

На правах рукописи

ПИСЬМЕНСКАЯ ВИКТОРИЯ АДИЛЕВНА

ПРИМЕНЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗЫ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ  
РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКИ СЕТЧАТКИ, ОСЛОЖНЕННОЙ  
ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИЕЙ

14.01.07 – глазные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2017

Работа выполнена в Федеральном Государственном Автономном Учреждении «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия Глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России

**Научный руководитель:** **Захаров Валерий Дмитриевич**,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий отделом витреоретинальной  
хирургии и диабета глаза ФГАУ «МНТК  
«Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»  
Минздрава России

**Официальные оппоненты:** **Кожухов Арсений Александрович**,  
доктор медицинских наук, профессор кафедры  
офтальмологии ФГБОУ ДПО «Институт  
повышения квалификации ФМБА России»

**Малышев Алексей Владиславович**,  
доктор медицинских наук, заведующий  
офтальмологическим отделением ГБУЗ «НИИ  
Краевая клиническая больница № 1 им. проф.  
С.В. Очаповского» Министерства  
здравоохранения Краснодарского края, доцент  
кафедры глазных болезней ГБОУ ВПО  
«Кубанский государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Ведущая организация:** **ФГБОУ ДПО «Российская медицинская  
академия последипломного образования»  
Минздрава России**

Защита состоится 6 февраля 2017 года в «    » часов на заседании диссертационного совета Д.208.014.01 при ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д.59А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

**Мушкова И.А.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Частота встречаемости регматогенной отслойки сетчатки достигает в общей популяции от 6,1 до 17,9 случаев на 100 тыс. населения, причем большинство пациентов с данной патологией составляют люди трудоспособного возраста (Lane J.I. et al. 2003; Mitry D. et al., 2012).

Значительный прогресс хирургических технологий за последние годы позволил улучшить анатомические и функциональные результаты оперативного лечения отслойки сетчатки, а также уменьшить число осложнений. Тем не менее, по данным различных авторов, процент успешных хирургических вмешательств при использовании современных высокотехнологичных подходов составляет от 61,5 до 97,5% в зависимости от тяжести исходного состояния глаза (Heimann H., 2007; Kreissig I., 2010; Wilkinson C.P., Rice T.A., 1997).

Для лечения отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией, необходимо проведение интравитреального вмешательства. В последние годы особое значение придается максимально возможному удалению кортикальных слоев стекловидного тела в процессе витрэктомии, как фактору, непосредственно влияющему на результативность хирургического лечения (Charles S., 2006; Machemer R., 1988). Несмотря на постоянное усовершенствование хирургической техники и инструментария, по-прежнему невозможно полностью механически удалить кортикальные слои стекловидного тела с поверхности сетчатки. Хирургические манипуляции могут стать причиной разрывов сетчатки, кровотечения из ее сосудов, повреждения нервных волокон, в особенности у пациентов молодого возраста (Sebag J., 1991).

Прочность витреоретинального контакта обусловлена в зоне базиса стекловидного тела проникновением витреальных фибрилл во внутреннюю пограничную мембрану сетчатки, а центральнее – наличием фибронектина и ламинина, являющихся основными адгезивными гликопротеинами

экстрацеллюлярного матрикса (Balazs E.A., 1964; Kohno t. Et al., 1987; Le Goff M.M., Bishop P.N., 2008; Wang et al., 2000).

Альтернативой механическому методу отделения задних кортикальных слоев стекловидного тела может служить биохимическая индукция отслойки кортикальных слоев стекловидного тела или «фармакологический витреолизис» (Sebag J., 2009).

Изученные на данный момент в экспериментальных работах витреолитические препараты включают гиалуронидазу, тканевой активатор пламиногена, хондроэтиназу, диспазу, плазмин и микроплазмин (Bishop P.N. et al., 1999; Bhisitkul R.B., 2001; Sebag J., 2009). Наиболее перспективными, безусловно, являются плазмин и микроплазмин, которые в определенных дозировках и при соответствующем времени инкубации могут вызывать терапевтическую заднюю отслойку стекловидного тела, но оба препарата не влияют на витрео-ретинальные взаимоотношения в зоне базиса стекловидного тела (Benz M.S. et al., 2010; Chen W. Et al., 2008; Gandofer A. et al., 2004; Sakuma T. Et al., 2005; de Smet M.D. et al., 2009). Данная особенность ограничивает применение этих препаратов в хирургии отслойки сетчатки, где от максимально полного удаления кортикальных слоев стекловидного тела с поверхности сетчатки в зоне базиса напрямую зависит успех операции (например, при наличии периферических разрывов сетчатки).

Помимо воздействия на белки экстрацеллюлярного матрикса, осуществляющие прикрепление коллагеновых фибрилл к поверхности внутренней пограничной мембраны сетчатки в зоне заднего полюса глаза и его экватора, можно воздействовать собственно на коллаген, обеспечивающий витреоретинальное сращение в зоне базиса стекловидного тела и являющийся основным компонентом фиброцеллюлярных пролиферативных мембран. Для этой цели препаратом выбора является коллагеназа.

