

УДК 617.713-089.843

**ВЛИЯНИЕ НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ *IN VIVO* БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ
ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ**

Е.О. Филиппова

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

**POLYLACTIC ACID EFFECT ON THE COURSE OF *IN VIVO*-INDUCED BULLOUS
KERATOPATHY**

E.O. Filippova

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: katerinabosix@mail.ru

Abstract. *The purpose of the study is to evaluate the effect of polylactic acid on the course of bullous keratopathy induced in vivo. Results showed that the induced bullous keratopathy in animals with polylactic acid films implanted in the anterior chamber of the eye proceeds with the manifestation of mild leukocyte infiltration in the proper substance of the cornea.*

Введение. В настоящее время одним из перспективным направлений в лечении тяжелого, прогрессирующего заболевания – буллезной кератопатии [1] – является использование полимерных пленок как имплантатов в барьерной кератопластике. Полимолочная кислота широко распространена в медицинских приложениях: для тканевой инженерии [2], в качестве подложек, микросфер и скэффолдов для доставки и высвобождения лекарств [3], а также для производства нитей и штифтов [4]. Дegradaция указанного полимера *in vitro* в основном происходит путем гидролитического расщепления, а в *in vivo* важную роль играют ферменты в иницировании процесса деградации. Продукты разложения полимолочной кислоты являются нетоксичными и удаляются в виде CO₂ и воды по циклу Кребса [5]. Хотя изделия из биodeградируемых материалов, в том числе из полимолочной кислоты, имеют чаще форму микросфер [6], стержней и скэффолдов [7], использование тонких пленок может иметь больший интерес в офтальмологии для создания роговичного имплантата.

Цель исследования – оценить влияние полимолочной кислоты на течение индуцированной *in vivo* буллезной кератопатии.

Экспериментальная часть. Эксперименты *in vivo* были выполнены на 14 кроликах породы *Sylvilagus bachmani* массой 2,5-3,0 кг. Эксперименты одобрены локальным Этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 7892 от 13.05.2019 г).

В условиях операционной под наркозом 12 животным после обработки операционного поля с соблюдением правил асептики и антисептики моделировали буллезную кератопатию путем механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз. Спустя 2 недели после повреждения роговой оболочки и развития заболевания животные были поделены на следующие группы:

1 группа – интактная группа (2 кролика, 4 глаза) служила контролем.

2 группа – группа модели заболевания – животные с воспроизведением на первом этапе буллезной кератопатии (4 кролика, 4 глаза).

3 группа – группа сравнения – животные с индуцированной буллезной кератопатией (4 кролика, 4 глаза), 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.

4 группа – основная группа – животные с индуцированной буллезной кератопатией (4 кролика, 4 глаза), которым осуществляли имплантацию пленок полимолочной кислоты диаметром 8,0 мм в переднюю камеру глаза с последующим подшиванием к роговице. Образцы пленок полимолочной кислоты были сформированы из 1 % -го раствора полимолочной кислоты с молекулярным весом, $M_w=121$ кДа (PURASORB® PL 10, Нидерланды) в хлороформе ($CHCl_3$) (Экрос, Россия). Для устранения остаточного растворителя пленки выдерживали в вакуумной камере в течение 24 часов (давление 10^{-3} Торр, температура 25 °C). В послеоперационном периоде экспериментальным животным 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.

Выведенных из эксперимента животным выполняли энуклеацию, полученный материал фиксировали для световой микроскопии. Полученные в ходе гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином, и по методу Ван-Гизона. Подсчет удельного объема сосудов, клеток, щелей между коллагеновыми волокнами осуществлялся при помощи окулярной сетки Автандилова на 50 точек (=100 %), для чего в десяти независимых полях зрения определялось количество определяемых структур, попадающих на строму, вычислялся удельный объем (%).

