию Манна-Уитни

удельным объёмом на 20,7% меньше значений второй группы, $p < 0,05$. Местами встречались тонкостенные сосуды. Ближе к задней пограничной мембране наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация (табл. 2).

У животных III группы толщина переднего эпителия на 25,4% меньше значения второй группы ($p < 0,05$) и на 9% больше четвёртой ($p > 0,05$). В собственном веществе коллагеновые волокна имели умеренно повышенный извитой ход. Удельный объём щелей между волокнами не отличался от значений четвёртой группы, но имел различия в сравнении со второй (табл. 2). Как во второй и четвёртой группах в строге роговицы третьей встречались новообразованные сосуды удельным объёмом 4,4%, $p > 0,05$.

Согласно результатам электронно-микроскопического исследования у животных II группы наблюдались изменения клеток переднего эпителия: эндоплазматическая сеть (ЭПС) была с расширенными просветами полостей, в цитозоле наблюдались множественные фаголизосомы, аутофагосомы, кристы митохондрий местами были фрагментированы. Коллагеновые волокна слабо упорядочены с повышенно извитым ходом.

У IV группы наблюдался умеренно повышенно извитой ход коллагеновых волокон. Между пучками располагались фибробласты с большим овальным ядром, нормальным строением митохондрии и ЭПС. В ядре фибробласта преобладал эухроматин, хорошо визуализировалось ядрышко. Лейкоцитарная инфильтрация представлена преимущественно лимфоцитами и тучными клетками. В цитоплазме лимфоцитов множество полисом и микровезикул, в ядре – преобладал эухромаин. Новообразованные сосуды полнокровны. Между эндотелиоцитами сосудов – плотные контакты. У животных III группы выявлена извитость коллагеновых волокон. Фибробласты имели нормальное строение. Сосуды полнокровны.

Активация поверхности плёнок ПМК низкотемпературной плазмой барьерного разряда приводит к изменению свойств поверхности: уменьшению контактного угла смачивания обеих сторон, увеличению СЭП за счёт полярной её составляющей. Анализ данных ИК спектров плёнок ПМК свидетельствует об увеличении содержания кислородсодержащих групп в процессе протекания химических реакций после плазмы. Изменения пропускной способности полученной плёнки после плазмы и стерилизации свидетельствуют о кристаллизации материала, так как упорядоченное расположение молекул снижает прозрачность

за счёт рассеяния падающего света от кристаллической решётки полимера [13].

Полученные результаты по индуцированию заболевания свидетельствуют о протекании воспалительной реакции, выраженной в виде изменений субклеточных структур. Кроме того, вследствие нарушения обмена веществ в роговой оболочке и распада нуклеиновых кислот в строге роговицы повышается содержание аминокислот, полипептидов, кетоновых тел с развитием ацидоза, что способствует развитию гиперосмии, дальнейшему прогрессированию отёка роговицы, влияет на клеточную передачу сигналов и на функциональное поведение иммунных клеток [14].

Согласно полученным данным, в группе животных с имплантированной в переднюю камеру плёнкой ПМК после плазменного воздействия образуются новообразованные сосуды и инфильтрируются лейкоциты удельным объёмом не более 3,7%. Лейкоцитарная инфильтрация является реакцией роговицы на искусственный материал, а также свидетельством протекания воспаления вследствие заболевания. Известно, что все биоматериалы при имплантации *in vivo* вызывают клеточные и тканевые реакции, выраженные в разной степени в зависимости от типа материала и фонового заболевания (в нашем случае – буллёзной кератопатии). Так, например, в работах авторов [15, 16] рассматривается реакция организма на биоматериалы. Согласно приведённым данным ответ организма складывается из адсорбции белка, адгезии моноцитов/макрофагов, слияния макрофагов с образованием гигантских клеток вблизи инородного тела, развития воспалительной реакции с последующим заживлением. Свойства поверхности биоматериала, по данным этих работ, играют важную роль в модулировании реакции на инородное тело в первые 2-4 недели после имплантации медицинского изделия. В работе [17] указываются схожие сведения о лейкоцитарно-макрофагальной реакции организма на имплантируемый материал и о формировании гигантских клеток инородного тела (ГКИТ). В нашем случае ГКИТ не были зафиксированы, так как плёнка была имплантирована в переднюю камеру, а, согласно исследованиям [17], данный вид клеток концентрируется непосредственно вблизи материала, вследствие чего гистологическая картина роговицы IV группы животных не показала их наличие. В статье [18] приводятся сведения о влиянии другого биодegradуемого материала – поликапролактона – на структуры глазного яблока. Выявлено, что в первые недели после имплантации материала в 67% случаев

