

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО–ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЛЫСКИН ПАВЕЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

**МИКРОИНВАЗИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ
ТРАКЦИИ МЕТОДОМ ЭНЗИМНОГО ВИТРЕОЛИЗИСА
С ПРИМЕНЕНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛЛАГЕНАЗЫ**

3.1.5 – офтальмология (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Захаров Валерий Дмитриевич

Москва 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. ПРОТИВОРЕЧИЯ В СОВРЕМЕННОЙ КОНЦЕПЦИИ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНОГО ИНТЕРФЕЙСА В АСПЕКТЕ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛЛАГЕНАЗЫ В ЛЕЧЕНИИ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	16
1.1. Стекловидное тело	16
1.1.1. Белки стекловидного тела	16
1.1.2. Коллагены стекловидного тела	17
1.1.3. Клетки стекловидного тела.....	19
1.1.4. Синтез новообразованного коллагена в стекловидном теле взрослого человека	20
1.2. Современные представления о механизме витреоретинальной адгезии и формировании задней отслойки стекловидного тела.....	22
1.3. Витреомакулярная тракция. Определение, исторические аспекты, диагностика, теоретические аспекты, классификация, лечение	26
1.3.1. Определение термина «витреомакулярная тракция».....	26
1.3.2. Исторический аспект возникновения термина «витреомакулярная тракция»	27
1.3.3. Диагностика витреомакулярной тракции.....	28
1.3.4. Теоретические аспекты витреомакулярной тракции	30
1.3.5. Классификация витреомакулярной тракции.....	33
1.3.6. Методы лечения витреомакулярной тракции	35
1.3.6.1 Хирургическое лечение	35
1.3.6.2. Нехирургическое лечение витреомакулярной тракции	37
1.4. Бактериальная коллагеназа в отечественной офтальмологической практике.....	41
1.5. Теоретическая концепция витреоретинального интерфейса и витреоретинальной адгезии	47

1.5.1. Резидуальное стекловидное тело в аспекте концепции витреоретинальной адгезии	47
1.5.2. Аргументированность тезиса о фибронектине и ламинине как основных компонентах, обеспечивающих витреоретинальную адгезию.....	49

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ..... 60

2.1. Дизайн исследования	60
2.2. Метод электронной микроскопии	63
2.2.1. Микроструктурные исследования.....	70
2.2.2. Экспериментальные методы	72
2.3. Клинические методы исследования	77
2.3.1. Общая характеристика клинических материалов.....	77
2.3.2. Методы клинического исследования.....	83
2.3.3. Предоперационная подготовка пациентов, оборудование, материалы и инструменты, используемые в ходе лечения	86
2.4. Статистические методы исследования	89

Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОСТРУКТУРЫ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ, МЕХАНИЗМОВ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНОЙ АДГЕЗИИ, БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛЛАГЕНАЗЫ В АСПЕКТЕ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ 91

3.1. Микроструктура внутренней пограничной мембраны и витреоретинальных взаимоотношений в центральных отделах сетчатки	92
3.2. Клеточная микроструктура витреоретинального контакта и витреоретинальной адгезии	98
3.3. Воздействие бактериальной коллагеназы на структуры стекловидного тела и сетчатку.....	110

3.3.1. Воздействие бактериальной коллагеназы на фибриллы стекловидного тела человека	111
3.3.2. Воздействие коллагеназы на эпиретинальные структуры стекловидного тела	114
3.3.3. Воздействие коллагеназы на интравитреальные структуры и ретинальный пигментный эпителий	116
3.4. Определение начальной пороговой коллагенолитической дозы и исследование цитотоксичности коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции	120
3.4.1. Определение начальной пороговой дозы коллагеназы и изменение эффекта воздействия в зависимости от дозы препарата.....	121
3.4.2. Результаты исследования цитотоксичности бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции на фармакокинетической модели доза-эффект зависимости в аспекте ее интравитреального применения	124

Глава 4. ТЕХНОЛОГИЯ МИКРОИНВАЗИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ И КЛИНИКО – ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПО РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ.....	130
4.1. Разработка технологии атравматичного микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции.....	131
4.1.1. Технология лечения витреомакулярной тракции методом интравитреальной инъекции в центр стекловидного тела (доклиническое применение).....	132
4.1.2. Технология лечения витреомакулярной тракции методом однопортового интравитреального введения препарата в фовеолярную область макулы.....	141
4.2. Анализ клиничко-функциональных результатов лечения витреоретинальной тракции по разработанной технологии микроинвазивного лечения с использованием бактериальной коллагеназы отечественного производства.....	149

4.2.1. Характеристика пациентов основной группы.....	149
4.2.2. Анализ результатов в общей исследуемой группе пациентов .	156
4.2.3. Анализ результатов лечения в подгруппе пациентов с изолированной витреоретинальной тракцией.....	162
4.2.4. Анализ результатов лечения в подгруппе витреоретинальной тракции, сочетанной с макулярным отверстием	164
4.2.5. Анализ результатов лечения в подгруппе витреоретинальной тракции, сочетанной с эпиретинальным фиброзом.....	167
4.3. Анализ частоты и характера побочных эффектов и осложнений, определение показаний и противопоказаний к проведению лечения по разработанной технологии	170
4.4. Оценка результатов лечения в контрольной группе	174
4.4.1. Характеристика пациентов	174
4.4.2. Анализ результатов лечения витреоретинальной тракции в контрольной группе	182

ГЛАВА 5. СРАВНЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ ПО РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ И ТРАДИЦИОННОЙ МЕТОДИКЕ, РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ..

5.1. Сравнение анатомических и функциональных результатов лечения витреомакулярной тракции в основной и контрольной группах	186
5.2. Алгоритм лечения витреомакулярной тракции	191
5.3. Клинические примеры	199
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	223
ВЫВОДЫ.....	246
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	249
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	251
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	252

ВВЕДЕНИЕ

Витреомакулярный тракционный синдром или витреомакулярная тракция (ВМТ) – патологическое состояние, при котором происходит задняя отслойка стекловидного тела (ЗОСТ) с сохранением его фиксации к фовеальной сетчатке. При прогрессировании ЗОСТ тракционное воздействие приводит к деформации и отеку фовеа (Gass J. D., Norton E.W., 1966; Irvine A.R., 1953; Jaffe N.S., 1967; Reese A.B. et al., 1970). В начальной фазе заболевания возникают метаморфопсии и ухудшение центрального зрения. В дальнейшем ВМТ может приводить к развитию макулярного отверстия (МО) и необратимой утрате центрального зрения. Сочетание ВМТ с эпилетинальным фиброзом (ЭРФ) считается более сложным для лечения патологическим состоянием (Chatziralli I. et al., 2016; Haller J. et al., 2015; Jackson T.L. et al., 2016).

В мировой практике используется два подхода к лечению ВМТ: хирургическое лечение и нехирургическое микроинвазивное лечение. Хирургическое вмешательство заключается в проведении факоэмульсификации хрусталика с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ), субтотальной витрэктомии с тампонадой витреальной полости газом или без таковой. Нехирургическое микроинвазивное вмешательство – в инъекционном введении в витреальную полость протеолитического фермента окриплазмина (препарат JETREA), вызывающего устранение патологического тракционного воздействия стекловидного тела на центральную сетчатку. По утверждению производителей, препарат разрушает белки: ламинин и фибронектин, обуславливающие адгезию стекловидного тела (СТ) к сетчатке, и устраняет ВМТ (De Smet M.D. et al., 2009; Foos R.Y., 1972; JETREA Highlights of Prescribing Information, 2019).

Отечественная витреоретинальная хирургия находится в русле мировой практической медицины, однако нехирургическое микроинвазивное лечение ВМТ недоступно в российской практике. Преимущества нехирургического

лечения ВМТ очевидны. Несопоставимы затраты на хирургическое лечение, предполагающее использование дорогостоящих материально-технических средств, времени хирургического персонала, подготовку пациента к операции и последующую его реабилитацию, с затратами на амбулаторную процедуру интравитреальной инъекции, которая занимает несколько минут. Кроме того, риск развития осложнений после проведения интравитреальной инъекции минимален в сравнении с объемным хирургическим вмешательством (Jackson T.L. et al., 2013; Stein J.D. et al., 2009). Этими фактами обусловлен общемировой интерес к микроинвазивному нехирургическому лечению ВМТ.

В 2012 году в России Норманом К.С. проведены исследования по изучению возможности индукции ЗОСТ в эксперименте с применением миниплазмينا – препарата российского производства, аналогичного окриплазмину. О дальнейших исследованиях в этой области не сообщалось.

В российской практике для лечения витреоретинальной патологии используется протеолитический фермент бактериальной коллагеназы «Коллализин». Препарат разрешен для интравитреального применения (приказ Минздрава СССР от 04.08.1983 № 914) и узко специфичен к коллагену (Даниличев В.Ф., 1983, 1996, 2002; Письменская В.А., 2016; Mańkowska A., et al., 2006). Интравитреальное введение бактериальной коллагеназы для лечения витреоретинальной патологии предложено Даниличевым В.Ф. в 1996 году. В 2006 году Запускаловым И.В. применено интравитреальное введение коллагеназы в хирургическом лечении пациентов с сахарным диабетом. В том же году Запускаловым И.В. и Назаренко К.А. предложен метод лечения пролиферативной диабетической ретинопатии путем интравитреального введения коллагеназы уже без последующего проведения субтотальной витрэктомии. В 2010 году Лозинской О.Л. показана возможность применения коллагеназы в хирургическом лечении макулярных отверстий. В 2016 году Письменской В.А. показана возможность деструкции эпиретинального СТ человека с помощью коллагеназы при хирургическом лечении отслойки сетчатки.

Несмотря на длительное клиническое применение фермента, исследований воздействия бактериальной коллагеназы на структуры СТ и сетчатку человека до настоящего времени не проводилось. Не исследована цитотоксичность бактериальной коллагеназы в широком диапазоне доз и экспозиции в аспекте дальнейшего расширения показаний к ее применению.

Исследования микроструктуры витреоретинального контакта носят фрагментарный характер, что не позволяет использовать их в качестве теоретической основы и указывает на необходимость дальнейшего изучения этой области глаза.

Для определения перспективы применения коллагеназы в лечении ВМТ необходимы исходные данные о микроструктуре витреоретинальных взаимоотношений центральной области сетчатки, механизме витреоретинальной адгезии (ВРА), позволяющие обосновать возможность применения коллагенолитических ферментов.

Для теоретического обоснования возможности применения бактериальной коллагеназы в лечении ВМТ необходимо дополнительное изучение микроструктуры витреоретинального контакта и уточнение механизма ВРА. При подтверждении основной роли коллагеновых структур в обеспечении ВРА целесообразно изучение воздействия бактериальной коллагеназы на коллагеновые внутриглазные структуры. Подтверждение и уточнение протеолитического эффекта воздействия бактериальной коллагеназы на коллагеновые структуры глаза человека послужит объективным обоснованием возможности ее применения в клинике для лечения ВМТ. Все вышеизложенное определило актуальность и цель данного исследования.

