

В.А. Ульянов¹
М.Б. Макарова²
Н.И. Молчанюк²
Л.Л. Давтян³

¹ Одесский национальный медицинский университет

² ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»

³ Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, Киев

Надійшла: 26.11.2018

Прийнята: 16.12.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.4.90-98>

УДК 617.713:616-076.4:617.713-002:616-002.9-092.9

УЛЬТРАСТРУКТУРА РОГОВИЦЫ КРОЛИКА ПОСЛЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА И ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЛЕНОК, СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА

Ulyanov V.A., Makarova M.B. ✉, Molchanyuk N.I., Davtyan L.L. Rabbit cornea ultrastructure after reproduction of bacterial keratitis and exposure to films containing silver nanoparticles.

Odessa National Medical University, Odessa, Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine, Odessa, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev, Ukraine

ABSTRACT. Background. More than 500000 people worldwide have bacterial keratitis every year. Conservative therapy with antibacterial drugs often leads to the emergence of resistant strains of bacteria, allergic reactions and complications. Silver nanoparticles (SNP) are current for the role of alternative to modern antibiotics. **Objective.** To investigate the effect of applications of therapeutic films with SNP sizes of 30 nm, obtained by citrate (CM) and electron-vacuum-beam methods (EVBM), on the ultrastructure of the epithelium and stroma of the rabbit cornea after modeling in animals of moderate bacterial keratitis. **Methods.** Bacterial keratitis was modeled for all experimental animals, then equally divided into 4 groups: 1 control group, 2 group received applications of films with SNP, received CM on the cornea, group 3 – films with SNP obtained by EVBM, group 4-films with decametoxin. Corneal fragments were taken for electron microscopic examination. **Results.** Films with silver nanoparticles with a size of 30 nm obtained by CM have the most effective therapeutic effect on the regeneration of rabbit cornea tissue after simulated bacterial keratitis of moderate severity. Help to reduce the exudative phase of the inflammatory process, enhance the proliferative response, a delicate collagen skeleton is actively formed. After application of films containing silver nanoparticles 30 nm in size, obtained by EVBM, signs of inflammation in the tissues remain, formation of cells of the anterior epithelium and connective tissue skeleton of the cornea stroma proceeds slower than after the exposure of films containing SNP, the resulting CM. After exposure to films with decametoxin, the restoration of the anterior corneal epithelium and stroma is slowed down, signs of the exudative phase of the inflammatory process are expressed. Coarse-fibrous connective tissue is formed in the stroma. **Conclusions.** The effectiveness of experimental therapy of bacterial keratitis in rabbits increases in the series: films with decametoxin → films with SNP obtained by EVBM → films with SNS obtained by CM.

Key words: corneal ultrastructure, bacterial keratitis, silver nanoparticles.

Citation:

Ulyanov VA, Makarova MB, Molchanyuk NI, Davtyan LL. [Rabbit cornea ultrastructure after reproduction of bacterial keratitis and exposure to films containing silver nanoparticles]. Morphologia. 2018;12(4):90-8. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.4.90-98>

✉ makarovambdoc@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Введение

На долю заболеваний роговицы приходится не менее 25% всей глазной патологии [1]. Ежегодно бактериальный кератит возникает более чем у 500 000 людей во всем мире. Основными

факторами риска является неправильное использование контактных линз, травмы, хирургические вмешательства на роговице, заболевания поверхностной оболочки и придаточного аппарата глаза [2]. Консервативная терапия антибакте-

риальными препаратами часто приводит к возникновению резистентных штаммов бактерий, что способствует хронизации воспалительного процесса и возникновению аллергических реакций, дисбактериоза и осложнений. По мнению ВОЗ, устойчивость к антибиотикам представляет собой один из «главных вызовов для здоровья в 21 веке» [3]. Поэтому в настоящее время отмечается пристальный научно-практический интерес исследователей к нанотехнологиям, одним из приоритетных направлений данной сферы является наномедицина и нанофармакология [4]. Использование достижений нанопрогресса позволяет применять наноструктуры в методах лечения разнообразных патологий глаза. Именно наночастицы серебра (НЧС) являются актуальными претендентами на роль альтернативы современным антибиотикам [5]. Наночастицы серебра благодаря малому размеру чрезвычайно активны и имеют большую удельную поверхность, что увеличивает область контакта серебра с бактериями и вирусами, значительно повышая его бактерицидные свойства, а также позволяет значительно удешевить препараты на основе серебра и сделать их доступными для лечения многих инфекционных заболеваний [6]. Следует отметить, что НЧС менее токсичны чем ионы серебра, что расширяет их область применения: от дезинфектантов до покрытий поверхностей имплантов [7]. По данным литературного обзора НЧС вызывают деструкцию биопленок, сформированных полирезистентными штаммами. Особенно важным является отсутствие формирования резистентных штаммов к наночастицам у микроорганизмов [8]. Таким образом, местное применение наночастиц серебра является перспективным в терапии бактериального кератита, а в форме терапевтических пленок поможет значительно дольше удерживать действующее вещество в очаге инфекции. Ранее проведенные нами исследования о влиянии инстилляций коллоидного раствора наночастиц серебра размером 30 нм на ультраструктуру эпителия и стромы роговицы кролика показали, что длительные, трехразовые, ежедневные их инстилляции в течение 30 дней вызывают дистрофические изменения в отдельных клетках переднего эпителия роговицы и альтерацию коллагеновых фибрилл стромы. Следовательно, при оценке возможности использования наночастиц серебра и препаратов на их основе для терапии воспалительных заболеваний роговицы, необходимо учитывать их цитотоксичность при частом и длительном воздействии на здоровую роговицу [9]. Поэтому важным является изучение влияния наночастиц серебра на ультраструктуру роговицы при моделировании бактериального кератита.