Коллагеназа (кlostридопептидаза А) – протеолитический фермент, получаемый из бактериальной культуры *Clostridium histoliticum*. В

медицинской практике коллагеназа используется в виде водных растворов, которые готовятся непосредственно перед применением (ферментный препарат "Коллализин", выпускаемый Санкт-Петербургским НИИ вакцин и сывороток и разрешенный для интравитреального применения (регистрационный номер ЛСР-005615/09, дата регистрации 13.07.2009).

Впервые коллагеназа была получена Касавиной Б.С. с соавторами в 1969 году. Применение протеолитического фермента, обладающего субстратной специфичностью в отношении коллагена, открыло новые возможности как в консервативном, так и в хирургическом лечении. О положительных результатах использования «Коллализина» при рубцах кожи и роговицы, симблефароне, стенозах слезоотводящих путей, увеитах с экссудатом в передней камере и задними синехиями, гемофтальме свидетельствуют сообщения многих авторов (Анджелова Д.В., 2010; Краснов М.М., 1995; Лебедев О.И., 1989; Макаров И.А., 2003; Нарбут Н.П., Нуриева С.М., 1998; Нахабина Т.П., 1990; Павленко О.А., 1986; Полунин Г.С., 2000; Черкасов И.С. с соавт., 1980; Якименко С.А., 1990).

Даниличев В.Ф. (1983, 1996, 2005) расширил спектр интравитреального применения коллагеназы. Положительные результаты были получены им при консервативном лечении гемофтальма при помощи предложенного им витреолизоперфузионного способа. Интравитреальное введение коллагеназы после завершения витрэктомии по поводу гемофтальма резко сокращало частоту развития послеоперационного преретинального фиброза и рецидивов отслойки сетчатки. Существенно повысить безопасность интравитреального введения коллагеназы позволила разработанная Даниличевым В.Ф. (1983) техника регулируемого ферментного витреолиза, заключающаяся в интравитреальном введении фермента и одновременном внутривенном введении ингибиторов протеаз. Так как молекулы ингибиторов протеаз имеют низкую молекулярную массу, они легко преодолевают гематофтальмический барьер и, достигнув сосудистых структур глаза, защищают коллагенсодержащие ткани вне зоны действия препарата.

Однако до настоящего момента не проводились исследования цитотоксичности для изучения воздействия различных концентраций ферментного препарата коллагеназы в зависимости от времени инкубации, не исследовалась возможность интраоперационного применения раствора коллагеназы для деструкции кортикальных слоев стекловидного тела в зоне его базиса.

### **Цель исследования**

Разработка новой методики хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией, с применением ферментного препарата коллагеназы в процессе интравитреального вмешательства для более полного удаления кортикальных слоев стекловидного тела и повышения эффективности витреоретинальной хирургии регматогенной отслойки сетчатки.

### **Задачи исследования**

1. В эксперименте *in vitro* исследовать цитотоксичность различных концентраций препарата коллагеназы в зависимости от времени инкубации с культурой фибробластов мыши линии NIH 3T3.
2. В эксперименте *in vitro* определить минимальную эффективную дозу препарата, вызывающую разрушение кортикальных слоев стекловидного тела при интравитреальном введении.
3. Разработать методику проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы в клинике.
4. Оценить функциональные и анатомические результаты применения разработанной методики по сравнению со стандартной.
5. Определить показания и противопоказания к применению коллагеназы у пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией.

### **Научная новизна работы**

1. В эксперименте *in vitro* на культуре фибробластов мыши линии NIH 3T3 впервые исследована цитотоксичность различных концентраций препарата коллагеназы в зависимости от времени инкубации.

2. В эксперименте *in vitro* на кадаверных глазах человека определено, что доза коллагеназы 30 КЕ/мл при интраоперационном введении в витреальную полость с экспозицией в течение 10 мин. эффективно разрушает остаточный преретинальный слой стекловидного тела, не вызывая деструкции внутренней пограничной мембраны сетчатки.

3. Разработана новая методика проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы в клинике.

### **Практическая значимость работы**

1. Экспериментально определена доза ферментного препарата коллагеназы и необходимая экспозиция для интравитреального применения в ходе хирургического вмешательства, позволяющая эффективно разрушать остаточные преретинальные слои стекловидного тела, не вызывая деструкции внутренней пограничной мембраны.

2. Разработана новая методика проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы, используемая в хирургическом лечении отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией и позволяющая добиться более высоких анатомических результатов, чем при применении стандартной методики.

3. Определены показания и противопоказания к применению коллагеназы у пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная методика интраоперационного применения ферментного препарата коллагеназы позволяет более эффективно удалять кортикальные слои стекловидного тела в зоне базиса по сравнению с

механическим их удалением, тем самым повышая эффективность хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией.