Цель работы

Разработка технологии микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции методом энзимного витреолизиса с применением бактериальной коллагеназы отечественного производства.

Задачи работы

1. На основании электронно-микроскопических исследований уточнить микроструктуру витреоретинального интерфейса и механизма витреоретинальной адгезии центральной зоны сетчатки глаза человека в аспекте применения бактериальной коллагеназы.
2. На основании экспериментальных исследований с использованием сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии изучить воздействие бактериальной коллагеназы на различные структуры стекловидного тела и сетчатки глаза человека, определить начальную пороговую дозу и экспозицию бактериальной коллагеназы.
3. В эксперименте *in vitro*, на культуре фибробластов с использованием клеточной модели доза-эффект зависимости исследовать цитотоксичность препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин» в расширенном диапазоне дозы и экспозиции, определить безопасную в аспекте цитотоксичности дозу препарата.
4. Разработать технологию атравматичного микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции с применением препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства.
5. Изучить клинические, анатомические и функциональные результаты лечения витреомакулярной тракции по разработанной технологии, доказать ее эффективность и безопасность.
6. Выявить побочные эффекты и осложнения, развивающиеся после лечения витреомакулярной тракции по разработанной технологии. Определить показания и противопоказания к ее применению.
7. Сравнить анатомическую и функциональную эффективность разработанной технологии с традиционно применяемым хирургическим лечением витреомакулярной тракции.
8. Разработать новый алгоритм лечения витреомакулярной тракции, позволяющий повысить зрительные функции у излеченных пациентов.

Научная новизна

1. Впервые разработана технология микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции с применением препарата отечественного производства, изучены в клинике ее эффективность, побочные эффекты и осложнения, определены показания и противопоказания к ее применению.

2. Разработан новый алгоритм лечения витреомакулярной тракции с учетом разработанной технологии, позволяющий повысить зрительные функции у излеченных пациентов.

3. Впервые на основании проведенных экспериментальных исследований уточнена микроструктура витреоретинального контакта и механизм витреоретинальной адгезии в центральном отделе сетчатки.

4. Впервые в результате проведенных экспериментальных исследований изучена микроструктура механизма витреоретинальной адгезии, выявлено, что витреоретинальная адгезия происходит опосредовано между тонким слоем стекловидного тела на поверхности сетчатки и кортикальным стекловидным телом и обуславливается взаимным переплетением новообразованных коллагеновых волокон стекловидного тела, синтезируемых гиалоцитами эпиретинального и кортикального стекловидного тела, обоснована возможность применения коллагенолитических ферментов для устранения витреомакулярной тракции.

5. Впервые в результате экспериментальных исследований проведено исследование воздействия бактериальной коллагеназы на отдельные коллагеновые фибриллы стекловидного тела глаза человека, эпиретинальное стекловидное тело, внутреннюю пограничную мембрану, интраретинальные структуры, клетки ретинального пигментного эпителия, показана возможность растворения бактериальной коллагеназой коллагеновых структур стекловидного тела.

6. Впервые в эксперименте определена начальная пороговая доза и экспозиция бактериальной коллагеназы.

7. Впервые в эксперименте *in vitro* на культуре фибробластов исследована цитотоксичность бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции в аспекте интравитреального применения, определена безопасная, в аспекте цитотоксичности, дозировка препарата.

Практическая значимость

Результаты работы имеют прикладное и фундаментальное значение и могут быть использованы как практикующими врачами, так и широким кругом исследователей в различных областях офтальмологии и медицины. В частности, могут быть применены в следующих практических и научных областях:

1. В области практической офтальмологии разработанная технология микроинвазивного лечения может быть применена для лечения как изолированной витреомакулярной тракции, так и сочетанной с эпиретинальным фиброзом и макулярным отверстием, вместо традиционно применяемого объемного хирургического вмешательства, с проведением фактоэмульсификации хрусталика с имплантацией интраокулярной линзы, субтотальной витрэктомии, удалении внутренней пограничной мембраны сетчатки, тем самым существенно снижая хирургический риск, операционную травму и соответственно повышая перспективу более высокого функционального результата. К практической значимости может быть отнесено и многократное снижение совокупной стоимости проводимого лечения, в сравнении с традиционно применяемым.

2. Полученные данные о микроструктуре витреоретинального контакта могут быть использованы для совершенствования хирургической техники витреоретинальных вмешательств.

3. Полученные результаты работы способствуют расширению знаний об анатомии и физиологии стекловидного тела и витреоретинального контакта глаза человека и могут быть использованы для дальнейших исследований в этой области.

4. Результаты экспериментальных и токсикологических исследований бактериальной коллагеназы могут быть использованы для совершенствования существующих методик лечения с ее применением и для расширения показаний к применению бактериальной коллагеназы.

5. Полученные результаты исследований микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений могут быть использованы в лекционных курсах по анатомии, гистологии и нормальной физиологии глаза человека.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанная технология микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции, заключающаяся в интравитреальном введении раствора бактериальной коллагеназы канюлей через порт калибра 27 G, установленный в проекции плоской части цилиарного тела, позволяет без применения объемного хирургического вмешательства, включающего фактоэмульсификацию хрусталика с имплантацией интраокулярной линзы, субтотальную витрэктомию, удаление внутренней пограничной мембраны, излечивать витреомакулярную тракцию, в том числе сочетанную с макулярным отверстием и эпиретинальным фиброзом.

2. Витреоретинальная адгезия происходит опосредованно по границе кортикального и эпиретинального стекловидного тела, при этом основным компонентом, обеспечивающим адгезию, является взаимное переплетение новообразованных коллагеновых волокон стекловидного тела между эпиретинальным и кортикальным стекловидным телом.

3. Отечественный протеолитический препарат бактериальной коллагеназы обладает высокой протеолитической специфичностью к коллагеновым фибриллам стекловидного тела, не оказывает протеолитического воздействия на фоторецепторы и клетки пигментного листка сетчатки, лизирует волокна стекловидного тела в области фиксации витреомакулярной тракции и обеспечивает ее устранение.

Внедрение в практику

Разработанные методики внедрены в практику головной организации ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и его филиалов. Результаты работы включены в лекционный курс на кафедре глазных болезней в ФГБОУ ВО «Московского государственного медико-стоматологического университета имени А. И. Евдокимова» Минздрава России и тематических циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов Института непрерывного профессионального образования ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Научно-практических конференциях с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Москва, 2002, 2007-2010, 2012, 2013, 2018, 2019; Уфа, 2022; Казань, 2023); Научно-практической конференции «Неотложная помощь, реабилитация и лечение осложнений при травмах органа зрения и чрезвычайных ситуациях» (Санкт-Петербург, 2003); Всероссийском офтальмологическом семинаре-«круглом столе «Макула»» (Ростов-на-Дону, 2010, 2018, 2023); Научно-практической конференции «Реабилитация пациентов с далеко зашедшей пролиферативной ретинопатией» (Москва, 2015); Пролиферативный синдром в биологии и медицине (Москва, 2016); Пироговском офтальмологическом форуме (Москва, 2018, 2021, 2022); Научно-практической конференции «Заболевания органа зрения» (Сочи, 2019); Greek Vitreoretinal Society (Athens, 2006); ААО (Chicago 2010, Las-Vegas, 2015); 10th Euretina congress (Paris, 2010); 14th Euretina congress (London, 2014); 19th Euretina congress (Paris, 2019).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 39 печатных работ, из них 10 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи – в журналах, индексируемых в международной базе Scopus и/или Web of Science; получено 6 патентов РФ на изобретения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 282 листах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, трёх глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 93 рисунками. Библиографический указатель содержит 64 российских и 220 зарубежных источников.

Работа выполнена на базе отдела витреоретинальной хирургии и диабета глаза ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Клиническая часть исследования выполнена на базе отдела витреоретинальной хирургии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Оптическую когерентную томографию проводили в отделе клинико-функциональной диагностики ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России (зав. отделом, д.м.н., проф. Шпак А.А.), Отделении витреоретинальной хирургии и диабета глаза (заведующий отделением, к.м.н. Горшков И. М.), отделении функциональной диагностики (заведующая кабинетом клинико-функциональной диагностики, к.м.н. Узунян Д.Г.).

Анатомические и экспериментальные исследования произведены с использованием донорских глаз, после забора из них материала для трансплантации. Материал для исследований предоставлен глазным тканевым банком (заведующая глазным банком, к.м.н. Тонаева Х.Д.) Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ

«НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России под руководством д.м.н., проф. Борзенка С.А. Сканирующая электронная микроскопия выполнена в Общефакультетской лаборатории электронной микроскопии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (Заведующий лабораторией Давидович Г.Н., ведущий инженер лаборатории электронной микроскопии Богданов А.Г.).

Глава 1. ПРОТИВОРЕЧИЯ В СОВРЕМЕННОЙ КОНЦЕПЦИИ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНОГО ИНТЕРФЕЙСА В АСПЕКТЕ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛЛАГЕНАЗЫ В ЛЕЧЕНИИ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Стекловидное тело

1.1.1. Белки стекловидного тела

Концентрация белка в стекловидном теле (СТ) человека колеблется от 0,5 до 1 мг/мл [236, 241, 244]. Aretz S. с соавторами в 2013 году опубликовали результаты исследований СТ человека, проведенных с использованием метода масс-спектрометрического анализа. Ими было выявлено более 1000 белков в трех различных образцах человеческого СТ, извлеченных при витрэктомии. Число белков СТ, уверенно подтвержденных и совпавших во всех трех образцах составило 261. Большая часть белка, содержащегося в СТ, была ими отнесена к белкам плазматического происхождения [69]. Результаты исследований 2012 года Angi M. с соавт. показали, что альбумины и иммуноглобулины составляют более 80% от общего количества белка стекловидного тела. Ими было высказано предположение о том, что плазматические белки попадают в витреальную полость с внутриглазной жидкостью, продуцируемой цилиарным телом [68].

Белковый экстрацеллюлярный матрикс СТ в основном представлен коллагеном [28, 30, 49, 70]. Общая концентрация коллагенов в СТ невелика и составляет приблизительно 300 мкг/мл, т. е. всего лишь 0,5% от суммарного содержания белков [74, 77, 263]. Эта часть белка формирует фибриллярную коллагеновую сеть, придающую СТ специфическую структуру и гелеподобные качества [72, 75, 78, 246]. Коллаген распределен в СТ неравномерно, его наивысшая концентрация отмечается в основании СТ и уменьшается в направлении к центральной и задней частям СТ, но затем увеличивается в заднем кортикальном слое, прилежащем к сетчатке [76, 236,

244]. В стекловидном теле взрослого человека практически весь коллаген поперечно сшит в фибриллы, которые состоят из сшитых коллагенов типов II, V/XI и IX. Три α -цепи коллагена перевиваются друг с другом по мере того, как молекула коллагена собирается в процессе синтеза в клеточном эндоплазматическом ретикулуме. Они сшиваются таким образом, поскольку α -цепи характеризуются определенной аминокислотной последовательностью с глицином (наименьшей из аминокислот) в каждой третьей позиции аминокислотной цепи, тогда как двумя другими аминокислотами в повторяющихся триплеттах, начинающихся с глицина, зачастую являются пролин или гидроксипролин. Эта повторяющаяся аминокислотная последовательность создает условия для того, чтобы упомянутые три α -цепи образовывали сборку в форме коллагеновой тройной спирали. Внутри фибрилл молекулы коллагена образуют высокоорганизованную структуру и представляют собой решетки, расположенные в шахматном порядке. По мере того, как они соединяются в фибриллы, молекулы коллагена образуют поперечные сшивки друг с другом, тем самым повышая прочность на разрыв и механическую стабильность фибрилл и приобретают характерную поперечную исчерченность [71, 276].

