

А.О. БАЙЫРХАНОВА ^{1,2}, Т.К. БОТАБЕКОВА ², Ю.М. СЕМЁНОВА ¹

ИЗУЧЕНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОГО ЭФФЕКТА ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ИМПЛАНТАТА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ

Государственный медицинский университет, г. Семей ¹,

АО «Казахский ордена «Знак почета» научно-исследовательский институт глазных болезней» ², г. Алматы, Республика Казахстан

Цель. Изучить в эксперименте антипролиферативное действие хитозановой пленки (ХП) при хирургическом лечении пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) методом ультразвукового исследования (УЗИ).

Материал и методы. Исследование было проведено на десяти взрослых кроликах (20 глаз) породы «шиншилла» весом 2,5-4,0 кг. С целью формирования экспериментальной ПВР использовалась аутогема (0,4 мл). Глаза животных были разделены на 4 группы: I и II основные – 10 правых глаз (5 глаз – имплантация ХП, насыщенной 5-фторурацилом (5-ФУ) и 5 глаз – ХП без 5-ФУ), I и II контрольные – 10 левых глаз (без имплантации пленки). На 10-е и 31-е сутки после операции сравнивался антипролиферативный эффект.

Результаты. На 10-е сутки в 4-х глазах I и II основных групп и во всех глазах контрольных групп наблюдался частичный гемофтальм. В 4 глазах I контрольной и 4 глазах II контрольной групп в заднем отделе наблюдался витреоретинальный тяж. На 31-е сутки в 2-х глазах I основной группы отмечалось помутнение стекловидного тела. В 1 глазу I основной и 3 глазах II основной групп наблюдался частичный гемофтальм. В 3-х глазах II основной группы визуализировался витреоретинальный тяж. Во всех глазах контрольных групп наблюдался гемофтальм в стадии организации, задние оболочки утолщены. В 4 глазах I контрольной и 5 глазах II контрольной групп – витреоретинальный тяж, все стекловидное тело было заполнено тенями с четкими контурами, экссудат находился в заднем отделе.

Заключение. Применение хитозановой пленки с 5-фторурацилом оказывает наибольший антипролиферативный эффект. Хитозановая пленка без 5-фторурацила также блокирует процесс пролиферации, но в меньшей степени. После проведения морфологических исследований данный имплантат может быть использован в клинике при хирургическом лечении ПВР с целью профилактики рецидивов в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: стекловидное тело, пролиферативная витреоретинопатия, хитозан, 5-фторурацил, морфологические исследования, хирургическое лечение, послеоперационный период

Objectives. To study the anti-proliferative effect of chitosan film (ChF) in surgical treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy (PVR) by the ultrasound method (US).

Methods. This study has been conducted on 10 adult rabbits (20 eyes) of “chinchilla” breed weighing 2,5 – 4,0 kg. To develop an experimental PVR the autohemotherapy (0,4 ml) is used. The eyes of animals were divided into 4 groups: the 1st and 2nd – the main groups – 10 right eyes (5 eyes – the implantation of ChF saturated with 5-fluorouracil (5-FU) and 5 eyes – ChF without 5-FU), the 1st and 2nd control groups – 10 left eyes (without implanting the film). On the 10th and 31st days after operation the anti-proliferative effect has been compared.

Results. On the 10th day the partial hemophthalmos in 4 eyes of the 1st and 2nd main groups and in all eyes of control groups has been noted. There was a vitreoretinal cord in the posterior part in 4 eyes of the 1st and 2nd control groups. On the 31st day in 2 eyes of the 1st main group turbidity of a vitreous body was observed. In 1 eye of the 1st main group and 3 eyes of the 2nd main group the partial hemophthalmos was noted. A vitreoretinal cord was visualized in 3 eyes of the 2nd main group. In all eyes of the control groups a hemophthalmos in the forming stage was observed, and the posterior covers were thickened. There was a vitreoretinal cord in 4 eyes of the 1st control and in 5 eyes of the 2nd control groups, the whole vitreous body was filled with accurate contours shadows; the exudate – in the posterior part.