Цель: исследовать влияние аппликаций терапевтических пленок с наночастицами серебра размером 30 нм, полученных цитратным и элек-

тронновакуумно-лучевым методами, на ультраструктуру эпителия и стромы роговицы кролика после моделирования у животных бактериального кератита средней степени тяжести.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проведено на 12 кроликах (24 глаза) массой 2,2-2,7 кг породы шиншилла. Моделировался бактериальный кератит средней степени тяжести. Все экспериментальные исследования проведены согласно требованиям Европейской конвенции (Страсбург, 1986), изложенные в Страсбургской декларации и Законе Украины «О защите животных от жестокого отношения» [10]. Моделирование бактериального кератита у кроликов производили согласно схеме данного патента [11]. После получения модели кератита средней степени тяжести все животные были поровну разделены на 4 группы:

1-я контрольная группа - кролики с кератитом средней степени тяжести

2-я группа - кроликам накладывали на роговицу пленку с наночастицами серебра, полученными цитратным методом.

3-я группа - кроликам накладывали на роговицу пленку с наночастицами серебра, полученными методом электроннолучевого испарения.

4-я группа - кроликам накладывали на роговицу пленку с декаметоксином.

Для электронно-микроскопического исследования (ЭМИ) фрагменты роговицы (центральная и прилиम्бальная области) кроликов забирались через 1 сутки после 6-и суточной терапии плёнками с наночастицами серебра. Животных выводили из эксперимента путем воздушной эмболии под тиопенталовым наркозом. Материал обрабатывался согласно ранее описанной общепринятой методике [9]. Ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds [12].

Изучались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

Используемые в эксперименте наночастицы серебра были получены различными методами синтеза: методом электронно-лучевого испарения [13]. и цитратным методом [14]. Полученные НЧС были включены в терапевтические пленки. Пленки получали методом полива на полированную поверхность, используя в качестве основы полимеры полиакриламид, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон и натрий-карбоксиметилцеллюлозу [15]. Концентрация НЧС в пленке составляла 10 мг/г. [16].

Результаты и их обсуждение

Ультраструктура роговицы кроликов контрольной группы с кератитом средней степени тяжести.

В центральной области роговицы отмечают скопление клеток крови и клеток гистиоцитарного ряда, а также единичные коллагеновые фибриллы между ними. Клетки переднего эпите-

лия в прилимбальной области роговицы, включая базальные, имеют признаки дистрофических изменений. Они содержат мало органелл, мембранные органеллы вакуолизованы, ядра мелкие с рыхло расположенными глыбками хроматина. Некоторые из клеток имеют признаки отека цитоплазмы. В межклеточных щелях между базальными клетками видны электронноплотные отложения. Причем большая часть базальных клеток содержит также гомогенизированную электронноплотную цитоплазму. Базальная мембрана не содержит полудесмосом.

Ультраструктура роговицы кроликов после аппликации плёнок с НЧС размером 30 нм, полученных цитратным методом на фоне модели-

рованного бактериального кератита.

Поверхность центральной зоны роговицы после стромэктомии и воспроизведения модели бактериального кератита состоит из коротких нитей фибрина и плотных масс хлопьевидного материала, между которыми лежат небольших размеров, круглые, однородные осмиофильные гранулы серебра. Под ними располагается зона, состоящая из густо усеянных гранул серебра, рыхло лежащих тонких фибрилл, клеточного детрита, обрывков отдельных клеток, единичных лейкоцитов, содержащих крупные вакуоли с единичными мелкими гранулами, крупных макрофагов (МФ) и др. (рис. 1).



Рис. 1. Ультраструктура центральной области роговицы кролика после аппликации пленки с НЧС полученных цитратным методом на фоне стромэктомии и моделированного бактериального кератита. На раневой поверхности крупный макрофаг, окруженный фибрином, клеточным детритом и гранулами серебра. Электронная микрофотография. $\times 4000$.

Под этой зоной располагаются плотно уложенные соединительнотканые тонкие, короткие фибриллы, между которыми также лежат гранулы серебра. Они лежат в виде пластов, чередующихся с широкими бесструктурными электронно-прозрачными полосами (рис. 2).

