

Пролонгированное применение селективных иммунодепрессантов в дренажной хирургии глаукомы: экспериментальное исследование *in vivo*

В.Н. Германова^{1,2}, Е.В. Карлова^{1,2}, Л.Т. Волова¹, Н.Н. Сарбаева³, И.Ф. Нефедова¹, М.В. Радайкина²

¹ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара, Россия

²ГБУЗ «СОКОБ им. Т.И. Ерошевского», Самара, Россия

³ЧУОО ВО Медицинский университет «Реавиз», Самара, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение: одно из направлений профилактики послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы — применение противовоспалительных и антипролиферативных агентов. Перспективным является пролонгированное применение иммунодепрессантов, обладающих избирательным механизмом действия непосредственно в зоне вмешательства.

Цель исследования: в эксперименте *in vivo* оценить безопасность и эффективность имплантации биорезорбируемых дренажей, насыщенных циклоспорином либо эверолимусом.

Материал и методы: исследование было выполнено на 52 глазах кроликов. Предварительно животным моделировали изменение состояния глазной поверхности, наблюдаемое при длительном лечении гипотензивными консервант-содержащими препаратами у пациентов, страдающих глаукомой. В дальнейшем выполняли гипотензивное вмешательство проникающего типа. В ходе операции животным имплантировали биорезорбируемые дренажи на основе полилактида, насыщенные циклоспорином, эверолимусом либо не насыщенные лекарственными препаратами (контроль). В послеоперационном периоде животным проводили регулярное офтальмологическое обследование с тонометрией. Период наблюдения составил 6 мес. В сроки 7 дней, 1 мес. и 6 мес. животных выводили из эксперимента для проведения гистологического исследования зоны вмешательства.

Результаты исследования: уже в раннем послеоперационном периоде наблюдали лучшие характеристики фильтрационных подушек и меньшие значения ВГД в группах животных, прооперированных с применением иммунодепрессантов в сравнении с показателями в контрольной группе. Через 1 мес. после операции фильтрационные подушки группы контроля переставали функционировать и характеризовались высотой Н0 и шириной Е0 по классификации IBAGS у большинства животных. В группах циклоспорина и эверолимуса данные показатели были в пределах Н1-Н2 и Е1-Е3 до конца периода наблюдения. Через 6 мес. после операции средние значения ВГД в группе контроля составили 17,3±0,5 мм рт. ст. против 13,0±0,4 мм рт. ст. и 11,8±0,6 мм рт. ст. в группах циклоспорина и эверолимуса соответственно. Количество осложнений достоверно не различалось между группами. Данные гистологического исследования соответствовали полученным клиническим наблюдениям и раскрывали механизм улучшения фильтрации внутриглазной жидкости в случаях насыщения дренажей иммунодепрессантами.

Заключение: в эксперименте *in vivo* наблюдали повышение эффективности гипотензивной хирургии при имплантации дренажей, насыщенных селективными иммунодепрессантами, при сохранении необходимого уровня безопасности.

Ключевые слова: хирургия глаукомы, иммунодепрессанты, циклоспорин, эверолимус, антиглаукоматозный дренаж, рубцевание, фильтрационная подушка.

Для цитирования: Германова В.Н., Карлова Е.В., Волова Л.Т. и др. Пролонгированное применение селективных иммунодепрессантов в дренажной хирургии глаукомы: экспериментальное исследование *in vivo*. Клиническая офтальмология. 2021;21(2):78–85. DOI: 10.32364/2311-7729-2021-21-2-78-85.

Prolonged use of selective immunosuppressants in glaucoma drainage surgery: experimental *in vivo* study

V.N. Germanova^{1,2}, E.V. Karlova^{1,2}, L.T. Volova¹, N.N. Sarbaeva³, I.F. Nefedova¹, M.V. Radaykina²

¹Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

²Eroshevskiy Eye Hospital, Samara, Russian Federation

³REAVIZ Medical University, Samara, Russian Federation

ABSTRACT

Background: anti-inflammatory and antiproliferative agents are among tools to prevent postoperative scarring. Prolonged use of immunosuppressants characterized by a selective mechanism of action immediately at the surgical site.

Aim: to assess the safety and efficacy of bio-resorptive drainage devices enriched with cyclosporine or everolimus *in vivo*.

Patients and Methods: the study was conducted on 52 rabbit eyes. Before to the study, ocular surface disease provoked by the long-term use of preservative-containing IOP-lowering medications was simulated. The next step was the penetrating surgical procedure. The surgery involved implanting bio-resorptive drainage devices of polylactide enriched with cyclosporine or everolimus or control devices (neither cyclosporine

nor everolimus). Postoperatively, all rabbits underwent regular ophthalmic exams and IOP measurements. Follow-up was 6 months. After 7 days, 1 month, and 6 months, the animals were slaughtered for the histology of surgical site.

Results: better characteristics of filtering blebs and lower IOP values were seen among the animals who underwent surgical procedures with immunosuppressants compared to the control group even in the early post-op period. After 1 month, control filtering blebs stopped functioning and were characterized by the IBAGS H0 (height) and E0 (extent) in most animals. Meanwhile, in cyclosporine and everolimus groups, filtering blebs were characterized by the IBAGS H1-H2 and E1-E3 till the end of follow-up. After 6 months, mean IOP was 17.3 ± 0.5 mm Hg in the control group and 13.0 ± 0.4 mm Hg and 11.8 ± 0.6 mm Hg in cyclosporine group and everolimus group, respectively. No significant differences between the groups were reported in terms of complications. Histology matched clinical data and illustrated the mechanism of increased outflow facility after the implantation of drainage devices enriched with immunosuppressants.

Conclusion: *in vivo* experiment has demonstrated higher efficacy and similar safety of IOP-lowering surgery after the implantation of drainage devices enriched with selective immunosuppressants.

Keywords: glaucoma surgery, immunosuppressants, cyclosporine, everolimus, drainage device, scarring, filtering bleb.