1.1.2. Коллагены стекловидного тела

Коллаген типа II в СТ является преобладающим, на его долю приходится приблизительно 75% от коллагена СТ [83, 84]. Он входит в состав группы коллагенов, формирующих фибриллы, наряду с коллагенами типов I, III, V, XI, V/XI, XXIV и XXVII. Молекула коллагена типа II состоит из трех идентичных α -цепей. Молекулы коллагена типа II имеют низкую растворимость, эта особенность и создает возможность для их участия в процессе формирования фибрилл [241, 242, 244]. Коллагены типа V и типа XI первоначально были выявлены как отдельные типы коллагена, причем для коллагена типа V, обнаруживаемого в коже и других тканях, были характерны различные сочетания цепей (например, $[a1(V)_2a2(V)]$, $[a1(V)_3]$,

[$\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$]), а коллаген типа XI [$\alpha 1(XI)\alpha 2(XI)\alpha 3(XI)$] обнаруживался в хрящевой ткани. На долю коллагена типа V/XI приходится приблизительно 10% коллагена, присутствующего в СТ человека [84, 86]. В СТ коллаген типа V/XI, наряду с коллагенами типа II и типа IX, сшивается в гетеротипические (смешанного состава) фибриллы [241, 276]. Коллаген типа IX не относят к коллагенам, формирующим фибриллы, хотя он и обнаруживается на их поверхности. Он входит в группу FACIT-коллагенов (связанные с фибриллами коллагены с прерывистыми тройными спиралями), которая также включает коллагены типов XII, XIV, XVI и XIX. Коллаген типа IX секретируется в виде зрелого коллагена [242, 244].

Коллаген типа VI формирует отличающиеся от других чётковидные микрофибриллы, и незначительные количества этих микрофибрилл были выявлены в изолятах, взятых из стекловидного тела [83]. Результаты исследований указывают на то, что коллаген типа VI присутствует, главным образом, в ВПМ и/или кортикальном слое СТ [86, 213, 214]. С учетом расположения микрофибрилл коллагена типа VI и того, что они связывают коллагены типов II и IV, предполагается, что они обуславливают ВРА [229, 263]. Гетеротипические фибриллы коллагена СТ формируются из коллагена типов II, V/XI и IX. Эти фибриллы очень длинные, неразветвленные и тонкие; они имеют одинаковый диаметр, равный 10-20 нм в зависимости от биологического вида [70, 71, 73]. Сердцевина фибрилл коллагена СТ представляет собой сополимер коллагена типа II и коллагена типа V/XI. Внутри фибрилл молекулы коллагена сшиваются высокоупорядоченным образом, и в результате эти фибриллы характеризуются повторяющимся рисунком исчерченности при исследовании с помощью электронной микроскопии [246]. Коллаген типа IX представляет собой протеогликан хондроитин сульфат, цепи хондроитин сульфата равномерно распределяются вдоль поверхности фибрилл. Считается, что они играют важную роль в обеспечении пространственной разобщенности фибрилл коллагена [241, 242, 276].

1.1.3. Клетки стекловидного тела

Впервые клетки СТ взрослого человека описал Hannover A. в 1840 году [143]. С момента обнаружения клеток прошло более 180 лет, однако до настоящего времени определенного консолидированного представления об их фенотипической принадлежности и функции не составлено. Первым детальное описание клеток СТ дал Иванов А. в 1865 году, им было опубликовано подробное исследование клеток СТ. Он обнаружил веретенообразные, пузырчатые и звездчатые клетки, им выявлено множество переходных клеточных форм и установлена способность всех клеток СТ к амебоидному движению [158].

В 1961 году Balazs E.A. предложил называть клетки СТ гиалоцитами [73]. В 1976 году Hogan M.J. с соавторами высказали утверждение, что гиалоциты СТ человека имеют макрофагальное происхождение [153]. В 1985 году Salu P. с соавторами, основываясь на проведенных на крысах морфологических исследованиях, предположили, что гиалоциты могут быть отнесены к моноцитарно-макрофагальной клеточной линии [230]. В 1994 году Lazarus H.S. и Hageman G.S. пришли к заключению, что гиалоциты относятся к моноцитарно-макрофагальной линии [181]. Sakamoto T., Ishibashi T. в работах 2003, 2011 года предположили, что гиалоциты происходят из костного мозга, играют иммунную роль, являются посредниками воспаления и могут участвовать в мембранообразовании [226, 227]. Noda Y. с соавторами в 2004 году предположили, что гиалоциты могут обладать фибринолитической активностью [198]. Kita T. с соавторами в 2008 году выдвинули гипотезу о том, что гиалоциты могут принимать участие в пролиферативных процессах [174]. Считается, что гиалоциты причастны к образованию эпимакулярных мембран [237]. Высказывается мнение, что клетки СТ с одной стороны поддерживают прозрачность СТ, а с другой могут вызывать образование эпиретинальных мембран [225]. Суетов А.А., Бойко Э.В. в 2018 году предположили, что гиалоциты происходят из тканевых макрофагов, поступающих в витреальную полость из кровяного русла.

Авторы указали, что «потенциально в составе мигрирующих клеток в СТ могут привноситься внутриклеточные инфекции». Несмотря на многочисленные исследования гиалоцитов СТ «до сих пор остается неизвестным, насколько весом вклад гиалоцитов в продукцию различных макромолекул СТ» [35].

В настоящее время представления о функции и клеточной принадлежности гиалоцитов СТ человека находятся в стадии формирования.

1.1.4. Синтез новообразованного коллагена в стекловидном теле взрослого человека

Признаки синтеза вторичного СТ (взрослого типа) регистрируются в конце 6-й недели эмбриональной жизни человека [232]. Считается, что коллагены стекловидного тела образуются, главным образом, в области цилиарного тела, высказываются утверждения, что коллаген стекловидного тела синтезируется развивающейся сетчаткой [242]. Для локализации зоны синтетической активности применялся косвенный метод гибридизации *in situ* с целью обнаружения РНК коллагена в гистологических срезах. Исследования на эмбрионах человека не производились, выводы основаны на исследованиях глаз животных. Основываясь на исследованиях глаз эмбрионов цыплят, продемонстрирована экспрессия коллагена типа II на всем протяжении внутреннего слоя глазного бокала на ранних стадиях эмбрионального развития (эмбриональные дни 3,5-5); затем к 7-му эмбриональному дню экспрессия коллагена типа II локализовалась в предполагаемом цилиарном теле [184]. Исследование развивающегося глаза цыпленка подтвердило, что по состоянию на 10-й эмбриональный день экспрессия коллагена типа IX была ограничена пределами развивающегося цилиарного тела [141]. При исследовании глаза эмбриона мыши (17,5 эмбриональный день), а также глаза взрослой мыши, зарегистрирована экспрессия цепей коллагена типа IX в области цилиарного тела, слабая экспрессия наблюдалась в сетчатке и хрусталике [86].

Одним из признаков синтеза экстрацеллюлярного коллагена является обнаружение растворимого коллагена. В 2005 году Halfter W. с соавторами провели исследование наличия растворимого коллагена в СТ эмбриональных и постнатальных глаз человека. Растворимый коллаген определялся методом Вестерн-блоттинга. Авторами был зарегистрирован быстрый постнатальный спад количества растворимого коллагена в СТ. К 6 месяцам он обнаруживался в очень малых количествах, а в глазу взрослого человека обнаружить растворимый коллаген не удалось. Коллаген по-прежнему присутствовал в СТ постнатальных и взрослых глаз, но практически в полном объеме был поперечно сшит в фибриллы и, соответственно был нерастворимым и, следовательно, не определялся методом Вестерн-блоттинга [141]. Вместе с тем существует противоположное мнение. Ponsioen T.L., Hooymans J.M., Los L.I. в 2010 году нашли свидетельства того, что в глазах взрослого человека синтез коллагена СТ продолжается. Они обнаружили небольшие количества растворимого проколлагена типа II, незрелых поперечных сшивок коллагена в фибриллах и присутствие мРНК коллагена типа II в образцах, взятых при проведении ретинэктомии [212]. Кроме того, обнаружены косвенные свидетельства синтеза коллагена СТ на периферии сетчатки [213, 274].

В более ранних исследованиях, проведенных Bishop P.N. с соавторами в 1994 году, определено, что концентрация коллагена в СТ глаза человека остается более или менее постоянной на протяжении всей жизни, составляя приблизительно 300 мкг/мл [83]. Ponsioen T.L. с соавторами в 2008 году, по совокупности результатов исследований, высказали предположение, что «синтез новообразованного коллагена в глазу взрослого человека, вероятно, находится на низком уровне» [214]. В 2013 году Van Deemter M. с соавторами указали на значительную деградацию коллагена и его активный кругооборот в СТ глаза взрослого человека под воздействием трипсина и металлопротеиназ [272]. Мнение о спорности возможного синтеза коллагена в СТ взрослого человека разделяется и российскими исследователями [37].

Результаты имеющихся исследований о синтезе коллагена в СТ взрослого человека основаны на косвенных данных и противоречивы. В настоящее время не составлено единой общепристой концепции в отношении синтеза коллагена в СТ взрослого человека.

1.2. Современные представления о механизме витреоретинальной адгезии и формировании задней отслойки стекловидного тела

При описании патофизиологических процессов в СТ широко используются понятия кора СТ, витреоретинальная адгезия (ВРА), задняя отслойка СТ (ЗОСТ), витреоретинальный интерфейс. Механизмы ВРА и ЗОСТ до настоящего времени окончательно не выяснены.

Кора СТ – это внешняя оболочка СТ, контактирующая со всей поверхностью сетчатки [71, 73]. Коллагеновые фибриллы в коре заднего СТ проходят параллельно плоскости сетчатки, что исключает их прямое проникновение в нее и объясняет более слабый витреоретинальный контакт в сравнении с областью базиса СТ [113, 115]. Особенностью задних отделов коры СТ является большое количество гиалоцитов, образующих своего рода монослой, локализующийся в 20-50 мкм от сетчатки [244, 276]. Предназначение гиалоцитов окончательно не выяснено, им приписываются следующие функции: защитная иммунная, поддержание прозрачности СТ за счет их возможной фагоцитарной активности [198, 227].