2. Минимальная эффективная доза препарата коллагеназы при интравитреальном введении, не обладающая цитотоксическим действием и вызывающая эффективное разрушение остаточного преретинального слоя стекловидного тела без деструкции внутренней пограничной мембраны сетчатки, составляет 30 КЕ/мл при экспозиции 10 мин.

### **Внедрение результатов исследования**

Основные положения работы включены в тематику лекций цикла повышения квалификации врачей офтальмологов «Витреоретинальная хирургия с тренажерными занятиями по системе WETLAB» в ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, а также в лекционный курс для обучения студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре офтальмологии в ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; в клиническую практику отдела витреоретинальной хирургии и диабета глаза головной организации и отделения витреоретинальной хирургии Тамбовского филиала Федерального государственного автономного учреждения «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, офтальмологического отделения ФГБУ Клинической больницы Управления Делами Президента Российской Федерации.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации представлены в виде докладов и обсуждены на научно-практических конференциях ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» (июнь 2011, ноябрь 2015); Всероссийской патологии (Москва, 2010); VIII Научно-практической конференции «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Москва,



2010); «Неотложная помощь, реабилитация и лечение осложнений при травмах органа зрения и в чрезвычайных ситуациях (Москва,2003).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 4 в журналах, рецензируемых ВАК. Получен патент на полезную модель Российской Федерации от 5.11.02, регистрационный номер 2238066.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 120 страницах и содержит введение, 4 главы (обзор литературы, экспериментальные исследования, клинические исследования и результаты исследований) и список литературы. Работа проиллюстрирована 9 рисунками и 23 таблицами. Список литературы включает 74 отечественных и 127 иностранных источников.

Работа выполнена в ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, генеральный директор – проф. Чухраёв А.М., под руководством профессора Захарова В.Д.

Экспериментальные исследования проводились (моделирование хирургического вмешательства) в условиях операционной Wetlab научно-образовательного центра ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» (зав. НОЦ – д.м.н. Туманян Э.Р.), а также на базе Межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ (зав. лабораторией Давидович Г.Н.), под руководством и при непосредственном участии к.м.н. Лыскина П.В. Токсикологические исследования проводились на базе института медико-биологических исследований и технологий АНО «Имбиит» (зам.директора по научно-практической работе – д.б.н.Перова Н.В.)

Клиническая часть исследования выполнена на базе отдела витреоретинальной хирургии ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» (зав. отделением – к.м.н. Горшков И.М.).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материал и методы исследования

В эксперименте исследовали цитотоксичность различных концентраций препарата коллагеназы («Коллализин»), выпускаемого Санкт-Петербургским НИИ вакцин и сывороток – 5, 15, и 30 КЕ в зависимости от времени инкубации – 10, 20 или 30 мин. с культурой фибробластов мыши линии НИИ 3Т3. Большой отрезок времени не рассматривался, так как задачей было максимально возможное сокращение времени воздействия фермента в ходе операции.

Исследование для определения минимальной эффективной дозы и минимального времени экспозиции препарата коллагеназы «Коллализин», выпускаемого Санкт-Петербургским НИИ вакцин и сывороток, для разрушения остаточных волокон эпиретинального СТ было проведено в эксперименте *in vitro* на 17 кадаверных глазах 9 доноров. При производстве экспериментальных операций задачей было воссоздание условий, максимально приближенных к условиям планируемого хирургического вмешательства, соблюдение разработанной методики. Так как коллагеназу планировалось применять интраоперационно, время ограничили теоретически максимальным периодом нахождения раствора в витреальной полости во время операции – 20 минут. Применяли 5 КЕ/мл, 10 КЕ/мл, 15 КЕ/мл и 30 КЕ/мл коллализина в 4 мл физиологического раствора, то есть доза фермента не превышала безопасных значений, полученных при исследовании цитотоксичности. Экспозиция составляла 10 и 20 минут соответственно.

Полученные в результате серии экспериментов результаты позволили перейти к этапу применения разработанной методики интраоперационного введения исследуемого ферментного препарата в клинику.

Разработана методика проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы, рекомендованная для

применения в хирургическом лечении отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией.

Клинические исследования базировались на анализе до- и послеоперационных анатомических и клинико-функциональных результатов хирургического лечения 214 глаз 214 пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной ПВР. Критериями отбора пациентов для проведения исследования служили: регматогенная отслойка сетчатки длительностью существования до 6 месяцев (либо возникший в эти сроки рецидив ОС после проведения эписклерального пломбирования) с наличием пролиферативной витреоретинопатии С-D1 стадии. С целью проведения объективного сравнительного анализа были сформированы две клинические группы. В контрольной группе (98 глаз) пациентам производилась витрэктомия по стандартной методике с использованием технологии 25G. Все больные в обеих группах были обследованы с применением следующих методик: визометрии, биомикроскопии переднего отрезка глаза, обратной бинокулярной офтальмоскопии, тонометрии, периметрии, ультразвукового А- и В- офтальмосканирования, электроретинографии, определения порогов электрической чувствительности и электрической лабильности зрительного нерва.

