

Германова Виктория Николаевна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
СЕЛЕКТИВНЫХ ИММУНОДЕПРЕССАНТОВ ДЛЯ
КОРРЕКЦИИ ИЗБЫТОЧНОГО РУБЦЕВАНИЯ В ХИРУРГИИ
ГЛАУКОМЫ**

3.1.5 – офтальмология

3.3.2 – патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Карлова Елена Владимировна,

доктор медицинских наук, заместитель главного врача по инновационно-технологическому развитию ГБУЗ СОКОБ им. Т.И. Ерошевского; доцент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Волова Лариса Теодоровна,

доктор медицинских наук, профессор, директор биотехнологического центра «БиоТех» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Официальные оппоненты:

Анисимова Светлана Юрьевна,

доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ООО Глазной центр «Восток-Прозрение»

Волков Алексей Вадимович,

доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Е. О. Мухина» Департамента здравоохранения г. Москвы

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»

Защита диссертации состоится «18» апреля 2022 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д21.1.021.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д.59 А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета:**

доктор медицинских наук
Мушкова Ирина Альфредовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время выявлено около 70 миллионов случаев глаукомы по всему миру, а к 2040 году прогнозируемое число людей, страдающих данным заболеванием, составит 111,8 миллионов человек (Tham Y.C. et al. 2014). Согласно статистике Министерства здравоохранения Российской Федерации, в 2017 году заболеваемость глаукомой составила 1133,5 случаев на 100 000 взрослого населения. Общеизвестно, что снижение внутриглазного давления (ВГД) – основной метод патогенетического лечения глаукомы (Глаукома. Национальное руководство, 2014; Куроедов А.В. и др. 2018, Terminology and Guidelines for Glaucoma, 2020; Антонов А.А. и др. 2020; Егоров Е.А. и др. 2020). При неэффективности или невозможности применения медикаментозных и лазерных методов снижения ВГД, а также в случае выявления продвинутых стадий заболевания ведущую роль приобретает гипотензивная хирургия. Тем не менее, в разные сроки до 53% вмешательств по поводу глаукомы становятся неэффективными, главным образом, из-за избыточной репарации тканей в зоне операции (Шмырева В.Ф. и др. 2010; Глаукома. Национальное руководство, 2014; Бабушкин А.Э. 2017; Петров С.Ю. 2017; Zada M. et al. 2018; Бикбов М.М. и др. 2019; Trelford C.V. et al. 2020). В настоящее время предложено множество методов профилактики и коррекции послеоперационного рубцевания: минимизация операционной травмы, имплантация различных дренажных устройств, интра- и постоперационное применение антипролиферативных препаратов (Петров С.Ю. 2017; Holló G. et al. 2017; Zada M. et al. 2018; Бикбов М.М. и др. 2019). Зачастую изолированное применение тех или иных методик не приносит ожидаемого результата (Khaw P.T. 2001; Masoumpour M. 2016). Поэтому различными авторами предложена комбинированная концепция профилактики послеоперационного рубцевания в виде применения дренажей, насыщенных лекарственными препаратами (Тахчиди Х.П. и др. 2008; Бикбов М.М. и др. 2017; Хуснитдинов И.И. 2018). Несмотря на многообразие, существующие на данный момент способы профилактики послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы либо недостаточно эффективны, либо не отвечают требованиям безопасности. Продолжается научный поиск новых агентов, способных обеспечить высокий эффект операции при минимальной вероятности развития и степени тяжести осложнений. Все больше внимания уделяют изучению веществ, обладающих избирательным механизмом действия, селективно воздействующих на отдельные звенья каскада воспаления и

репарации. К таким веществам относятся, в том числе, иммунодепрессанты, характеризующиеся селективным действием, в частности, циклоспорин А (ЦсА) и ингибитор механистической мишени рапамицина (mTOR) эверолимус. ЦсА оказывает опосредованный антипролиферативный эффект за счет ингибирования синтеза интерлейкина-2, одного из ключевых медиаторов воспалительного каскада, активирующего другие иммунокомпетентные клетки и стимулирующего синтез провоспалительных цитокинов (Faulds D. et al. 1993; Matsuda S. et al. 2000). Антипролиферативный эффект ингибиторов mTOR основан на торможении биосинтеза белка и липидов клетками, а также остановке клеточного деления в фазе G1. При этом выявлено, что ингибиторы mTOR воздействуют не только на иммунокомпетентные клетки, но и непосредственно на фибробласты, играющие ключевую роль в репарации после операционной травмы (Averous J. et al. 2007; Chatterjee A. et al. 2015; Saxton R.A. et al. 2017). Механизм действия вышеназванных иммунодепрессантов, характеризующийся как прямым, так и опосредованным ингибированием функции фибробластов, обуславливает их потенциал в качестве антипролиферативных агентов в хирургии глаукомы, что определяет актуальность данной работы.

Степень разработанности темы исследования.

Изучению применения ЦсА и ингибиторов mTOR в хирургии глаукомы посвящены работы нескольких исследователей (Park K.H. et al. 1996; Lattanzio F.A. et al. 2005; Fakhraie G. et al. 2009; Dai Z. et al. 2016; Yan Z.C. et al. 2011; Eren K. et al. 2015; Cinik R. et al. 2016). Однако опубликованные данные по применению вышеназванных иммунодепрессантов с целью профилактики рубцевания весьма противоречивы. В большинстве работ, не показавших эффективность применения ЦсА, исследовали послеоперационное применение препарата в виде капель. ЦсА отличается низкой способностью к диффузии через конъюнктиву и роговицу (Ben Ezra D. et al. 1990; Tang-Liu D.D. et al. 2005), вследствие чего, вероятно, не были созданы терапевтические концентрации ЦсА в зоне операции. Противоречивыми были и результаты интраоперационной аппликации ЦсА и ингибиторов m-TOR, что связано с тем, что пик концентрации T-лимфоцитов, являющихся основной мишенью действия данных препаратов, приходится лишь на 5-7 сутки после вмешательства, и при однократной аппликации терапевтические концентрации препарата в зоне операции не сохраняются в течение столь длительного времени. Изучение патофизиологических основ заживления

послеоперационной раны позволяет предположить наибольшую эффективность пролонгированной доставки данных препаратов к зоне хирургического вмешательства в терапевтических концентрациях в течение 7 – 14 дней после вмешательства. В доступной на настоящий момент литературе не описано удовлетворительного способа пролонгированного применения ЦсА или ингибиторов mTOR для профилактики рубцевания в хирургическом лечении глаукомы, что служит основанием для выбора цели исследования.

Цель исследования

Разработка и экспериментальное обоснование способа пролонгированного применения селективных иммунодепрессантов для коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы.