Для статистического анализа полученных результатов исследований применялся статистический пакет IBM SPSS Statistics 20 с вычислением медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q_1-Q_3). Для оценки различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По данным световой микроскопии у животных второй группы – с индуцированной буллезной кератопатией – отмечались характерные для рассматриваемого заболевания изменения. В переднем эпителии толщиной $50,4 \pm 5,4$ мкм обнаруживались дистрофически измененные эпителиоциты – $23,4 \pm 3$ клеток в поле зрения. Передняя пограничная мембрана была неравномерна по своей толщине. Коллагеновые волокна собственного вещества роговицы местами гидратированы, с повышенно извитым ходом, между ними обнаруживались пространства удельным объемом $30,4 \pm 5,3$ %, которые можно расценить как наличие отека в строме роговой оболочки. Задняя пограничная мембрана утолщена, эндотелий отсутствовал. Местами, спустя месяц после индуцирования заболевания, обнаруживались новообразованные сосуды в собственном веществе роговицы, удельным объемом $5,6 \pm 3,2$ %.

У животных четвертой группы по данным световой микроскопии спустя месяц после имплантации передний эпителий толщиной $32,2 \pm 4,6$ мкм представлял собой пласт эпителиоцитов, $p < 0,05$. Собственное вещество роговицы представлено коллагеновыми волокнами, между которыми визуализировались пространства-щели удельным объемом $22,1 \pm 3,7$ %, что на 8 % меньше значения

второй группы. Местами встречались тонкостенные сосуды удельным объемом $6,8 \pm 2,5$ %, $p > 0,05$. Ближе к задней пограничной мембране наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом 3 %.

У животных третьей группы по данным световой микроскопии спустя месяц от начала лечения толщина переднего эпителия составила $38,5 \pm 5,9$ мкм, что на 11,9 % меньше значения второй группы ($p > 0,05$) и 6,3 % больше четвертой ($p > 0,05$). В собственном веществе коллагеновые волокна имели умеренно повышенный извитой ход, удельный объем щелей между ними составил $28,3 \pm 6,4$ %, $p > 0,05$. Как и во второй и четвертой группе, в строме роговицы третьей группы встречались новообразованные сосуды удельным объемом $5,1 \pm 3,3$ %, $p > 0,05$.

Заключение. Индуцированная буллезная кератопатия у животных с имплантированной в переднюю камеру глаза пленок полимолочной кислоты протекает с проявлением слабовыраженной лейкоцитарной инфильтрацией в собственном веществе роговицы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Heeren T., Holz F. G., Löffler K. U. Bullous keratopathy // *Ophthalmology*. – 2013. – V. 110. – P. 1069-1072.
2. Lopes M.S., Jardini A.L., Maciel Filho R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications // *Procedia Engineering*. – 2012. – V. 42. – P. 1402-1413.
3. 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: C*. – 2019. – V. 105. – P. 110010.
4. Pawar P.R, Tekale S.U., Shisodia S.U., Totre J.T., Domb A.J. Biomedical Applications of Poly (Lactic Acid) // *Recent Patents on Regenerative Medicine*. – 2014. – V. 4 (1). – P. 40-51.
5. Yasukawa T., Ogura Y., Sakurai E., Tabata Y., Kimura H. Intraocular sustained drug delivery using implantable polymeric devices // *Advanced drug delivery reviews*. – 2005. – V. 57 (14). – P. 2033-2046.
6. Giordano G.G., Chevez-Barrios P., Refojo M.F., Garcia C.A. Biodegradation and tissue reaction to intravitreal biodegradable poly (D,L-lactico- glycolic) acid microspheres // *Current eye research*. – 1995. – V. 14 (9). – P. 761-768.
7. Rubsamen P. E., Davis P. A., Hernandez E., O'Grady G. E., Cousins S. W. Prevention of experimental proliferative vitreoretinopathy with a biodegradable intravitreal implant for the sustained release of fluorouracil // *Archives of ophthalmology*. – 1994. – V. 112 (3). – P. 407-413.