В основной группе (116 глаз) всем пациентам было проведено хирургическое лечение отслойки сетчатки с интраоперационным применением ферментного препарата коллагеназы, при этом в процессе хирургического вмешательства после максимально возможно полного механического удаления СТ (витрэктомия) производился контролируемый ферментный витреолиз неудаленных остатков СТ. Использовался препарат коллагеназы "Коллализин", выпускаемый Санкт-Петербургским НИИ вакцин и сывороток и разрешенный для интравитреального применения (регистрационный номер ЛСР-005615/09, дата регистрации 13.07.2009). Метод осуществлялся следующим образом: после удаления остаточных кортикальных слоев СТ с поверхности сетчатки в области центральных её

отделов осуществлялось введение в витреальную полость ПФОС до нижней границы определяемой зоны витреоретинальной адгезии. Тем самым достигалась протекция сетчатки для полного исключения теоретически возможного побочного воздействия фермента на наиболее функционально значимые ее участки. После производилась максимально возможная витрэктомия с применением склерокомпрессии, механическое удаление эпиретинальных мембран. Затем в витреальную полость, предварительно остановив подачу физиологического раствора, через канюлю медленно вводили 3,5-5 мл изотонического раствора NaCl, содержащего 30 КЕ коллагеназы в 1 мл раствора. При этом под контролем микроскопа канюля постепенно подводилась к периферическим отделам сетчатки, перемещаясь по кругу, с тем, чтобы визуализируемой струей подаваемого раствора постепенно обработать все участки периферии сетчатки. При введении в витреальную полость изотонический раствор, содержащий коллагеназу, вытеснял ранее введенный физиологический раствор через имеющиеся в склере проколы. Введенный изотонический раствор коллагеназы выдерживали в витреальной полости в течение 10 минут, закрыв свободные порты заглушками, после чего возобновляли подачу физиологического раствора, а витреальную полость полностью заполняли перфторорганическим соединением. Таким образом достигалось анатомическое прилегание сетчатки и практически полное удаление остатков коллагеназы из витреальной полости. Далее производилась лазеркоагуляция сетчатки (мощностью 0,15-0,30 Вт) с формированием циркулярной линии коагуляции, ширина которой сопоставлялась с шириной диска зрительного нерва. По завершении лазеркоагуляции производилась замена ПФОС на силикон. К системе инфузии присоединяли шприц с силиконовым маслом и вводили его в витреальную полость. Одновременно осуществлялось удаление ПФОС с помощью канюли методом пассивной аспирации. В ходе операции внутривенно всем пациентам вводили раствор

ингибитора протеаз – апротинина («Контрикал») в дозе 200000 АТрЕ (150376 КИЕ).

Для оценки функциональных и анатомических результатов разработанной методики проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы послеоперационные исследования проводились у пациентов основной и контрольной групп в динамике. Сначала в раннем послеоперационном периоде, затем через 1 месяц после операции и спустя 3 месяца после оперативного вмешательства (для определения сроков удаления силиконового масла или необходимости проведения повторной ревизии). После завершения курса хирургического лечения удалением силикона наблюдение проводилось в сроки 1, 3, 6, 12 и 24 месяца после операции.

### **Статистическая обработка материала**

Сравнительный анализ клинической характеристики I (основной) и II (контрольной) групп пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией, осложнений в I (основной) и II (контрольной) группах пациентов, рецидивов и остроты зрения после хирургического лечения в I (основной) и II (контрольной) группах пациентов проводился с использованием статистического непараметрического критерия – точного метода Фишера, не зависящего от характера распределения показателя.

Для каждого включенного в анализ признака проводилось попарное сравнение заданных групп пациентов, выявлялись достоверные различия. Для получения описательной статистики и проведения сравнения сформированных групп пациентов с использованием критерия Фишера использованы пакеты программ EXCEL 2010 и STATISTICA 7.0. Значимый уровень достоверности принимался при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Результаты исследования цитотоксичности различных концентраций препарата коллагеназы в зависимости от времени инкубации с культурой фибробластов мыши линии NIH 3T3**

Проведенные испытания показали, что все исследуемые концентрации препарата коллагеназы («Коллализин») в условиях данного эксперимента не оказывают цитотоксического действия на культуру фибробластов мыши линии NIH 3T3 через 10 мин. и 20 мин. после инкубации. Через 30 мин. концентрации препарата 5KE и 15KE не оказывают цитотоксического действия на культуру фибробластов, а концентрация 30 KE оказывает незначительное цитотоксическое действие на фибробласты. При воздействии концентрации коллагеназы в 30KE после инкубации 30 минут наблюдается нерезкая цитотоксичность, которая выражается в лизисе не больше 20% клеток; не больше 20% клеток круглые, слабо прикрепленные, не имеющие интрацитоплазматических гранул.