Узкую зону адгезии между СТ и сетчаткой называют витреоретинальным интерфейсом или областью витреоретинального контакта. Считается, что витреоретинальный интерфейс состоит из трех компонентов: кора СТ, внутренняя пограничная мембрана сетчатки (ВПМ) и экстрацеллюлярный матрикс между ними [241, 242]. Внутренняя пограничная мембрана – это десятый слой сетчатки и ее анатомическая граница. Наиболее распространено утверждение о том, что она образована отростками Мюллеровых клеток сетчатки [231]. К основным белкам в составе ВПМ

относят коллаген IV типа и ламинин. Выдвинуто предположение, что коллаген IV типа и ламинин образуют между собой специфическое полимерное соединение, обеспечиваемое белком Нидоген-1 [117, 281].

Современные представления о микроструктуре ВПМ разноречивы. Существует две противоположные точки зрения. Heegaard S. (1994), считает, что «в задних отделах сетчатки ВПМ достигает толщины 0,5-2 мкм, продолжается непрерывным слоем до желтого пятна, где значительно утолщается» [146]. Green W.R и Sebag J. в исследовании 2006 года так же придерживаются мнения, что ВПМ имеет наибольшую толщину в центральной области сетчатки: они указывают, что «толщина ВПМ зависит от локализации, на крайней периферии она тонкая – 0,3 мкм, к экватору утолщается до 0,5 мкм, а в перифовеолярной области утолщается до 1,887 мкм» [137].

Yamada E. в исследовании 1969 года придерживается противоположной точки зрения [277]. По его данным, толщина ВПМ в фовеолярной области – чрезвычайно тонкая и составляет 10-20 нм (0,1-0,2 мкм). В более современной работе 2012 года Henrich P.V. с соавторами указывается, что «в фовеолярной области ВПМ самая тонкая и толщина ее составляет приблизительно 100 нм (1/10 мкм), а толщина ВПМ парафовеолярной области существенно большая и составляет примерно 3 мкм». По его мнению, ВПМ в фовеа области в 30 раз тоньше, чем в парафовеолярной области [147].

Следует подчеркнуть, что исследования Green W.R и Sebag J. (2006) проводились на изолированной сетчатке человека, предварительно отделенной от пигментного листка. После выделения сетчатки из оболочек глаза возможно изменение ее размеров и толщины сообразно ее тканевым биофизическим свойствам и при последующей фиксации могли сохраниться не истинные, а изменившиеся после выделения изолированной сетчатки анатомические характеристики и соответственно характеристики ВПМ.

Общепринятым является упоминание данных, приведенных Hogan M.J. с соавт. (1976), о том, что волокна СТ на периферии сетчатки «вплетаются» в

последнюю под прямым углом в отличие от других областей контакта. Этим объясняется невозможность механического отделения стекловидного тела от сетчатки на периферии без ее повреждения [153].

В отечественной литературе публикации, посвященные исследованию анатомии ВПМ глаза человека, фактически отсутствуют. Данных о микроструктуре ВПМ к настоящему времени недостаточно.

К важному компоненту витреоретинального интерфейса относят так называемый внеклеточный матрикс (ВМ). Считается, что он действует как биохимический клей, обеспечивающий «склеивание» между СТ и ВПМ [28, 29, 144, 233, 259]. Молекулярные компоненты ВМ многочисленны и полностью не изучены. Некоторые компоненты определены, к ним относят протеогликаны: фибронектин, ламинин, оптицин, хондроитин сульфат протеогликан [242, 244]. Наиболее высокое содержание ламинина и фибронектина регистрируется именно в области витреоретинального контакта [184, 241, 243], кроме того, выявлено, что их концентрация снижается с возрастом [175, 177]. Russell S.R. в 2012 году предложил теоретическую модель, описывающую механизм ВРА. По его теории белок, массой 240 кДн образует ядро, к которому присоединен коллаген IV типа, находящийся в ВПМ. К протеиновому ядру присоединен ряд хондроитин-сульфат-гликозаминогликанов, которые присутствуют на витреальной стороне ВПМ. Гликозаминогликаны (ГАГ) связаны с фибриллярным протеином, наиболее вероятно оптицином, который в свою очередь взаимодействует с коллагеном 2 типа, находящимся в кортикальном СТ. Посредством этой цепи взаимодействий (ВПМ – протеиновое ядро – ГАГ – оптицин – кортикальное СТ) формируется относительно прочная биохимическая адгезия [224].

Существует несколько теоретических предположений возникновения ЗОСТ. Одно из самых простых – это «разжижение» СТ в результате его старения и последующее ослабление ВРА, вследствие уменьшения концентрации протеогликанов в зоне витреоретинального контакта [115, 276]. Фибриллы коллагена СТ не соприкасаются и пространственно

дистанцируются между собой за счет цепей хондроитин сульфата коллагена типа IX. Гиалуронаты в комбинации с фибриллами СТ формируют переплетающуюся сеть, которая обладает эластичностью и упругостью и способна к растяжению. Волокна СТ окружены гиалуроновой кислотой, которая благодаря способности образовывать связи с водой создает вокруг фибрилл СТ своеобразный демпфер, не позволяющий им СТ соприкасаться [88, 244, 276]. Благодаря гиалуроновой кислоте поддерживается пространственное взаимоотношение структур СТ. В ходе старения происходит постепенная утрата гиалуроновой кислоты волокнами СТ. Фибриллы СТ начинают сближаться, что в итоге приводит к его пространственной дезорганизации. По сути, происходит своеобразный коллапс СТ вследствие сближения и уплотнения компоновки его волокон [85]. Из-за агрегации фибрилл коллагена СТ теряет свою пространственную структуру, в результате чего в нем формируются полости без волокон СТ [242]. Образование авитреальных полостей принято называть «разжижением» СТ, хотя, по сути, происходит обратный процесс: потеря воды стекловидным телом. Тонкие патологические механизмы, приводящие к обезвоживанию СТ и развитию его задней отслойки, до настоящего времени не выяснены. «Старение» СТ, сопровождаемое потерей связанной воды и снижением концентрации протеогликанов в области витреоретинального контакта, указывается как наиболее вероятная причина развития возрастной ЗОСТ.

Следующая гипотеза: условие развития ЗОСТ предполагает попадание жидкой части СТ между ВПМ и кортикальным СТ. Предполагается, что жидкость может проникнуть через перипапиллярное отверстие в коре заднего СТ [242, 244].

Единого представления о механизме ВРА и ЗОСТ не составлено. По результатам многочисленных исследований *in vitro*, ламинин и фибронектин обеспечивают адгезию клеток как между собой, так и с субстратом, на котором они располагаются [90, 99, 164, 185, 228, 265, 273]. В этой связи

ламинин и фибронектин наиболее часто упоминаются в качестве основного связующего компонента в описании механизма ВРА [79, 144, 177].

Фибронектин был обнаружен во многих клеточных культурах *in vitro* – в культурах делящихся клеток человека – кожи, легкого, почек, печени, миокарда [197]. Фибронектин является основным белком, свойственным делящимся фибробластам [260]. Он, в частности, обнаруживается в фибриллярных структурах, образуемых делящимися фибробластами в культуре [180]. Ламинин, наравне с фибронектином, производится делящимися клетками и обнаруживается в их культуре [145, 206]. Следует обратить особое внимание на то, что в теоретических описаниях механизма ВРА, обеспечиваемой ламинином и фибронектином не упоминается, что эти белковые компоненты производятся именно активно делящимися клетками.

1.3. Витреомакулярная тракция. Определение, исторические аспекты, диагностика, теоретические аспекты, классификация, лечение

1.3.1. Определение термина «витреомакулярная тракция»

Витреомакулярная тракция или витреомакулярный тракционный синдром – патологическое состояние, при котором происходит отслойка СТ с сохранением его фиксации с фовеолярной областью сетчатки [163, 221]. При прогрессировании ЗОСТ возникает непрерывное тракционное воздействие на фовеолярную область сетчатки, что приводит к ее деформации и последующему отеку [222]. В начальной фазе возникают различной степени метаморфозии и ухудшение центрального зрения [142]. Продолжающееся тракционное воздействие может приводить к развитию макулярного отверстия и дальнейшему ухудшению центрального зрения вплоть до его полной необратимой утраты [28, 29, 102, 113, 249]. Нередко ВМТ сочетается с эпиретинальным фиброзом [95, 161]. Этиология заболевания до настоящего времени не выяснена. Современная практика предполагает два варианта лечения ВМТ – это хирургическое и нехирургическое лечение. В Европе,

США, Канаде активно применяется нехирургический метод лечения ВМТ путем интравитреального введения окриплазмина – фермента, который устраняет патологическую фиксацию между стекловидным телом и сетчаткой [113, 125, 149]. В российской практике доступно только хирургическое лечение. В этой связи особый интерес представляют теоретические и практические аспекты нехирургического лечения витреомакулярной тракции.

1.3.2. Исторический аспект возникновения термина «витреомакулярная тракция»

Впервые витреомакулярный тракционный синдром был описан в 1953 году Irvine A.R. у пациентов после экстракции катаракты, осложненной выпадением стекловидного тела [157]. Наравне с кистозным макулярным отеком им была зарегистрирована ВМТ, которая была интерпретирована как новый синдром СТ, вызываемый интракапсулярной экстракцией катаракты. Синдром получил имя автора, его описавшего – синдром «Ирвина». В 1966 году Gass J.D. и Norton E.W. провели подробный анализ осложнений, возникавших после экстракции катаракты: в дополнение к прежним наблюдениям выявлены макулярный отек и отек зрительного нерва [128]. Эти исследования привели к возникновению нового термина, получившего название синдром «Ирвина-Гасса». Небезынтересным представляется тот факт, что в настоящее время синдром Ирвина-Гасса трактуется в основном, как отек и кистозные изменения макулярной области сетчатки, возникающие после удаления катаракты, но уже без упоминания тракционного воздействия со стороны стекловидного тела.

В качестве изолированного патологического состояния, т.е. отдельной нозологической формы, ВМТ (современное нозологическое определение) была зарегистрирована в 1967 году Jaffe N.S. Он диагностировал «витреоретинальный тракционный синдром» у факичных пациентов, которым ранее не производилось хирургического лечения [164]. В отличие от синдрома Ирвина, обнаруженная им ВМТ не сочеталась с кистозными изменениями

сетчатки и картиной повышенной проницаемости сосудов на флюоресцентной ангиографии. Именно отсутствие у пациентов характерной картины, сопутствующей синдрому Ирвина-Гасса, позволило автору выделить обнаруженную витреомакулярную тракцию в отдельную нозологическую форму. В том же году Reese A.B. с соавторами дополнил работы Irvine A.R. и Jaffe N.S. исследованием, в котором показал, что витреомакулярный тракционный синдром может прогрессировать после интракапсулярной экстракции катаракты, проведенной без осложнений (без выпадения стекловидного тела) [221].

В 1970 году клинические исследования Jaffe N.S. были подтверждены результатами гистологических исследований, проведенных Reese A.B. с соавторами, в которых был зарегистрирован факт частичной задней отслойки стекловидного тела с сохранением устойчивой фиксации последнего в макулярной области [222]. Клинические и гистологические основы понимания ВМТ были заложены в конце 60-х и начале 70-х годах прошлого столетия.