Здесь также выявляется большое количество крупных клеток: единичные полиморфно-ядерные лейкоциты, в цитоплазме которых видны крупные вакуоли, заполненные мелкими гранулами, крупные МФ, имеющие большое ядро и ядрышко, псевдоподии и выросты, которыми они, огибают участки, содержащие фибриллы и гранулы серебра. Однако в цитоплазме МФ гра-

нулы отсутствуют, возможно МФ участвуют в их резорбции и затем продукты распада ими поглощаются. Рядом располагаются также крупные юные фибробласты с длинными отростками, содержащие палочковидные ядра и типичный набор органелл: узкие короткие цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС), полисомы, свободные рибосомы и единичные митохондрии. Часто наблюдается контакт между фибробластами и МФ, фибробластами и лимфоцитами, а также макрофагами и лейкоцитами или между самими МФ. В тоже время часть фибробластов находится в состоянии деструкции или некроза цитоплазматических органелл. Коллаген-

новые фибриллы здесь расположены как в продольном, так и в поперечном сечении. Глубже, наблюдаются хорошо выраженные пластины коллагеновых фибрилл, характерные для ультра-

структуры здоровой стромы роговицы. Здесь же рыхло лежат осмиофильные гранулы серебра и крупные, юные фибробласты, цитоплазма которых заполнена мелкими гранулами серебра.

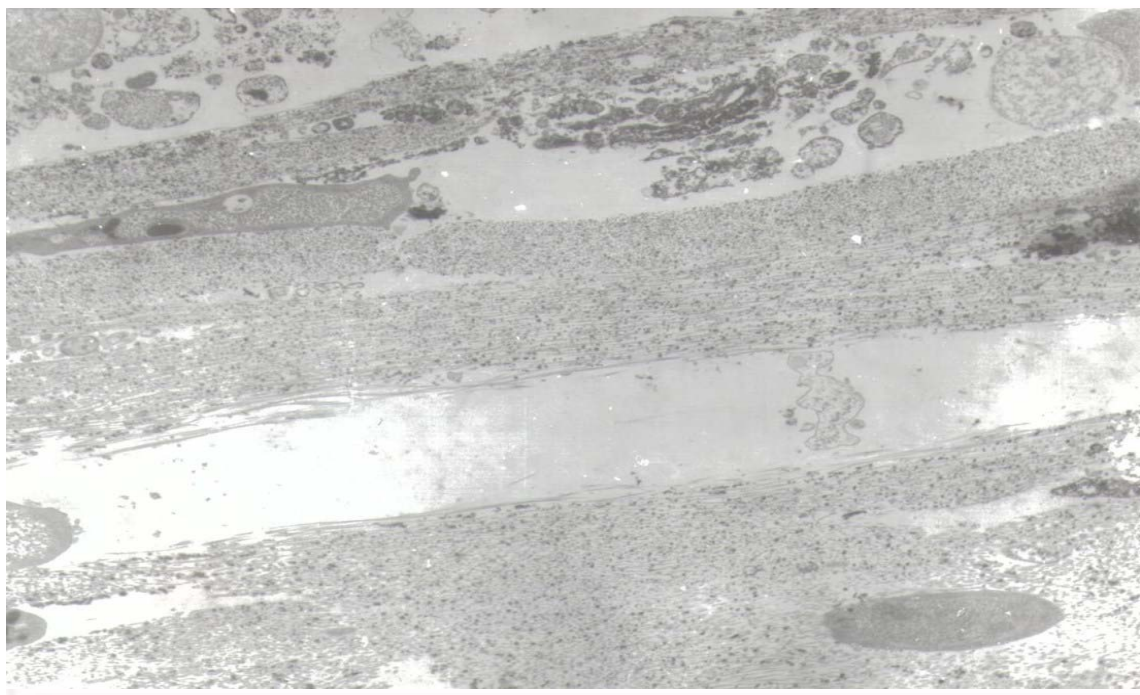


Рис. 2. Ультраструктура центральной области роговицы кролика после аппликации пленки с НЧС полученных цитратным методом на фоне стромэктомии и моделированного бактериального кератита. Под клеточным детритом располагаются соединительнотканые фибриллы, ориентированные параллельно поверхности слоев роговицы. Скопление гранул серебра между соединительноткаными фибриллами. Электронная микрофотография. $\times 3000$.

В свою очередь, ультраструктура переднего эпителия роговицы в зоне лимба состоит из клеток, которые соединены плотными контактами или десмосомами. Однако в базальном слое десмосомы плохо выражены, а в поверхностном слое, ближе к слою крыловидных клеток, отмечается очаговое расширение межклеточных контактов. Клетки эпителия содержат пигментные гранулы, особенно они многочисленны в цитоплазме базальных клеток. Часть базальных клеток с признаками перинуклеарного отёка и набухшим митохондриальным матриксом. Субэпителиально в строме расположены фибробласты, в их электронно-прозрачной цитоплазме отмечается увеличенное число митохондрий с просветлённым внутримитохондриальным матриксом. Часть митохондрий с полной, а часть с частичной деструкцией крист. Элементы ГЭС также расширены, содержат рибосомы на их мембранах. Некоторые фибробласты с длинными узкими отростками и с повышенной электронной плотности цитоплазмой. В них определяются митохондрии с просветленным внутримитохондриальным матриксом, расширенные цистерны ГЭС, единичные вакуоли, то есть наблюдаются признаки гидропической дистрофии. В строме

также выявляются единичные МФ, часть этих клеток с опустошённой цитоплазмой.

Ультраструктура роговицы кролика после аппликации плёнки с НЧС размером 30 нм, полученных методом электроннолучевого испарения (ЭЛИ) на фоне моделированного бактериального кератита.

В центральной области роговицы, где выполнялась стромэктомии, ее структура состоит из рыхло расположенных конгломератов, состоящих из хлопьевидного и зернистого материала с вкраплениями осмиофильных крупных гранул круглой формы и мелких гранул серебра, остатков разрушенных клеток. Рядом также наблюдаются единичные эритроциты и лейкоциты (рис. 3).