For citation: Germanova V.N., Karlova E.V., Volova L.T. et al. Prolonged use of selective immunosuppressants in glaucoma drainage surgery: experimental *in vivo* study. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2021;21(2):78–85. DOI: 10.32364/2311-7729-2021-21-2-78-85.

ВВЕДЕНИЕ

По данным на 2020 г., глаукома устойчиво занимает 2-е место в мире среди всех причин слепоты и 4-е место среди причин слабовидения [1]. При неэффективности медикаментозных и лазерных методов лечения данного заболевания ведущую роль приобретает хирургия глаукомы. Однако до 53% операций теряют свою эффективность с течением времени [2]. Одна из основных причин неэффективности хирургии — рубцевание созданных во время гипотензивной хирургии путей оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) [3, 4].

Несмотря на многообразие предложенных на данный момент методов коррекции послеоперационного рубцевания, включающих как применение дренажей и имплантатов, так и медикаментозных препаратов, до сих пор не найдено безопасного, но в то же время эффективного способа борьбы с избыточным процессом репарации [5, 6]. Поскольку применение антипролиферативных препаратов, не обладающих избирательностью действия (митомин, фторурацил), сопряжено с высоким риском развития серьезных осложнений [6], в настоящее время все больше внимания уделяют изучению препаратов, селективно блокирующих различные звенья каскада воспаления и пролиферации [8]. К таким веществам относятся циклоспорин и эверолимус.

Циклоспорин, относящийся к группе ингибиторов кальциневрина, избирательно ингибирует синтез интерлейкина (ИЛ) 2 Т-хелперами [9]. В эксперименте на культурах клеток также доказана способность циклоспорина оказывать антипролиферативное действие на фибробласты [10, 11]. Однако механизм этого действия на настоящий момент не изучен. Эверолимус является ингибитором механистической мишени рапамицина mTOR, одной из ключевых киназ, регулирующих рост и пролиферацию клеток. В низких дозах, измеряемых в нг/мл, эверолимус вызывает замедление пролиферации клеток, в более высоких, измеряемых в мкг/мл, — остановку клеточного цикла в фазе G1 [12].

Для пролонгированной доставки данных иммунодепрессантов к зоне операции нами ранее был разработан способ насыщения биорезорбируемых дренажей из полилактида циклоспорином и эверолимусом [13].

Цель исследования: в эксперименте *in vivo* оценить безопасность и эффективность имплантации биорезорбируемых дренажей, насыщенных циклоспорином либо эверолимусом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование *in vivo* выполняли на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России после одобрения комитетом по биоэтике при ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Исследование выполнено на 52 глазах кроликов породы советская шиншилла весом 3–4 кг.

Для исследования результатов хирургии глаукомы в условиях, приближенных к реальной клинической практике, первым этапом 40 животным (группа 1) моделировали изменение состояния глазной поверхности, характерное для большинства пациентов, направляемых на хирургическое лечение глаукомы, путем длительных (в течение 3 мес.) инстилляций в конъюнктивальную полость комбинированного гипотензивного препарата, содержащего в своем составе бензалкония хлорид в качестве консерванта. Для сравнения 12 кроликам (группа 2) выполняли ежедневные инстилляциии натрия хлорида 0,9%. По истечении 3 мес. по 4 животных из обеих групп выводили из исследования для морфологического изучения роговицы и конъюнктивы.

В следующем этапе эксперимента участвовало 36 кроликов из группы 1, составивших 3 группы по 12 голов. Всем этим животным выполняли модель антиглаукоматозного вмешательства фильтрующего типа с имплантацией биорезорбируемого дренажа на основе полилактида. При выполнении вмешательств кроликам контрольной группы (12 глаз) имплантировали дренажи, не насыщенные лекарственными препаратами, 12 глаз оперировали с имплантацией дренажей, насыщенных циклоспорином, и 12 глаз — с имплантацией дренажей, насыщенных эверолимусом.

Период наблюдения составил 6 мес. Кроликам выполняли регулярный офтальмологический осмотр, включавший в себя биомикроскопию с оценкой фильтрационных подушек (ФП) по классификации IBAGS (The Indiana Bleb Appearance Grading Scale — оценочная шкала фильтрационных подушек Университета Индианы), офтальмоскопию, тонометрию. В сроки 7 дней, 1 мес. и 6 мес. животных выводили из эксперимента для морфологической оценки зоны вмешательства.

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 13.0. Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критериев Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка. В дальнейшем были использованы непараметрические методы статистического анализа. Группы сравнивали между

Таблица 1. Оценка состояния глазной поверхности у кроликов групп 1 и 2 в динамике, М±m**Table 1.** Ocular surface assessment in rabbit groups 1 and 2, M±m

Группа / Group	Срок / Period				
	исходный / baseline	14 дней / 14 days	1 мес. / 1 month	2 мес. / 2 months	3 мес. / 3 months
Конъюнктивальная гиперемия (в баллах от 0 до 3) / Conjunctival hyperaemia (score 0-3)					
1	0,00±0,00	0,75±0,14 ^{1,2}	1,08±0,13 ^{1,2}	1,42±0,15 ^{1,2}	1,83±0,13 ^{1,2}
2	0,00±0,00	0,00±0,00	0,08±0,08	0,25±0,13	0,25±0,13
Повреждение эпителия роговицы (по Эфрону от 0 до 4 баллов) / Corneal epithelium damage (Efron scale 0-4)					
1	0,00±0,00	0,33±0,10 ²	0,75±0,16 ^{1,2}	1,33±0,16 ^{1,2}	1,75±0,20 ^{1,2}
2	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Тест Ширмера I (мм) / Shirmir test I (mm)					
1	14,33±0,20	13,50±0,17 ^{1,2}	12,17±0,25 ^{1,2}	11,00±0,27 ^{1,2}	10,08±0,33 ^{1,2}
2	14,08±0,26	14,17±0,27	14,50±0,26	14,33±0,19	14,50±0,19

Примечание. ¹ — $p < 0,05$ для группы 1 по отношению к группе 2, ² — $p < 0,05$ по отношению к исходным значениям внутри группы.

Note. ¹ — $p < 0.05$ when comparing group 1 vs. group 2; ² — $p < 0.05$ when comparing baseline values within the groups.