Задачи исследования

1. Разработать способ предоперационной подготовки антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты, позволяющий усилить их антипролиферативный эффект путем насыщения селективными иммунодепрессантами (циклоспорином А либо эверолимусом);
2. Определить антипролиферативную активность и цитотоксичность циклоспорина А и эверолимуса в эксперименте на культуре фибробластов теноновой капсулы человека на основании морфометрического анализа;
3. Провести клинико-морфологическую оценку влияния длительных инстилляций комбинированного гипотензивного препарата на ткани глазной поверхности в эксперименте *in vivo*;
4. В эксперименте *in vivo* изучить влияние имплантации антиглаукоматозных дренажей, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом, на воспаление и репарацию в зоне фистулизирующей гипотензивной операции на основании гистологического анализа;
5. Произвести оценку эффекта хирургических вмешательств с имплантацией антиглаукоматозных дренажей, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом, в эксперименте *in vivo*.

Научная новизна

1. Впервые разработан способ предоперационной подготовки биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной

кислоты путем их насыщения циклоспорином А либо эверолимусом, позволяющий получить стандартизированные дренажи с заведомо известным количеством сорбированных иммунодепрессантов в соответствии с разработанными математическими моделями.

2. Впервые доказан прямой антипролиферативный эффект циклоспорина А и эверолимуса на фибробласты теноновой капсулы человека в пределах концентраций 0,05-2,0 мкг/мл и 0,5-20,0 мкг/мл соответственно при сохранении их жизнеспособности.

3. Впервые разработан способ профилактики послеоперационного рубцевания при хирургическом лечении глаукомы, включающий применение биорезорбируемых дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных селективными иммунодепрессантами, для коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы (Патент РФ на изобретение № 2724854 от 25.06.2020).

Теоретическая и практическая значимость

1. Разработанный способ предоперационной подготовки биорезорбируемых дренажей на основе полимолочной кислоты путем их насыщения селективными иммунодепрессантами (циклоспорином А либо эверолимусом) позволяет получать стандартизированные дренажи с антипролиферативными свойствами для повышения эффективности хирургического лечения глаукомы.

2. Полученные в ходе эксперимента *in vitro* на культурах фибробластов теноновой капсулы человека данные о концентрациях циклоспорина А и эверолимуса, оказывающих антипролиферативный эффект, являются теоретической основой для создания систем доставки лекарств с вышеуказанными препаратами для терапии состояний, сопровождающихся фиброзом теноновой капсулы.

3. В ходе эксперимента *in vivo* доказано, что имплантация биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных селективными иммунодепрессантами (циклоспорином А либо эверолимусом), способствует снижению интенсивности послеоперационного рубцевания и повышению эффективности гипотензивной хирургии без увеличения вероятности развития осложнений.

4. После проведения дополнительных доклинических и соответствующих клинических исследований предложенный способ профилактики послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы может

быть использован для повышения эффективности гипотензивных операций у пациентов в офтальмологических стационарах.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанный способ пролонгированного применения селективных иммунодепрессантов в хирургии глаукомы, заключающийся в имплантации в ходе гипотензивного вмешательства антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом, позволяет повысить эффективность хирургического лечения глаукомы за счет снижения интенсивности процессов послеоперационного рубцевания в эксперименте *in vivo*.

2. Циклоспорин А и эверолимус оказывают прямой антипролиферативный эффект на фибробласты теноновой капсулы человека в концентрациях 0,05-2,00 мкг/мл и 0,5-20,0 мкг/мл соответственно при отсутствии цитотоксичности.

Степень достоверности

Степень достоверности диссертационного исследования подтверждается достаточным объемом объектов исследования на каждом этапе (295 образцов антиглаукоматозных биорезорбируемых дренажей на основе полилактида, 65 образцов культур клеток фибробластов теноновой капсулы человека, 52 глаза кроликов), использованием современных методов исследования на этапах *in vitro* и *in vivo*, современных методов статистической обработки данных.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на X Международной (XIX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (г. Москва, 2015 г.), всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Аспирантские чтения" (г. Самара, 2015, 2018, 2019, 2020 гг.), на Конгрессе Европейского глаукомного общества (г. Флоренция 2018 г., г. Брюссель 2020 г.), на Всемирном глаукомном конгрессе (г. Мельбурн, 2019 г.), на международной конференции "Успехи в исследовании глаукомы и клинической практике" (г. Амстердам, 2019 г.), на международном конгрессе по хирургии глаукомы (г. Лондон, 2020 г.), на научно-практической конференции «Лечение глаукомы: инновационный

вектор» (г. Москва, 2021 г.), на научно-практической конференции «Лига молодых офтальмологов» (г. Уфа, 2021 г.), на научно-практической конференции «Общая и военная офтальмология» (г. Санкт-Петербург, 2021 г.), на всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения» (г. Москва, 2021 г.).

Внедрение результатов исследования

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты применяются в преподавании курса офтальмологии для студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре офтальмологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Результаты исследования внедрены в практическую работу лаборатории культур клеток человека биотехнологического центра «БиоТех» и лаборатории экспериментальной морфологии Института экспериментальной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава РФ.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в постановке цели и задач исследования, разработке дизайна исследования, анализе современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, разработке алгоритма и методологии экспериментальных исследований. Автор принимал участие в проведении экспериментов *in vitro*, самостоятельно проводил исследование *in vivo*. Автором самостоятельно проведен сбор данных и их статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Соответствие паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует паспортам следующих научных специальностей: 3.1.5 – офтальмология в области разработки новых хирургических технологий и 3.3.2 – патологическая анатомия в области исследования патогенетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создания основ патогенетической терапии.

Публикации

По теме диссертации опубликована 21 научная работа, из которых 3 – в журналах, индексируемых в международной базе данных Scopus, 7 – в журналах, рецензируемых ВАК РФ. Получен 1 патент РФ на изобретение № 2724854 от 25.06.2020.

Структура и объем работы

Текст диссертации изложен на 162 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, а также 3 главы результатов собственных исследований и заключения. В работе представлено 29 таблиц и 92 рисунка, а также 3 приложения. Список литературы содержит 223 источника, из них отечественных – 96, зарубежных – 127.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для решения указанных задач была выполнена серия последовательных экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

Первым этапом был разработан способ предоперационной подготовки антиглаукоматозных биорезорбируемых дренажей на основе полилактида (ООО «Хайбитек», Россия) путем их насыщения циклоспорином А либо эверолимусом. Для определения способности дренажей к сорбции ЦсА, образцы с пористой либо микроволокнистой структурой помещали в растворы данного препарата, приготовленные путем разведения концентрата ЦсА для приготовления раствора для внутривенных инфузий с содержанием действующего вещества 50 мг/мл (Сандиммун, Novartis Pharma, Швейцария, далее - концентрат) сбалансированным солевым раствором в различных соотношениях от 1:0 до 1:30. Насыщение препаратом производили в течение 5-30 минут. Количество сорбированного ЦсА определяли методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) на хроматографической системе Prelude SPLC (Thermo Fisher Scientific, США), сопряженной с тройным квадрупольным масс-спектром TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific, США). Насыщение дренажей эверолимусом производили в 1-3% суспензии порошка эверолимуса (>95%, Sigma-Aldrich, США) в

физиологическом растворе в течение 2-8 минут с помощью ультразвукового диспергатора И100-6/1 (ООО «Инлаб», Россия) при мощности 630 Вт, частоте 22 кГц. Количество сорбированного эверолимуса определяли путем микровзвешивания (NETZSCH-Gerätebau GmbH, Германия). Полученные данные использовали для построения математических моделей зависимости количества сорбированных препаратов от условий насыщения (STATISTICA 12.0, StatSoft Inc., США).