1.3.3. Диагностика витреомакулярной трaкции

До 1991 года диагностическая оценка ВМТ базировалась на офтальмоскопическом обследовании с использованием прямой или обратной бинокулярной офтальмоскопии и ультразвуковой сонографии [157, 163, 221, 222]. Диагностика была до известной степени субъективной, т. к. не позволяла анализировать микроструктурные изменения фовеолярной области сетчатки, эпи- и преретинальные структуры стекловидного тела. Диагностика затруднялась и тем, что в подавляющей большинстве случаев преретинальные структуры стекловидного тела были прозрачными, что не давало возможности получить исчерпывающую оценку преретинального стекловидного тела и его взаимоотношений с поверхностью сетчатки. Соответственно, оценка динамики развития патологического процесса была приблизительной, что затрудняло принятие решения о тактике лечения пациента.

Прогресс в диагностике и лечении ВМТ стал возможен с появлением оптической когерентной томографии. Существующие методики томографической визуализации срезов биологических объектов, такие, как рентгеновская компьютерная томография, магнитно-резонансная томография и ультразвуковое исследование, широко применяемые в медицинской практике, имели один недостаток – их разрешающая способность, измеряемая в миллиметрах, была недостаточной для прецизионных исследований внутриглазных структур.

Разрешающая способность ОКТ оказалась в 1000 раз более высокой по сравнению с уже существующими методами и идеально подходила для офтальмологической практики. Разрешающая способность первых приборов составляла порядка 15 мкм [154]. Стало возможным получать неинвазивные поперечные изображения структур в биологических тканях путем измерения их оптических отражений. Лазерное (когерентное) излучение, в отличие от некогерентного, имеет слабое светорассеивание, что позволяет формировать тонкий качественный оптический срез с высокой глубиной резкости. Среды глаза, несмотря на кажущуюся прозрачность имеют различную способность отражения, проходящего через них светового потока. Аппаратный анализ отраженного лазерного (когерентного) излучения позволяет получить оптический срез высокого разрешения [18, 60, 62, 64]. В настоящее время ОКТ является единственной методикой анализа тонких внутриглазных структур. Разрешающая способность современных серийных приборов приблизилась к 4-6 мкм [18, 19, 60, 61, 62], что позволило анализировать тончайшие микроструктурные элементы глаза. ОКТ позволила расширить понимание структуры витреоретинального интерфейса, как в норме, так и при патологических изменениях в нем.

1.3.4. Теоретические аспекты витреомакулярной тракции

Основной причиной возникновения ВМТ считается незавершенная задняя отслойка стекловидного тела, при которой сохраняется его адгезия с макулярной областью сетчатки [28, 29, 142, 244]. Механизмы, обеспечивающие ВРА, как и механизмы развития ЗОСТ до настоящего времени окончательно не изучены. Существует ряд гипотетических предположений, используемых в описании механизмов возникновения заболевания.

Задняя отслойка стекловидного тела и витреомакулярная тракция

По данным ОКТ, начальное отделение СТ от поверхности сетчатки, как правило регистрируются в перифовеолярной области [167, 271]. Ослабление витреомакулярной адгезии может продолжаться десятилетия, пока не произойдет отделение стекловидного тела от макулы и диска зрительного нерва, что является полной ЗОСТ [70, 76]. Признаком полной ЗОСТ является появление кольца Вейса (отверстие в кортикальном СТ, соответствующее бывшей одноименной связке, обеспечивающей фиксацию СТ с диском зрительного нерва) [235, 236, 244, 276].

Неполноценное или неполное отделение СТ может приводить к патологическим изменениям. При сохранении фиксации СТ к макулярной области начинают развиваться патологические изменения в сетчатке вследствие постоянного локального тракционного воздействия. Степень патологических проявлений зависит от площади аномальной фиксации кортикального СТ к сетчатке и от силы происходящего тракционного воздействия [166, 237].

Механизм формирования витреомакулярной тракции

Основным условием формирования тракционного воздействия отслаивающегося стекловидного тела на центральную сетчатку является патологическая, излишне прочная фиксация СТ к поверхности сетчатки. Механизм формирования патологической витреоретинальной адгезии находится в стадии изучения.

Нормальная ЗОСТ может осложняться персистирующими витреомакулярными спайками между корой СТ и макулярной областью [236, 248]. Спайки могут быть, как локальными, так и распространенными с локализацией не только в фовеолярной области, но и с распространением на более обширную область, достигая ДЗН и распространяться оппозитно за пределы макулярной области [178, 278]. К формированию витреомакулярной спайки приводит развитие фиброваскулярной пролиферации, вызывающей стойкую фиксацию СТ к поверхности сетчатки. Развитие пролиферации обуславливают факторы роста, накапливающиеся в области витреоретинального контакта [171]. Патологический процесс фиброваскулярной пролиферации может ограничиваться образованием локальной патологической фиксации СТ к поверхности сетчатки, либо продолжаться, приводя к формированию эпиретинальной мембраны [94, 165].

Причины фиброваскулярной пролиферации полиэтиологичны. На возможную воспалительную этиологию процесса указывают проведенные гистологические исследования эпиретинальных мембран. В их составе, наравне с глиальными клетками, были обнаружены фиброзные астроциты, миофибробласты, фиброциты, макрофаги, клетки РПЭ [114, 124, 171, 250]. Указанные клетки способны самостоятельно продуцировать провоспалительные факторы и факторы роста, что может обеспечивать поддержание воспалительного процесса и пролиферации в области мембраны [93, 182, 284].

В собственных исследованиях, при изучении уровня экспрессии факторов воспаления циклооксигеназы (ЦОГ), нейротрофинов (BDNF и NGF), вазопротеративных факторов (VEGF) в эпиретинальных мембранах методом полуколичественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) показано, что в эпиретинальных мембранах экспрессируются воспалительные факторы ЦОГ-1 и ЦОГ-2, обнаружена взаимосвязь между экспрессией воспалительных факторов (ЦОГ-1), вазопротеративных факторов (VEGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF). Выявлена прямая зависимость между

экспрессией VEGF и ЦОГ-1. Показано, что наличие мембраны, способствует поддержанию воспаления в глазу и росту самой мембраны [41, 269].

Повышенная патологическая проницаемость сосудов сетчатки может быть одной из компонент, приводящих к формированию персистирующей спайки СТ с поверхностью сетчатки. ВМА, включая ВМТ, обнаруживается в 23% случаев у пациентов с экссудативной (влажной) возрастной макулярной дегенерацией (ВМД), и часто область адгезии соответствует области хориоидальной неоваскуляризации [160].

При изучении связи ВМТ и диабетического макулярного отека (ДМО) в метаанализе 2013 года [160] была выявлена связь между ДМО и формированием ВМТ. При анализе пациентов с ДМО, которым было запланировано хирургическое лечение, в 29% случаев выявлено наличие ВМТ и эпиретинальных мембран (ЭРМ) с тракционным воздействием на сетчатку [179, 202].

По совокупности литературных данных, патофизиологические условия формирования порочного круга, приводящего к формированию патологической адгезии СТ с центральной сетчаткой, предполагают наличие изначально плотного контакта между сетчаткой и СТ, накопления в области витреоретинального контакта факторов, стимулирующих рост эпиретинальной мембраны. Условием накопления факторов роста может являться повышенная проницаемость сосудов сетчатки, вследствие воспалительного процесса или патологических изменений, которые сопутствуют ВМД, сахарному диабету, либо всех трех патологических состояний. Патологическая витреоретинальная адгезия может быть локальной, при ее прогрессировании возможно образование эпиретинальной мембраны, которая в свою очередь может поддерживать воспалительный процесс и дополнительно стимулировать, как патологическую адгезию, так и собственную пролиферацию, приводящую к прогрессированию ЭРМ. Последующее развитие ЗОСТ приводит к стойкому тракционному

воздействию на сетчатку со стороны СТ опосредованно через область патологической фиксации СТ к сетчатке.

1.3.5. Классификация витреомакулярной тракции

За 30 лет с момента появления ОКТ была накоплена обширная база изображений витреомакулярного интерфейса. Появились разнообразные, зачастую конкурирующие между собой, а иногда и противоречащие, термины и классификации. Отсутствие консенсуса в трактовке определений, терминов и классификациях стало затруднять клиническую практику, анализ клинических результатов и в определенной мере препятствовать дальнейшему прогрессу в данной области клинической практики.

Многочисленные анатомические наблюдения и классификации, основанные на данных ОКТ, были объединены международной исследовательской группой и систематизированы. Предложена новая классификация и система единых интерпретационных определений картины ОКТ для использования их в клинической практике [105].

Витреоремакулярная адгезия

Витреомакулярная адгезия (ВМА) принята за эквивалент I стадии ЗОСТ [129, 165, 166, 271]. Полная ВМА считается нормальным состоянием. В предлагаемой классификации ВМА представляет собой специфическую стадию ЗОСТ, когда происходит частичное отделение СТ в перифовеолярной области без патологических изменений со стороны сетчатки. ВМА характеризуется приподнятостью кортикальных отделов стекловидного тела над сетчаткой, но с сохранением их прилегания в радиусе 3 мм (3000 мкм) в фовеолярной области.

Сохраняется острый угол между отслоенным кортикальным слоем СТ и поверхностью сетчатки. Контур сетчатки остается неизменным, признаки морфологических изменений ее поверхности не регистрируются методом ОКТ. Пациенты не предъявляют жалоб на снижение зрения. Данное состояние отнесено к естественному нормальному процессу ЗОСТ. Необходимо

отметить некоторые ключевые моменты, предлагаемые для характеристики ВМА. Анатомические проявления ВМА предложено отделить от симптоматических, т. к. особенность симптоматики изменения зрительных функций заключается в ее субъективности, и она может быть следствием не связанных с ВМА заболеваний. ВМА субклассифицирована на локальную (≤ 1500 мкм) и обширную (> 1500 мкм) [101, 178].

Витреомакулярная тракция

Картина ОКТ в виде сочетания изменений поверхности сетчатки, формирования в ней псевдокист, локального отделения сетчатки от ретинального пигментного эпителия с перифовеолярной ЗОСТ трактуется, как ВМТ. Классификация стадий ВМТ, по степени прогрессирования основана на анализе поперечного ОКТ-сканирования центральной сетчатки: I степень – перифовеолярная отслойка кортикального стекловидного тела от поверхности сетчатки; II степень – фиксация кортикального стекловидного тела к фовеа радиусом 3 мм; III степень – сочетание фиксации кортикального стекловидного тела с искривлением фовеолярной поверхности, интравитреальными структурными изменениями, приподнятостью макулярной поверхности сетчатки над ретинальным пигментным эпителием, или их комбинацией, но без образования разрыва на всю толщину слоев сетчатки.

Как указано в предложенной классификации, ВМТ может быть субклассифицирована как локальная или обширная, в зависимости от протяженности фиксации СТ.