Под ними в электронно-прозрачной зоне рыхло располагаются тонкие, короткие коллагеновые фибриллы, между которыми диффузно лежат гранулы серебра, многочисленные полиморфноядерные лейкоциты, в их умеренно электронной-плотной цитоплазме содержатся скопления мелких осмиофильных гранул серебра и крупные электронно-прозрачные вакуоли (рис. 4). Кроме этого здесь же отмечаются единичные МФ, лимфоциты и тучные клетки.

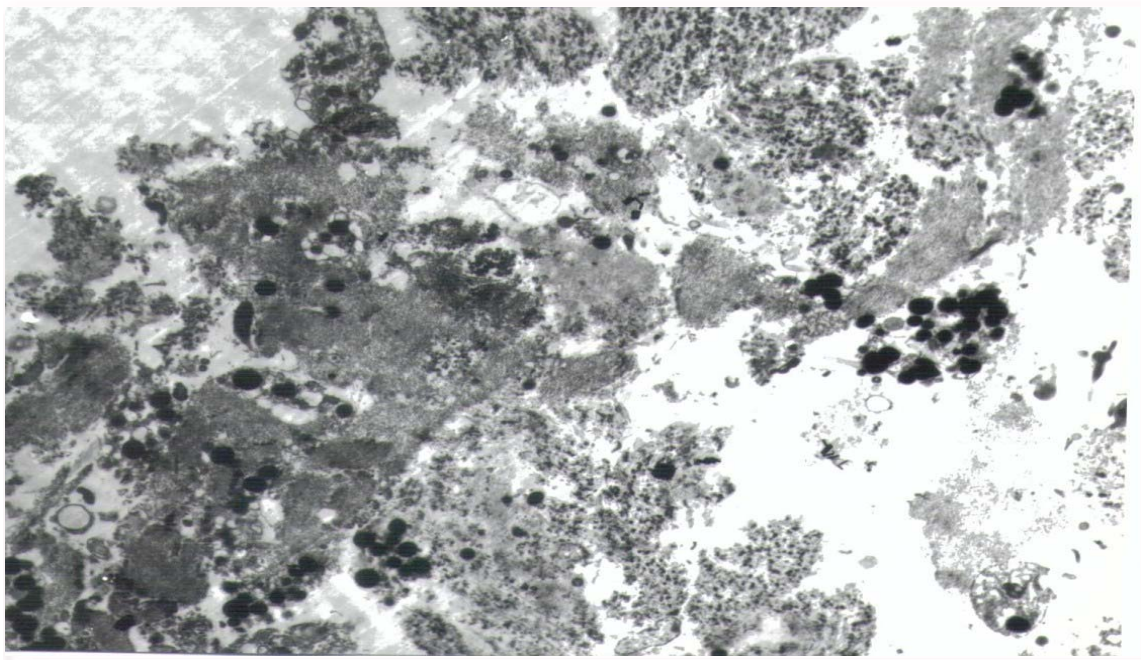


Рис. 3. Ультраструктура центральной области роговицы кролика после аппликации пленки с НЧС полученных методом электроннолучевого испарения на фоне стромэктомии и моделированного бактериального кератита. Скопления фибрина, фрагментов разрушенных клеток, крупных пигментных гранул и гранул серебра на поверхности раны. Электронная микрофотография. $\times 3000$.