Таблица 2 Показатели реакции роговицы на 30 сутки от начала второго этапа эксперимента, Ме (Q_1-Q_3)

Измеряемые критерии	I группа	II группа	III группа	IV группа
Толщина переднего эпителия, мкм	30,8 (27,5-34,1)	50,4 (45-55,8)* $p_1 < 0,05$	37,6 (31,5-43,7)* $p_2 < 0,05$	34,2 (30,3-38,1)* $p_2 < 0,05$
Отёк, уд. объём (%)	0	30,4 (25,7-35,7)* $p_1 < 0,05$	25,9 (22,1-37,7)* $p_2 < 0,05$	24,1 (20,8-27,4)* $p_2 < 0,05$
Сосуды, уд. объём (%)	0	5,6 (2,4-8,8)* $p_1 < 0,05$	4,4 (1,6-7,2) $p_2 > 0,05$	5,9 (2,7-9,1) $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Лейкоцитарная инфильтрация, уд. объём (%)	0	0	0	2,5 (1,3-3,7)*

Примечание: * – статистически значимые различия согласно U-критерию Манна-Уитни: $p_{1,3}$ – по сравнению с соответствующими группами исследования

у экспериментальных животных (кроликов) наблюдается воспалительная реакция и отёк роговицы. Однако после 6 месяцев интраокулярного пребывания материала признаки воспаления полностью купируются, а роговица восстанавливает свою прозрачность.

Появление сосудов – ещё один признак течения воспаления в роговой оболочке, вызванный буллёзной кератопатией. Причём, сосуды объёмом до 6% встречались во всех группах с индуцированным заболеванием, что свидетельствует об отсутствии влияния имплантации материала на васкулогенез. Известно, что рост новых кровеносных сосудов опосредуется активацией ангиогенных цитокинов [19, 20]. При воспалении эпителиальные и эндотелиальные клетки роговицы, макрофаги и некоторые клетки иммунной защиты продуцируют ангиогенные факторы роста – фактор роста эндотелия сосудов и фактор роста фибробластов, которые «прокладывают путь» в образовании новых кровеносных сосудов, регулируя выработку матриксных металлопротеиназ эндотелиальными клетками в сосудистом сплетении лимба [19]. А фермент металлопротеиназа разрушает базальную мембрану роговицы и внеклеточный матрикс, в то время как протео-

литические ферменты позволяют эпителиальным клеткам сосудов проникать в строму роговицы.

Интересен факт уменьшения объёма щелей между коллагеновыми волокнами в третьей и четвёртой группах. Причём статистической разницы по данному показателю между указанными группами нет. Факт снижения отёчности роговой оболочки, выраженной в виде уменьшения толщины роговицы, удельного объёма пространств между коллагеновыми волокнами, приобретения волокнами более упорядоченного расположения, снижения толщины переднего эпителия в двух последних группах связан с началом консервативного лечения и некоторого купирования воспалительного процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имплантация плёнок ПМК, обработанных низкотемпературной плазмой, в переднюю камеру при буллёзной кератопатии не усугубляет процесс заболевания и может быть принята в дальнейшую разработку материала для создания из него роговичного имплантата.

ЛИТЕРАТУРА

- Lopes MS, Jardini AL, Maciel Filho R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering*. 2012;42:1402-13.
- Iesavand H, Rahmati M, Afzali D, Modir S. Investigation on absorption and release of mercaptopurine anticancer drug from modified polylactic acid as polymer carrier by molecular dynamic simulation. *Materials Science and Engineering*. 2019;105:110010.
- Pawar PR, Tekale SU, Shisodia SU, Totre JT, Domb AJ. Biomedical applications of poly (lactic acid). *Recent Patents on Regenerative Medicine*. 2014;4(1):40-51.
- Zaaba NF, Jaafar M. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer Engineering and Science*. 2020;60(9):2061-75.
- Zhang E, Zhu C, Yang J, Sun H, Zhang X, Li S, et al. Electrospun PDLLA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration. *Mater Sci E C Mater Biol Appl*. 2016;58:278-85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.032>
- De Santis R, Gloria A, Russo T, D'Amora U, D'Antò V, Bollino F, et al. Advanced composites for hard-tissue engineering based on PCL/organic-inorganic hybrid fillers: From the design of 2D substrates to 3D rapid prototyped scaffolds. *Polymer Composites*. 2013;34:1413-7.
- Ferrández-Montero A, Lieblich M, González-Carrasco JL, Benavente R, Lorenzo V, Detsch R, et al. Development of biocompatible and fully bioabsorbable PLA/Mg films for tissue regeneration applications. *Acta Biomaterialia*. 2019;98:114-24.
- Ivanova NM, Filippova EO, Karpov DA, Pichugin VF. Polylactic acid thin films properties after steam sterilization. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2020;11(2):377-84.
- Son S-R, Franco R-A, Bae S-H, Min Y-K, Lee B-T. Electrospun PLGA/gelatin fibrous tubes for the application of biodegradable intestinal stent in rat model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101(6):1095-105.
- Siddiqui N, Asawa S, Birru B, Baadhe R, Rao S. PCL-based composite scaffold matrices for tissue engineering applications. *Molecular Biotechnology*. 2018;60:506-32.
- de la Mata A, Mateos-Timoneda MA, Nieto-Miguel T, Galindo S, López-Paniagua M, Planell JA, et al. Poly-l/dl-lactic acid films functionalized with collagen IV as carrier substrata for corneal epithelial stem cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;177:121-9.
- Gonçalves C, Coutinho JOA, Marrucho IM. Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications. *Optical Properties*. 2010:97-112.