собой с помощью критерия Краскела — Уоллиса. Динамику изменения ВГД внутри группы оценивали с помощью критерия Фридмана. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменения переднего отрезка в группах 1 и 2

В результате длительных инстилляций гипотензивного препарата, содержащего бензалкония хлорид в качестве консерванта, у животных группы 1 наблюдали постепенное увеличение степени гиперемии конъюнктивы, повреждение роговичного эпителия по типу эпителиопатии, а также снижение показателей пробы Ширмера I. У животных группы 2 значимых изменений переднего отрезка глаза не наблюдали (табл. 1).

При анализе гистологических препаратов глаз группы 1 наблюдали утолщение конъюнктивы с увеличением количества слоев конъюнктивального эпителия в сравнении с таковым в группе 2. В группе 1 выявлялись нарушение архитектоники конъюнктивального эпителия, участки фиброза с разрастанием новообразованных сосудов, повышенная инфильтрация фибробластами и мононуклеарами, а также увеличение плотности бокаловидных клеток (рис. 1А). При исследовании роговицы выявляли участки расслоения роговичного эпителия. У животных группы 2 конъюнктивальный эпителий сохранял свою структуру, участков уплотнения соединительной ткани и разрастания новообразованных сосудов не выявлено, эпителий роговицы сохранял свою целостность (рис. 1В).

Смоделированное состояние глазной поверхности лабораторных животных группы 1 соответствовало изменениям, наблюдаемым у большинства пациентов, страдающих глаукомой, и в дальнейшем позволило оценить влияние исследуемых препаратов на процесс избыточного рубцевания в хирургии глаукомы в условиях, наиболее приближенных к реальной клинической практике.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ

Все животные группы 1 перенесли антиглаукомные операции хорошо, интраоперационных осложнений не было. В течение первых 3 дней после вмешательства общая

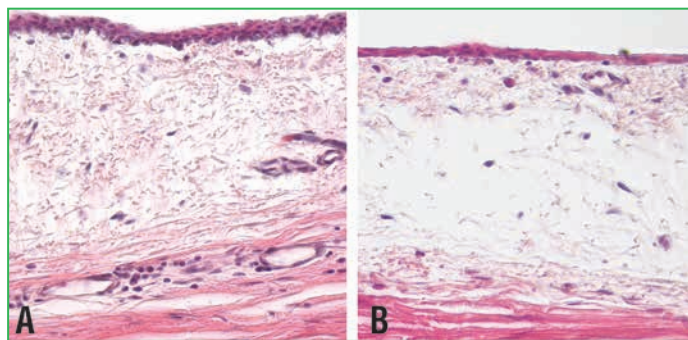


Рис. 1. Гистологическое исследование конъюнктивы кроликов группы 1 (А) и группы 2 (В). Окраска гематоксилином и эозином (увеличение $\times 400$)

Fig. 1. Histology of rabbit conjunctiva in group 1 (A) and group 2 (B). Staining: hematoxylin, eosin ($\times 400$)

конъюнктивальная инъекция была умеренной на большинстве глаз во всех группах. Через 1 нед. после операции общую гиперемию не наблюдали у животных групп циклоsporина и контроля. В группе эверолимуса гиперемия разрешалась к 10–14-му дню после операции. В ходе дальнейшего наблюдения глаза кроликов оставались спокойными. В течение 1-й недели ФП хорошо функционировали у животных всех групп. Однако с первых дней после операции ФП групп иммунодепрессантов характеризовались большей шириной в сравнении с ФП группы контроля при сходной высоте. По истечении 2 нед. после операции в группе контроля наблюдали первые признаки отграничения ФП и развития склеро-конъюнктивальных сращений, что сопровождалось достоверным в сравнении с группами циклоsporина и эверолимуса снижением показателей высоты и ширины ФП.

Через 1 мес. после вмешательства 50% ФП контрольной группы характеризовали как плоские (Н0 по IBAGS), в то время как ФП групп циклоsporина и эверолимуса соответствовали Н1–Н2. Через 6 мес. все ФП группы контроля характеризовали как плоские и ограниченные без сохранения функциональной активности. ФП групп циклоsporина и эверолимуса сохраняли функциональную активность до конца периода наблюдения, характеризовались низкой или средней высотой и шириной, но ни в одном случае не было выявлено плоских ФП (рис. 2, табл. 2).