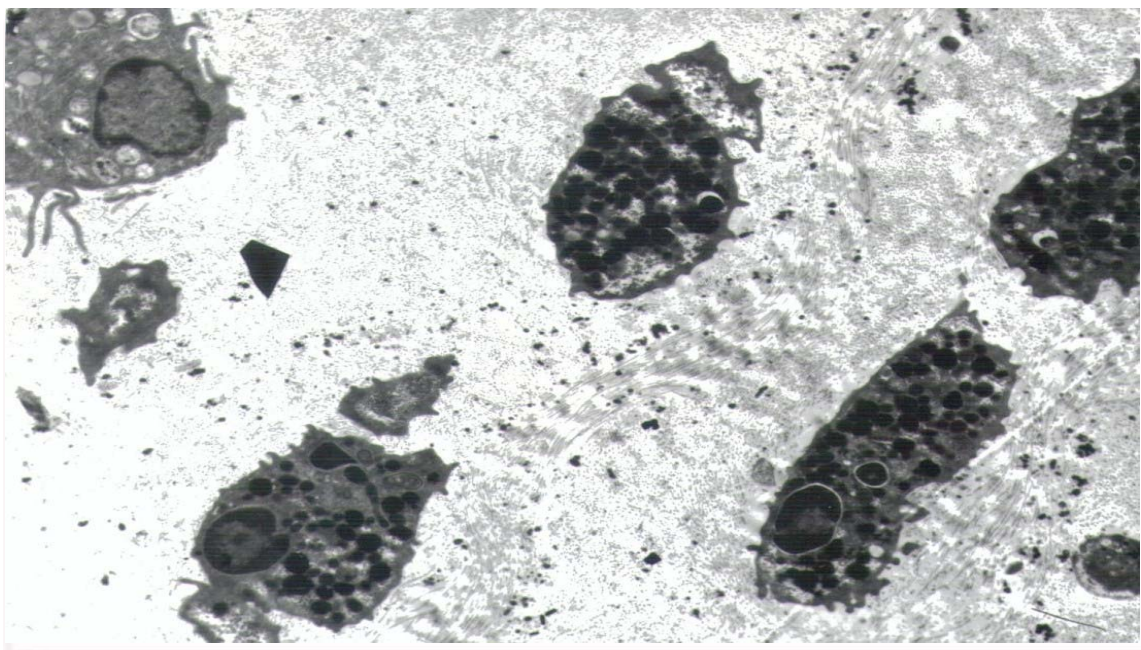


Рис. 4. Ультраструктура центральной области роговицы кролика после аппликации пленки с НЧС полученных методом электроннолучевого испарения на фоне стромэктомии и моделированного бактериального кератита. Скопления лейкоцитов, макрофага и гранул серебра среди соединительнотканых фибрилл. Электронная микрофотография. $\times 3000$.

Глубже располагается зона, состоящая из рыхло лежащих коллагеновых фибрилл, имеющих различное сечение и определенную ориентацию, формируя пластины. Однако сами фибриллы лежат очень разреженно. Между ними

выявляются гранулы серебра, расположенные диффузно, единично или группами. Видны единичные клетки гистиоцитарного ряда. Однако в данном материале количество вышеуказанных клеток меньше, чем наблюдалось в материале с

использованием пленок с НЧС, полученных цитратным методом. Кроме того, фибробласты в этой зоне единичны и меньшего размера, чем в предыдущем материале. Местами наблюдается контакт между фибробластами и лимфоцитами.

В области лимба в цитоплазме базальных клеток переднего эпителия роговицы присутствует скопление большого числа свободных рибосом. Между клетками базального слоя, в основном, наблюдаются плотные контакты, количество десмосом между клетками уменьшено. В их цитоплазме также определяются пигментные гранулы. Базальная мембрана имеет нормальную структуру. В субэпителиальной строме между пучками коллагеновых волокон расположены единичные лейкоциты, МФ и фибробласты. Мес-

тами в субэпителиальной строме выявлены участки с признаками отёка межклеточного вещества.

Ультраструктура роговицы кролика после аппликаций плёнок с декаметоксином.

После аппликаций плёнок с декаметоксином на поверхности исследуемого материала отмечается скопление нитей фибрина, клеточного детрита, перемежающихся с большим числом лейкоцитов, которые располагаются группами или единично. Между данными структурами лежат единичные эритроциты и лимфоциты. Под ними рыхло расположенные тяжи из формирующихся пучков соединительнотканых волокон, между которыми отмечается скопление большого числа полиморфноядерных лейкоцитов (рис. 5).

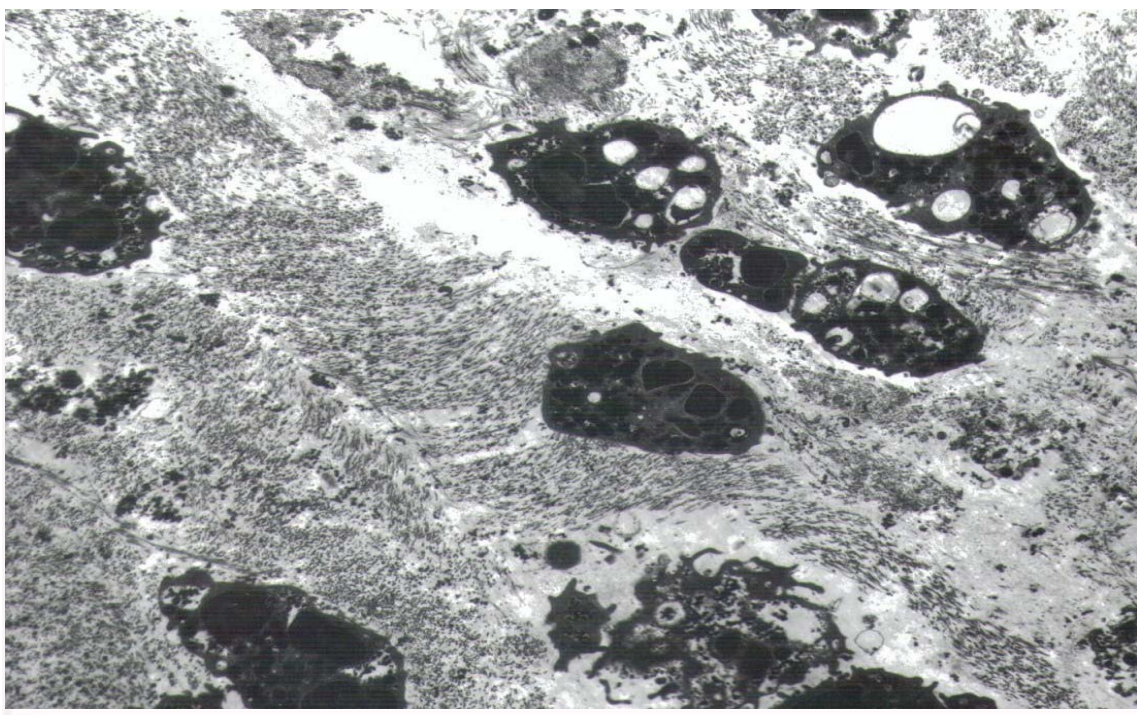


Рис. 5. Ультраструктура центральной области роговицы кролика после аппликации пленки с декаметоксином на фоне моделированного кератита и стромэтомии. Скопление лейкоцитов, часть из которых в состоянии разрушения, среди формирующихся пучков соединительнотканых волокон. Электронная микрофотография. $\times 2500$.