REFERENCES

- Lopes MS, Jardini AL, Maciel Filho R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering*. 2012;42:1402-13.
- Iesavand H, Rahmati M, Afzali D, Modir S. Investigation on absorption and release of mercaptopurine anticancer drug from modified polylactic acid as polymer carrier by molecular dynamic simulation. *Materials Science and Engineering*. 2019;105:110010.
- Pawar PR, Tekale SU, Shisodia SU, Totre JT, Domb AJ. Biomedical applications of poly (lactic acid). *Recent Patents on Regenerative Medicine*. 2014;4(1):40-51.
- Zaaba NF, Jaafar M. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer Engineering and Science*. 2020;60(9):2061-75.
- Zhang E, Zhu C, Yang J, Sun H, Zhang X, Li S, et al. Electrospun PDLLA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration. *Mater Sci E C Mater Biol Appl*. 2016;58:278-85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.032>
- De Santis R, Gloria A, Russo T, D'Amora U, D'Antò V, Bollino F, et al. Advanced composites for hard-tissue engineering based on PCL/organic-inorganic hybrid fillers: From the design of 2D substrates to 3D rapid prototyped scaffolds. *Polymer Composites*. 2013;34:1413-7.
- Ferrández-Montero A, Lieblich M, González-Carrasco JL, Benavente R, Lorenzo V, Detsch R, et al. Development of biocompatible and fully bioabsorbable PLA/Mg films for tissue regeneration applications. *Acta Biomaterialia*. 2019;98:114-24.
- Ivanova NM, Filippova EO, Karpov DA, Pichugin VF. Polylactic acid thin films properties after steam sterilization. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2020;11(2):377-84.
- Son S-R, Franco R-A, Bae S-H, Min Y-K, Lee B-T. Electrospun PLGA/gelatin fibrous tubes for the application of biodegradable intestinal stent in rat model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101(6):1095-105.
- Siddiqui N, Asawa S, Birru B, Baadhe R, Rao S. PCL-based composite scaffold matrices for tissue engineering applications. *Molecular Biotechnology*. 2018;60:506-32.
- de la Mata A, Mateos-Timoneda MA, Nieto-Miguel T, Galindo S, López-Paniagua M, Planell JA, et al. Poly-l/dl-lactic acid films functionalized with collagen IV as carrier substrata for corneal epithelial stem cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;177:121-9.
- Gonçalves C, Coutinho JOA, Marrucho IM. Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications. *Optical Properties*. 2010:97-112.

