

На правах рукописи

БЕЛКИН ВИТАЛИЙ ЕВГЕНЬЕВИЧ

**ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО
ОТЕЧЕСТВЕННОГО ЗАМЕНИТЕЛЯ СТЕКЛОВИДНОГО
ТЕЛА НА ОСНОВЕ ГИДРОГЕЛЯ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ
ЛЕЧЕНИИ ОТСЛОЙКИ СЕТЧАТКИ
(экспериментальное исследование)**

14.01.07 – Глазные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2020

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Алексеев Игорь Борисович – д.м.н., профессор

Официальные оппоненты:

Шишкин Михаил Михайлович - д.м.н., профессор, ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой офтальмологии.

Торопыгин Сергей Григорьевич - д.м.н., доцент, ФГБОУ ВО Тверской Государственный медицинский университет Минздрава России, заведующий кафедрой офтальмологии.

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»

Защита состоится «01» декабря 2020 года в 10 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.071.03 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125995, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д. 19 и на сайте <http://www.rmapo.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Карпова Елена Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

Патологические процессы в стекловидном теле (СТ) часто становятся причиной серьезных осложнений, могут спровоцировать отслойку сетчатки (ОС), вызвать частичную или полную утрату зрительных функций (Копарева В.Г., 2002; Либман Е.С., 2006). От характеристик искусственного заменителя стекловидного тела (ИСТ) и/или временного тампонирующего вещества во многом зависит положительный исход большинства витреальных вмешательств. В настоящее время ОС, вызванная различными причинами, выявляется у 5-20 человек на 100 тыс. населения Земли (Haimann et al., 1982; Mitry et al., 2010). По данным ряда исследований более 80% пациентов с данной патологией составляют люди трудоспособного возраста (Белькевич Ю.Л. и др., 2014; Гурьев А.В. и др., 2013; Fraser et al., 2010; Аветисов С.Э. и др., 2014; Nemet et al., 2016). Таким образом, в настоящее время заболевания СТ и сетчатки актуальны не только для медицины, но и приобретают большое социально-экономическое значение.

В последнее время использование микроинвазивных технологий позволило проводить витреоретинальные операции на качественно новом уровне с минимизацией внутриглазных манипуляций, что значительно повысило результаты лечения и ускорило реабилитацию пациентов (Назаров П.В. и др., 2012; Ibarra et al., 2005; Lai et al., 2008; Riemann et al., 2007). Однако, несмотря на это, в послеоперационный период все еще сохраняется риск возникновения осложнений, которые в основном возникают из-за плохой адаптации применяемых тампонирующих веществ и недостаточной фиксации сетчатки в зоне разрыва (Binder, 1998; Lucke et al., 1990; Маляцинский И. А., 2015; Fujii et al., 2002; Мащенко Н.В. и др., 2014). В первую очередь это касается прогрессирования пролиферативной витреоретинопатии (ПВР), которая приводит к рецидивам ОС и повторным хирургическим вмешательствам (Худяков А.Ю. и др., 2009; Goezinne et al., 2007; Азнабаев М.Т. и др., 2005; Балашова Л.М. и др., 2000).

Сегодня в качестве тампонирующих веществ обычно используют силиконовое масло (СМ), жидкие перфторорганические соединения (ПФОС), и различные гидрогели.

Однако, все эти препараты имеют те или иные недостатки: некоторые из используемых тампонирующих веществ, подвержены эмульгации и деградации; другие не могут быть использованы для длительной тампонады сетчатки; некоторые часто бывают токсичны для внутриглазных структур.

Важно, что при исследовании гидрогелей различных составов с улучшенными физико-химическими и медицинскими характеристиками, было отмечено, что по основным свойствам именно гидрогели наиболее приближены к параметрам нативного СТ (Azad et al., 2012; Chirila et al., 1998; Donati et al., 2014; Foster, 2008). Однако, ни один из гидрогелей, изученных ранее, не обладал достаточной биосовместимостью, со временем деградировал из-за фагоцитоза и послеоперационных воспалительных процессов. Также отмечалась частая фрагментация гидрогелей при сдвиговых нагрузках, что приводило к их необратимой деструкции и потере начальных физико-химических и физико-механических свойств (Chirila et al., 1998; Donati et al., 2014).

В начале 2000-х годов в России был разработан новый ИСТ на основе слабосшитого гидрогеля, который в отличие от известных ранее полиакриламидных гидрогелей, обладал эластичностью (относительное удлинение при разрыве составляло 400-500%), упругими свойствами (высокий модуль упругости) и биосовместимостью с тканями глаза. Новый гидрогелевый заменитель СТ уникален и по своим основным характеристикам, и на данный момент не имеет аналогов в мире. Однако, для применения нового гидрогелевого ИСТ в хирургической практике необходимо проведение целого ряда доклинических и клинических экспериментальных испытаний. Важным является изучение свойств нового препарата, подтверждение его основных характеристик, выявление противопоказаний к применению и прочее.

В связи со всем вышеизложенным, можно констатировать, что в условиях постоянно возрастающего объема интравитреальных вмешательств в плановых или экстренных случаях современная офтальмохирургия испытывает недостаток в качественных и апробированных препаратах, идеально заменяющих СТ. Таким образом, изучение и апробация нового современного ИСТ является актуальной темой как для отечественной, так и для зарубежной офтальмохирургии.