Для определения динамики десорбции препаратов в условиях, приближенных к реальным, образцы дренажей помещали в емкости со сбалансированным солевым раствором в объеме, соответствующем количеству внутриглазной жидкости, проходящему через дренаж за определенный промежуток времени, из расчета 3 мл/сут. Эксперимент проводили с помощью шейкера-инкубатора ES-20/60 (Biosan, Латвия) при постоянной температуре 37 °С (50-60 оборотов в минуту). Дренажи извлекали из контейнеров и определяли концентрацию ЦсА и эверолимуса в растворах с помощью ВЭЖХ-МС и высокоточного взвешивания на микровесах соответственно каждые 6 часов в течение первых суток и каждые 24 часа в дальнейшем.

Следующим этапом исследовали цитотоксичность и антипролиферативную активность иммунодепрессантов на культуре фибробластов теноновой капсулы человека в пределах концентраций, высвобождаемых дренажами: 0,05-2,0 мкг/мл для ЦсА и 0,5-20,0 мкг/мл для эверолимуса. Группой контроля служили культуры фибробластов теноновой капсулы человека без добавления лекарственных препаратов в питательную среду. Антипролиферативную активность оценивали с помощью определения плотности монослоя, индекса пролиферации, времени удвоения культуры и количества удвоений. Цитотоксичность оценивали по доле поврежденных клеток, выявляемых с помощью окрашивания культур трипановым синим, суданом IV и гематоксилином, а также набором флуорофоров («Live/Dead Cell-Mediated Cytotoxicity Kit», Invitrogen, США). Анализ окрашенных препаратов, фоторегистрацию и морфометрию производили с помощью аппаратно-программного комплекса на основе исследовательского микроскопа Olympus VX-41 («Olympus», Япония), с использованием программного обеспечения CellSens Standart 1.7 («Olympus», Япония) и «Морфология 5.2» («ВидеоТест», Россия).

Эксперимент *in vivo* выполняли на 52 глазах кроликов породы советская шиншилла. Поскольку большинство пациентов, направляемых на хирургическое лечение глаукомы, перед операцией подвергаются длительному местному медикаментозному лечению, ухудшающему исходы операции

(Voimer С., 2013; Петров С.Ю., 2017), первым этапом было проведено исследование влияния консервант-содержащего антиглаукоматозного препарата на состояние тканей глазной поверхности лабораторных животных. Для этого 40 кроликам группы 1 в течение 3 месяцев до операции выполняли ежедневные инстилляции комбинированного препарата, содержащего β -блокатор тимолола малеат 0,5%, аналог простагландинов латанопрост 0,005% и бензалкония хлорид в концентрации 0,1 мг/мл в качестве консерванта (Pfizer, США). 12 кроликам группы 2 (контрольной) выполняли инстилляцию натрия хлорида 0,9%. В течение 3 месяцев кроликам проводили биомикроскопию с помощью ручной щелевой лампы (SHIN NIPPON XL-1, Япония) с балльной оценкой конъюнктивальной гиперемии и степени повреждения роговицы, пробу Ширмера I с использованием полосок Fluo Strips (Contacare Ophthalmics and Diagnostics, Индия), фоторегистрацию переднего отрезка глаза. На 90-е сутки проводили гистологическое исследование конъюнктивы, склеры и роговицы.

Следующим этапом на 36 глазах кроликов группы 1 выполняли модель гипотензивного вмешательства проникающего типа с имплантацией биорезорбируемых пористых дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом. При выполнении вмешательств на глазах контрольной группы имплантировали дренажи, не насыщенные лекарственными препаратами. Перед операцией, а также в течение всего послеоперационного периода осуществляли офтальмологическое обследование, включавшее в себя биомикроскопию (SHIN NIPPON XL-1, Япония), офтальмоскопию (Welch Allyn 11720, США), тонометрию (Tonovet, Tiolat, Финляндия) и фоторегистрацию переднего отрезка глаза. Морфологию фильтрационных подушек (ФП) характеризовали по оценочной шкале фильтрационных подушек университета Индианы (IBAGS). По истечении 7 дней, 1 и 6 месяцев животных выводили из эксперимента для проведения гистологического анализа зоны операции. Исследовали клеточный состав (мононуклеары, гигантские клетки инородных тел (ГКИТ), гранулоциты, фибробласты), а также количество новообразованного коллагена внутри дренажей, толщину и плотность соединительнотканной капсулы, количество новообразованных кровеносных сосудов, выраженность фильтрующих пространств. Вышеперечисленные параметры оценивали в баллах от 0 до 5 согласно межгосударственному стандарту оценки биологического действия медицинских изделий.

Создание базы данных, статистическую обработку и графическое изображение полученных результатов производили с помощью программного

обеспечения STATISTICA 12.0 и MS Excel 2010. Гипотезу о нормальном распределении исследуемых выборок проверяли с помощью критериев Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Поскольку полученные данные имели распределение, отличное от нормального, при анализе результатов использовали непараметрические методы статистики. В тексте результаты представлены в виде значений $Me (Q_1; Q_3)$, где Me – медиана, Q_1 и Q_3 – 1-й и 3-й квартили соответственно. Для построения математических моделей использовали метод множественной нелинейной регрессии. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты разработки способа предоперационной подготовки антиглаукоматозных дренажей

В ходе исследования способности дренажей на основе полилактида к насыщению ЦсА выявлено, что уровень сорбции препарата из раствора зависел в большей мере от времени насыщения, чем от степени разведения (коэффициент корреляции Спирмена 0,76 против 0,18 и 0,74 против 0,40 для пористой и микроволокнистой моделей соответственно). На основе эмпирически полученных данных были построены математические модели, с высокой степенью точности прогнозирующие количество сорбируемого на дренаже ЦсА в зависимости от условий насыщения ($R^2=0,97$ пористой модели и $R^2=0,98$ для микроволокнистой). Согласно полученным моделям, максимально прогнозируемое насыщение дренажей ЦсА составило 5,07 мкг для пористой модели и 3,71 мкг для микроволокнистой и происходило в течение 22 и 23 минут соответственно. В эксперименте при соответствующих условиях насыщения значения медианы содержания ЦсА в дренажах составили 4,95 мкг для пористой модели и 3,55 мкг для микроволокнистой.

По результатам анализа кривых десорбции ЦсА пористые дренажи с содержанием препарата 4,0 мкг и более обеспечивали пролонгированное высвобождение иммунодепрессанта в терапевтических концентрациях (более 0,05 мкг/мл) в течение 7 суток (Рисунок 1). При этом максимально зафиксированная концентрация ЦсА составила 1,5 мкг/мл. Для микроволокнистых дренажей максимальный период высвобождения препарата составил 3 дня, что заведомо недостаточно для коррекции избыточного рубцевания при местном применении.