Кроме того, выявляются единичные МФ, фрагменты разрушенных клеток, а также обширные электронно-прозрачные бесструктурные поля.

Передний эпителий роговицы в области лимба сохранён. Слой базальных клеток представлен крупными клетками, обычной формы с большим ядром. Ядра клеток имеют извилистую кариолемму, некоторые из них с глубокими её инвагинациями. В ядре выражена маргинация хроматина и редкие глыбки конденсированного хроматина, расположенные по всей кариоплазме между хроматином, находящимся в диффузном состоянии. Вокруг ядра находятся свободные рибосомы, полисомы, комплекс Гольджи, немно-

гочисленные митохондрии с набухшим внутримитохондриальным матриксом и деструкцией крист, несколько расширенные цистерны ГЭС, лишенные рибосом на их мембранах. Однако в клетках эпителия и стромы признаки гидропических изменений внутриклеточных структур выражены значительно, чем после воздействия пленок содержащих НЧС. В тоже время в слое местами расширены межклеточные контакты. Пучки соединительнотканых волокон лежат рыхло, между ними отмечены большие электронно-прозрачные поля, на которых группами сосредоточены лейкоциты. Здесь же располагаются крупные фибробласты с обильной ГЭС, цистерны которой заполнены зернистым содер-

жимым и митохондри, что свидетельствует об усиленных процессах энергообразования. Слой крыловидных и поверхностных клеток без видимых структурных изменений, отмечается лишь расширение плотных межклеточных контактов и уменьшение количества десмосом.

Основными отличиями в ультраструктуре роговицы после аппликаций пленок с НЧС размером 30 нм, полученных цитратным методом по сравнению с двумя другими воздействиями, является отсутствие в материале эритроцитов и наличие единичных лейкоцитов, среди которых преобладают лимфоциты, что свидетельствует о наличии иммунной реакции, отмечается большое количество крупных, активных фибробластов с длинными отростками и МФ. Часто наблюдаются контакты между вышеупомянутыми клетками. Активно идут пролиферативные и репаративные процессы в тканях роговицы после данного воздействия. Отмечаются признаки формирования соединительнотканых волокон, ориентированных параллельно поверхности роговицы и организация их в пластины, что также свидетельствует о стимуляции регенераторных процессов в строме НЧС, полученных цитратным методом.

После применения пленок с декаметоксином и НЧС, полученными электроннолучевым методом в области лимба отмечено наличие большого количества базальных клеток с признаками отека внутримитохондриального матрикса, а также многочисленных лейкоцитов субэпителиально. В строме присутствуют признаки отека ее межточной ткани. Стоит подчеркнуть, что в этой зоне роговицы после воздействия декаметоксина-содержащих пленок наблюдается значительное увеличение количества лейкоцитов, чем после воздействия пленок содержащих НЧС, что свидетельствует о наличии воспалительной реакции со стороны тканей глаза.

Полученные нами результаты коррелируют с данными других авторов и свидетельствуют о том, что не только размер наночастиц серебра, но и метод синтеза наноразмерных структур влияют на их свойства, характер воздействия на ткани и наличие цитотоксичности [17].

Следует отметить, что НЧС, полученные цитратным методом, имеют шероховатую поверхность и рыхлую структуру в отличие от НЧС синтезируемых методом электроннолучевого испарения. Неровная поверхность частицы увеличивает площадь контакта НЧС с клеточными структурами, располагающимися в данной области роговицы, обуславливая выраженный бактерицидный эффект, уменьшая воспалительные процессы и способствуя ускорению регенераторных возможностей ткани роговицы в отличие от материала других экспериментальных групп [18]. Полученные нами результаты исследования позволяют сделать заключение о том, что от размера, формы частиц и метода синтеза

наноразмерных структур зависят бактерицидные свойства НЧС и их проявление в очаге патологического процесса живого организма. В данном случае это напрямую связано с купированием воспалительного процесса и устранением источника, вызываемого воспаление тканей, а также ускорение пролиферации структур и регенерации тканей роговицы. Следует отметить, что после воздействия НЧС на интактную структуру выявлены элементы альтерации в клетках переднего эпителия роговицы при длительных (в течение 30 дней) и частых (3 раза в день) инстилляциях. В то же время при экспериментальном кератите НЧС, наоборот, проявляют бактерицидное действие и усиливают процессы репаративной регенерации. Ранее проведенные клинические исследования согласуются с данными, полученными после электронномикроскопического исследования, и подтверждают, что наиболее эффективным оказалось применение пленок с НЧС, полученными цитратным методом, а применение пленок с декаметоксином не приводило к купированию воспалительного процесса в срок (к 6 суткам). После применения пленок с НЧС, полученными методом электроннолучевого испарения, сохранялись отдельные признаки воспалительного процесса [19].