Степень разработанности темы диссертационной работы

Анализ научных публикаций показал, что несмотря на значительные успехи в изучении строения и функций нативного СТ и применение в офтальмохирургии различных тампонирующих веществ, вопрос использования гидрогелей различных составов в качестве временного и/или постоянного ИСТ при лечении ОС недостаточно исследован ни в отечественной, ни в зарубежной литературе. Этой темой занимались Chirila et al. (1998) и еще несколько авторов (Foster, 2008; Azad et al., 2012; Donati et al., 2014). В отечественной офтальмохирургии нет работ, посвященных изучению свойств гидрогелей. Учитывая клиническую и социальную значимость данной патологии СТ (уменьшение количество этапов хирургического вмешательства до одного), необходимо детальное изучение свойств и характеристик нового отечественного ИСТ на основе слабосшитого гидрогеля.

Цель исследования

Оценить основные физико-химические свойства нового гидрогелевого заменителя стекловидного тела и обосновать возможность его применения в качестве искусственного заменителя стекловидного тела при хирургическом лечении отслойки сетчатки.

Задачи исследования:

1. Провести токсикологические испытания нового гидрогелевого ИСТ и оценить безопасность его применения при проведении интравитреальной операции замещения части нативного СТ лабораторных животных.
2. Изучить биосовместимость нового гидрогелевого ИСТ на здоровые ткани глаза экспериментальных животных.
3. Изучить терапевтическую эффективность трансплантаций новым ИСТ при смоделированной ОС у лабораторных животных.
4. Оценить тампонирующие свойства нового гидрогелевого ИСТ в сравнении с СМ при смоделированной ОС у лабораторных животных.
5. Определить возможные показания и противопоказания для использования нового гидрогелевого ИСТ в офтальмохирургии.
6. Обосновать возможность применения нового гидрогелевого ИСТ в клинической офтальмологической практике.

Основные положения, выносящиеся на защиту

1. Установлено, что свойства нового гидрогелевого препарата (прозрачность, равновесное влагосодержание, плотность и стерильность) соответствуют критериям идеального искусственного стекловидного тела: равновесное влагосодержание 93,5 – 94,2 мас%, плотность 1,055 – 1,066 г/см³, коэффициент преломления 1,345 – 1,350, пропускание света 93 – 95%, что подтверждает его значимость в хирургической практике. Искусственное стекловидное тело выпускается стерильным, метод стерилизации – термический, путём автоклавирования при 120⁰С в соответствии с Отраслевым Стандартом стерилизации и дезинфекции изделий медицинского назначения 42-21-2.

2. Препарат не оказывает токсического, аллергического или иного влияния на внутриглазные структуры лабораторных животных, что подтверждено токсикологическими (заключение № 137-10 от 29.07.2010 г. испытательной лаборатории «Токсиколог» Национального научного центра токсикологической и биологической безопасности медицинских изделий) и гистологическими исследованиями. Препарат не вызывает осложнения и острую гипотонию глаз кроликов, не усиливает воспалительные изменения в оболочках глаза; не нарушает структуру оставшегося стекловидного тела; не вызывает повышения внутриглазного давления; длительное время полностью сохраняет свои структурные свойства и прозрачность, что обосновывает его возможное применение для лечения пациентов с различными заболеваниями заднего отрезка глазного яблока.

3. Доказано, что тампонада новым гидрогелевым искусственным стекловидным телом при смоделированной отслойке сетчатки у лабораторных животных является эффективным методом лечения, в том числе, и в случае отслойки сетчатки с любой локализацией разрывов. Новое искусственное стекловидное тело не уступает тампонирующим свойствам другим широко применяемым в настоящее время препаратам: держит объем, не расширяется, сохраняет поверхностное натяжение и хорошо удерживает сетчатку на месте (по данным макроскопических исследований). Препарат проницаем для внутриглазной жидкости, что опосредованно не нарушает деятельность цилиарного тела. Он более стабилен, длительное

время сохраняет все свои основные характеристики, не эмульгирует и не мигрирует в переднюю камеру глаза. Благодаря своим тиксотропным свойствам новый препарат устойчив к сдвиговым нагрузкам, может быть использован с иглами малого диаметра (21 G), что позволяет минимизировать операционную травму глаза.

Научная новизна результатов диссертационной работы

В ходе проведения экспериментального исследования установлено, что интравитреальное введение нового гидрогелевого ИСТ не оказывает аллергического и токсического воздействия на ткани глаза лабораторных животных, не влияет на внутренние структуры глаза. Препарат биосовместим и безопасен для организма лабораторных животных (заключение № 137-10 от 29.07.2010 г. испытательной лаборатории «Токсиколог» Национального научного центра токсикологической и биологической безопасности медицинских изделий).

В ходе эксперимента с проведением гравиметрических и рефрактометрических исследований, осуществленного в ООО ХайБиТек было подтверждено, что основные физические, реологические и биологические характеристики нового препарата соответствуют критериям идеального ИСТ.