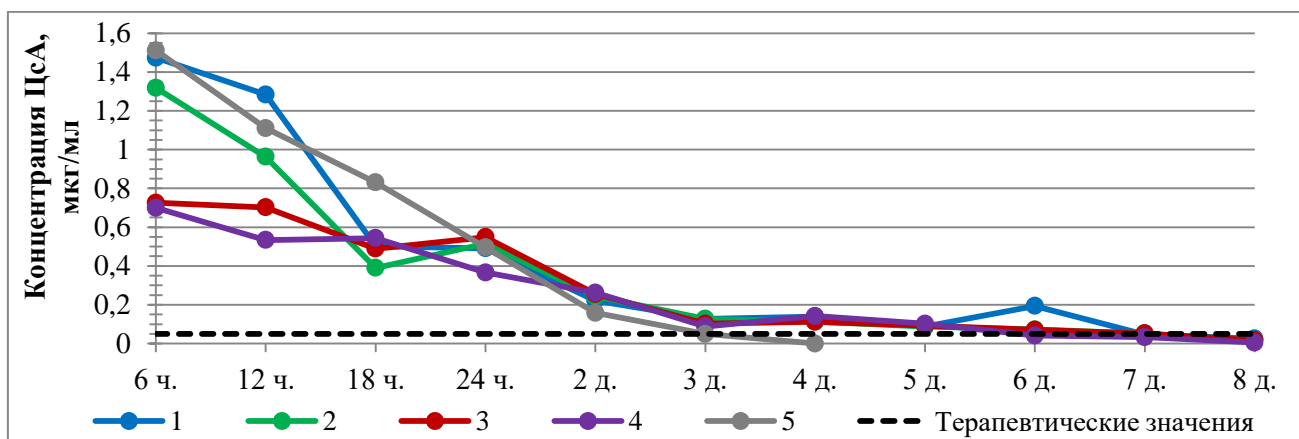


Рисунок 1 – Динамика десорбции ЦсА из исследованных образцов дренажей. Вид и исходное количество ЦсА в дренажах (Ме): 1-4 – пористые (1 – 4,95 мкг; 2 – 4,47 мкг; 3 – 3,93 мкг; 4 – 3,41 мкг); 5 – микроволокнистый, 3,55 мкг

При насыщении дренажей эверолимусом количество сорбируемого препарата также в большей степени зависело от времени насыщения, чем от концентрации эверолимуса в суспензии (коэффициент корреляции Спирмена 0,83 против 0,39 и 0,66 против 0,46 для пористой и микроволокнистой моделей соответственно). Согласно построенным математическим моделям, максимальная прогнозируемая сорбция эверолимуса происходила в течение первых 4 и 6 минут в случае насыщения микроволокнистых и пористых дренажей соответственно. Данные, полученные эмпирически, отличались от предсказанных моделью значений не более чем на 5%. Пористые дренажи сорбировали на $24,6 \pm 0,6\%$ эверолимуса больше, чем микроволокнистые, максимальное содержание препарата в дренаже составило 250,1 мкг.

Пористые дренажи обеспечивали более длительную десорбцию эверолимуса в сравнении с микроволокнистыми ($12,6 \pm 0,26$ против $10,0 \pm 0,00$ дней, $p < 0,05$, Рисунок 2). Максимально зафиксированная в ходе десорбции концентрация эверолимуса составила 14,5 мкг/мл.

Таким образом, была разработана методика насыщения биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полилактида циклоспорином А и эверолимусом. После насыщения дренажи сохраняли свои физико-химические свойства, необходимые для успешной имплантации во время гипотензивных операций. При этом достигнуто равномерное пролонгированное высвобождение действующих веществ из материала дренажей.

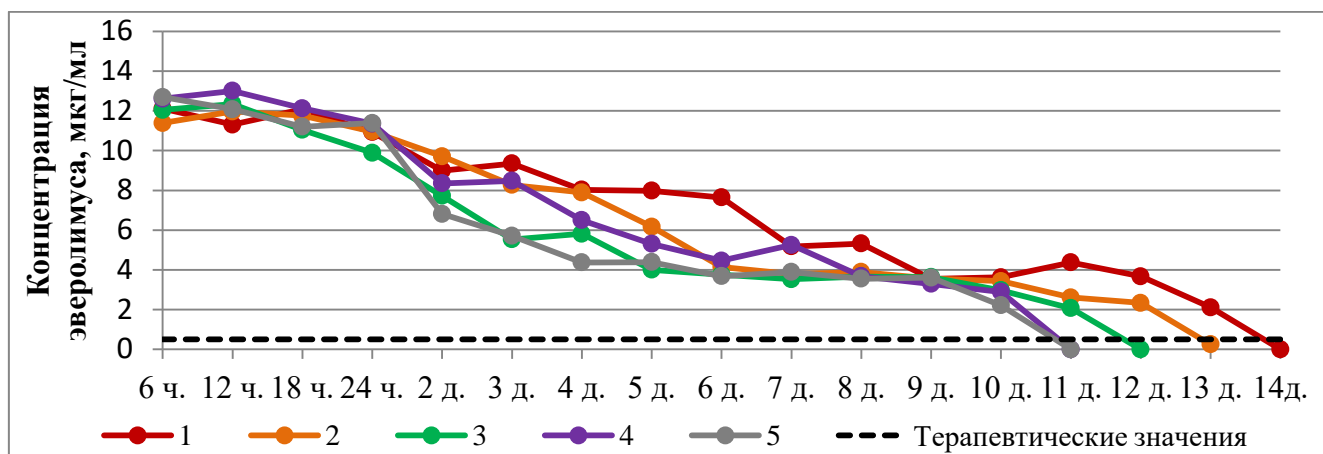


Рисунок 2 – Динамика десорбции эверолимуса из образцов дренажей. Вид и изначальное содержание эверолимуса в дренажах (Ме): 1 – 3: пористые (1 – 244,5 мкг; 2 – 201,3 мкг; 3 – 162,4 мкг); 4 – 5: микроволокнистые (4 – 182,3 мкг; 5 – 150,2 мкг)

Результаты определения антипролиферативной активности и цитотоксичности селективных иммунодепрессантов

Культивирование фибробластов теноновой капсулы человека в присутствии ЦсА приводило к замедлению пролиферации клеток в 1,5-5,1 раза в сравнении с группой контроля, культивируемой в стандартной питательной среде, в прямой зависимости от дозировки препарата (Таблица 1).