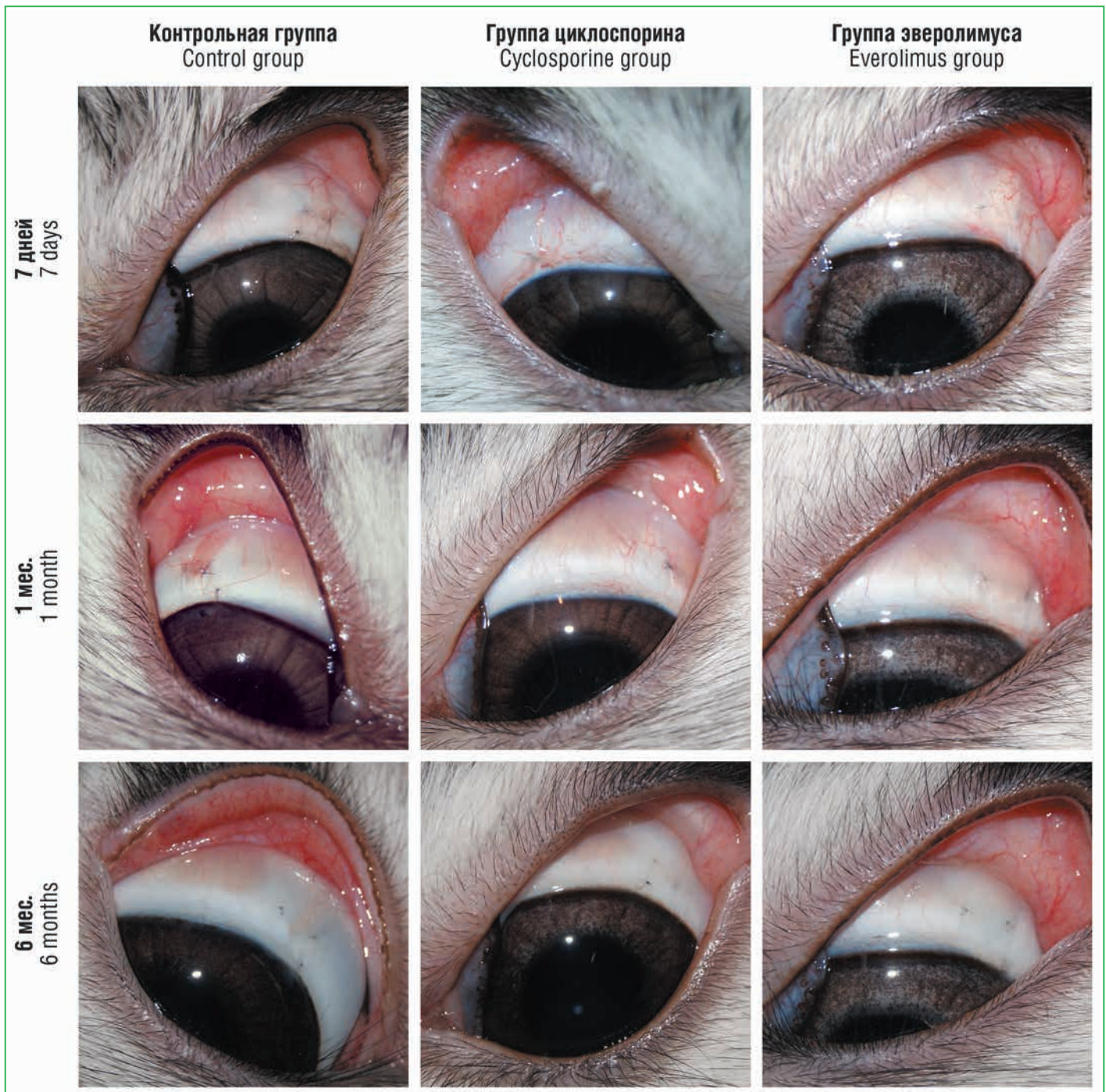


Рис. 2. Фоторегистрация переднего отрезка глаз групп контроля, циклоспорина и эверолимуса в сроки 7 дней – 6 мес. после вмешательства

Fig. 2. Anterior segment in the control group, Cyclosporine group, and Everolimus group 7 days to 6 months after surgery

Васкуляризация ФП во всех группах характеризовалась как умеренная или выраженная в течение первых дней после операции. Показатели васкуляризации ФП в группе эверолимуса в течение 1-й недели были достоверно выше в сравнении с группой контроля, но статистически значимо не отличались от группы циклоспорина. В дальнейшем интенсивность васкуляризации ФП в данной группе быстро ослабевала и через 1 мес. уже характеризовалась меньшими в сравнении с группой контроля показателями, но без статистической значимости. Таким образом, васкуляризация большинства ФП во всех 3 группах характеризовалась как слабая или умеренная без значительных

изменений до конца периода наблюдения. В 1 случае в контрольной группе наблюдалась выраженная васкуляризация с грубым отграничением дренажа.

Проба Зейделя была отрицательной в течение всего периода наблюдения у животных всех групп, несмотря на то, что в группе циклоспорина и эверолимуса наблюдали по 1 случаю несостоятельности операционной раны в ранние сроки после операции. Тем не менее наружной фильтрации у данных животных обнаружено не было. Из осложнений также наблюдали 1 случай локального отека роговицы в группе эверолимуса. В группе контроля выявили 2 случая инкапсуляции дренажа в сроки от 2 нед. до 1 мес. после

Таблица 2. Результаты оценки общей конъюнктивальной инъекции и морфологии фильтрационных подушек по классификации IBAGS у кроликов группы 1, $M \pm m$ **Table 2.** The IBAGS grading of general conjunctival hyperemia and filtering bleb morphology in group 1, $M \pm m$

Группа / Group	Срок после операции / Time after surgery				
	1 день / 1 day	7 дней / 7 days	1 мес. / 1 month	3 мес. / 3 months	6 мес. / 6 months
Общая гиперемия (средний балл по шкале от 0 до 3) / General hyperaemia (average score: 0–3)					
Контроль / Control	1,58±0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
Циклоспорин / Cyclosporine	1,67±0,14	0,00	0,00	0,00	0,00
Эверолимус / Everolimus	1,50±0,15	0,33±0,14 ¹	0,00	0,00	0,00
Высота ФП (средний балл от 0 до 3) / Bleb height (average score: 0–3)					
Контроль / Control	1,67±0,14	0,92±0,23	0,00	0,00	0,00
Циклоспорин / Cyclosporine	1,50±0,15	1,50±0,15	1,50±0,19 ¹	1,25±0,25 ¹	1,25±0,25 ¹
Эверолимус / Everolimus	1,67±0,14	1,75±0,13 ¹	1,75±0,16 ¹	1,75±0,25 ¹	1,75±0,25 ¹
Ширина ФП (средний балл от 0 до 3) / Bleb extent (average score: 0–3)					
Контроль / Control	1,83±0,17	1,33±0,19	0,13±0,13	0,00	0,00
Циклоспорин / Cyclosporine	2,42±0,23 ¹	2,25±0,22 ¹	2,00±0,27 ¹	1,50±0,29 ¹	1,50±0,29 ¹
Эверолимус / Everolimus	2,42±0,23 ¹	2,50±0,15 ¹	2,38±0,26 ¹	2,25±0,48 ¹	2,25±0,48 ¹
Васкуляризация ФП (средний балл от 0 до 4) / Bleb vascularization (average score: 0–4)					
Контроль / Control	2,67±0,19	1,75±0,13	2,25±0,16	2,75±0,75	2,50±0,50
Циклоспорин / Cyclosporine	2,75±0,22	1,83±0,20	2,00±0,00	2,00±0,00	2,00±0,00
Эверолимус / Everolimus	2,58±0,19	2,17±0,111	1,88±0,13	2,00±0,00	2,00±0,00

Примечание. ¹ — $p < 0,05$ для исследуемой группы по отношению к контрольной.