### **Результаты эксперимента по определению минимальной эффективной дозы и экспозиции ферментного препарата коллагеназы, необходимой для разрушения кортикальных слоев стекловидного тела при интравитреальном введении**

На основании данных сканирующей электронной микроскопии, заключили, что доза коллализина 30 KE/мл при интраоперационном введении в витреальную полость с экспозицией в течение 10 мин. эффективно разрушает остаточный преретинальный слой СТ, не вызывая деструкции ВПМ сетчатки. Концентрация коллагеназы 30 KE при экспозиции в 20 минут является «пограничной» и при незначительном увеличении времени воздействия оказывает цитотоксическое влияние, что нежелательно. Таким образом, в качестве минимальной эффективной дозы ферментного препарата коллагеназы выбрана концентрация 30 KE при минимальной экспозиции в 10 мин.

**Клиническая характеристика больных I (основной) группы  
пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной ПВР**

В основной группе среди пролеченных пациентов было 51 (44,0%) женщин и 65 (56,0%) мужчин, в возрасте от 23-х до 80-ти лет. Длительность существования отслойки сетчатки варьировала от 1-го до 6-ти месяцев, составляя от 1-го до 3-х месяцев в 22-х случаях (19%) и от 3-х до 6-ти месяцев в 94-х случаях (81%). У восьми пациентов был диагностирован рецидив ранее оперированной отслойки сетчатки с применением методики эписклерального пломбирования. У пациентов основной группы преимущественно определялась миопическая рефракция высокой (43,1%) и средней (20,7%) степени. У всех пациентов определялось развитие ПВР С1- D1 стадий. С 1-4 стадия ПВР была диагностирована у 78-ми пациентов (67,2%), D 1 стадия – у 38-ми пациентов (32,8%). В 26-ти случаях отслойка сетчатки сопровождалась развитием частичного гемофтальма. Острота зрения с максимальной коррекцией в основной группе пациентов до операции колебалась от *pr. certa* до 0,2, составляя преимущественно от *pr. certae*-0,04 у 74-х пациентов (63,8%) до 0,05-0,09 у 24-х пациентов (20,7%). Внутриглазное давление у пациентов до операции колебалось от 9 до 21 мм рт. ст. (в среднем  $15 \pm 0,2$  мм рт. ст.). На 38-ми глазах (32,8%) при биомикроскопии было обнаружено помутнение в кортикальных слоях хрусталика различной степени выраженности.

**Клиническая характеристика больных II (контрольной) группы  
пациентов с отслойкой сетчатки, осложненной ПВР**

Среди пролеченных пациентов 35 (35,7%) женщин и 63 (64,3%) мужчин, в возрасте от 23-х до 80-ти лет. Длительность существования отслойки сетчатки варьировала от 1-го до 6-ти месяцев, составляя от 1-го до 3-х месяцев в 23-х случаях (23,5%) и от 3-х до 6-ти месяцев в 75-ти случаях (76,5%). У пациентов контрольной группы преимущественно определялась миопическая рефракция высокой (48,0%) и средней (22,4%) степени. У всех

пациентов определялось развитие ПВР С1-D1 стадий. С 1-4 стадия ПВР была диагностирована у 77-ми пациентов (78,6%), D 1 стадия – у 21-го пациента (21,4%). Острота зрения с максимальной коррекцией в контрольной группе пациентов до операции колебалась от  $\text{pr. certae}$  до 0,4, составляя преимущественно от  $\text{pr. certae}$ -0,04 у 63-х пациентов (64,3%) до 0,05-0,09 у 28-ми пациентов (28,6%). Внутриглазное давление у пациентов до операции колебалось от 10 до 20 мм рт. ст. (в среднем  $15 \pm 0,5$  мм рт. ст.). На 33-х глазах (33,7%) при биомикроскопии было обнаружено помутнение в кортикальных слоях хрусталика различной степени выраженности.

### **Интраоперационные осложнения и методы борьбы с ними**

В ходе оперативного вмешательства в качестве наиболее часто встречающегося осложнения отмечалось кровотечение из сосудов сетчатки, произошедшее в 4-х случаях в основной (3,4%) и в 4-х случаях в контрольной группе (4,1%) во время удаления эпиретинальных мембран. Для остановки возникшего кровотечения проводили диатермокоагуляцию сосуда. Кровотечения из склерального разреза в процессе витрэктомии встречались в контрольной группе у двух пациентов (1,7%) и были остановлены коагуляцией склеральных сосудов.

### **Течение раннего послеоперационного периода в основной и контрольной группах**

Послеоперационный период у всех пациентов протекал гладко. Оптические среды были прозрачными, не учитывая существовавшие и в дооперационном периоде частичные помутнения хрусталика. Течение послеоперационного периода в большинстве случаев характеризовалось незначительной воспалительной реакцией в виде слабовыраженной смешанной инъекции, которая регрессировала к 7-10-му дню после операции. Роговица была прозрачная без явлений отека и десцеметита. Влага передней камеры была прозрачной.