Впервые доказана эффективность применения нового гидрогелевого ИСТ в качестве временного или постоянного тампонирующего вещества при смоделированной ОС у лабораторных животных. Определены возможные показания и противопоказания для его дальнейшего применения. Доказано, что в сравнении с СМ новый ИСТ ни только не уступает ему по качеству тампонирующих свойств, но и обладает рядом преимуществ.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Подтверждение основных физических свойств нового препарата позволяют обосновать возможность его применения в качестве ИСТ при хирургическом лечении ОС. Апробация и применение в клинической практике этого препарата позволит уйти от многих проблем, которые возникают при применении в настоящее время существующих тампонирующих веществ и заменителей СТ (повышение ВГД, прогрессирование ПВР),

повысит эффективность лечения осложненных ОС с любой локализацией разрывов, сократит сроки послеоперационной реабилитации, снизит риски рецидивов ОС.

Изучаемое ИСТ по своим основным характеристикам близко к нативному СТ и на данный момент не имеет аналогов в мире. С увеличением срока тампонады новым ИСТ вероятность появления осложнений в отличие от тампонады СМ, остается минимальной. Новый гидрогелевый заменитель СТ может использоваться на заключительном этапе лечебного процесса, после которого не требуется дополнительное хирургическое вмешательство. Этот препарат нового поколения может стать единственным постоянным ИСТ.

Новый гидрогелевый ИСТ разработан и выпускается отечественной компанией ООО ХайБиТек и может быть доступен для применения, прежде всего, в России.

Полученные в ходе экспериментального исследования данные могут быть использованы как базисные для построения дизайна и алгоритма клинического исследования.

Апробация диссертационной работы

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России (Протокол от 20.09.2013 г. № 10).

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Протокол от 20.11.2019 г. № 25).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» в 2017 г. и на XVI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» в 2018 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикаций основных

результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Внедрение результатов диссертационной работы

Применение в офтальмохирургии нового отечественного ИСТ на основе слабосшитого гидрогеля уменьшит число осложнений после проведения витрэктомии, снизит вероятность возникновения рецидивов ОС и откроет возможность использовать его в качестве постоянного заменителя СТ. Результаты проведенного эксперимента позволяют продолжить исследования нового отечественного ИСТ и рекомендовать его для проведения клинических испытаний и дальнейшего применения в хирургической офтальмологии.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 132 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа содержит 7 таблиц, 13 рисунков, и 2 графика. Список литературы состоит из 206 публикаций, из которых 77 – отечественные источники.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности

Данная диссертационная работа полностью соответствует Паспорту специальности 14.01.07 – Глазные болезни. Медицинские науки и области исследования: п. 5 «Разработка (совместно с фармакологами) новых лекарственных препаратов. Экспериментальная и клиническая апробация».

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материал и методы исследования

Экспериментальное исследование было проведено на глазах 37 половозрелых кроликов (74 глаза), поставленных ФГУП ОПХ «Манихино», проходило на базе вивария ННЦ токсикологической и биологической безопасности медицинских изделий на основании договора и было разделено на два этапа. На первом этапе проводилось исследование токсикологических свойств нового ИСТ и его влияния на ткани глаза лабораторных животных при

частичной замене нативного СТ. На втором – изучались тампонирующие свойства нового гидрогелевого ИСТ в сравнении с СМ на смоделированной хирургическим способом ОС глаза кролика.

В эксперименте в качестве тест-системы использовали половозрелых, физически здоровых кроликов линии «серая шиншилла», примерно равных по весу (от 2,5 до 3,5 килограммов), что гарантировало одинаковый объем СТ животного (в рамках статистической погрешности). Критериями при отборе лабораторных животных являлись показатели их физического здоровья, возраста и состояние глаз. В экспериментальные группы отобраны животные без признаков отклонений от внешнего вида, случайным образом.

Для эксперимента было отобрано 37 кроликов. Хирургические операции проводились на обоих глазах каждого животного. Исследование токсикологических свойств нового ИСТ на первом этапе было проведено на 25 кроликах (50 глаз). Для второго этапа – изучения тампонирующих свойств нового ИСТ в сравнении с СМ на смоделированной ОС глаз было отобрано еще 12 кроликов. Всего в ходе экспериментального исследования было прооперировано и изучено 74 глаза (50 глаз – на первом этапе и 24 глаза – на втором). Для контроля объема СТ кролика и определения необходимого количества ИСТ был применен метод зависимости объема СТ от диаметра роговицы кролика, разработанный П.И. Лебеховым (1974).

Табл. 1.

Метод зависимости объема СТ от диаметра роговицы кролика

Диаметр роговицы	Объем стекловидного тела
15,0 мм	1,45 ± 0,03
15,5 мм	1,58 ± 0,01
16,0 мм	1,73 ± 0,02
16,5 мм	1,82 ± 0,01

В исследовании были использованы два типа препаратов нового ИСТ, отличающихся соотношением сомономеров различной природы. Для первого типа сополимеров регулярное чередование звеньев N-винилпирролидона и акриловых сомономеров составляло 90:10 мас.%, для второго типа сополимеров – 80:20 мас.%.

На втором этапе эксперимента для сравнения тампонирующих свойств использовалось силиконовое масло Sil-1000-S® (D.O.R.C. Dutch Ophthalmic Research Center (International, Нидерланды).

Регистрация результатов эксперимента осуществлялась по стандартной схеме наблюдений при проведении витреальных операций. Перед хирургическим вмешательством каждому кролику проводилось общее клиническое и офтальмологическое обследование. Далее состояние глаз кроликов оценивалось по параметрам стандартного визуального осмотра, результатам офтальмологических обследований (биомикроскопия переднего отрезка глаза и офтальмоскопия) и показателей ВГД. На протяжении всего срока наблюдения велась фиксация общего физического состояния животных, их активности, поведения и ориентации в пространстве. Были проведены морфологические исследования энуклеированных глазных яблок кроликов в разрезе и гистологические исследования биоматериала.