Conclusion. Using the chitosan film with 5-fluorouracil enhances the anti-proliferative effect to a great extent. The chitosan film without 5-fluorouracil also blocks the proliferation process, but to a lesser extent. After the morphological studies the given implant can be clinically applied during vitreous surgery to prevent recurrence in the incisional period.

Keywords: vitreous body, proliferative vitreoretinopathy, chitosan, 5-fluorouracil, morphological studies, vitreous surgery, incisional period

Novosti Khirurgii. 2016 Jul-Aug; Vol 24 (4): 336-341

The Study of Anti-Proliferative Effect of Intravitreal Implant in Surgical Treatment of Proliferative Vitreoretinopathy

A.O. Baiyrkhanova, T.K. Botabekova, Y.M. Semenova

Введение

Проллиферативная витреоретинопатия (ПВР)

представляет собой одну из тяжелейших форм заболеваний органов зрения и является серьезной медико-социальной проблемой. ПВР

рассматривается как типовой патологический процесс внутри глаза, характеризующийся местным рубцеванием как средством ликвидации альтерации тканей, протекающий при таких офтальмологических заболеваниях, как отслойка сетчатки, гемофтальм, травма, диабет [1]

В структуре инвалидности по зрению ПВР составляет 2-9%, причем 84-89% страдающих этим заболеванием — лица трудоспособного возраста, что обуславливает ее социальную значимость [2].

За последние годы достигнут прогресс в области хирургии отслойки сетчатки, что позволило снизить число интра- и послеоперационных осложнений, значительно улучшить анатомические и функциональные результаты операций при данной патологии. Однако, несмотря на качественно новый уровень современных возможностей диагностики, значительный шаг вперед в сфере витреоретинальной хирургии, количество успешных операций при ПВР, согласно данным многих авторов, достигает 61,5-97,5% [3, 4, 5].

Прогрессирование ПВР в послеоперационном периоде является одной из главных причин неудачного хирургического лечения отслоек сетчатки и наблюдается в 2,2-29,4% случаев [3, 5]. Рецидивы отслойки сетчатки по причине прогрессирования ПВР составляют от 2,2 до 20,0% [3, 5, 6, 7, 8].

На современном этапе лечения ПВР наметились новые тенденции применения антипролиферативных агентов на различных носителях-имплантатах, используемых во время интравитреальных вмешательств. Широкое применение получили препараты, действие которых направлено на ингибирование формирования рубцовой ткани, в частности цитостатики. Известным представителем данной группы препаратов является 5-фторурацил [9].

В последние годы возрастает интерес специалистов к препаратам на основе хитина и хитозана, которые полностью разрушаются и усваиваются организмом, обладают противовоспалительным действием, высокой биосов-

местимостью, улучшают процессы регенерации клеток и тканей [10, 11].

Нами проведено экспериментальное исследование, состоящее из двух серий. После проведения первой серии, а именно морфологического изучения в эксперименте состояния внутрисетчатых структур после интравитреального введения хитозановой пленки (ХП) с 5-фторурацилом в двух дозировках (0,05 мл и 0,1 мл), установлено, что обе используемые дозировки 5-фторурацила не оказывают токсического воздействия на ткани глаз кроликов, однако есть различия показателей пролиферации: при использовании 0,05 мл 5-фторурацила отмечается небольшая пролиферативная активность, а при использовании 0,1 мл 5-фторурацила она отсутствует. [12, 13].

Задачей второй серии экспериментального исследования было изучить антипролиферативный эффект ХП с 0,1 мл 5-фторурацила методом УЗИ и морфологически. В этой статье мы представляем данные ультразвукового исследования.

Цель. Изучить в эксперименте антипролиферативное действие ХП с 5-фторурацилом при хирургическом лечении пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) методом ультразвукового исследования.

Материал и методы

Исследование было проведено на десяти взрослых кроликах (20 глаз) породы «шиншилла» весом 2,5-4,0 кг, без внешних признаков заболевания, в одинаковых условиях, на стандартном пищевом режиме на базе отдела моделирования и экспериментальной терапии и вивария ЦНИЛ Казахского Национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова. С целью формирования экспериментальной ПВР использовалась аутогема (0,4 мл) [14]. Глаза животных были разделены на четыре группы (таблица 1).