Такое осложнение как транзиторная гипертензия наблюдалось в 18-ти (15,5%) случаях в основной группе и в 15-ти (15,6%) случаях в контрольной группе. К моменту выписки из стационара ВГД компенсировалось в течение 2-4-х дней у всех пациентов.

К моменту выписки из стационара отмечалось улучшение остроты зрения на 0,01-0,1 у 82% больных основной группы и у 73% больных в контрольной группе.

### **Послеоперационные осложнения и их лечение**

В послеоперационном периоде отмечалось прогрессирование катаракты в исследуемой группе на 28-ми глазах (24,1%) (возраст пациентов в этой группе – от 51 до 80 лет), в контрольной – на 25-ти глазах (25,5%) (возраст пациентов в этой группе также от 51 до 80 лет). Возникновение начальных помутнений в задних кортикальных слоях хрусталика было выявлено в основной группе на 16-ти глазах (13,8%), а в контрольной группе на 15 глазах (15,3%).

В течение первых дней после операции отмечалось повышение внутриглазного давления на 18-ти глазах (15,5%) в основной группе и на 15-ти глазах (15,3%) – в контрольной группе. На фоне консервативной гипотензивной терапии через 3-4 дня ВГД соответствовало дооперационному уровню.

Экссудативная реакция в виде феномена Тиндаля была отмечена на 8-ми глазах (6,9 %) в основной группе и на 6-ти глазах (6,1%) в контрольной группе. Признаки воспаления купировались после назначения консервативной противовоспалительной терапии.

### **Сравнительный анализ результатов хирургического лечения больных с отслойкой сетчатки, осложненной ПВР**

После проведенного хирургического вмешательства в раннем послеоперационном периоде у всех пациентов обеих групп в 100% случаев отмечалось полное прилегание сетчатки, ретинальные разрывы были

блокированы лазерными коагулятами. Дальнейший осмотр проводили спустя 1 и 3 месяца после оперативного вмешательства для определения сроков удаления силиконового масла или проведения повторной ревизии. После удаления силикона наблюдение проводилось в сроки 1, 3, 6, 12 и 24 месяца после операции.

По завершении курса хирургического лечения были получены следующие анатомические результаты: лечение завершено удалением силиконового масла в основной группе в 112 случаях (96,5%), в контрольной группе – в 90 случаях (91,8%).

Рецидив отслойки сетчатки после удаления силикона обнаружен в основной группе в 4-х (3,4%) случаях, в контрольной группе 15-ти (15,3%) случаях.

Сводные данные по рецидивам в I (основной) и II (контрольной) группах пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Сравнительный анализ рецидивов у больных I (основной) и II (контрольной) групп пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией**

	<b>Группа I (116 больных)</b>	<b>Группа II (98 больных)</b>	<b>Достоверность различий между группами (p – значения)</b>
<b>Количество рецидивов</b>	4 (3,4%)	15 (15,3%)	<b>p=0,003</b>

Примечание: значения, указывающие на наличие значимых различий, выделены жирным шрифтом.

Частота рецидивов в основной группе достоверно ниже, чем в контрольной (3,4% против 15,3%,  $p < 0,01$ ). Таким образом, по частоте рецидивов разработанная методика имеет преимущество перед стандартной.

При анализе функциональных результатов хирургического лечения в качестве основного параметра учитывалась острота зрения с максимальной коррекцией. Острота зрения до операции и после хирургического лечения у пациентов основной и контрольной групп приведена в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

**Острота зрения у пациентов основной группы до операции  
и после хирургического лечения (с максимальной коррекцией)**

Острота зрения	Количество пациентов			
	До операции		После хирургического лечения	
	Абс.	%	Абс.	%
pr. certae – 0,04	74	63,8	6	5,2
0,05-0,09	24	20,7	20	17,2
0,1-0,2	18	15,5	56	48,3
0,3-0,4	0	0	22	19,0
0,5-0,7	0	0	12	10,3
<b>Всего</b>	116	100	116	100

Таблица 3

**Острота зрения у пациентов контрольной группы до операции  
и после хирургического лечения (с максимальной коррекцией)**

Острота зрения	Количество пациентов			
	До операции		После хирургического лечения	
	Абс.	%	Абс.	%
pr. certae – 0,04	63	64,3	10	10,2
0,05-0,09	28	28,6	21	21,4
0,1-0,2	5	5,1	48	49,0
0,3-0,4	2	2,0	12	12,2
0,5-0,7	0	0	7	7,2
<b>Всего</b>	98	100	98	100

Сводные данные по остроте зрения после хирургического лечения в I (основной) и II (контрольной) группах пациентов представлены в таблице 4.

**Сравнительный анализ остроты зрения у больных I (основной) и II (контрольной) групп пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией после хирургического лечения**

<b>Острота зрения</b>	<b>Группа I (116 больных)</b>	<b>Группа II (98 больных)</b>	<b>Достоверность различий между группами (p – значения)</b>
pr. certae-0,04	6 (5,2%)	10 (10,2%)	p=0,2
0,05-0,09	20 (17,2%)	21 (21,4%)	p=0,5
0,1-0,2	56 (48,3%)	48 (49,0%)	p=0,9
0,3-0,4	22 (19,0%)	12 (12,2%)	p=0,2
0,5-0,7	12 (10,3%)	7 (7,2%)	p=0,5

По остроте зрения после хирургического лечения разработанная методика не уступает стандартной методике.