Выводы

1. Показано, что пленки с наночастицами серебра размером 30 нм, полученные цитратным методом, обладают самым эффективным терапевтическим действием на регенерацию тканевой роговицы кролика после моделированного бактериального кератита средней степени тяжести. Способствуют снижению экссудативной фазы воспалительного процесса, усилению пролиферативной реакции, что приводит к регенерации переднего эпителия роговицы, способствуют быстрому восстановлению стромы, за счет увеличения количества фибробластов, а также усилению в них белоксинтетической функции и активному формированию нежного коллагенового остова свойственного для здоровой ткани роговицы.

2. После аппликаций пленок, содержащих наночастицы серебра размером 30 нм, полученных электроннолучевым методом, сохраняются признаки воспалительного процесса в тканях, формирование клеток переднего эпителия и соединительнотканного остова стромы роговицы протекает медленнее, чем после воздействия пленок, содержащих НЧС полученные цитратным методом.

3. После воздействия пленок с декаметоксином восстановление переднего эпителия роговицы и стромы замедлено, выражены признаки экссудативной фазы воспалительного процесса. В строме происходит формирование грубоволокнистой соединительной ткани.

Перспективы дальнейших исследований связаны с изучением изменений гистологического строения и ультраструктуры роговицы кролика при моделировании бактериального кератита различной степени тяжести.

Информация о конфликте интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент

публикации не существует и не предвидится.

Источники финансирования

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской темы «Морфологические механизмы взаимодействия наночастиц металлов с биологическими тканями» (номер государственной регистрации 0116U001762).

Литературные источники

References

1. Lui C, Ji J, Li S, Wang Z, Tang L, Cao W, Sun X. Macrobiological isolates and antibiotic susceptibilities: A 10- year review of culture-proven endophthalmitis cases. *Curr Eye Res.* 2017;42(3):443-7.
2. Saillard J, Spiesser-Robelet L, Gohier P, Briot T. Bacterial keratitis treated by strengthened antibiotic eye drops: An 18 months' review of clinical cases and antibiotic susceptibilities. *Ann Pharm Fr.* 2018;76(2):107-13.
3. Drozhzhina GI. [Severe corneal infectious processes induced by contact lens wear]. *Ophthalmological journal.* 2016;6:38-42. Russian.
4. Chekman IS. [Nanoscience: Historical Stages of Awakening] *Integrative Anthropology.* 2017;1(29):4-13. Ukrainian.
5. Gladkih PG. [The effect of silver nanoparticles on microbial biofilms] *Vesnik of new medical technologies.* 2015;1. Russian.
6. Gusev AI. [Nanomaterials, nanostructures, nanotechnologies] *Fizmat-lit;* 2007. 416 p. Russian.
7. Vanko RS. [Nanotechnology in pharmacy in Ukraine. Perspectives of "Green synthesis"]. In: [Nanotechnology in pharmacy and medicine Materials of the second All-Ukrainian scientific and practical internet conference with international participation; 2018]. p.17. Ukrainian
8. Khrenov PA, Chestnova TV. [The effect of dimethyl sulfoxide on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*]. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2014;5(1):140-1. Russian.
9. Ulyanov VA., Makarova MB., Movchanyuk NI. [The effect of instillation of a colloidal solution of silver nanoparticles on the ultrastructure of the anterior epithelium and cornea stroma]. *Ophthalmological journal.* 2017;3(476):63-9. Russian.
10. Antony JJ, Silvalingam P, Chen D. Toxicological effects of silver nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015;40(3):729-32.
11. Drozhzhina GI, Gaydamaka TB, Vansovich EV, inventors; Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy. VP. Filatov. Simulations of moderate bacterial keratitis of moderate severity. Ukrainian patent UA87119U. 2014 Jan 27. Int. Cl. A61K35/00. Ukrainian.
12. Reynoldes ES. The use of lead citrate at high pH an electronopaque stain in electron microscopy. *Cell Biol.* 1963;17(5):208-12.
13. Movchan BA, Yakovchuk KYu, inventors; International Center of Electron-Radiation Technologies Institute of Electric Welding EO Paton. The device and method of electron-beam evaporation and directed deposition of steam molybdenum on a substrate in a vacuum Ukrainian patent. UA98085. 2012 Apr 10. Int. Cl. C23C 14/24 (2006.01), C23C 14/28 (2006.01), C23C 14/30. Ukrainian.
14. Smyntyna VA, Skobeeva VM, Sparrow NK. [The influence of external factors on the stability of the optical properties of silver nanoparticles]. *Sensornaya elektronika i mikrosistemni tekhnologii.* 2012;3(9):134-40. Russian.
15. Davtyan LL, Tarasenko VO, Tsetsura NV, Belokolitskaya GF. Dental medical films for the treatment of inflammatory dental diseases. Ukrainian patent UA49945. 2010 May 11 Int. Cl A 61 K 33/00. Ukrainian
16. Davtyan LL, Reva DV. [Justification of the method of introducing decamethoxin and lidocaine hydrochloride into the basis of medical films] *Pharmaceutical Journal.* 2016;5:43-9. Ukrainian
17. Syrma EI, Ulyanov VA, Molchanyuk NI, Skobeeva VM. [Comparative characteristics of morphofunctional changes in the skin of rats with the introduction of silver nanoparticles of different sizes] *Svit medicine and biologii.* 2015;2:137-41. Russian.
18. Chekman IS, Malanchuk VO, Rybachuk AV. *Fundamentals of Nanomedicine* 2011. Ukrainian.
19. Ulyanov V.A. Gaydamak TB, Makarova MB. [The effect of silver nanoparticles of size 30 nm on the clinical course of experimental bacterial keratitis of moderate severity]. *Integrative Anthropology.* 2018;1(31):26-33. Russian.