Операция «Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение аутогема и ХП с 5-ФУ и без» производилась с соблюдением правил

Таблица 1

Распределение животных по группам

Вид операции	Группа	Количество глаз	Сроки энуклеации
OD – Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогема, ХП с 0,1 мл 5-фторурацила.	I основная	5 глаз	31 сутки
OS – Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогема.	I контрольная	5 глаз	31 сутки
OD – Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогема, ХП	II основная	5 глаз	31 сутки
OS – Частичная витрэктомия. Интравитреальное введение 0,4 мл аутогема.	II контрольная	5 глаз	31 сутки

асептики и антисептики. Анальгетический и спазмолитический эффекты достигались путем внутримышечной инъекции 0,1-0,4 мл ветеринарного препарата Ксилавет, трехкратной инстилляцией инокаина.

Методика интравитреального введения полимерного имплантата в эксперименте: после наложения векорасширителя производилась отсепаровка конъюнктивы в 5 мм от лимба. Склеротомия длиной 1,0 мм в проекции плоской части цилиарного тела на 1 ч копьем 19G. После частичной передней витректомии выполнялась имплантация ХП размером: ширина – 1 мм, длина – 8 мм, насыщенной 5-фторурацилом в заданной дозировке (0,1 мл), в стекловидное тело при помощи пинцета. Из ушной вены животного при помощи инъекционной иглы и шприца объемом 2 мл набиралась кровь в объеме 0,4 мл и вводилась интравитреально через склеротому. На склеру и конъюнктиву накладывался узловый шов (10,0). В конъюнктивальную полость инстиллировали антибиотик.

На 10-е и 31-е сутки после операции всем кроликам было проведено УЗИ глаз на базе АО «Казахский ордена «Знак почета» научно-исследовательский институт глазных болезней», г. Алматы. УЗИ проводилось на аппарате EZ Scan AB 5500+ ophthalmic ultrasound scanner контактным методом В-скана, позволяющим визуализировать задний отрезок глаза, включая хрусталик, стекло-

видное тело, сетчатку и др. Использовался датчик с частотой 5-15 МГц. На датчик наносился гель для контактного исследования глаз кроликов. В конъюнктивальную полость животных закапывали анестезирующие капли.

Исследование было одобрено этическим комитетом Государственного медицинского университета г. Семей в соответствии с «Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Страсбург, Франция, 1986 г.), и Директивой Совета 86/609 ЕЕС от 24.11.1986 г. «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях».

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью статистического пакета программы SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), версия 20.0 для Windows (лицензия ГМУ г. Семей). Для проверки гипотезы о связи двух качественных признаков использовался точный критерий Фишера. Статистически высоко значимыми считали различия при $p \leq 0,01$, значимыми – при $p \leq 0,05$.

Результаты

УЗИ глаз кроликов на 10-е сутки после операции по группам представлено на рисунке 1.