Данные, полученные при ОКТ сетчатки, показали положительную динамику после хирургического лечения в обеих группах. В частности, отмечалось уменьшение толщины нейрорепителія, которая до операции в парацентральных зонах составляла 500-600 мкн в связи с наличием кистозного отека нейрорепителія. Через месяц после операции эта величина составляла в среднем 300-350 мкн. После удаления силикона, нормализация толщины нейрорепителія отмечалась в обеих группах в течении трех месяцев после завершения хирургического лечения. При этом не было выявлено заметных различий в структуре сетчатки между двумя группами, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия, связанного с применением ферментного препарата коллагеназы.

Проведенный сравнительный анализ анатомических и функциональных результатов хирургического лечения отслойки сетчатки с интраоперационным применением ферментного препарата коллагеназы показал более высокие результаты, чем при применении стандартной методики.

В основной группе в 30 случаях (25,8%) в связи с прогрессированием помутнений в хрусталике потребовалось проведение ФЭК+ИОЛ (возраст пациентов в этой группе – от 51 до 80 лет). В контрольной группе в 28 случаях (28,6%) в связи с возникновением и прогрессированием помутнений в хрусталике потребовалось проведение ФЭК+ИОЛ (возраст пациентов в этой группе также от 51 до 80 лет).

Таким образом, клинически и морфологически доказано, что разработанная методика интраоперационного применения ферментного препарата коллагеназы позволяет более эффективно удалять кортикальные слои СТ в зоне базиса по сравнению с механическим их удалением, тем самым повышая эффективность хирургического лечения отслойки сетчатки.

Полученные анатомические результаты применения разработанной методики – 96,5% успешного завершения хирургического лечения и 3,4% рецидивов в сравнении с данными литературы демонстрируют относительно высокий уровень её эффективности. По данным различных авторов, процент успешных хирургических вмешательств при использовании современных высокотехнологичных подходов составляет от 61,5 до 97,5% в зависимости от тяжести исходного состояния глаза (Heimann H., 2007; Kreissig I., 2010; Wilkinson C. P., Rice T. A., 1997), при этом частота рецидивов отслойки сетчатки составляет от 2,2% до 20,0%; большинство рецидивов развивается в первые три месяца после операции (Bonnet M., Guenoun S., 1995; Heimann H., 2007; Kon C. N. et al., 2000; Wilkinson C. P., Rice T. A., 1997).

На основании проведенных экспериментальных и клинических исследований определены показания к применению ферментного препарата «коллализин» в хирургическом лечении отслойки сетчатки (в случае плотной фиксации кортикальных слоев СТ к сетчатке), при ряде витреоретинальных заболеваний, таких как выраженная деструкция и помутнение стекловидного тела, пролиферативная витреоретинопатия, гемофтальм. Также разработанная методика рекомендована при хирургическом лечении рецидивов оперированной отслойки сетчатки.

Противопоказаниями к применению ферментного препарата коллагеназы в хирургическом лечении регматогенной отслойки сетчатки рекомендовали считать наличие признаков аллергической реакции на ферментный препарат «Коллализин», а также патологии свертывающей системы крови (гипокоагуляция).

Использование разработанного метода ферментного витреолиза позволяет повысить эффективность удаления кортикальных слоев СТ в процессе витрэктомии, тем самым улучшая качество хирургического лечения отслойки сетчатки и снижая риск возникновения рецидива отслойки сетчатки.

## **ВЫВОДЫ**

1. Результатами исследования цитотоксичности доказано, что все исследуемые концентрации ферментного препарата коллагеназы (5 КЕ/мл, 10 КЕ/мл, 15 КЕ/мл и 30 КЕ/мл) в условиях данного эксперимента не оказывают цитотоксического действия на культуру фибробластов мыши линии NIH 3T3 через 10 мин. и 20 мин. после инкубации; через 30 мин концентрация 30 КЕ оказывает незначительное цитотоксическое действие на фибробласты.

2. В эксперименте определена минимальная эффективная доза препарата коллагеназы, в которой он разрушает кортикальные слои стекловидного тела при интравитреальном введении: в концентрации 30 КЕ/мл при экспозиции 10 мин. происходит эффективное разрушение остаточного преретинального слоя стекловидного тела без деструкции внутренней пограничной мембраны сетчатки.

3. Отработанная методика проведения субтотальной витрэктомии с применением ферментного препарата коллагеназы в клинике позволяет интраоперационно разрушать кортикальные слои стекловидного тела в зоне базиса, которые невозможно полностью удалить механическим путем.

4. Применение новой методики позволяет получить более высокие анатомические и функциональные результаты по сравнению со стандартной.