Протяженная фиксация СТ к поверхности сетчатки, сочетающаяся с тракционным воздействием, может приводить к образованию обширных складок в макулярной области, пропотеванию сосудистого содержимого (по данным флуоресцентной ангиографии), расслоению макулы и кистозному макулярному отеку. Локальная фиксация СТ, одновременно с тракционным воздействием приводит к искривлению фовеолярной поверхности, ее приподниманию, формированию псевдокист в центральной макуле.

Появление псевдокист обычно сопровождается ухудшением зрения и появлением искажений предметов – метаморфозии. В случае разрешения тракционного воздействия псевдокисты в большинстве случаев со временем рассасываются с возможным сохранением небольшой остаточной метаморфозии [142]. При сохранении тракционного воздействия ВМТ может привести к образованию МО. В Таблице 1.1 приведена международная классификация ВМА, ВМТ и МО [105].

Таблица 1.1 – Международная классификация витреомакулярной адгезии, тракции и макулярных отверстий

Классификация	Субклассификация
Витреомакулярная адгезия (ВМА)	размер: фокальный (≤ 1500 мкм), обширный (≥ 1500 мкм) изолированная или одновременная
Витреомакулярная тракция (ВМТ)	размер: фокальный (≤ 1500 мкм), обширный (≥ 1500 мкм) изолированная или сопутствующая
Полное макулярное отверстие (МО)	размер: малый (≤ 250 мкм), средний ($> 250 - \leq 400$ мкм), большой (> 400 мкм) статус СТ: с или без ВМТ причина: первичный или вторичный

1.3.6. Методы лечения витреомакулярной тракции

1.3.6.1. Хирургическое лечение

Наиболее распространенным методом лечения ВМТ является хирургическое вмешательство с проведением витрэктомии, которое наравне с быстрым и практически гарантированным результатом имеет и свои недостатки. Степень хирургического риска пропорциональна объему хирургического вмешательства.

В 2009 году Stein J.D. с соавторами провели анализ осложнений, связанных с проведением витрэктомии у 13 590 пациентов за 10-летний

период в США. Исследования проведены с использованием базы данных национальной программы медицинского страхования США Medicare [258].

Суммарный процент тяжелых осложнений, включающих эндофтальмит (0,3-0,4%), супрахориоидальное кровоизлияние (0,6-0,4%), тракционную отслойку сетчатки (1,4-1,8%), регматогенную отслойку сетчатки (4-4,6%), составляет от 5 до 5,5%. Суммарный процент менее тяжелых осложнений, таких как отслойка хориоидеи (0,4-0,5%), кровоизлияние в витреальную полость (1,5-2%), отек сетчатки (7-9,4%), глаукома (7,8-9,4%), разрывы сетчатки (1,7-1,9%), гипотония (0,2-0,3%), отек роговицы (1,1-1,4%) и ее повреждение (0,2-0,4%) в среднем колеблется от 17,3 до 20%. Наиболее часто регистрируются отек сетчатки и гипертония. Суммарный процент осложнений, возникающих после витрэктомии, колеблется в пределах 19,6-24,9%.

В 2013 году в США Jackson T.L. с соавторами опубликовали результаты мультицентровых исследований осложнений, возникших после витрэктомии, выполненной только в связи с ВМТ [159]. Из интраоперационных осложнений ими зарегистрировано 5,6% интравитреальных петехиальных геморрагий, 1,6% периферических разрывов сетчатки. В послеоперационном периоде зарегистрировано развитие катаракты в 34,7% случаев, развитие эпиретинальной мембраны в макулярной области происходило в 5,71% случаев, отслойка сетчатки – в 4,85%, рецидив эпиретинальной мембраны – в 1,44%, кистовидный макулярный отек в 1,72%, синдром Ирвина-Гасса – в 1,44%, развитие сквозного макулярного отверстия – 1,44%, изменения в ретинальном пигментном эпителии – в 1,15%, формирование ламеллярного ретинального дефекта – 0,86%, развитие пролиферативной витреоретинопатии – в 0,57%, периферический разрыв сетчатки – в 0,57%, экссудативная макулярная дегенерация – в 0,29%, персистирующий кистовидный перимакулярный отек – в 0,29%. Суммарный процент послеоперационных осложнений, за исключением развития катаракты, составляет 20,9%, из них около 5% – это отслойка сетчатки.

В современной российской хирургической практике интравитреальные вмешательства проводятся на высоком технологическом уровне, соответствующем общемировым стандартам. Тем не менее, приведенный анализ частоты и разнообразия послеоперационных осложнений, возникающих после витрэктомии, подвигает к поиску и использованию менее инвазивных методов лечения ВМТ, особенно если у пациента исходно высокая острота зрения.

1.3.6.2. Нехирургическое лечение витреомакулярной тракции

В настоящее время в зарубежной практике активно применяется технология лечения ВМТ с применением интравитреального введения окриплазмина [28, 95, 142, 209, 241, 247, 249, 256]. Для лечения ВМТ используется единственный на сегодняшний день препарат, позволяющий устранить ВМТ – Jetrea (Thrombo Genics, Бельгия). Препарат Jetrea (окриплазмин), получаемый с использованием генных модифицирующих технологий, представляет собой усеченную часть человеческого плазмينا. Оставлена только активная протеолитическая часть белка. По мнению производителей, окриплазмин за счет протеолитической активности разрушает белки, обеспечивающие связь стекловидного тела с поверхностью сетчатки (ламинин и фибронектин), кроме того, имеются упоминания о том, что окриплазмин может разрушать коллаген стекловидного тела. Акцент все же делается на разрушение окриплазмином ламинина и фибронектина [149]. В результате разрушения связи стекловидного тела с поверхностью сетчатки происходит завершение задней отслойки стекловидного тела и устранение тракционного воздействия, что и дает лечебный эффект.

Первые работы по изучению плазмينا в качестве индуктора ЗОСТ были начаты в 2004 году. Gandorfer А. с соавторами, в эксперименте продемонстрировали возможность индукции задней отслойки стекловидного тела на человеческих донорских и на кошачьих глазах [125]. В 2005 году Sakuma Т. с соавторами показали эффективность и безопасность применения

плазмина в качестве индуктора ЗОСТ в эксперименте на глазах кроликов [216]. В 2008 году Gandorfer A. сообщил о начале доклинических испытаний препарата [113]. В 2009 году De Smet M.D. с соавторами сообщили о первых результатах клинического испытания препарата [102].

В России в 2012 году проведены исследования по изучению возможности индукции ЗОСТ в эксперименте с применением миниплазмина – препарата российского производства, аналогичного окриплазмину. В эксперименте на глазах животных показана возможность индукции ЗОСТ с помощью интравитреальных инъекций миниплазмина [28, 29, 49]. О дальнейших исследованиях в этой области не сообщалось.

В 2012 г. препарат Jetrea (Thrombo Genics, Leuven, Belgium) одобрен FDA в США для лечения симптоматической витреомакулярной адгезии. В 2013 г. Комитет по лекарственным препаратам для медицинского применения (CHMP) при Европейском агентстве по лекарственным средствам (EMA) рекомендовал одобрить применение препарата Jetrea (ocriplasmin) для лечения витреомакулярной тракции [149].

По описанию производителя, препарат представляет собой 0,2 мл концентрата для приготовления раствора, содержащего 0,5 мг окриплазмина. Для проведения лечения приготавливают раствор, содержащий 0,25 мг протеолитического фермента окриплазмина в 0,1 мл физиологического раствора. Лечение заключается в однократном введении 0,25 мг раствора окриплазмина в 0,1 мл физиологического раствора в витреальную полость. Препарат вводится через прокол склеры в проекции плоской части цилиарного тела в 3-4 мм от лимба. Через 1 месяц оценивается результат лечения. Хранение и транспортировка препарата осуществляются при температуре минус 20° С. Необходимость поддержания низкой температуры хранения объясняется быстрой потерей препаратом своей активности при нормальной температуре [149], что вызывает дополнительные сложности при хранении, транспортировке и применении препарата.

Стоимость препарата для однократной процедуры на сегодняшний день составляет около 4000 евро. Применение препарата возможно только однократно. Противопоказанием к его применению является сочетание ВМТ с эпиретинальным фиброзом, при котором, по мнению производителей, применение препарата мало- или неэффективно [149]. К настоящему времени в Европе и Америке произведено более 30 000 лечебных процедур [149], на основании анализа которых показана эффективность препарата в лечении ВМТ. В России использовать препарат невозможно из-за отсутствия его регистрации.

По данным различных исследователей, эффективность лечения ВМТ с применением окриплазмина колеблется в довольно широких пределах от 26,5 до 71% [187, 256]. Такие различия являются следствием индивидуально применяемых параметров отбора пациентов [257]. По результатам регистрационного испытания окриплазмина предложены рекомендации к отбору пациентов для лечения. Не рекомендовано проводить лечение пациентам с протяженностью ВМТ более 1500 мкм и пациентам с сопутствующими эпиретинальными мембранами из-за низкой эффективности лечения [95, 142, 161]. Моноцентровые исследования эффективности препарата, проведенные в США в 2015 году [247], показали разрешение ВМТ в 50% случаев, закрытие макулярного отверстия закрылось в 27% случаев. Warrow D.J. с соавторами (2015) на 33 случаях ВМТ с протяженностью адгезии стекловидного тела, не превышающей 700 мкм, показали, что результативность лечения составила 43% устранения ВМТ и 17% эффективности закрытия макулярных отверстий, сочетанных с ВМТ [275]. Продемонстрированные ими результаты схожи с другими аналогичными исследованиями. Paul C. с соавторами в 2018 году привели результаты мультицентровых исследований, проведенных в 11 медицинских центрах Европы, по анализу результатов лечения 167 случаев лечения ВМТ с применением витреолизиса. Лечение проводилось только у пациентов с витреомакулярной тракцией и без сопутствующего макулярного отверстия,

протяженность фиксации СТ колебалась от 50 до 2739 мкм. Успех был достигнут в 47,3% случаев [209].

Эффективность применения окриплазмина колеблется по данным различных методик исследования. В работе Joondeph V.C. в 2018 году проанализирована эффективность применения окриплазмина за шестилетний период. Анализ по методике MIVI-TRUST демонстрирует 26,5% результативности, OASIS – 41,7%, ORBIT – 45,8%, OVIID-I – 47,4%. Разброс показателей результативности объясняется различными критериями отбора пациентов [167]. Рекомендации по отбору пациентов с ВМТ для получения максимальной результативности лечения предложены Smiddy W.E. (2015): «для достижения максимальной результативности, в случае наличия макулярного отверстия, оно должно быть минимального размера, ВМА короткой протяженности, желательное отсутствие сопутствующей эпиретинальной мембраны, желательное факичный пациент женского пола». По мнению автора, «пациенты с большими макулярными отверстиями, обширной ВМА, сопутствующими эпиретинальными мембранами больше подходят для проведения им витрэктомии». Средняя эффективность применения окриплазмина, с учетом использованных методик анализа составляет 45% [249].