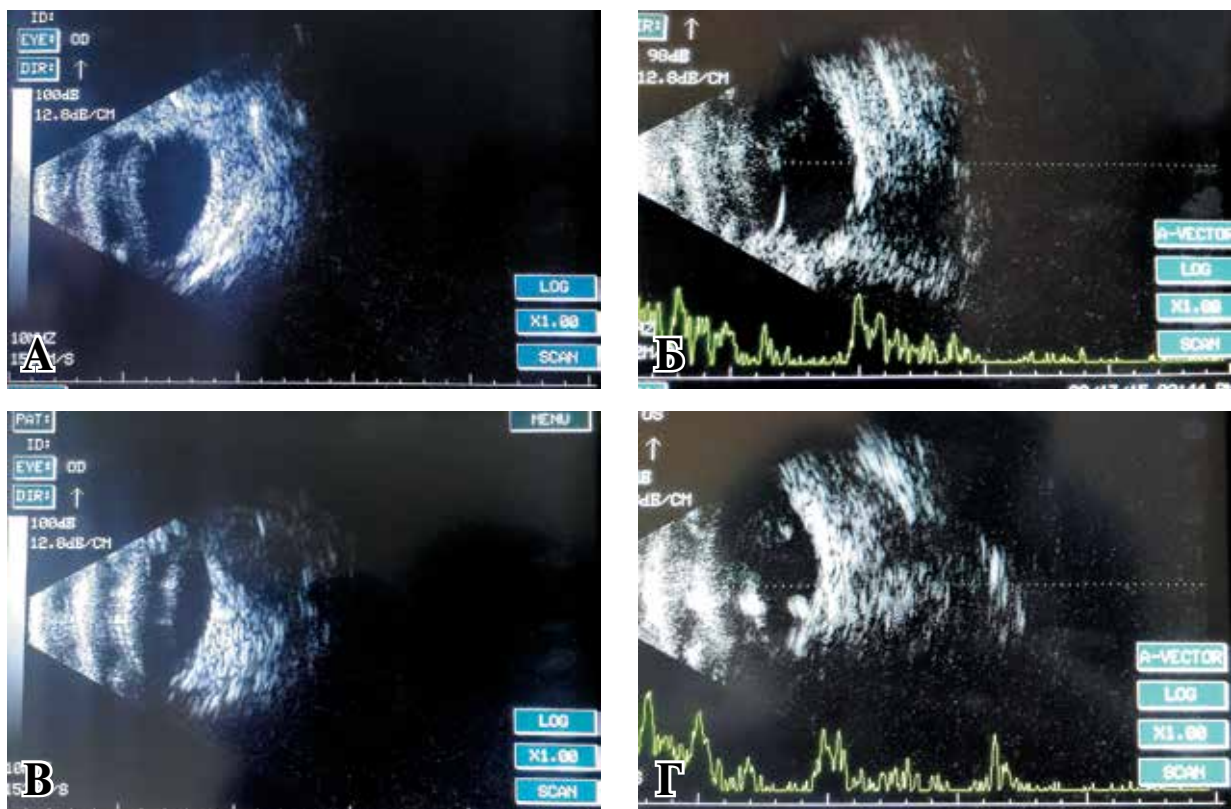


Рис. 1. Сканограмма. А – I основная. Б – I контрольная. В – II основная. Г – II контрольная.

Описание выявленных на 10-е сутки после операции ультразвуковых изменений по степени встречаемости в наблюдаемых группах представлено в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что на 10-е сутки в I и II основных группах в 4 случаях в каждой выявлен гемофтальм. В контрольных группах

в 4 случаях в каждой обнаружен витреоретинальный тяж, что является проявлением внутриглазной пролиферации, в основных группах подобных изменений не наблюдалось, что было статистически значимо ($p=0,0476$).

УЗИ глаз кроликов на 31-е сутки после операции представлено на рисунке 2.

Таблица 2

Изменения в глазах кроликов на 10-е сутки после операции

Группа	Сетчатка прилежит		Помутнение стекловидного тела		Гемофтальм		Витреоретинальный тяж		Утолщение задних оболочек		Экссудат в заднем отделе, тени с четкими контурами	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I основная	5	100	5	100	4	80	0*	0	0	0	0	0
I контрольная	5	100	5	100	5	100	4*	80	0	0	4	0
II основная	5	100	5	100	4	80	0*	0	0	0	0	0
II контрольная	5	100	5	100	5	100	4*	80	0	0	5	0

Примечание: * – различия между группами были статистически значимы ($p<0,05$).