Note. ¹ — $p < 0.05$ when comparing the study group vs. control group.

операции. Во всех группах наблюдали образование сгустков фибрина в передней камере в 1-й день после вмешательства без достоверной разницы между группами. Следует отметить, что данная реакция является характерной для глаза кролика. Осложнений со стороны хрусталика и заднего сегмента глаза не наблюдали ни в одном случае.

ГИПОТЕНЗИВНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Исходный уровень ВГД достоверно не различался между группами животных и составил в среднем $17,4 \pm 1,2$ мм рт. ст. Уровень ВГД до операции был достоверно ниже исходных значений вследствие длительных инстилляций комбинированного гипотензивного препарата и составил $13,2 \pm 0,4$ мм рт. ст., $13,2 \pm 0,3$ мм рт. ст. и $13,0 \pm 0,3$ мм рт. ст. в группах контроля, циклоспорина и эверолимуса соответственно. На следующие сутки после операции наблюдали достоверное снижение ВГД во всех группах: в группе контроля — на $4,58 \pm 0,31$ мм рт. ст., в группе циклоспорина — на $4,92 \pm 0,40$ мм рт. ст., в группе эверолимуса — на $5,17 \pm 0,30$ мм рт. ст.

Наиболее быстрый рост ВГД в послеоперационном периоде наблюдали в группе контроля. Через 1 мес. после операции уровень ВГД в данной группе был близок к исходному и составлял $16,0 \pm 0,8$ мм рт. ст. К концу периода наблюдения (6 мес.) среднее значение ВГД в группе контроля составило $17,3 \pm 0,5$ мм рт. ст. (рис. 3). В группах дренажей, насыщенных иммунодепрессантами, наблюдали более медленный рост ВГД, показатели которого достоверно различались в сравнении с контрольной группой с 3-го дня после операции. Через 1 мес. у большинства животных контрольной группы уровень ВГД составил 15 мм рт. ст., в группе циклоспорина — 10 мм рт. ст.,

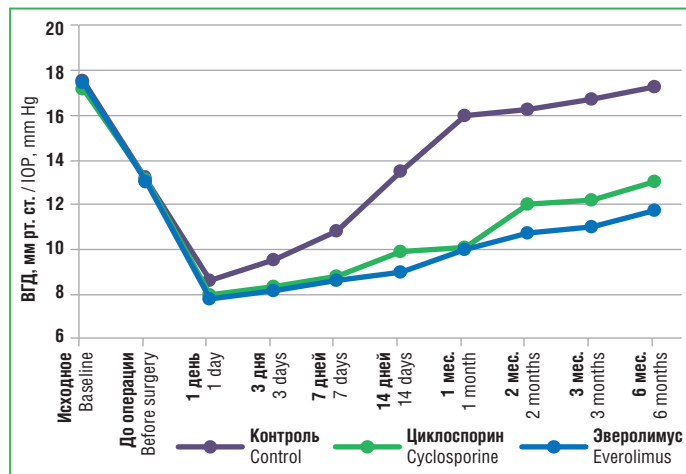


Рис. 3. Динамика изменения средних значений ВГД в ходе эксперимента

Fig. 3. Dynamics changes in mean IOP levels in the course of the experiment

а в группе эверолимуса наблюдали 2 значения моды: 9 мм рт. ст. и 10 мм рт. ст. Через 6 мес. средний уровень ВГД в данных группах составил $13,0 \pm 0,4$ мм рт. ст. и $11,8 \pm 0,6$ мм рт. ст. соответственно (см. рис. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно данным гистологического исследования в сроки 7 дней после операции в зоне вмешательства наблюдали острое воспаление с явлениями пролиферации во всех 3 группах. Дренажи группы контроля характеризовались повышенной плотностью клеточных элементов (гранулоцитов, мононуклеаров, фибробластов, гигантских клеток