В ходе эксперимента все необходимые измерения проводились современными высокотехнологичными приборами. Измерение вертикального диаметра роговицы кроликов проводилось с помощью шаймпфлюг-камеры Galilei G2 (Ziemer Ophthalmic Systems AG 6.0.2, Швейцария). Контроль внутриглазного давления прооперированных глаз осуществлялся при помощи контактного тонометра Tonovet (Icare, Финляндия). Офтальмологический осмотр осуществлялся при помощи коаксиального офтальмоскопа Prestige Coaxial-Plus (WelchAllyn, США). Гистологическое исследование проводилось в лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней». Гистологические препараты готовили на «Ультратоме-IV» (LKB, Швеция) и исследовали на световом микроскопе Leica DM-2500 (Leica Microsystems AG, Германия).

Учет результатов и общую статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2010. При обработке полученных результатов был использован метод

описательной статистики, значимость различий между показателями оценивали с помощью непараметрических методов статистики.

Методика замещения СТ. Любые оперативные вмешательства проводились в условиях стерильности. Перед началом хирургической операции кролика погружали в состояние медикаментозного сна и фиксировали веревкой в стерильной хирургической пеленке. После трехкратной инстилляцией анестетика осторожно выводили глазное яблоко из-под век. В верхненаружном отделе в 2 мм от лимба через конъюнктиву прошивалась склера и накладывался предварительный узловый шов 8-0, концы которого не завязывались. С помощью шприца с иглой 21 G косо входили в полость глаза по направлению к зрительному нерву на глубину 2 мм и осторожно отсасывали примерно 3/4 объема СТ животного. Через не извлеченную иглу, другим шприцом, с набранным заменителем, медленно вводили препарат до получения легкой гипертензии глазного яблока. Одновременно с извлечением иглы затягивали склеральный шов.

Методика создания экспериментальной ОС. Условия подготовки кроликов к оперативному вмешательству были такими же, как и при замещении СТ. Кролика погружали в состояние медикаментозного сна, по меридиану 6 часов в 5 мм от лимба отсепарировывалась конъюнктура и формировался склеральный лоскут треугольной формы. С помощью иглы 27 G в субретинальное пространство вводился физиологический раствор. Склеральный лоскут ушивался. Лишняя внутриглазная жидкость выводилась через заранее сформированный парацентез роговицы. Далее под контролем микроскопа и контактной линзы с помощью иглы 21 G формировался разрыв уже отслоенной сетчатки. Моделирование ОС и введение тампонирующих средств на этом этапе проводилось в одну хирургическую сессию.

Методика гистологических исследований. Гистологическое исследование удаленных в ходе хирургического вмешательства биоптатов проводили методом полутонких срезов. Для этого образцы ткани размерами $2,0 \times 2,0$ мм² фиксировали сначала в холодном 2,5% растворе глутаральдегида в течение 2-8 часов. После промывания в фосфатном буфере образцы дофиксировали в 1% растворе осмиевой кислоты в течение одного часа. Далее

обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, ацетоне и заливали в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ результатов первого этапа

Результаты биомикроскопии переднего отрезка глаза, офтальмоскопии, ВГД на первом этапе показали, что большинство кроликов хорошо перенесли замену СТ новым гидрогелевым ИСТ (39 глаз 78% глаз от общего числа).

В единичных случаях отмечались послеоперационные осложнения. Гипертензия до 30 мм. рт. ст. отмечалась в 3 случаях (1,5% глаз от общего числа) и скорее всего была вызвана введением большего объема нового препарата при замене СТ. Также было зафиксировано развитие различных видов катаракты (10 глаз 20% от общего числа). Развитие катаракты в большинстве случаев возникло в результате механического повреждения тканей глаза (интраоперационно) и было связано с погрешностью в технике проведенного вмешательства.

Проведенные морфологические исследования подтверждали отсутствие любых изменений в тканях глаза животных, прозрачность нового гидрогелевого ИСТ и его полную биосовместимость с тканями глаза кроликов (Рисунок 1).

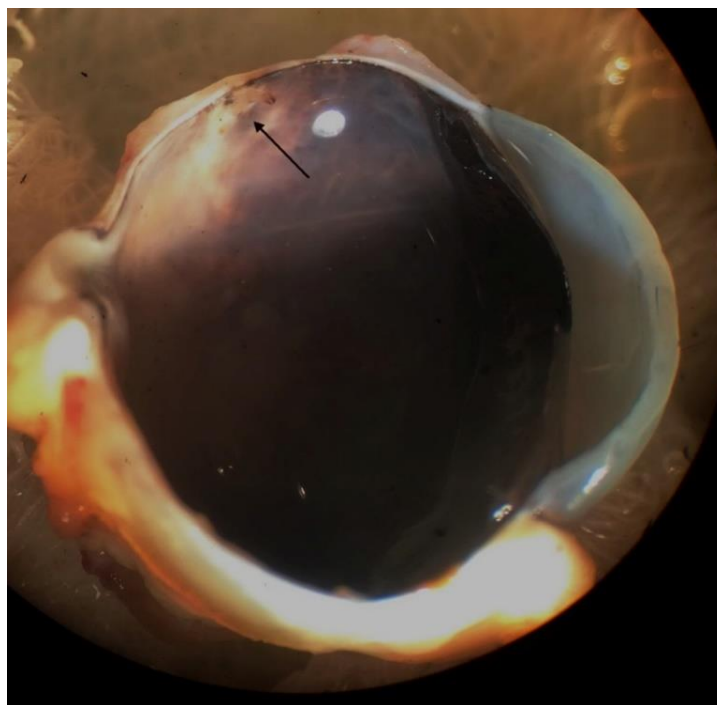


Рисунок 1. Срез глазного яблока кролика в области трансклеральной инъекции (на рисунке обозначена стрелкой), проведенной при замещении СТ новым гидрогелевым препаратом.