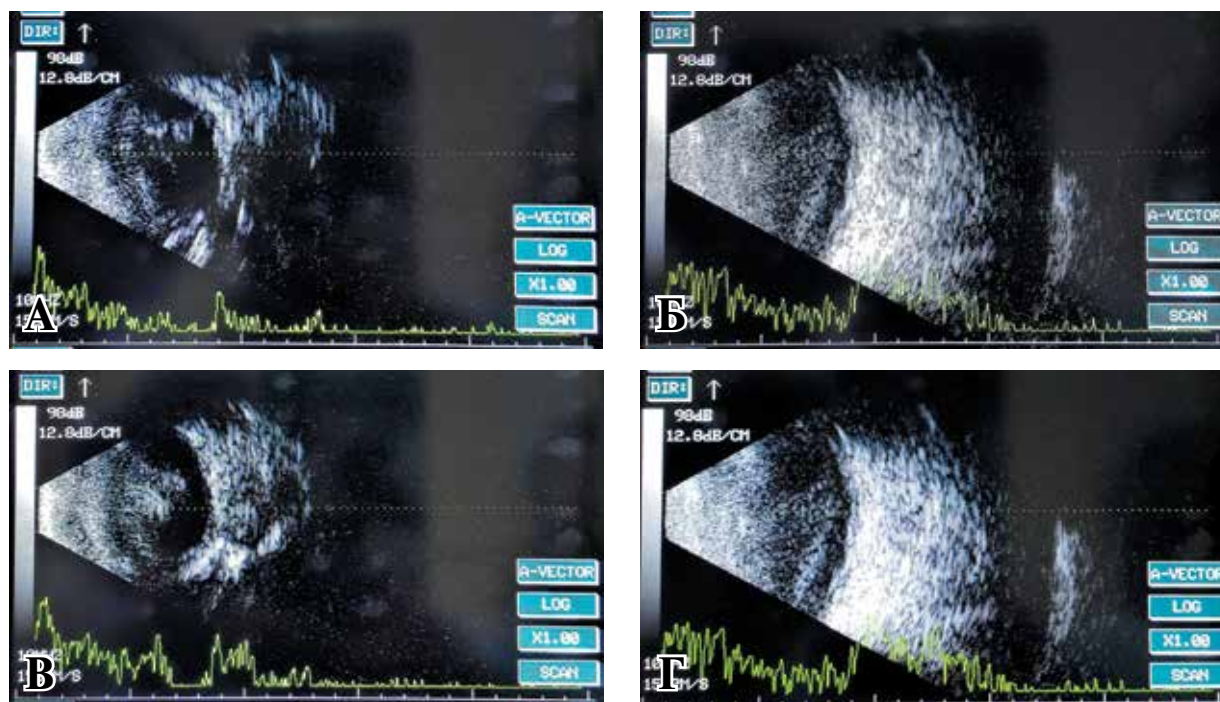


Рис. 2. Сканограмма. А – I основная. Б – I контрольная. В – II основная. Г – II контрольная.

Описание выявленных на 31-е сутки после операции ультразвуковых изменений по степени встречаемости в наблюдаемых группах представлено в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что гемофтальм в I основной группе на 31-е сутки в большинстве случаев уменьшился по сравнению с I контрольной группой, что было статистически значимо ($p=0,0476$). Проллиферативные изменения прогрессировали в обеих контрольных группах в виде витреоретинального тяжа, статистически значимо различие было только в I основной и контрольной группах ($p=0,0476$). Утолщения задних оболочек не было в глазах основных групп,

в контрольных группах наблюдались во всех глазах, что было статистически высоко значимо ($p=0,0079$). Экссудат в заднем отделе и тени с четкими контурами как проявления выраженного воспаления наблюдались в I – контрольной группе в 4 глазах и во II контрольной – в 5 глазах. В I и II основных группах не наблюдались, что было статистически значимо и высоко значимо соответственно ($p=0,0476$ и $p=0,0079$).

Обсуждение

Полученные результаты показывают антипролиферативный эффект ХП с 5-фторура-

Таблица 3

Изменения в глазах кроликов на 31-е сутки после операции

Группа	Сетчатка прилежит		Помутнение стекловидного тела		Гемофтальм		Витрео-ретинальный тяж		Утолщение задних оболочек		Экссудат в заднем отделе, тени с четкими контурами	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
I основная	5	100	2	40	1*	20	0*	0	0**	0	0*	0
I контрольная	5	100	5	100	5*	100	4*	80	5**	100	4*	80
II основная	5	100	5	100	3	60	3	60	0**	0	0**	0
II контрольная	5	100	5	100	5	100	5	100	5**	100	5**	100

Примечание: * – различия между группами были статистически значимы ($p \leq 0,05$); ** – различия между группами были статистически высоко значимы ($p \leq 0,01$).