В основной группе процент рецидивов отслойки сетчатки составил 3,4% (4 случая), в контрольной группе - 15,3% (15 случаев). После хирургического лечения в основной группе 19,0% пациентов имели остроту зрения в пределах 0,3-0,4; остроты зрения 0,5-0,7 достигли 10,3% пациентов, в то время, как в контрольной группе эти цифры составили 12,2% и 7,2% соответственно.

5. Показаниями к применению предложенной методики хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки являются наличие пролиферативной витреоретинопатии, выраженной деструкции и помутнения стекловидного тела, гемофтальма, а также рецидив оперированной отслойки сетчатки. Противопоказаниями являются наличие у пациента признаков аллергической реакции на ферментный препарат «Коллализин» либо патологии свертывающей системы крови (гипокоагуляция).

#### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Письменская В.А. Интраоперационное применение коллализина в хирургическом лечении витреоретинальной патологии // Сборник тезисов XII Итоговой межвузовской научной конференции молодых ученых и межфакультетской тематической конференции по проблеме «Новые технологии в медицине» – Москва, 2001. – С. 69-70.

2. Лыскин П.В., Письменская В.А. Интраоперационное применение коллализина в хирургическом лечении витреоретинальной патологии // Офтальмохирургия. – 2001 г. – № 3. – С.38-42.

3. Лыскин П.В., Письменская В.А. Интраоперационное применение коллализина в хирургическом лечении отслойки сетчатки // Сборник тезисов II Научно-практической конференции "Соврем. технологии лечения витреоретинальной патологии." – Москва, 2002. – С. 185-190

4. Лыскин П.В., Захаров В.Д., Письменская В.А. Хирургическое лечение осложненных отслоек сетчатки с предоперационным и интраоперационным использованием коллагенолитического фермента

коллализина // Неотложная помощь, реабилитация и лечение осложнений при травмах органа зрения и в чрезвычайных ситуациях. – Москва, 2003. – С. 177-181.

5. Тахчиди Х.П., Лыскин П.В., Лозинская О.Л., Шипунова А.В., Письменская В.А., Перова Н.В., Кайшева А.Л., Егорова В.А. Ферментная витрэктомия в лечении идиопатических макулярных разрывов // Сборник тезисов VII Научно-практической конференции "Соврем. технологии лечения витреоретинальной патологии." – Москва, 2009. – С. 166-168.

6. Тахчиди Х.П., Лыскин П.В., Лозинская О.Л., Шипунова А.В., Письменская В.А., Перова Н.В., Кайшева А.Л., Леонтьева М.Р., Богданов А.Г. Ферментная витрэктомия в лечении идиопатических макулярных разрывов // Офтальмохирургия. – Москва, 2010. – №1 – С. 19-24.

7. Лыскин П.В., Письменская В.А., Лозинская О.Л. Применение ферментного препарата «коллализин» в хирургическом лечении отслойки сетчатки // Сборник тезисов VIII Научно-практической конференции "Соврем. технологии лечения витреоретинальной патологии." – Москва, 2010. – С. 99-101

8. Лыскин П.В., Захаров В.Д., Письменская В.А. Микроанатомия витреоретинальных взаимоотношений в аспекте практической хирургии. // Сборник тезисов VIII Научно-практической конференции "Соврем. технологии лечения витреоретинальной патологии." – Москва, 2010. – С. 97-98.

9. Письменская В.А., Кислицина Н.М. Хирургическое лечение проникающих осколочных ранений с вовлечением заднего сегмента глазного яблока // Практическая медицина. – № 4 (59). – 2012. – том № 2. – С.167-172.

10. Шкворченко Д.О., Захаров В.Д., Какучина С.А., Белоусова Е.В., Русановская А.В., Норман К.С., Письменская В.А. Современные подходы к лечению регматогенной отслойки сетчатки // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2015. – т. 12 (№ 2). – С.4-10.



## **Патент РФ на изобретение по теме диссертации**

Получен патент на полезную модель Российской Федерации от 5.11.02, регистрационный номер 2238066

### **Список сокращений**

ВПМ – внутренняя пограничная мембрана

ДЗН – диск зрительного нерва

КЕ – коллагенная единица

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПВР – пролиферативная витреоретинопатия

ПФОС – перфторорганическое соединение

СТ – стекловидное тело

### **Биографические данные**

*Письменная Виктория Адилевна*, 1976 года рождения, в 1999 г. окончила с отличием лечебный факультет ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. С 1999 г. по 2001 г. проходила обучение в клинической ординатуре по офтальмологии на кафедре глазных болезней ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. С 2001 по 2010 гг. обучалась в очной аспирантуре на кафедре глазных болезней ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. С 01.07.2010 г. работает в ФГАУ «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), в настоящее время на должности младшего научного сотрудника отдела клинико-функциональной диагностики. Автор 10 печатных работ, 4 из них в журналах, рецензируемых ВАК РФ, 1 патента РФ на изобретение.