Ульянов В.А., Макарова М.Б., Молчанюк Н.І., Давтян Л.Л. Ультраструктура рогівки кролика після відтворення бактеріального кератиту і впливу плівок, що містять наночастинки срібла.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Щорічно бактеріальний кератит виникає більш ніж у 500000 людей в усьому світі. Консервативна терапія антибактеріальними препаратами часто призводить до виникнення резистентних штамів бактерій, алергічних реакцій і ускладнень. Наночастки срібла є актуальними претендентами на роль альтернативи сучасним антибіотикам. **Мета.** Дослідити вплив аплікацій терапевтичних плівок з НЧС розміром 30 нм, отриманих цитратним та електронновакуумно-променевим методами, на ультраструктуру епітелію і строми рогівки кролів після моделювання у тварин бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості. **Методи.** Всім експериментальним тваринам моделювали бактеріальний кератит, потім порівню розділили на 4 групи: 1- контрольна група; 2 група отримувала аплікації плівок з НЧС отримані ЦМ на рогівку; 3 група-плівки з НЧС отриманими ЕВЛМ; 4 група - плівки з декаметоксином. Фрагменти рогівки забиралися на електронно-мікроскопічне дослідження. **Результати.** плівки з наночастинками срібла розміром 30 нм отримані ЦМ мають саму ефективну терапевтичну дію на регенерацію тканин рогівки кролика після моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості. Сприяють зниженню ексудативної фази запального процесу, посиленню проліферативної реакції, активно формується ніжний колагеновий остов. Після аплікацій плівок, що містять наночастинки срібла розміром 30 нм, отриманих ЕВЛМ, зберігаються ознаки запального процесу в тканинах, формування клітин переднього епітелію і сполучнотканинного остова строми рогівки протікає повільніше, ніж після впливу плівок містять НЧС отриманих ЦМ. Після впливу плівок з декаметоксином відновлення переднього епітелію рогівки і строми уповільнений, виражені ознаки ексудативної фази запального процесу. В стромі відбувається формування грубоволокнистої сполучної тканини. **Підсумок.** Ефективність експериментальної терапії бактеріального кератиту у кролів збільшується в ряду: плівки з декаметоксином → плівки з НЧС отриманими ЕВЛМ → плівки з НЧС отриманими ЦМ.

Ключові слова: ультраструктура рогівки, бактеріальний кератит, наночастинки срібла.

Ульянов В.А., Макарова М.Б., Молчанюк Н.І., Давтян Л.Л. Ультраструктура роговицы кролика после воспроизведения бактеріального кератита и воздействия пленок, содержащих наночастицы серебра.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Ежегодно бактериальный кератит возникает более чем у 500 000 людей во всем мире. Консервативная терапия антибактериальными препаратами часто приводит к возникновению резистентных штаммов бактерий, аллергическим реакциям и осложнениям. Наночастицы серебра (НЧС) являются актуальными претендентами на роль альтернативы современным антибиотикам. **Цель.** Исследовать влияние аплікаций терапевтических пленок с НЧС размером 30 нм, полученных цитратным (ЦМ) и электронновакуумно-лучевым методами (ЭВЛМ), на ультраструктуру эпителия и строми роговицы кролика после моделирования у животных бактериального кератита средней степени тяжести. **Методы.** Всем экспериментальным животным моделировали бактериальный кератит, затем поровну разделили на 4 группы: 1-контрольную группу, 2 группа получала аплікации пленок с НЧС полученные ЦМ на роговицу, 3 группа - пленки с НЧС полученными ЭВЛМ, 4 группа – пленки с декаметоксином. Фрагменты роговицы забирались на электронно-микроскопическое исследование **Результаты.** Пленки с наночастицами серебра размером 30 нм полученные ЦМ обладают самым эффективным терапевтическим действием на регенерацию тканей роговицы кролика после моделированного бактериального кератита средней степени тяжести. Способствуют снижению экссудативной фазы воспалительного процесса, усилению пролиферативной реакции, активно формируется нежный коллагеновый остов. После аплікаций пленок, содержащих наночастицы серебра размером 30 нм, полученных ЭВЛМ, сохраняются признаки воспалительного процесса в тканях, формирование клеток переднего эпителия и соединительнотканного остова строми роговицы протекает медленнее, чем после воздействия пленок содержащих НЧС полученные ЦМ. После воздействия пленок с декаметоксином восстановление переднего эпителия роговицы и строми замедлено, выражены признаки экссудативной фазы воспалительного процесса. В строме происходит формирование грубоволокнистой соединительной ткани. **Итог.** Эффективность экспериментальной терапии бактериального кератита у кроликов увеличивается в ряду: пленки с декаметоксином → пленки с НЧС полученными ЭВЛМ → пленки с НЧС полученными ЦМ.

Ключевые слова: ультраструктура роговицы, бактериальный кератит, наночастицы серебра.