цилом, ранее не использовавшейся с целью профилактики и лечения ПВР. Уникальность ХП как носителя заключается в том, что она не только обеспечивает адресную доставку и постепенное высвобождение 5-фторурацила, но и оказывает антипролиферативное действие сама по себе, усиливая общее воздействие на процесс пролиферации.

Попытки создания и исследования в эксперименте на животных различных носителей-имплантатов для профилактики и лечения ПВР предпринимаются уже давно. Еще в 1996 году V.S. Berger et al. [15] сравнили эффективность двух интраокулярных медленно высвобождающихся лекарственных форм: гранулы и суспензии. Имеется экспериментальная работа Шариповой Д.Н. с соавт. [9] по изучению возможности применения гидрогелевого имплантата (полиуретана, насыщенного 5-ФУ) в ходе проведения витрэктомии при ПВР. В 2014 году Huiyuan Hou, Alejandra Nieto et al. [16] разработали настраиваемую, длительно высвобождающую даунорубин лекарственную систему из oxidized porous silicon (окисленный пористый силикон).

В проведенном исследовании оба варианта интравитреального имплантата, а именно ХП с 5-фторурацилом и без, при УЗИ проявили антипролиферативное действие, которое было более выражено в группе с использованием 5-фторурацила. На 10-е сутки наблюдения в I и II основных группах гемофтальм отмечался в 80% случаев, а в контрольных – в 100%. Такие проявления воспалительно-пролиферативного процесса в глазу, как витреоретинальный тяж или тракция, утолщение задних оболочек и экссудат в заднем отделе, в основных группах не наблюдались вовсе, в контрольных в 80% случаев имел место витреоретинальный тяж. На 31-е сутки все воспалительно-пролиферативные признаки развились в глазах контрольных групп, в I основной не наблюдались, во II основной витреоретинальная тракция отмечалась в 60% случаев. Интересно отметить, что в I основной группе гемофтальм уменьшился с 80%

на 10-е сутки до 20% на 31-е, во II основной – с 80% до 60% соответственно, а в контрольных группах не уменьшился вовсе. Это свидетельствует о рассасывающей способности интравитреального имплантата на основе хитозана, в особенности в сочетании с 5-фторурацилом.

В общем, хочется отметить статистически значимую антипролиферативную и рассасывающую эффективность ХП с 5-фторурацилом, а также антипролиферативные свойства самого носителя-имплантата хитозана.

Заключение

УЗИ показало выраженные пролиферативные изменения в контрольных группах, менее выраженные во II основной и практически отсутствующие в I основной группе. Из этого можно заключить, что ХП с 5-фторурацилом оказывает наибольший антипролиферативный эффект. ХП без 5-фторурацила также блокирует процесс пролиферации, но в меньшей степени. После проведения морфологических исследований данный имплантат мог бы быть использован в клинике при хирургическом лечении ПВР с целью профилактики рецидивов ПВР в послеоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сосновский СВ, Бойко ЭВ, Харитоновна НН. Обоснование и разработка системы количественной оценки тяжести пролиферативной витреоретинопатии. *Офтальмохирургия*. 2009;(4):25-30.
2. Кочмала ОБ, Запускалов ИВ, Кривошеина ОИ, Дашко ИА. Хирургия отслойки сетчатки: современное состояние проблемы. *Вестн Офтальмологии*. 2010;(6):46-49.
3. Goezinne F, La Heij EC, Berendschot TT, Kessels AG, Liem AT, Diederens RM, et al. Incidence of redetachment 6 months after scleral buckling surgery. *Acta Ophthalmol*. 2010 Mar;88(2):199-206. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01425.x.
4. Heimann H, Zou X, Jandek C, Kellner U, Bchrakis NE, Kreusel KM, et al. Primary vitrectomy for rhegmatogenous retinal detachment: an analysis of 512 cases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jan;244(1):69-78.
5. Salicone A, Smiddy WE, Venkatraman A, Feuer

W. Management of retinal detachment when no break is found. *Ophthalmology*. 2006 Mar;113(3):398-403.

6. Foster RE, Meyers SM. Recurrent retinal detachment more than 1 year after reattachment. *Ophthalmology*. 2002 Oct;109(10):1821-27.