В конце наблюдения все параметры глаз лабораторных животных были в пределах нормы: зрительная функция сохранена, глаза спокойны, роговица прозрачная, передняя рефлекс глазного дна розовый, оболочки прилежали, отсутствовали любые признаки воспаления. Показатели ВГД соответствовали норме (94% глаз от общего числа) и колебались в пределах 12 – 18 мм. рт. ст. Показатели физического здоровья (температура тела, активность, аппетит и пр.) также полностью соответствовали норме.

Более того, в ходе эксперимента было отмечено, что новый гидрогелевый заменитель СТ также сохранил все свои свойства на протяжении длительного времени: после 12 месяцев наблюдения поведение прооперированных животных и их ориентация в пространстве были в пределах нормы. Это свидетельствует о возможности применения нового гидрогелевого ИСТ при полной или частичной замене СТ, и, вероятно, в качестве постоянного ИСТ.

Анализ результатов второго этапа

Сравнение тампонирующих свойств нового гидрогелевого ИСТ и СМ при смоделированной ОС у лабораторных животных показало, что новое ИСТ ничем не уступает тампонирующим свойствам масла (держит объем, сохраняет поверхностное натяжение, хорошо удерживает сетчатку на месте), при этом, препарат более стабилен и сохраняет все свои основные характеристики на протяжении длительного времени.

Наблюдение на втором этапе эксперимента осуществлялось на протяжении 3 месяцев – для кроликов с тампонадой СМ, и 6 месяцев – для кроликов с тампонадой новым гидрогелевым ИСТ.

У кроликов с тампонадой новым гидрогелевым ИСТ результаты биомикроскопии переднего отрезка глаза полностью соответствовали норме: глаза спокойны, роговица прозрачная, радужка структурна, зрачок правильной формы, реакция на свет сохранена, хрусталик прозрачный, рефлекс глазного дна розовый. Результаты офтальмоскопии также показали соответствие норме: ДЗН бледно-розовый, границы четкие, сосуды нормального калибра, полнокровны, макулярная область без патологии.

Финальные показатели ВГД у кроликов с тампонадой новым гидрогелевым ИСТ в большинстве случаев снизились на 1-2 мм рт.ст. (6 глаз из 12). В 4 случаях показатели ВГД остались неизменными, а в 2 случаях всего лишь незначительно возросли (на 2 мм рт.ст.). Образования катаракты на втором этапе эксперимента на фоне тампонады новым гидрогелевым ИСТ не выявлено.

У половины кроликов с силиконовой тампонадой анализ результатов биомикроскопии выявил осложнения в виде отеков роговицы на обоих глазах (3 кролика, 6 глаз), которые не позволяли исследовать глазное дно при офтальмоскопии. СМ эмульгировало и вызывало гипертензию. Финальные показатели ВГД в этой группе демонстрировали устойчивый рост. В большинстве случаев был зафиксирован значительный рост ВГД, и только в 3 случаях из 12 было отмечено небольшое увеличение давления на 1-2 мм рт.ст.