Таблица 1 – Показатели пролиферативной активности и доля поврежденных клеток в культурах фибробластов Теноновой капсулы человека в присутствии ЦсА, Ме (Q₁; Q₃)

Концентрация, мкг/мл	PI, отн. ед.	DT, ч	PDL, отн. ед.
0,0	2,35 (1,92; 2,36)	39,0 (38,7; 50,9)	1,55 (1,53; 1,56)
0,05	1,70 (1,63; 1,75)*	62,9 (59,5; 67,8)*	0,96 (0,91; 0,97)*
0,2	1,52 (1,41; 1,56)*	79,2 (75,3; 96,6)*	0,75 (0,73; 0,76)*
0,5	1,46 (1,41; 1,48)*	88,1 (84,9; 97,8)*	0,62 (0,54; 0,62)*
1,0	1,38 (1,37; 1,41)*	102,4 (97,4; 107,0)*	-
2,0	1,22 (1,17; 1,29)*	182,5 (155,0; 208,7)*	0,70 (0,55; 0,75)*

*p<0,05 в сравнении с контрольной группой

PI – индекс пролиферации, PDL – количество удвоений культуры, DT – время удвоения культуры, «-» – удвоение отсутствует, отн. ед. – относительные единицы

Значения индекса пролиферации в логарифмическую фазу роста культуры находились в обратной зависимости от концентрации препарата с высокой силой связи по шкале Чеддока (коэффициент корреляции -0,92). Количество удвоений культур с добавлением ЦсА за весь период эксперимента было достоверно меньше данного показателя в группе контроля. При этом в концентрации ЦсА 1,0 мкг/мл наблюдали отсутствие удвоения культуры. Полученные результаты свидетельствуют о том, что антипролиферативный эффект ЦсА на фибробласты теноновой капсулы человека имел дозозависимый характер в пределах концентраций 0,05-2,0 мкг/мл (Таблица 1).

Эверолимус оказывал антипролиферативный эффект на фибробласты теноновой капсулы человека во всех изученных концентрациях (0,5-20 мкг/мл) и вызывал замедление их пролиферации в 1,7-7,4 раз в фазу логарифмического роста культуры без выраженного дозозависимого эффекта в сравнении с группой контроля. Индекс пролиферации, а также количество удвоений культур с добавлением эверолимуса были достоверно ниже в сравнении с группой контроля во всех изученных концентрациях (Таблица 2).

Таблица 2 – Показатели пролиферативной активности и доля поврежденных клеток в культурах фибробластов Теноновой капсулы человека в присутствии эверолимуса, Me (Q₁; Q₃)

Концентрация, мкг/мл	PI	DT, ч	PDL, отн. ед.
0,0	1,96 (1,94; 1,99)	49,6 (48,2; 50,0)	1,32 (1,31; 1,49)
0,5	1,43 (1,21; 1,46) *	93,1 (87,7; 175,0) *	0,63 (0,40; 0,67) *
1,0	1,23 (1,22; 1,23) *	162,1 (161,3; 168,8) *	0,41 (0,41; 0,42) *
5,0	1,17 (1,07; 1,22) *	188,3 (145,5; 342,3) *	0,51 (0,51; 0,60) *
10,0	1,13 (1,12; 1,14) *	279,7 (262,3; 289,1) *	0,41 (0,32; 0,54) *
15,0	1,29 (1,28; 1,31) *	129,3 (124,7; 133,8) *	0,73 (0,65; 0,79) *
20,0	1,54 (1,37; 1,59) *	77,1 (72,2; 104,6) *	0,85 (0,68; 0,87) *

* p<0,05 в сравнении с контрольной группой

PI – индекс пролиферации, PDL – количество удвоений культуры, DT – время удвоения культуры, отн. ед. – относительные единицы

Доля поврежденных клеток в культурах с добавлением ЦсА и эверолимуса не превышала предельно допустимые показатели и статистически значимо не отличалась от группы контроля (Рисунок 3). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии цитотоксичности иммунодепрессантов в концентрациях, высвобождаемых дренажами.

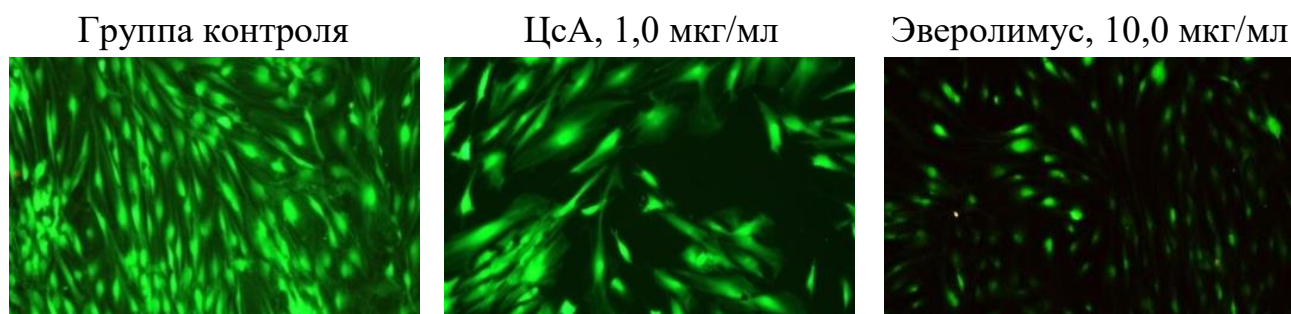


Рисунок 3 – Клетки теновой капсулы человека в присутствии различных концентраций ЦсА и эверолимуса на 7 сутки эксперимента. Окраска флуоресцентными красителями (набор Live-Dead). Люминесцентная микроскопия. Увеличение $\times 100$

Морфофункциональное обоснование применения селективных иммунодепрессантов в гипотензивной хирургии *in vivo*

Ежедневные инстилляции комбинированного консервант-содержащего гипотензивного препарата вызвали изменение состояния тканей глазной поверхности у животных группы 1. В данной группе наблюдали достоверное увеличение степени конъюнктивальной гиперемии, повреждение роговичного эпителия и снижение слезопродукции по результатам пробы Ширмера I в сравнении с кроликами группы 2, которым выполняли инстилляцию физиологического раствора (Таблица 3).

Анализ гистологических препаратов выявил хроническое воспаление глазной поверхности по типу синдрома сухого глаза у кроликов группы 1: утолщение конъюнктивы и конъюнктивального эпителия с нарушением его архитектоники, участки фиброза с разрастанием новообразованных сосудов и повышенную инфильтрацию фибробластами и мононуклеарами, увеличение количества бокаловидных клеток на единицу площади, а также участки расслоения эпителия роговицы. У кроликов группы 2 конъюнктура и роговица сохраняли нормальное гистологическое строение.

Полученное состояние тканей глазной поверхности лабораторных животных соответствовало описанным в литературе изменениям, наблюдаемым у большинства пациентов, страдающих глаукомой и находящихся на длительной медикаментозной терапии (Абышева Л.Д. и др. 2017; Нероев В.В. и др. 2019; Еричев В.П. и др. 2020; Svenkel V. et al. 2010; de Faria N. et al. 2013; Banitt M. et al. 2018), и в дальнейшем позволило оценить влияние исследуемых препаратов на процесс избыточного рубцевания в хирургии глаукомы в условиях, наиболее приближенных к реальной практике.