- Aydogdu A, Yildiz E, Ayhan Z, Aydogdu Y, Sumnu G, Sahin S. Nanostructured poly (lactic acid)/soy protein/HPMC films by electrospinning for potential applications in food industry. *European Polymer Journal*. 2019;112:477-86.
- Riemanna A, Wußlinga H, Loppnowb H, Fub H, Reimea S, Thews O. Acidosis differently modulates the inflammatory program in monocytes and macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2016:1862:72-81.
- Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars Immunology*. 2008:20(2):86-100.
- Kzhyshkowska J, Gudima A, Riabov V, Dollinger C, Lavallo P, Vrana NE. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015:98:953-62.
- Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, Fine N, Glogauer M. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Materials*. 2015:8:5671-5701.
- Bernards DA, Bhisitkul RB, Wynn P, Steedman MR, Lee O-T, Wong F, et al. Ocular biocompatibility and structural integrity of micro- and nanostructured poly(caprolactone) films. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2013:29(2):249-57.
- Homer C, Houman H. Treatment of corneal neovascularization. *Ophthalmic Pearls*. 2013:35-36.
- Stevenson W, Cheng S-F, Dastjerdi MH, Ferrari G, Dana R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *The Ocular Surface*. 2012:10(2):67-83.
- Aydogdu A, Yildiz E, Ayhan Z, Aydogdu Y, Sumnu G, Sahin S. Nanostructured poly (lactic acid)/soy protein/HPMC films by electrospinning for potential applications in food industry. *European Polymer Journal*. 2019;112:477-86.
- Riemanna A, Wußlinga H, Loppnowb H, Fub H, Reimea S, Thews O. Acidosis differently modulates the inflammatory program in monocytes and macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2016:1862:72-81.
- Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars Immunology*. 2008:20(2):86-100.
- Kzhyshkowska J, Gudima A, Riabov V, Dollinger C, Lavallo P, Vrana NE. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015:98:953-62.
- Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, Fine N, Glogauer M. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Materials*. 2015:8:5671-5701.
- Bernards DA, Bhisitkul RB, Wynn P, Steedman MR, Lee O-T, Wong F, et al. Ocular biocompatibility and structural integrity of micro- and nanostructured poly(caprolactone) films. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2013:29(2):249-57.
- Homer C, Houman H. Treatment of corneal neovascularization. *Ophthalmic Pearls*. 2013:35-36.
- Stevenson W, Cheng S-F, Dastjerdi MH, Ferrari G, Dana R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *The Ocular Surface*. 2012:10(2):67-83.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Филиппова Екатерина Олеговна, кандидат технических наук, инженер лаборатории биогридных материалов, Томский политехнический университет; ассистент кафедры офтальмологии, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Сибирский государственный медицинский университет
ORCID ID: 0000-0003-0425-1213
E-mail: katerinabosix@mail.ru

Иванова Нина Михайловна, ассистент Научно-исследовательской школы высокоэнергетических процессов, Томский политехнический университет
E-mail: ivanovanina91@mail.ru

Пичугин Владимир Фёдорович, доктор физико-математических наук, профессор, профессор Научно-исследовательской школы высокоэнергетических процессов, Томский политехнический университет
E-mail: pichugin@tpu.ru

Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 19-415-703005. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали

Конфликт интересов: отсутствует

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Филиппова Екатерина Олеговна
кандидат технических наук, инженер лаборатории биогридных материалов, Томский политехнический университет; ассистент кафедры офтальмологии, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Сибирский государственный медицинский университет

634050, Российская Федерация, г. Томск, пр. Ленина, 30
Тел.: +7 (3822) 606333
E-mail: katerinabosix@mail.ru

AUTHOR INFORMATION

Filippova Ekaterina Olegovna, Candidate of Technical Sciences, Engineer of Biohybrid Materials Laboratory, Tomsk Polytechnic University; Assistant of Ophthalmology Department and of Histology, Cytology and Embryology Department, Siberian State Medical University
ORCID ID: 0000-0003-0425-1213
E-mail: katerinabosix@mail.ru

Ivanova Nina Mikhaylovna, Assistant of the Research School of High-Energy Processes, Tomsk Polytechnic University
E-mail: ivanovanina91@mail.ru

Pichugin Vladimir Fyodorovich, Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Full Professor, Professor of the Research School of High-Energy Processes, Tomsk Polytechnic University
E-mail: pichugin@tpu.ru

Information about the source of support in the form of grants, equipment, and drugs

This work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project № 19-415-703005. The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment

Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Filippova Ekaterina Olegovna
Candidate of Technical Sciences, Engineer of Biohybrid Materials Laboratory, Tomsk Polytechnic University; Assistant of Ophthalmology Department and of Histology, Cytology and Embryology Department, Siberian State Medical University

634050, Russian Federation, Tomsk, Lenin Ave., 30
Tel.: +7 (3822) 606333
E-mail: katerinabosix@mail.ru

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: ФЕО, ИНМ
Сбор материала: ИНМ
Статистическая обработка данных: ИНМ
Анализ полученных данных: ФЕО, ИНМ, ПФФ
Подготовка текста: ФЕО
Редактирование: ФЕО, ИНМ, ПФФ
Общая ответственность: ФЕО

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conception and design: FEO, INM
Data collection: INM
Statistical analysis: INM
Analysis and interpretation: FEO, INM, PVF
Writing the article: FEO
Critical revision of the article: FEO, INM, PVF
Overall responsibility: FEO

Поступила 26.01.2021
Принята в печать 29.03.2021

Submitted 26.01.2021
Accepted 29.03.2021