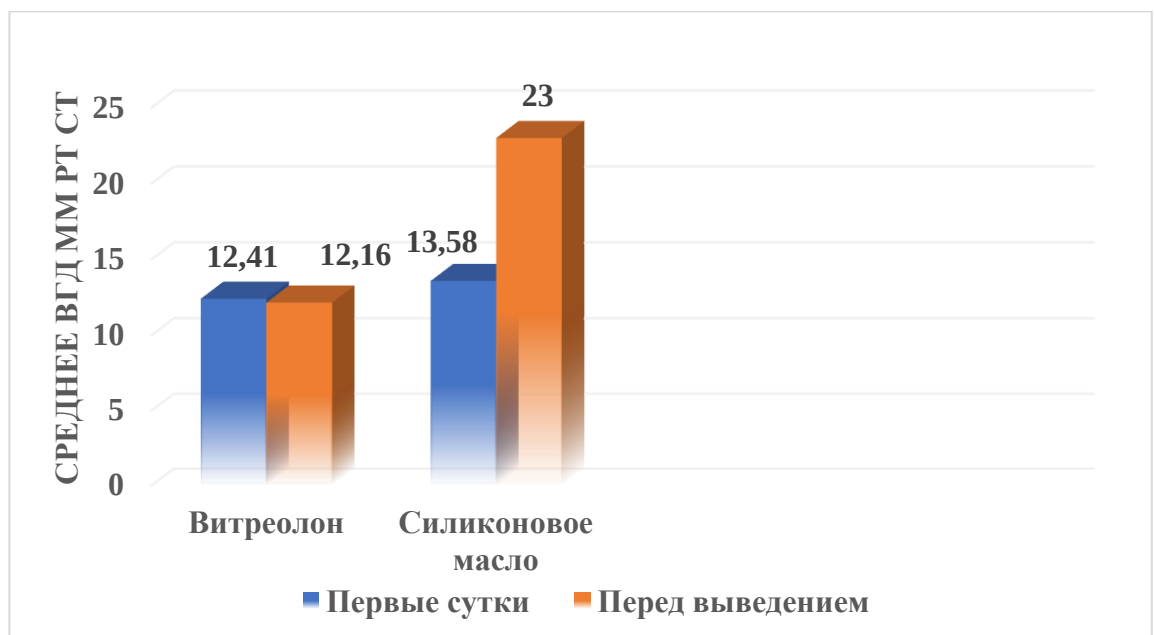


График 1. Средние значения ВГД на 2м этапе эксперимента

Таким образом, в отличие от силиконов, новый гидрогелевый заменитель СТ обладает большинством физико-химических и биологических характеристик, свойственных нативному СТ. Он проницаем для внутриглазной жидкости, вследствие чего опосредованно не подавляет деятельность цилиарного тела, более стабилен, чем СМ, не эмульгирует, не мигрирует в переднюю

камеру глаза, сохраняет все свои основные характеристики на протяжении длительного времени.

Таким образом, новый заменитель СТ может быть рекомендован для лечения сложных ОС с любой локализацией разрывов, а также для длительной или постоянной тампонады витреальной полости глазного яблока после проведенной витрэктомии.

Анализ результатов гистологического исследования

Биоптаты для гистологического исследования были взяты от каждого глаза кролика: 62 образца с введенным новым ИСТ на основе гидрогеля и 12 образцов – с СМ.

Гистологическое исследование показало, что при интравитреальном введении новое гидрогелевое ИСТ не оказывает никакого влияния на внутренние ткани глаза лабораторных животных: цилиарный эпителий, волокна цинновой связки, радужка, задний эпителий роговицы во всех исследованных образцах с новым ИСТ сохраняли свою обычную структуру (Рисунок 2). Результатом проникающего механического травмирования инъекционной иглой было локальное повреждение сетчатки и небольшое кровоизлияние в СТ.

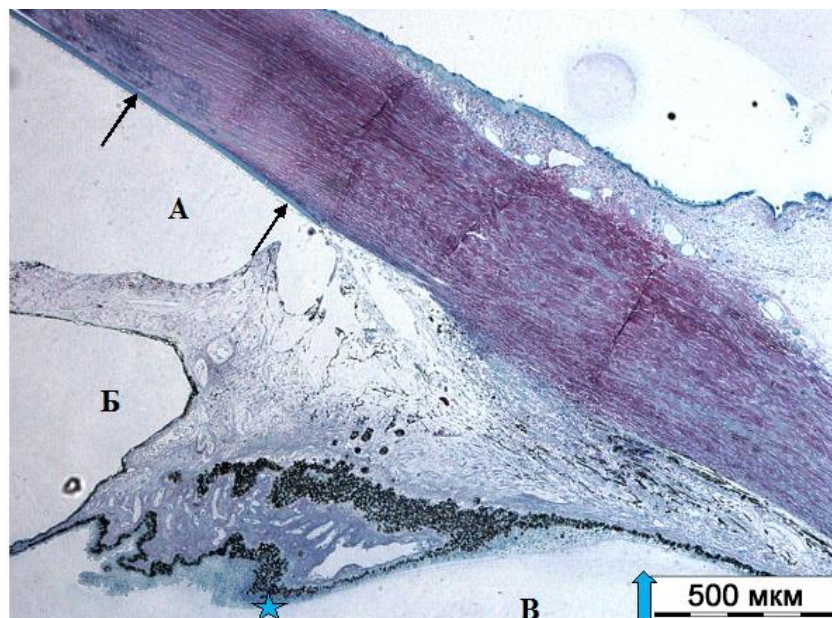


Рисунок 2. Отсутствие токсического действия нового ИСТ на внутренние структуры глаза кролика. **Обозначения на рисунке:** (А), (Б), (В) – передняя, задняя и стекловидная камеры глаза. Стрелка – задний эпителий роговицы. (★) – эпителий цилиарных отростков. Толстая стрелка – область основания стекловидного тела.

После введения нового гидрогелевого ИСТ в передней, задней и стекловидной камерах глаза животного отсутствовали признаки экссудации, преципитации и воспалительной инфильтрации. Внутренние среды глаза остались прозрачными без кровоизлияний и разрастаний фиброзной ткани, задний эпителий роговицы хорошо прослеживался на всем протяжении. Эпителий цилиарных отростков просматривался без признаков десквамации. Область основания СТ не контурировалась.

Как видно, отсутствие каких-либо воспалительных процессов во внутренних структурах глаза лабораторных животных при использовании нового гидрогелевого ИСТ свидетельствует о том, что новый препарат не оказывает какого-либо токсического действия.

После замены нативного СТ животного на новый гидрогелевый ИСТ ретинальные сосуды, слой нервных волокон и нейроны сетчатки остались без изменений, что подтверждает биосовместимость нового ИСТ с тканями глаза животного. Слой миелинизированных нервных волокон сетчатки с ретинальными сосудами и разделяющая их внутренняя пограничная мембрана, оставались полностью сохранными и практически не отличались от контралатерального (контрольного) глаза животного (Рисунок 3).