При анализе осложнений, связанных с применением окриплазмина, указывается, что он может воздействовать не только на преретинальные структуры, но также может оказывать общее отрицательное воздействие на сетчатку. Наравне со снижением остроты зрения, у пациентов регистрировалось сужение полей зрения, снижение ЭРГ функции сетчатки, по данным ОКТ регистрировались интравитреальные изменения [65, 135, 268]. Диффузное воздействие на глубже лежащие интравитреальные структуры, и последующая дисфункция сетчатки связывается с протеолитической направленностью окриплазмина на ламинин и фибронектин, которые присутствуют во внутренних слоях сетчатки, в частности в мембране Бруха, фоторецепторном матриксе, наружной пограничной мембране, наружном и

внутреннем плексиформном слоях [184]. Ферментативное расщепление интравитреального ламинина предлагается рассматривать как основу для теоретического описания токсического воздействия окриплазмина на сетчатку. Утверждается, что «диффузный ферментативный эффект не ограничивается только областью витреоретинального контакта, а вовлекает в процесс всю сетчатку, включая фоторецепторы и ретинальный пигментный эпителий» [110, 139, 268]. Изучения воздействия окриплазмина на интравитреальные структуры до настоящего времени не проведено.

1.4. Бактериальная коллагеназа в отечественной офтальмологической практике

В отечественной офтальмологической практике, наравне с другими областями медицинского применения, несколько десятилетий используется бактериальная коллагеназа. Бактериальная коллагеназа применяется в отечественной общей практике с 1960 года [43]. Применяемые дозы препарата варьируют в чрезвычайно широких пределах от 1-2 КЕ до 12000 КЕ на одну инъекцию. Для интравитреального введения в клинической практике доза водимого препарата варьирует от 1-2 КЕ до 30 КЕ [10, 25, 30]. Следует особо подчеркнуть, что применение бактериальной клостридиальной коллагеназы в офтальмологической практике в России – уникальное явление. Бактериальная коллагеназа не используется в зарубежной офтальмологической практике.

В отечественной практике для лечения глазных заболеваний бактериальная коллагеназа стала применяться с 1973 года [13]. Для применения в клинике в 1983 году утвержден препарат клостридиальной коллагеназы «Коллализин» [32].

В зарубежной практике бактериальная коллагеназа в медицинских целях стала применяться относительно недавно – с 2009 года для лечения контрактуры Дюпюитрена (рубцовое перерождение ладонных сухожилий)

[156]. В 2010 году клостридиальная коллагеназа – препарат Xiaflex одобрена к применению в США, в 2011 – в Европе.

Российский препарат – высокоспецифичная бактериальная коллагеназа – получен из культуры *Clostridium histolyticum* (бактерия, растворяющая ткани). Это вид грамположительных, факультативно анаэробных, спорообразующих палочковидных бактерий рода *Clostridium*. Является одним из возбудителей газовой гангрены у человека и млекопитающих. Фермент гидролизует пептиды и белки, содержащие пролин и оксипролин. В этом проявляется характерное свойство коллагеназы – узкая специфичность по отношению к коллагену и синтетическим субстратам с коллагеноподобной структурой.

Препарат хранится в форме лиофилизата. В медицинской практике применяется в виде раствора, который готовят непосредственно перед употреблением [32].

Коллаген в силу своей макроструктуры, образованной тройной спиралью трипептидов, как субстрат доступен только для высокоспецифического фермента коллагеназы. В теории коллагеназа раскручивает тройную спираль коллагена и расщепляет его цепи до небольших фрагментов – олигопептидов.

Теоретические данные были получены на основании косвенных лабораторных исследований биохимических компонентов, образуемых в результате воздействия коллагеназы на различные типы коллагена [105, 209]. В настоящее время нет объективных данных о воздействии коллагеназы на СТ человека на микроструктурном уровне (отдельные фибриллы СТ).

Нерастворимый коллаген расщепляется на две растворимые части в пропорции 1:3, к первоначальному размеру целой молекулы [188]. В дальнейшем эти фрагменты молекулы коллагена могут быть денатурированы с помощью той же коллагеназы или другими тканевыми протеиназами до мельчайших пептидов [10].

Коллаген – это основной белковый матрикс СТ [28, 30, 70, 84, 244, 276], поэтому применение препарата, обладающего способностью к его растворению, – перспективное направление в исследовании возможности его использования в лечении витреоретинальной патологии. Первое применение коллагеназы было направлено на предупреждение и уменьшение последствий процессов рубцевания. В процессе лечения было определено, что коллагеназа, уменьшая интенсивность процессов рубцевания, благодаря своей узкоспецифичной направленности практически не оказывает влияния на неколлагеновые ткани [43, 44, 45].

В офтальмологической практике в 1973 году Даниличев В.Ф. в экспериментально-клиническом исследовании показал высокую эффективность клостридиальной коллагеназы для профилактики и лечения сформировавшейся рубцовой ткани между веком и глазным яблоком после ожога конъюнктивы [13]. Положительный эффект применения коллагеназы при воспалительных заболеваниях роговицы в 1972 году был описан Морозовым В. И. [26]. Наравне с коллагенолитическим эффектом применение коллагеназы животного происхождения оказывало выраженное противовоспалительное действие при заболеваниях роговицы. В 1981 году Круглеев А.А. предложил использовать электрофорез с бактериальной коллагеназой для лечения гемофтальма [20]. Интравитреальное введение коллагеназы для лечения гемофтальма в дополнение к существующему комплексу лечения предложил Полунин Г.С. в 1990 году [31].

Использование коллагеназы для лечения витреоретинальной патологии в современном понимании впервые было предложено Даниличевым В.Ф. в 1996 году. Им была опубликована монография, посвященная энзимотерапии в офтальмологической практике, в которой он подробно описал технологию нехирургического лечения гемофтальма методом многократных внутриглазных инъекций раствора клостридиальной бактериальной коллагеназы в витреальную полость [10, 11]. Получен положительный эффект в виде увеличения скорости рассасывания гемофтальма, при этом автором не

отмечалось каких бы то ни было отрицательных проявлений применения фермента. Монография В.Ф. Даниличева с подробным изложением теории и принципов энзимотерапии в офтальмологии во многом стала базой и своеобразной отправной точкой для продолжения работ в направлении расширения возможностей применения коллагеназы в витреоретинальной хирургии.

Первый опыт использования бактериальной коллагеназы в хирургическом лечении отслойки сетчатки получен автором в 2001 году. После завершения витрэктомии, с целью лизиса оставшегося на поверхности периферической сетчатки стекловидного тела, производилось введение в витреальную полость раствора коллагеназы. Суммарная доза вводимого препарата составляла 15-20 КЕ. После экспозиции в 4-6 минут витреальная полость промывалась физиологическим раствором, после чего производилась тампонада витреальной полости перфторорганическим соединением, циркулярная эндолазеркоагуляция сетчатки с последующей заменой его на силикон. Показано, что интраоперационное применение раствора коллагеназы не влечет за собой каких бы то ни было отрицательных последствий, не влияет на послеоперационное течение и не увеличивает риск послеоперационных осложнений. Применение коллагеназы положительно сказывалось на проведении витрэктомии и не увеличивало риск рецидива отслойки сетчатки [24]. В 2002 году методика интраоперационного интравитреального применения раствора коллагеназы дополнена предварительным интравитреальным введением фермента до хирургического вмешательства [22]. За 1 сутки до операции в витреальную полость пациенту вводили от 5 до 7 КЕ коллагеназы. После выполнения субтотальной витрэктомии витреальную полость на 5-7 минут заполняли 4 мл физиологического раствора, содержащего 15 КЕ коллагеназы, после чего раствор вымывали, витреальную полость тампонируют ПФОС, производили циркулярную эндолазеркоагуляцию сетчатки и последующую тампонаду витреальной полости силиконом. В первые сутки после предшествующего

операции введения коллагеназы, у пациентов не было отмечено побочных эффектов применения фермента. У прооперированных пациентов не выявлено никаких специфических осложнений. Послеоперационный период протекал благополучно, во всех случаях было достигнуто прилегание сетчатки.

В 2006 году предоперационное интравитреальное применение коллагеназы стало использоваться в хирургическом лечении пациентов с сахарным диабетом. Одним из сложных и потенциально опасных этапов проведения витрэктомии у таких пациентов является удаление пролиферативных и фиброзных комплексов с поверхности сетчатки.

Для повышения эффективности хирургического лечения пациентов с пролиферативной диабетической витреоретинопатией Запускаловым А.В. с соавторами предложена методика предварительного интравитреального введения раствора бактериальной коллагеназы. Раствор коллагеназы в дозе 10 КЕ вводили непосредственно в область эпиретинального фиброза за 1 час до начала операции [16]. Авторами отмечен ряд преимуществ предлагаемого метода: повысилась эффективность хирургического вмешательства; отмечены отчетливый протеолитический эффект и значительное снижение тракционного компонента на сетчатку со стороны грубых фиброзных тканей в СТ и на сетчатке, а также снижение риска развития рецидива отслойки сетчатки, уменьшение времени, затрачиваемого на проведение хирургического вмешательства. Авторами не было выявлено никаких специфических осложнений, связанных с применением фермента. В том же году Запускаловым И.В. и Назаренко К.А. был предложен способ лечения пролиферативной диабетической ретинопатии путем интравитреального введения коллагеназы, но уже без последующего проведения субтотальной витрэктомии [15].

В 2010 году опубликована работа о возможности применения бактериальной коллагеназы в хирургическом лечении макулярных отверстий [37]. Удаление внутренней пограничной мембраны в процессе хирургического вмешательства предложено заменить аппликацией раствора коллагеназы на

макулярную область. После проведения субтотальной витрэктомии производили полную воздушную тампонаду витреальной полости, после чего на макулярную область сетчатки наносили раствор коллагеназы. Показана эффективность предложенной методики. Результаты проведенных токсикологических исследований на культуре клеток ретинального пигментного эпителия человека *in vitro* показали, что бактериальная коллагеназа нетоксична в дозе до 120 КЕ при инкубации до 10 мин и проявляет незначительную токсичность в дозах от 30 до 120 КЕ и инкубации от 30 мин до 3 ч. В клинических исследованиях использовали дозу 15 КЕ при экспозиции 5 мин [37].

В 2010 году Шишкиным М.М. с соавторами проведено экспериментальное исследование клинических и морфологических изменений интраокулярных структур при интравитреальном введении коллагеназы в глаза кролика. Авторами определено, что интравитреальное введение бактериальной коллагеназы в глаз кролика в дозе 10 КЕ вызывает умеренные, обратимые изменения в сетчатке, «которые носят локальный и достоверно менее выраженный характер» [50, 51].

По результатам экспериментально-клинических исследований, Письменской В.А. (2016) показана возможность деструкции эпиретинального стекловидного тела человека с помощью коллагеназы. Были проведены узконаправленные исследования цитотоксичности коллагеназы в аспекте интравитреального применения. Экспозиция воздействия была ограничена 30 мин, исследование проведено в узком диапазоне дозировок. По результатам экспериментальных и токсикологических исследований доза фермента в 30 КЕ с экспозицией в 10 минут определена как минимальная для получения необходимого эффекта. Интраоперационное применение бактериальной клостридиальной коллагеназы повысило эффективность хирургического лечения отслоек сетчатки, осложненных пролиферативной витреоретинопатией, и не привело к увеличению числа интра- и послеоперационных осложнений [30].