Таблица 3 – Оценка состояния тканей глазной поверхности у кроликов групп 1 (комбинированный консервант-содержащий гипотензивный препарат) и 2 (физиологический раствор) в динамике, Ме (Q₁; Q₃)

Группа	Срок		
	Исходный	1 месяц	3 месяца
Конъюнктивальная гиперемия (в баллах от 0 до 3)			
1	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 1,5) ^{1,2}	2,0 (1,0; 2,0) ^{1,2}
2	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,5)
Повреждение эпителия роговицы (в баллах по Эфрону от 0 до 4)			
1	0,0 (0,0; 0,0)	0,5 (0,0; 1,0) ^{1,2}	2,0 (1,0; 2,0) ^{1,2}
2	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Тест Ширмера I (мм)			
1	14,0 (14,0; 15,0)	12,0 (11,0; 13,0) ^{1,2}	10,0 (9,5; 11,0) ^{1,2}
2	14,0 (13,5; 14,5)	15,0 (14,0; 15,0)	14,0 (14,0; 15,0)
¹ p<0,05 для группы 1 по отношению к группе 2, ² p<0,05 по отношению к исходным значениям внутри группы			

Проникающие гипотензивные вмешательства выполняли кроликам группы 1 с имплантацией дренажей, обеспечивавших наиболее равномерное и пролонгированное высвобождение препаратов: образца 3, насыщенного ЦсА, и образца 1, насыщенного эверолимусом. Дренажи животных группы контроля не были насыщены иммунодепрессантами.

Анализ гистологических препаратов позволил выявить механизмы улучшения оттока ВГЖ при имплантации дренажей, насыщенных иммунодепрессантами. Начиная с ранних сроков после операции (7 дней) и до конца периода наблюдения в дренажах группы контроля отмечали повышенную плотность клеточных элементов, в частности, мононуклеаров, ГКИТ и фибробластов, а также выраженный синтез коллагена, что свидетельствовало о большей выраженности воспаления, репарации и реакции тканей глаза на инородное тело (Таблица 4). Наименьшую плотность клеточных элементов с минимальным количеством коллагеновых волокон отмечали в группе эверолимуса. На протяжении всего периода наблюдения прослеживались особенности формирования соединительнотканной капсулы вокруг дренажей различных групп. В группе контроля отмечали раннее образование капсулы, которая в отличие от других групп, была четко представлена двумя слоями: первый слой непосредственно прилегал к материалу дренажа, а второй формировался со стороны окружающих тканей. Капсулы вокруг дренажей группы эверолимуса характеризовались отсроченным формированием, при этом капсула окружала дренаж, а вокруг нее

обнаруживали выраженные широкие фильтрующие пространства. Наиболее тонкие капсулы наблюдали в группе ЦсА (Рисунок 4).

Таблица 4 – Количественные результаты гистологического анализа срезов зоны операции с имплантированными дренажами, в баллах, Me (Q₁; Q₃)

Группа	Срок					
	7 дней	1 месяц	6 месяцев	7 дней	1 месяц	6 месяцев
	Гранулоциты			Коллаген внутри дренажа		
Контроль	2,0 (1,5; 2,0)	1,0 (0,5; 1,5)	-	2,0 (1,5; 3,0)	3,0 (2,5; 3,5)	-
ЦсА	2,0 (1,0; 2,5)	0,0 (0,0; 0,5) ¹	-	1,0 (0,5; 2,0) ¹	1,0 (0,0; 2,5) ¹	-
Эверолимус	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0,0; 1,0)	-	0,0 (0,0; 0,0) ^{1,2}	1,5 (1,0; 2,5) ¹	-
	Мононуклеары			Капсула		
Контроль	2,0 (2,0; 2,0)	4,0 (3,5; 4,0)	3,5 (2,5; 4,0)	3,0 (1,5; 4,0)	3,0 (2,5; 3,5)	3,5 (3,0; 4,0)
ЦсА	1,0 (0,5; 2,0) ¹	2,0 (2,0; 3,0) ¹	2,0 (2,0; 3,0) ¹	1,0 (1,0; 1,5) ¹	2,0 (1,0; 2,5) ¹	1,0 (0,0; 1,0) ¹
Эверолимус	0,0 (0,0; 1,0) ¹	1,0 (1,0; 1,0) ^{1,2}	1,0 (1,0; 2,0) ^{1,2}	0,0 (0,0; 1,5) ¹	2,5 (2,0; 4,0)	2,0 (1,5; 3,0) ^{1,2}
	ГКИТ			Сосуды		
Контроль	1,0 (0,5; 2,5)	3,5 (2,0; 4,0)	4,0 (3,5; 4,0)	1,0 (0,0; 2,0)	2,5 (2,0; 3,0)	3,5 (3,0; 4,0)
ЦсА	0,0 (0,0; 0,5) ¹	3,5 (3,0; 5,0)	2,0 (1,0; 2,0) ¹	0,0 (0,0; 0,0)	2,9 (1,0; 2,5)	3,0 (2,5; 3,0) ¹
Эверолимус	0,0 (0,0; 0,0) ¹	0,5 (0,0; 1,0) ^{1,2}	1,0 (0,0; 1,0) ^{1,2}	0,0 (0,0; 0,0) ¹	0,5 (0,0; 1,0) ¹	3,0 (2,0; 3,0) ¹
	Фибробласты			Фильтрующие полости		
Контроль	3,0 (2,5; 3,0)	3,5 (2,0; 4,0)	3,5 (3,0; 4,0)	2,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0,5; 2,5)	0,5 (0,0; 1,0)
ЦсА	2,0 (2,0; 2,5) ¹	1,5 (1,0; 2,5) ¹	2,0 (1,0; 2,0) ¹	2,0 (1,5; 3,0)	3,0 (3,0; 3,5) ¹	2,0 (2,0; 2,5) ¹
Эверолимус	0,0 (0,0; 0,5) ^{1,2}	2,0 (1,0; 2,0) ¹	2,0 (1,0; 2,0) ¹	1,5 (1,0; 2,0)	3,0 (2,5; 3,5) ^{1,2}	2,0 (2,0; 2,5) ¹

¹ p<0,05 в сравнении с контрольной группой; ² p<0,05 в сравнении с группой ЦсА



Рисунок 4 – Срезы через зону имплантации дренажей исследуемых групп через 1 месяц после операции

К концу периода наблюдения в группе контроля зона имплантации дренажа представляла собой рубец, инфильтрированный мононуклеарами и ГКИТ. В группе ЦсА, согласно гистологической картине, ток жидкости происходил преимущественно вокруг дренажа через тонкую проницаемую капсулу, а в группе эверолимуса – как через зону имплантации дренажа после резорбции материала, так и через фильтрующие полости вокруг него.

Согласно данным послеоперационного офтальмологического обследования, признаки склеро-конъюнктивальных сращений в группе контроля наблюдали через 1 месяц после вмешательства, когда оценка высоты и ширины 50% ФП составляла 0 баллов. Через 6 месяцев все ФП контрольной группы характеризовали как плоские без сохранения функциональной активности.

В группах ЦсА и эверолимуса происходило медленное постепенное уплощение ФП с сохранением их функционирования до конца периода наблюдения. Ни в одном случае в данных группах не было выявлено плоских ФП (Рисунок 5). Через 6 месяцев после операции значения медианы и квартилей (Q_1 ; Q_3) высоты ФП по классификации IBAGS в группах ЦсА и эверолимуса составляли 1,5 (1,0; 2,0) и 2,0 (1,5; 2,0) балла соответственно против 0,0 (0,0; 0,0) баллов в группе контроля, а ширины – 1,5 (1,0; 2,0) и 2,5 (1,5; 3,0) балла соответственно против 0,0 (0,0; 0,0) баллов в группе контроля. Проба Зейделя была отрицательной у животных всех групп в течение периода наблюдения.