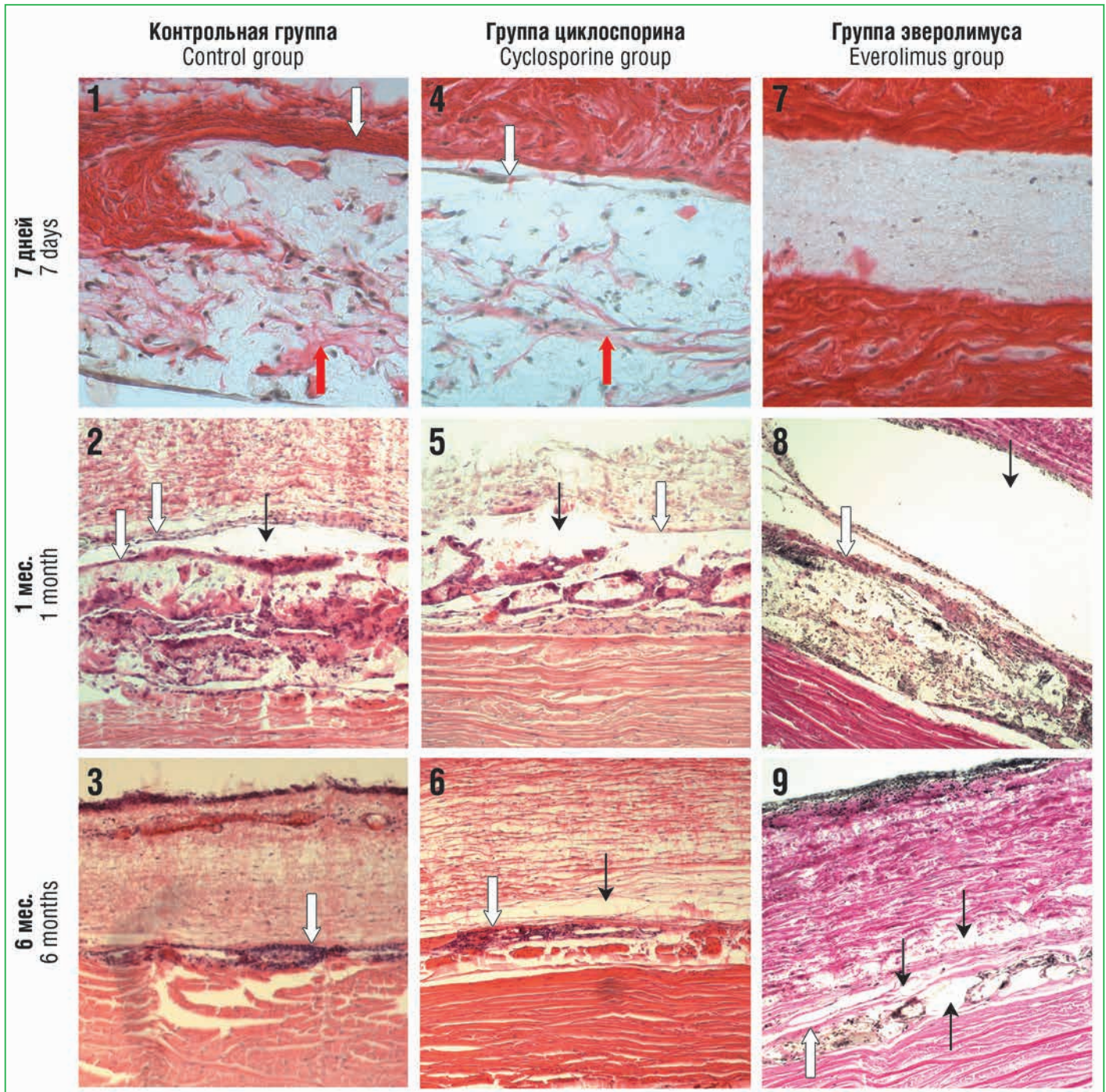


Рис. 4. Гистологические препараты зоны имплантации дренажей, насыщенных циклоспорином (4–6) либо эверолимусом (7–9), и группы контроля (1–3). Окраска: 1, 4, 7 — гематоксилин, пикросириус красный (увеличение $\times 400$); 2, 3, 5, 6 — гематоксилин, эозин (увеличение $\times 100$); 8, 9 — гематоксилин, пикрофуксин (увеличение $\times 100$). Стрелки: белые — капсула, красные — коллаген, черные — полости, через которые происходит фильтрация внутриглазной жидкости

Fig. 4. Histology of the site of the implantation of polylactic drainage devices enriched with Cyclosporine (4–6), Everolimus (7–9) or controls (1–3). Staining: 1, 4, 7 — hematoxylin, picosirius red ($\times 400$); 2, 3, 5, 6 — hematoxylin, eosin ($\times 100$); 8, 9 — hematoxylin, picrofuchsin ($\times 100$). White arrows — capsule; red arrows — collagen; black arrows — spaces for aqueous humor outflow

инородных тел (ГКИТ)). Вокруг дренажей данной группы формировалась капсула умеренной толщины, внутри материала дренажа с помощью окраски гематоксилином и пикросириусом красным выявляли синтез коллагена, выраженный в большей степени в сравнении с другими группами. Плотность клеток воспаления и фибробластов в дренажах группы циклоспорино была значительно ниже в сравнении с группой контроля. Капсула была представлена 1–3 прерывающимися рядами молодых фибробластов,

внутри дренажей обнаруживали небольшое количество синтезированного коллагена. Внутри материала дренажей группы эверолимуса наблюдали клетки воспаления и фибробласты в состоянии апоптоза, ГКИТ обнаружено не было. При этом признаков нарушения жизнеспособности клеток тканей, окружающих дренаж, не выявлено. Вокруг дренажей в данные сроки капсула либо отсутствовала, либо была представлена 1–2 рядами фибробластов. Синтез коллагена внутри дренажа не наблюдали (рис. 4).

Через 1 мес. после операции плотность клеток и коллагена внутри дренажей всех групп увеличивалась, особенно в группе контроля. Наименьшую плотность клеточных элементов и коллагена при минимальном количестве ГКИТ по-прежнему наблюдали в группе эверолимуса. Наиболее тонкие капсулы вокруг дренажей отмечали в группе циклоспорина. В дренажах данной группы в наибольшей степени была выражена резорбция с сохранением полостей для оттока ВГЖ. Несмотря на то, что дренажи группы эверолимуса были окружены капсулой, вокруг нее сохранялись выраженные пустые пространства, через которые, вероятно, происходил отток ВГЖ, формируя ФП.

Через полгода после операции в зоне имплантации дренажа сохранялась инфильтрация моноклеарами и ГКИТ во всех группах, но в наименьшей степени — в группе эверолимуса. В группе контроля не обнаруживали достаточно выраженных пространств для оттока ВГЖ. В группе циклоспорина наибольшее количество полостей наблюдали в конъюнктиве, в то время как материал дренажа был инфильтрирован клетками и новообразованными сосудами. В группе эверолимуса наиболее выраженные пространства сохранялись непосредственно в зоне имплантации дренажа после его резорбции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе эксперимента по моделированию состояния глазной поверхности, характерного для пациентов, направляемых на хирургическое лечение глаукомы, соответствовали описанному в литературе данным о повреждении переднего отрезка глаза вследствие длительного лечения консервантсодержащими гипотензивными препаратами [14]. Созданная нами модель позволила в дальнейшем оценивать воздействие исследуемых препаратов на процессы репарации после гипотензивной хирургии в условиях, приближенных к реальной практике.

Несмотря на несколько более выраженную раннюю реакцию на имплантацию дренажей, насыщенных иммунодепрессантами, в виде гиперемии и васкуляризации ФП, в дальнейшем развития склеро-конъюнктивальных сращений в данных группах не наблюдали. Напротив, имплантация дренажей, насыщенных циклоспорином и эверолимусом, способствовала улучшению морфологических показателей функционирования ФП, таких как высота и ширина, и в раннем, и в позднем послеоперационном периоде. При этом ни в одном случае не выявили формирование неблагоприятных в прогностическом отношении кистозных и аваскулярных ФП, часто наблюдаемых при применении митомицина в качестве антипролиферативного агента [15].