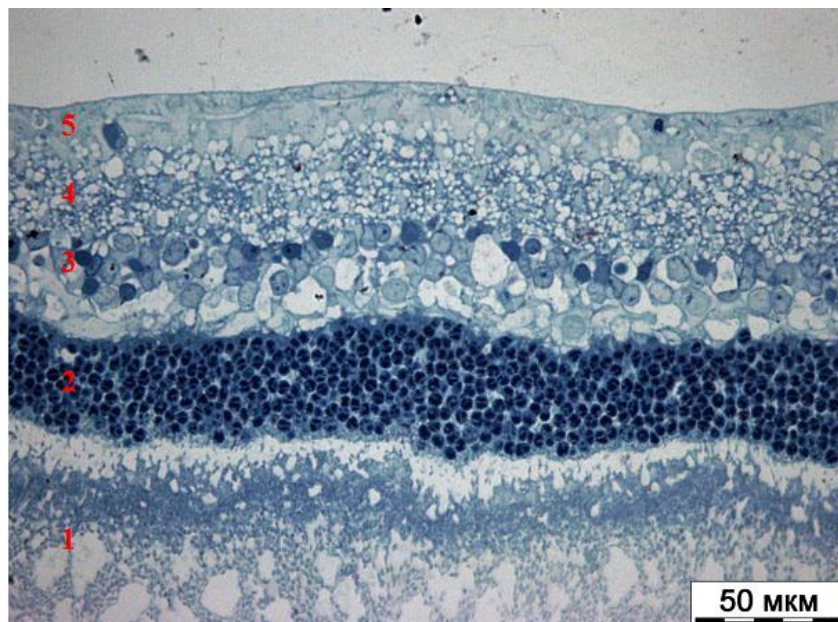


Рисунок 3. Полностью структурно сохраненная бессосудистая часть сетчатки глаза кролика с немиелинизированными нервными волокнами (фрагмент) после введения нового ИСТ. **Обозначения на рисунке:** 1 – слой

фоторецепторов; 2 – наружный ядерный слой; 3 – наружный плексиформный и внутренний ядерный слой; 4 – внутренний плексиформный слой; 5 – слой нервных волокон.

Гистологическое исследование образцов биоматериала с СМ показало выраженные патоморфологические изменения в тканях глаза лабораторных животных после эмульгации СМ в 6 случаях. При этом отмечались начальные стадии патологических изменений сетчатки и признаки глиоза. Капли силикона, окруженные макрофагами и меланоцитами, обнаруживались в строме радужки, в сетчатке и в преламинарной части зрительного нерва. Частицы силикона, окруженные макрофагами и коллагеновыми волокнами, были обнаружены около отростков цилиарного тела.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе эксперимента было подтверждено, что основные физико-химические характеристики и биологические функции нового препарата соответствуют всем критериям идеального ИСТ. Новое ИСТ обладает хорошими тампонирующими свойствами и биосовместимостью с тканями глаза животных.

Анализ результатов первого этапа эксперимента показал, что препарат не оказывает системного или местного токсического действия на ткани глаза животных, не влияет на их физическое состояние, не вызывает повышение ВГД на всех сроках наблюдения, и полностью сохраняет прозрачность на протяжении всего времени наблюдений. Безопасность использования нового ИСТ подтверждена результатами морфологических исследований энуклеированных глазных яблок кроликов в разрезе, проведенных через неделю после витрэктомии и на более поздних сроках.

Результаты второго этапа эксперимента доказывают лечебную эффективность нового ИСТ как тампонирующего вещества при ОС. Гидрогелевый заменитель СТ совместим с нативным СТ животных. На протяжении всего срока наблюдений на втором этапе при тампонаде новым ИСТ в 100% случаев отсутствовали какие-либо осложнения и/или повышение ВГД. Подтверждены тампонирующие свойства нового гидрогелевого ИСТ при лечении ОС: он держит объем, не расширяется, сохраняет поверхностное натяжение и хорошо удерживает сетчатку на месте. По этим

характеристикам новое ИСТ не уступает свойствам СМ, а по биосовместимости – превосходит его. Доказано, что новый препарат более стабилен, не эмульгирует, не мигрирует и проницаем для внутриглазной жидкости. Гистологическое исследование показало биосовместимость нового гидрогелевого ИСТ с тканями глаза и его явные преимущества перед СМ при хирургическом лечении ОС.

Полученные в ходе эксперимента данные о свойствах нового гидрогелевого ИСТ сопоставимы с результатами ранее проведенного исследования Chirila et al. (1998), которое изучало свойства гидрогелей при замещении нативного СТ. Результаты данного исследования позволяют обосновать целесообразность применения нового гидрогелевого препарата в качестве ИСТ при лечении ОС, а также рекомендовать его для проведения клинических испытаний и применения в офтальмохирургии.

ВЫВОДЫ

1. Доказано, что интравитреальное введение нового искусственного стекловидного тела не оказывает токсического, аллергического или другого негативного действия на внутренние структуры глаза и физическое состояние лабораторных животных, что подтверждено данными токсикологического (заключение № 137-10 от 29.07.2010 г. испытательной лаборатории «Токсиколог» Национального научного центра токсикологической и биологической безопасности медицинских изделий) и гистологического исследований, что подтверждает его возможное использование в хирургической практике. Эксперимент соответствует требованиям безопасности Национального стандарта Российской Федерации (ГОСТ Р 55038-2012, ИСО 16672:2003).