Рисунок 5 – Фоторегистрация переднего отрезка глаз групп контроля, ЦсА и эверолимуса через 6 месяцев после операции

Частота осложнений после вмешательств, проведенных с применением иммунодепрессантов, статистически не отличалась от контрольной группы и не превышала общий уровень осложнений проникающей хирургии глаукомы согласно данным литературы.

Данные тонометрии позволили оценить гипотензивный эффект операции. Исходный уровень ВГД был сопоставим во всех трех группах и его медианы (квартили Q_1 и Q_3) были равны 17,0 (16,0; 18,0), 17,0 (15,5; 18,0) и 17,5 (15,5; 18,0) мм рт.ст. в группах контроля, ЦсА и эверолимуса соответственно. Через 3 месяца местного применения консервант-содержащего гипотензивного препарата наблюдали достоверное снижение ВГД до значения медианы 13,0 во всех группах. После проникающего вмешательства наблюдали достоверное снижение ВГД у всех животных. Наиболее стабильный и продолжительный гипотензивный эффект отмечен в группе эверолимуса, в которой уровень ВГД составил 11,5 (10,5; 12,5) мм рт.ст. через 6 месяцев после операции. Чуть менее выраженный гипотензивный эффект был в группе ЦсА при отсутствии статистически достоверной разницы с группой эверолимуса – 13,5 (12,5; 14,0) мм рт.ст. В группе контроля послеоперационные значения ВГД приблизились к дооперационным уже через 1 месяц после вмешательства и были достоверно выше значений двух других групп, уже начиная с 3 дня после операции и до конца периода наблюдения, когда уровень ВГД составил 17,5 (16,5; 18,0) мм рт.ст.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработан способ пролонгированного применения иммунодепрессантов для коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы, показавший высокую эффективность и удовлетворительную степень безопасности. Выполнение гипотензивного вмешательства с имплантацией антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных ЦсА либо эверолимусом, способствовало длительному сохранению вновь созданных путей оттока ВГЖ и ослаблению процессов послеоперационного рубцевания, что было доказано в эксперименте *in vivo*. Постепенное высвобождение исследуемых иммунодепрессантов из материала дренажа не оказывало токсического эффекта на структуры глаза и не приводило к увеличению количества интра- и послеоперационных осложнений в сравнении с дренажной гипотензивной хирургией без применения лекарственных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Разработан и экспериментально обоснован способ коррекции послеоперационного рубцевания путем пролонгированного применения селективных иммунодепрессантов при хирургическом лечении глаукомы.

2. Разработан способ предоперационной подготовки биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты, позволяющий усилить их антипролиферативный эффект за счет насыщения циклоспорином А либо эверолимусом. Точное прогнозирование способности дренажей к сорбции иммунодепрессантов в зависимости от условий насыщения осуществлено с помощью разработанных математических моделей. Достигнуто пролонгированное высвобождение дренажами циклоспорина А в течение 7 дней в концентрациях 0,05-1,50 мкг/мл и эверолимуса в течение 13 дней в концентрациях 1,7-14,5 мкг/мл.

3. Исследуемые иммунодепрессанты оказывают антипролиферативный эффект на фибробласты теноновой капсулы человека в эксперименте *in vitro* в пределах концентраций, обеспечиваемых при их десорбции из дренажей. Циклоспорин А замедляет пролиферацию фибробластов теноновой капсулы человека в 1,5-5,1 раз с высокой дозозависимостью в пределах концентраций 0,05-2,00 мкг/мл. Эверолимус замедляет их пролиферацию в 1,7-7,4 раза в пределах концентраций 0,5-20 мкг/мл без выраженной зависимости от концентрации препарата. В пределах изученных концентраций ни циклоспорин А, ни эверолимус не оказывают цитотоксического действия на фибробласты теноновой капсулы человека, что доказано в эксперименте *in vitro*.

4. В эксперименте *in vivo* ежедневные инстилляции комбинированного консервант-содержащего гипотензивного препарата в течение 3 месяцев приводили к формированию хронического воспаления тканей глазной поверхности у кроликов по типу синдрома сухого глаза, что позволило оценить влияние изучаемых иммунодепрессантов на процессы избыточного рубцевания в гипотензивной хирургии в условиях, наиболее приближенных к реальной клинической практике.

5. Имплантация в ходе гипотензивного вмешательства биорезорбируемых антиглаукоматозных дренажей на основе полилактида, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом, способствует ослаблению интенсивности процессов послеоперационного рубцевания и длительному (не менее 6 месяцев) сохранению созданных во время вмешательства путей оттока внутриглазной жидкости, что было доказано в ходе экспериментально-

морфологического исследования *in vivo*.

6. Пролонгированное применение циклоспорина А и эверолимуса в зоне фильтрующего вмешательства способствует повышению эффективности операции, который выражается в более длительном функционировании фильтрационных подушек и более стойком гипотензивном эффекте: 11,5 (10,5; 12,5) и 13,5 (12,5; 14,0) мм рт. ст. в группах эверолимуса и циклоспорина А соответственно против 17,5 (16,5; 18,0) мм рт. ст. в группе контроля через 6 месяцев после операции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Оптимальным способом, обеспечивающим пролонгированную доставку циклоспорина А либо эверолимуса к зоне гипотензивной операции, является насыщение антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты данными препаратами. При этом предпочтительнее использовать пористую модель, которая обеспечивает лучшее насыщение и наиболее постепенное и длительное высвобождение лекарственных препаратов в сравнении с микроволокнистой.

2. Оптимальной технологией насыщения антиглаукоматозного дренажа на основе полилактида циклоспорином А является его выдерживание в разведении концентрата препарата с содержанием действующего вещества 50 мг/мл со сбалансированным солевым раствором в соотношении 1:30 в течение 15 минут.

3. Насыщение дренажей циклоспорином А возможно *ex tempore* в операционной непосредственно при выполнении гипотензивного вмешательства путем выдерживание дренажа в разведении концентрата циклоспорина А (50 мг/мл) со сбалансированным солевым раствором в соотношении 1:30 в течение 15 минут. При необходимости сокращения времени насыщения возможно использование других разведений концентрата до достижения сорбции дренажом 4-5 мкг циклоспорина А в соответствии с таблицей в Приложении 1 диссертационной работы.

4. Насыщение биорезорбируемых дренажей на основе полимолочной кислоты эверолимусом следует производить в 2% суспензии препарата при помощи ультразвукового воздействия частотой 22 кГц мощностью 630 Вт в течение 6 минут.

5. Насыщение дренажей эверолимусом рекомендовано производить в лабораторных условиях при их изготовлении перед стерилизацией.