Данные биомикроскопии соответствовали результатам, полученным при выполнении тонометрии: наиболее стабильным и продолжительным был гипотензивный эффект операции в группах иммунодепрессантов, в то время как в группе контроля наблюдали его отсутствие уже через 1 мес. после операции.

Анализ полученных гистологических препаратов также выявил морфологические механизмы улучшения оттока ВГЖ при имплантации дренажей, насыщенных иммунодепрессантами. При этом, несмотря на удовлетворительный гипотензивный эффект обоих препаратов, механизмы оттока оказались разными в изучаемых группах. В группе циклоспорина в ранние сроки отток ВГЖ происходил преимущественно через дренаж, а затем — через пространства

вокруг него. В группе эверолимуса, напротив, в ранние сроки наблюдали наиболее выраженные пространства для оттока ВГЖ вокруг дренажа, а в поздние сроки происходила резорбция дренажа с сохранением полостей для оттока ВГЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имплантация в ходе гипотензивного вмешательства биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полилактида, насыщенных циклоспорином либо эверолимусом, способствовала ослаблению интенсивности процессов послеоперационного рубцевания и длительному сохранению созданных во время вмешательства путей оттока ВГЖ, что было доказано с помощью анализа данных офтальмологического наблюдения и морфологического исследования зоны операции. При этом постепенное высвобождение данных лекарственных веществ из материала дренажа не оказывало токсического воздействия на структуры глаза и не приводило к увеличению количества интра- и послеоперационных осложнений в сравнении с дренажной гипотензивной хирургией без применения лекарственных препаратов.

Таким образом, в эксперименте *in vivo* обоснована эффективность и безопасность пролонгированного применения циклоспорина и эверолимуса в гипотензивной офтальмохирургии.

Литература

- GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators, Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study (2021). Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. 2021;9(2): e144–e160. DOI: 10.1016/S2214-109X (20) 30489-7.
- Глаукома. Национальное руководство. Под ред. Е.А. Егорова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.
- Masoumpour M., Nowroozadeh M., Razeghinejad M. Current and Future Techniques in Wound Healing Modulation after Glaucoma Filtering Surgeries. *Open Ophthalmol J*. 2016;10(Suppl 1): M5:68–85. DOI: 10.2174/1874364101610010068.
- Zada M., Pattamatta U., White A. Modulation of Fibroblasts in Conjunctival Wound Healing. *Ophthalmology*. 2018;125(2):179–192. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.08.028.
- Петров С.Ю. Современная концепция борьбы с избыточным рубцеванием после фистулизирующей хирургии глаукомы. Противовоспалительные препараты и новые тенденции. *Офтальмология*. 2017;14(2):99–105. DOI: 10.18008/1816-5095-2017-2-99-105.
- Петров С.Ю. Современная концепция борьбы с избыточным рубцеванием после фистулизирующей антиглаукомной операции. Факторы риска и антиметаболические препараты. *Офтальмология*. 2017;14(1):5–11. DOI: 10.18008/1816-5095-2017-1-5-11.
- Захидов А.Б., Селезнев А.В., Газизова И.Р. и др. Интраоперационное применение антиметаболитов в хирургии глаукомы. *Национальный журнал глаукома*. 2020;19(1):40–45. DOI: 10.25700/NJG.2020.01.06.
- Holló G. Wound Healing and Glaucoma Surgery: Modulating the Scarring Process with Conventional Antimetabolites and New Molecules. *Glaucoma Surgery*. 2017:80–89. DOI: 10.1159/000458488.
- Tedesco D., Haragsim L. Cyclosporine: a review. *J Transplant*. 2012;2012:230386. DOI: 10.1155/2012/230386.
- Leonardi A., De Franchis G., Fregona I.A. et al. Effects of Cyclosporin A on Human Conjunctival Fibroblasts. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(10):1512–1517. DOI: 10.1001/archophth.119.10.1512.
- Viveiros M.M.H., Kakizaki F.Y., Hércules L.A. et al. In vitro study of cyclosporine A 0.05% on primary and recurrent pterygium fibroblasts. *Int Ophthalmol*. 2016;36:237–242. DOI: 10.1007/s10792-015-0106-2.
- Chatterjee A., Mukhopadhyay S., Tung K. et al. Rapamycin-induced G1 cell cycle arrest employs both TGF- β and Rb pathways. *Cancer Lett*. 2015;360(2):134–140. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.01.043.
- Германова В.Н., Карлова Е.В., Коригодский А.Р. Методика насыщения биорезорбируемого дренажа циклоспорином А в профилактике послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2018;20(1):29–33. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-1-29-33.
- Banitt M., Jung H. Ocular Surface Disease in the Glaucoma Patient. *Int Ophthalmol Clin*. 2018;58(3):23–33. DOI: 10.1097/IIO.0000000000000232.
- Yadgari M., Hassanpour K. Avascular Blebs and Late Bleb Leakage; A Review of Causes and Management. *Journal of Ophthalmic and Optometric Sciences*. 2018;2(4):31–39. DOI: 10.22037/joos.v2i4.30941.