2. Подтверждена биосовместимость нового гидрогелевого искусственного стекловидного тела с тканями глаза животных, основанная на гистологических исследованиях. Препарат не оказывает системного или местного токсического действия, не вызывает повышения внутриглазного давления на всех сроках наблюдения, длительное время полностью сохраняет свою прозрачность, что обосновывает значимость его клинического испытания с целью применения в клинической офтальмологии.

3. Доказана лечебная эффективность трансплантаций новым искусственным стекловидным телом при смоделированной отслойке сетчатки у лабораторных животных, что подтверждается его полной совместимостью с нативным стекловидным телом, отсутствием признаков повышения внутриглазного давления в послеоперационном периоде, что даёт возможность перейти к более масштабным клиническим исследованиям.

4. Экспериментально доказано, что тампонирующие свойства нового гидрогелевого заменителя стекловидного тела не уступают свойствам силиконового масла. При хирургическом лечении смоделированной отслойки сетчатки у экспериментальных животных новый препарат обнаружил ряд преимуществ: он проницаем для внутриглазной жидкости, опосредованно не нарушает деятельность цилиарного тела (о чем свидетельствуют нормальные цифры внутриглазного давления), более стабилен, длительное время сохраняет все свои основные характеристики, не эмульгирует и не мигрирует в переднюю камеру глаза, что указывает на преимущество нового препарата перед существующими заменителями стекловидного тела.

5. Установлено, что новый гидрогелевый заменитель стекловидного тела может быть использован при лечении отслойки сетчатки с полной или частичной заменой нативного стекловидного тела, а также для временной или длительной тампонады витреальной полости. После года наблюдения новый заменитель стекловидного тела полностью сохранил свои первоначальные свойства, что свидетельствует о качестве его физических параметров. В качестве возможных противопоказаний его использования можно назвать все виды ограничений при микроинвазивной витрэктомии и индивидуальную непереносимость к одному из компонентов препарата. Для выявления или отсутствия противопоказаний необходимо проведение дальнейших исследований.

6. Подтверждены основные характеристики нового препарата, заявленные производителем (прозрачность, равномерное влагосодержание, плотность и стерильность), а также его соответствие критериям идеального искусственного заменителя стекловидного тела. Результаты морфологического и гистологического исследований показали отсутствие каких-либо

патологических изменений и токсического влияния на внутренние структуры глаза животного. Сохранность зрительных функций лабораторных животных и отсутствие изменения рефракции в течение всего срока наблюдения, подтверждают то, что коэффициент преломления нового препарата соответствует коэффициенту преломления нативного стекловидного тела.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Программа и алгоритм экспериментального исследования могут быть использованы как базисные для проведения дальнейших доклинических исследований, а также для построения дизайна и алгоритма клинического исследования и последующего внедрения нового отечественного гидрогелевого заменителя СТ в хирургическую практику.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Алексеев И.Б., Белкин В.Е., Самойленко А.И., Гулария А.А. Стекловидное тело. Строение, патология и методы хирургического лечения (обзор литературы) // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2014. – № 4. – С. 224-227. – 4/1 с. ИФ – 0,750.
2. Алексеев И.Б., Белкин В.Е., Самойленко А.И., Гулария А.А. Стекловидное тело. Строение, патология и методы хирургического лечения (обзор литературы) // Новости глаукомы: Сб. статей. – М.: Из-во «Офтальмология», 2015. – №1 (33). – С. 69-73.
3. Алексеев И.Б., Коригодский А.Р., Иомдина Е.Н., Белкин В.Е., Самойленко А.И. Основные характеристики существующих и разработка нового заменителя стекловидного тела // Российская детская офтальмология. – 2018. – № 1. – С. 54-57. – 4/0,8 с. ИФ – 0,360.
4. Алексеев И.Б., Коригодский А.Р., Иомдина Е.Н., Федоров А.А., Белкин В.Е., Самойленко А.И., Барышева Ю.К. Доклинические исследования нового заменителя

стекловидного тела «Витреолон» // Российская детская офтальмология. – 2018. – № 2. – С. 36-41. – 6/0,8 с.

ИФ – 0,360.

5. Алексеев И.Б., Коригодский А.Р., Иомдина Е.Н., Федоров А.А., Белкин В.Е., Самойленко А.И., Барышева Ю.К. Экспериментальное исследование свойств нового отечественного протеза стекловидного тела «Витреолон» в сравнении с силиконовым маслом при смоделированной отслойке сетчатки у кроликов // Биомедицина. – 2019. – Т.15, № 3. – С. 78-89.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИСТ	Искусственное стекловидное тело
ВГД	Внутриглазное давление
ПФОС	Перфторорганическое соединение
ПВР	Пролиферативная витреоретинопатия
СТ	Стекловидное тело
ОС	Отслойка сетчатки
ГК	Гиалуроновая кислота
СМ	Силиконовое масло
СОП	Стандартные операционные процедуры
ЦМВ	Цитомегаловирус
АКТГ	Адренокортикотропный гормон
OD	Oculus Dexter
OS	Oculus Sinister
Зр/кап	Зрелая катаракта
Лок/кат	Локальная катаракта
Кат.	Катаракта
З/кап	Заднекапсулярная катаракта