6. При выполнении вмешательств с имплантацией биорезорбируемых

дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом, необходимо уделять особое внимание тщательному герметичному ушиванию операционного разреза конъюнктивы и теноновой капсулы для сведения к минимуму вероятности расхождения краев операционной раны.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГД – внутриглазное давление

ВГЖ – внутриглазная жидкость

ГКИТ – гигантские клетки инородных тел

ФП – фильтрационная подушка

ЦсА – циклоспорин А

DT – время удвоения культуры (doubling time)

IBAGS – оценочная шкала фильтрационных подушек университета Индианы (The Indiana Bleb Appearance Grading Scale)

mTOR – механистическая мишень рапамицина (mechanistic target of rapamycin)

PDL – количество удвоений культуры клеток (population doubling level)

PI – индекс пролиферации (proliferation index)

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Прохоренко В.Н. Применение антимаболитов в хирургическом лечении глаукомы. Вестник РГМУ. - 2015. - №2. - С. 352
2. Прохоренко В.Н., Радайкина М.В. Литературный обзор: профилактика рубцевания в хирургическом лечении глаукомы. Материалы научно-практической конференции с международным участием "Молодые учёные XXI века - от идеи к практике" - 2015. - С. 98-100
3. Прохоренко В.Н. Циклоспорин А в гипотензивной хирургии глаукомы: литературный обзор. Сборник научных работ XI офтальмологической конференции «Рефракция-2015. Рефракционные и аккомодационные аспекты гидродинамики и глаукомы». - 2015. - С.213-215
4. Прохоренко В.Н. Разработка методики насыщения коллагенового дренажа раствором циклоспорина А. Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты. Студенческая весна СамГМУ - 2016 X всероссийская (84-я итоговая) студенческая научная конференция с международным участием: сборник материалов. – 2016. – С. 304

5. Еричев В.П., Петров С.Ю., Суббот А.М., Волжанин А.В., Германова В.Н., Карлова Е.В. Роль цитокинов в патогенезе глазных болезней. Национальный журнал глаукома. - 2017. - №1(16). - С. 87-101.
6. Германова В.Н., Волжанин А.В., Золотарев А.В., Карлова Е.В., Петров С.Ю. Циклоспорин А в хирургическом лечении глаукомы: перспективы и возможности. Национальный журнал глаукома. - 2017. - №2(16). – С. 92-100.
7. Германова В.Н., Карлова Е.В., Коригодский А.Р. Методика насыщения биорезорбируемого дренажа циклоспорином А в профилактике послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы. Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. - 2018. - №1(20). - С. 29-33.
8. Германова В.Н. Насыщение антиглаукоматозных дренажей циклоспорином А как способ пролонгирования действия препарата в борьбе с послеоперационным рубцеванием. Практическая медицина. - 2018. - №4(16). - С. 92-96
9. Германова В.Н. Разработка способа пролонгирования действия циклоспорина А в борьбе с рубцеванием в дренажной хирургии глаукомы. Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию СамГМУ. - 2018. - С. 62-63
10. Нероев В.В., Золотарёв А.В., Карлова Е.В., Киселева О.А., Шишкин М.М., Германова В.Н. Влияние приверженности к лечению на прогрессирование первичной открытоугольной глаукомы у пациентов в условиях клинической практики. Вестник офтальмологии. - 2019. - №6(132). - С. 49-57
11. Германова В.Н. Ранние результаты непроникающей хирургии глаукомы с имплантацией биорезорбируемого дренажа, насыщенного циклоспорином А. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые: научные исследования и инновации». - 2019. - С. 109-111
12. Германова В.Н., Карлова Е.В., Золотарев А.В. Медикаментозная профилактика послеоперационного рубцевания в хирургическом лечении глаукомы. Вестник офтальмологии. - 2020. - №4(136). - С. 130-137
13. Германова В.Н., Сарбаева Н.Н., Карлова Е.В., Волова Л.Т., Нефедова И.Ф., Радайкина М.В. Ранняя клеточная реакция тканей глаза на имплантацию биорезорбируемых дренажей насыщенных

- иммунодепрессантами с избирательным механизмом действия. Морфологические ведомости. - 2020. - №3(28). - С. - 15-20.**
- 14.Германова В.Н. Экспериментальная модель для изучения медикаментозной коррекции послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые: научные исследования и инновации». - 2020. - С. 96-98
 - 15.Germanova V.N. Karlova E.V. Korigodskiy A.R. Enrichment of a biodegradable glaucoma drainage with cyclosporine a in prevention of postoperative scarring. Abstract book of 13th European Glaucoma Society congress. Florence, Italy. - 2018. - P. 471
 - 16.Karlova E.V., Germanova V.N., Korigodskiy A.R., Zolotarev A.V. Comparative analysis of enrichment of two biodegradable glaucoma drainage models with cyclosporine A for wound healing modulation. Abstract book of 8-th World Glaucoma Congress, Melbourne. – 2019. - P. 642
 - 17.Karlova E.V., Zolotarev A.V., Germanova V.N., Korigodskiy A.R. Enrichment of biodegradable glaucoma drainage models with cyclosporine A for wound healing modulation in comparison. Abstract book: Advances in Glaucoma Research and Clinical Science. Amsterdam. - 2019. - P. 19
 - 18.Germanova V.N. Karlova E.V., Zolotarev A.V., Korigodskiy A.R. Prolongation of immunosuppressants delivery for wound healing modulation in glaucoma surgery: experimental in vitro study. Abstract book of 10th International Congress on glaucoma surgery. London. – 2020. - P. 127
 - 19.Germanova V.N. Karlova E.V., Zolotarev A.V., Korigodskiy A.R. Enrichment of poly(lactic-co-glycolic) acid glaucoma drainage with immunosuppressants: experimental in vitro study. Abstract book of 14th European Glaucoma Society congress. – 2020. - P. 292
 - 20.Германова В.Н. Пролонгированное применение селективных иммунодепрессантов в дренажной хирургии глаукомы: экспериментальное исследование *in vivo* / В.Н. Германова, Е.В. Карлова, Л.Т. Волова, Н.Н. Сарбаева, И.Ф. Нефедова, М.В. Радайкина // Клиническая офтальмология. – 2021. – 2(21). – С. 78-85
 - 21.Россинская В.В., Болтовская В.В., Германова В.Н., Карлова Е.В., Кулагина Л.Н. Влияние циклоспорина А на фибробласты теноновой капсулы человека: исследование *in vitro*. Морфологические ведомости. – 2021. –№2. – С. 58-66

Патенты

1. Патент РФ на изобретение № 2724854 от 25.06.2020 «Способ профилактики послеоперационного рубцевания при хирургическом лечении глаукомы». Авторы: Германова В.Н., Карлова Е.В., Золотарев А.В., Радайкина М.В., Коригодский А.Р., Захаров И.Д.

БИОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Германова Виктория Николаевна в 2016 г. окончила ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России по специальности «Лечебное дело».

В 2016-2018 гг. проходила обучение в клинической ординатуре по специальности «Офтальмология», а в 2018-2021 годах – в очной аспирантуре по специальности «Глазные болезни» на кафедре офтальмологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

С 2018 года работает врачом-офтальмологом в офтальмологическом отделении №3 (микрохирургическом глаукомном) ГБУЗ СОКОБ им. Т.И. Ерошевского.

Автор 32 научных работ. По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, из которых 3 статьи – в журналах, индексируемых в международной базе данных Scopus, 7 статей – в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки России. Получен 1 патент РФ на изобретение.