References

1. GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators, Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study (2021). Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. 2021;9(2):e144–e160. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30489-7.
2. Glaucoma. National guideline. Ed. E.A. Egorov. M.: GEOTAR-Media; 2014 (in Russ.).
3. Masoumpour M., Nowroozzadeh M., Razeghinejad M. Current and Future Techniques in Wound Healing Modulation after Glaucoma Filtering Surgeries. *Open Ophthalmol J*. 2016;10(Suppl 1:M5):68–85. DOI: 10.2174/1874364101610010068.
4. Zada M., Pattamatua U., White A. Modulation of Fibroblasts in Conjunctival Wound Healing. *Ophthalmology*. 2018;125(2):179–192. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.08.028.
5. Petrov S.Yu. Modern methods of controlling wound healing after fistulizing glaucoma surgery. Risk factors and antimetabolites. *Oftal'mologiya*. 2017;14(2):99–105 (in Russ.). DOI: 10.18008/1816-5095-2017-2-99-105.
6. Petrov S.Yu. Modern methods of controlling wound healing after fistulizing glaucoma surgery. Risk factors and antimetabolites. *Oftal'mologiya*. 2017;14(1):5–11 (in Russ.). DOI: 10.18008/1816-5095-2017-1-5-11.
7. Zahidov A.B., Seleznev A.V., Gazizova I.R. et al. Intraoperative use of antimetabolites in glaucoma surgery. *Natsional'nyj zhurnal glaukoma*. 2020;19(1):40–45 (in Russ.). DOI: 10.25700/NJG.2020.01.06.
8. Holló G. Wound Healing and Glaucoma Surgery: Modulating the Scarring Process with Conventional Antimetabolites and New Molecules. *Glaucoma Surgery*. 2017:80–89. DOI: 10.1159/000458488.
9. Tedesco D., Haragsim L. Cyclosporine: a review. *J Transplant*. 2012;2012:230386. DOI: 10.1155/2012/230386.
10. Leonardi A., De Franchis G., Fregona I.A. et al. Effects of Cyclosporin A on Human Conjunctival Fibroblasts. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(10):1512–1517. DOI: 10.1001/archophth.119.10.1512.
11. Viveiros M.M.H., Kakizaki F.Y., Hércules L.A. et al. In vitro study of cyclosporine A 0.05% on primary and recurrent pterygium fibroblasts. *Int Ophthalmol*. 2016;36:237–242. DOI: 10.1007/s10792-015-0106-2.
12. Chatterjee A., Mukhopadhyay S., Tung K. et al. Rapamycin-induced G1 cell cycle arrest employs both TGF- β and Rb pathways. *Cancer Lett*. 2015;360(2):134–140. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.01.043.
13. Germanova V.N., Karlova E.V., Korogodskiy A.R. Enrichment of a biodegradable glaucoma drainage with cyclosporine A in prevention of postoperative scarring. *Zdorov'e I obrazovanie v XXI veke*. 2018;20(1):29–33 (in Russ.). DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-1-29-33.
14. Banitt M., Jung H. Ocular Surface Disease in the Glaucoma Patient. *Int Ophthalmol Clin*. 2018;58(3):23–33. DOI: 10.1097/IIO.0000000000000232.
15. Yadgari M., Hassanpour K. Avascular Blebs and Late Bleb Leakage; A Review of Causes and Management. *Journal of Ophthalmic and Optometric Sciences*. 2018;2(4):31–39. DOI: 10.22037/joos.v2i4.30941.

Сведения об авторах:

^{1,2}Германова Виктория Николаевна — аспирант кафедры офтальмологии, врач-офтальмолог офтальмологического отделения № 3 (микрохирургического глаукомного), ORCID iD 0000-0002-0497-9813;

^{1,2}Карлова Елена Владимировна — д.м.н., доцент кафедры офтальмологии, заместитель главного врача по инновационно-технологическому развитию, ORCID iD 0000-0003-4929-8832;

¹Волова Лариса Теодоровна — д.м.н., профессор, заведующая биотехнологическим отделом Института экспериментальной медицины и биотехнологий, ORCID iD 0000-0002-8510-3118;

³Сарбаева Наталья Николаевна — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории по проблемам морфологии Научного центра доклинических исследований, ORCID iD 0000-0001-6410-3437;

¹Нефедова Ирина Феликсовна — заведующая лабораторией экспериментальной морфологии Института экспериментальной медицины и биотехнологий, ORCID iD 0000-0002-7453-3120;

²Радайкина Мария Владимировна — заведующая офтальмологическим отделением № 3 (микрохирургическим глаукомным), ORCID iD 0000-0002-3644-6296.

¹ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89.

²ГБУЗ «СОКОБ им. Т.И. Ерошевского». 443068, Россия, г. Самара, ул. Ново-Садовая, д. 158.

³ЧУОО ВО Медицинский университет «Реавиз». 443001, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 227.

Контактная информация: Германова Виктория Николаевна, e-mail: vikaiprokhorenko@gmail.com. **Прозрачность финансовой деятельности:** научно-исследовательская работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Самарской области, Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 24.03.2021.

About the authors:

^{1,2}Viktoriya N. Germanova — postgraduate student of the Department of Ophthalmology, ophthalmologist of Ophthalmological Department No. 3 (Glaucoma Microsurgery), ORCID iD 0000-0002-0497-9813;

^{1,2}Elena V. Karlova — Doct. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Ophthalmology, Deputy Head Doctor for innovative Technological Development, ORCID iD 0000-0003-4929-8832;

¹Larisa T. Volova — Doct. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Biotechnological Division of the Institute of Experimental Medicine & Biotechnology, ORCID iD 0000-0002-8510-3118;

³Natal'ya N. Sarbaeva — Cand. of Sci. (Biol.), Leading Researcher of the Laboratory on Morphology Issues of the Scientific Center of Preclinical Studies, ORCID iD 0000-0001-6410-3437;

¹Irina F. Nefedova — Head of the Laboratory of Experimental Morphology of the Institute of Experimental Medicine & Biotechnology, ORCID iD 0000-0002-7453-3120;

²Mariya V. Radaikina — Head of Ophthalmological Department No. 3 (Glaucoma Microsurgery), ORCID iD 0000-0002-3644-6296.

¹Samara State Medical University. 89, Chapaevskaya str., Samara, 443099, Russian Federation.

²T.I. Eroshevskiy Samara Regional Clinical Ophthalmological Hospital. 158, Novo-Sadovaya str., Samara, 443068, Russian Federation.

³REAVIZ Medical University. 227, Chapaevskaya str., Samara, 443001, Russian Federation.

Contact information: Viktoria N. Germanova, e-mail: vikaiprokhorenko@gmail.com. **Financial Disclosure:** this research is supported by the Ministry of Health and Science of the Samara Region, the Foundation for the Assistance to Small Innovative Enterprises in Science and Technology. **There is no conflict of interests.** Received 24.03.2021.