7. Miki D, Hida T, Hotta K, Shinoda K, Hirakata A. Comparison of scleral buckling and vitrectomy for retinal detachment resulting from flap tears in superior quadrants. *Jpn J Ophthalmol*. 2001 Mar-Apr;45(2):187-91.

8. Sharma YR, Karunanithi S, Azad RV, Vohra R, Pal N, Singh DV, et al. Functional and anatomic outcome of scleral buckling versus primary vitrectomy in pseudophakic retinal detachment. *Acta Ophthalmol Scand*. 2005 Jun;83(3):293-97.

9. Захаров ВД, Шарипова ДН, Шацких АВ, Новиков СВ, Леонтьева ГД. Способ комбинированного лечения экспериментальной ПВР с применением 5-фторурацила на гидрогелевом носителе. *Офтальмохирургия*. 2006;(3):25-29.

10. Лазаренко ВИ, Большаков ИН, Ильенков СС, Шатилова РИ, Кузовников ВВ, Чанчиков ДГ, др. Опыт применения изделий медицинского назначения Бол-хит и Коллахит-бол в офтальмологии. *Рос Офтальмол Журн*. 2009;2(4):21-24.

11. Yang H, Wang R, Gu Q, Zhang X. Feasibility study of chitosan as intravitreal tamponade material. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008; 246(8):1095-97. doi: 10.1007/s00417-008-0813-8.

12. Ботабекова ТК, Байырханова АО, Енин ЕА, Семенова ЮМ, Кампик А. Изучение состояния внутриглазных структур после интравитреального

введения хитозановой плёнки, насыщенной 5-фторурацилом в эксперименте. *Наука и Здоровоохранение*. 2015;(6):133-46.

13. Baiyrkhanova A, Ismailova A, Botabekova T, Enin E, Semenova Y. Crosslinked Chitosan/PVA film, saturated with 5-Fluorouracil for the prevention of proliferative vitreoretinopathy. *Int J Drug Deliv Tech*. 2016 Apr-Jun;6(2):47-51.

14. Nassar K, Lüke J, Lüke M, Kamal M, Soliman MM, Grisanti S, et al. Effect of different fixative solutions on eyes with experimental proliferative vitreoretinopathy. *Int J Exp Pathol*. 2015 Apr;96(2):103-10. doi: 10.1111/iep.12119.

15. Berger AS, Cheng CK, Pearson PA, Ashton P, Crooks PA, Cynkowski T, et al. Intravitreal sustained release corticosteroid-5-fluorouracil conjugate in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996 Oct;37(11):2318-25.

16. Hou H, Nieto A, Ma F, Freeman WR, Sailor MJ, Cheng L. Tunable sustained intravitreal drug delivery system for daunorubicin using oxidized porous silicon. *J Control Release*. 2014 Mar 28;178:46-54. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.01.003.

Адрес для корреспонденции

071400, Республика Казахстан,
г. Семей, ул. Абая, д. 103, каб. 141,
Государственный медицинский университет,
тел. моб.: 8 701 720 30 42,
e-mail: alma23021984@gmail.com,
Байырханова Алмагуль Ораловна

Сведения об авторах

Байырханова А.О., докторант Государственного медицинского университета г. Семей.
Ботабекова Т.К., член-корреспондент НАН Республики Казахстан, д.м.н., профессор, председатель правления АО «Казахский ордена «Знак почета»

научно-исследовательский институт глазных болезней».

Семёнова Ю.М., к.м.н., завуч кафедры офтальмологии, доцент кафедры общей хирургии, Государственного медицинского университета г. Семей.

Поступила 11.04.2016 г.