Бактериальная клостридиальная коллагеназа разрешена для применения в офтальмологической практике, в том числе и для внутриглазного применения. Большинство работ о применении бактериальной коллагеназы носят прикладной характер. Несмотря на длительное практическое применение препарата, на сегодняшний день нет работ по изучению воздействия коллагеназы на СТ человека и на область витреоретинального контакта. Недостаточно информации о потенциально токсическом воздействии коллагеназы в более широком диапазоне доз и экспозиции. Для возможного расширения показаний к применению бактериальной коллагеназы для лечения витреоретинальной патологии, в частности для лечения ВМТ, целесообразным является проведение дальнейших исследований в этом направлении.

1.5. Теоретическая концепция витреоретинального интерфейса и витреоретинальной адгезии

1.5.1. Резидуальное стекловидное тело в аспекте концепции витреоретинальной адгезии

Общепринятое теоретическое описание концепции витреоретинального интерфейса и механизма ВРА предполагает наличие трех компонентов: кортикальное СТ, преретинальная граница которого образована плотно организованными волокнами СТ [71, 73, 113, 237, 241], экстрацеллюлярный матрикс (ламинин и фибронектин), обеспечивающий адгезию к поверхности ВПМ [144, 177, 242, 244], которая и является непосредственной поверхностной границей сетчатки. Согласно этой концепции, при возникновении задней отслойки СТ, либо при его интраоперационном отделении от сетчатки, на ее поверхности не должно оставаться СТ. В многочисленных публикациях, касающихся практической витреоретинальной хирургии, описывается так называемое «резидуальное» (остаточное) стекловидное тело. Тонкий слой СТ интраоперационно регистрировался на

фовеолярной поверхности сетчатки после отделения кортикального СТ. Резидуальное стекловидное тело интраоперационно регистрировалось при хирургическом лечении разнообразных патологических состояний: пролиферативной диабетической ретинопатии, диабетическом макулярном отеке, тромбозе вен сетчатки, регматогенной отслойке сетчатки. Зарегистрирован «диффузный» и «остаточный» типы резидуального СТ. Зависимости между возрастом пациента и особенностями резидуального СТ не обнаружено. «Диффузный» тип резидуального СТ наиболее часто регистрировался у пациентов с сахарным диабетом [255]. Резидуальное СТ интраоперационно обнаруживается не только в глазах с нормальной длиной, но и в миопических глазах [279]. Резидуальное СТ интраоперационно обнаруживается на поверхности сетчатки уже после ранее произошедшей ЗОСТ. Некоторые авторы высказывают предположение о том, что «резидуальное» СТ является составной частью ВПМ, т. к. остается на ее поверхности после интраоперационного отделения кортикального СТ [111].

Тонкий слой СТ, остающийся на поверхности сетчатки после витрэктомии, обнаруживается интраоперационно как в глазах с нормальной длиной, так и в миопических глазах. «Резидуальный» слой СТ интраоперационно обнаруживается при хирургических вмешательствах, произведенных по поводу разнообразных патологических состояний: отслойках сетчатки, МО, пролиферативной диабетической ретинопатии. Резидуальное СТ интраоперационно регистрируется на поверхности сетчатки после сформировавшейся ЗОСТ. Многочисленные публикации и интраоперационные наблюдения свидетельствуют о том, что после отделения кортикального СТ от поверхности сетчатки на ней остается тонкий слой СТ [97, 111, 255, 279]. Согласно общепринятой концепции возникновения ЗОСТ, отслойка СТ от поверхности сетчатки должна произойти по границе ВПМ, т. к. ВРА обеспечивается ламинином и фибронектином, располагающимся на поверхности ВПМ, скрепляя между собой ВПМ и кортикальное СТ.

«Резидуальное» СТ не вписывается в концепцию витреоретинального интерфейса и ВРА. Существующая практика не подтверждает существующую общепринятую концепцию ВРА, согласно которой на поверхности сетчатки не должно оставаться СТ после его задней отслойки или интраоперационного отделения. Обнаруживаемое «резидуальное» СТ очевидным образом демонстрирует, что ЗОСТ происходит не по границе ВПМ, а по границе тонкого слоя СТ, остающегося на поверхности сетчатки.

1.5.2. Аргументированность тезиса о фибронектине и ламинине как основных компонентах, обеспечивающих витреоретинальную адгезию

В современных публикациях широко используется тезис о том, что связь и адгезия между стекловидным телом и центральной сетчаткой обеспечивается за счет белков фибронектина и ламинина [144, 176, 242, 244], хотя в более ранних исследованиях это утверждение высказывалось как предположение [177]. Утверждается, что ВРА наиболее прочна в области базиса СТ, диска зрительного нерва, по ходу крупных сосудов сетчатки и в макулярной области [173].

Именно на эти два белка (ламинин и фибронектин) акцентировано указывается как на основной компонент, обеспечивающий ВРА [28, 29, 49, 59, 183, 184, 187]. В частности, теоретическое обоснование лечения ВМТ и витреомакулярной адгезии методом интравитреального введения окриплазмина основывается на утверждении, что разрушая ламинин и фибронектин окриплазмин, вызывает отделение СТ от поверхности сетчатки [177]. Примечательным является то, что упоминание о связующей роли этих двух белков часто подается как аксиома, которая не подвергается сомнению.

Тезис о фибронектине и ламинине используется для теоретического моделирования и аргументирующего обоснования лечения ВМТ. В частности, при обосновании применения окриплазмина, производителем препарата указано, что окриплазмин (за счет протеолитической активности) воздействует на белки ламинин и фибронектин, обеспечивающие ВРА [144].

Практически во всех работах, посвященных применению окриплазмина для лечения ВМТ, приводится утверждение о ламинине и фибронектине как основных компонентах, обеспечивающих ВРА [28, 29, 49, 59, 130, 142, 144, 176, 177, 242, 244]. К настоящему времени тезис о связующей роли ламинина и фибронектина перешел в разряд аксиомы – истины, не требующей доказательств, что предполагает наличие бесспорных аргументов, подтверждающих этот тезис.

Ниже будут рассмотрены аргументы, приводимые в современных статьях в поддержку тезиса о роли ламинина и фибронектина, и аргументирующих ссылок, приводимых в подтверждение вышеупомянутого тезиса.

Aniz Girach и Steve Pakola в статье «Заболевания витреомакулярного интерфейса: патофизиология, диагностика и будущие варианты лечения» (2012) в части описания анатомии и физиологии витреоретинального интерфейса пишут: «коллагеновые фибриллы кортикального стекловидного тела связаны с внутренней пограничной мембраной посредством ламинина и фибронектина» [130]. Утверждение подкрепляется рисунком, схематически изображающим, каким образом ламинин и фибронектин обеспечивают связь между сетчаткой и СТ, с соответствующей аргументирующей ссылкой на статью, опубликованную Matsumoto B., Blanks J.C., Ryan S.J. в 1984 году [190].

Из текста статьи Aniz Girach и Steve Pakola следует, что тезис о связующей функции фибронектина и ламинина подтвержден ранее проведенной работой, на которую ссылаются авторы как на доказательство. Это исследование Matsumoto B., Blanks J.C., Ryan S.J., датированное 1984 годом, в котором исследовались топографические варианты взаимоотношений внутренней пограничной мембраны и кортикального стекловидного тела у кроликов и приматов методом электронной микроскопии [190]. Содержание статьи вызывает особый интерес в аспекте цитирования. ВПМ сетчатки и ее взаимоотношения с прилегающими кортикальными слоями СТ были исследованы у кроликов и приматов методом электронной микроскопии.

Авторы пришли к заключению, что «адгезия кортикального СТ с ВПМ у кроликов гораздо более прочная, нежели у макак, и что анатомически витреоретинальные взаимоотношения макак и кроликов сильно отличаются друг от друга». Они нашли анатомическое сходство в части витреоретинальных взаимоотношений между макаками и человеком и сочли, что «это животное будет более подходящим, чем кролик, для изучения возрастных или посттравматических изменений витреоретинальных взаимоотношений». Примечательно, что в статье нет ни единого упоминания о ламинине и фибронектине и, соответственно, о их связующей роли между сетчаткой и СТ.

Анализ статьи Aniz Girach и Steve Pakola (2012) с приведенным тезисом о связующей роли ламинина и фибронектина показывает отсутствие аргументов, подтверждающих высказанный в статье тезис.

Kohno T., Sorgente N., Ishibashi T. (1987) высказали утверждение о том, что «ламнин и фибронектин играют роль в креплении СТ к ВПМ». Они провели топографическое исследование фибронектина и ламинина в «молодых и старых» человеческих глазах с использованием техники непрямой иммунофлуоресценции и показали, что «концентрация ламинина и фибронектина более высокая в молодых глазах и низкая в старых» [177]. Принимая во внимание, что ЗОСТ возникает в старых глазах, авторами сделано лишь косвенное теоретическое предположение, что «эти два протеогликана могут играть роль в креплении СТ к ВПМ». Других аргументов в поддержку высказанного тезиса авторами не приведено.

В экспериментальном исследовании 2012 года, продемонстрировавшем возможность вызывать ЗОСТ у животных, используя миниплазмиды [28], приведен тезис о том, что «одним из компонентов, обеспечивающих прочность витреоретинального соединения, являются фибронектин и ламинин». В подтверждение тезиса приведен ряд аргументирующих его ссылок [109, 110, 177, 183, 233, 259].

Stenman S., Vaheri A. (1977) исследовали распределение фибронектина в нормальных тканях человека с использованием иммунофлюоресцентного метода. Фибронектин был обнаружен в базальных мембранах, включая стенки капилляров, мышечных волокнах, строме лимфатической ткани и т. д. Авторами был сделан вывод, что фибронектин – это «основной компонент соединительнотканного матрикса», что он принимает участие в межклеточном соединении и «возможно играет роль в межклеточном и клеточно-матриксном взаимодействии» [259]. Наличие фибронектина в глазах человека не исследовали. Приведенная статья очевидным образом не подтверждает тезис о связующей роли ламинина и фибронектина, хотя может быть использована как косвенный теоретический аргумент.

Статья 1978 года Engvall E., Ruoslahti E., Miller E. посвящена исследованию «фибронектино-коллагенового взаимодействия в соединительных тканях различного типа» [109]. Авторами показано, что «все типы коллагена взаимно связаны с фибронектином, но в разной степени, в зависимости от типа коллагена». Также приведены доказательства того, что фибронектин может инициировать образование связей между коллагеном и фибриногеном. Исследуя взаимодействие между культурой фибробластов и различных типов коллагена в эксперименте *in vitro*, авторы предположили: «поскольку фибронектин является компонентом клеточной мембраны, возможно, он может обеспечивать соединение между клеткой и внеклеточным матриксом». Подобного рода предположение, выдвинутое по результатам лабораторных исследований, также не может служить доказательством или подтверждением тезиса о прочности витреоретинального взаимодействия, хотя и может использоваться в виде косвенного теоретического предположения.

В работе 1980 года Foidart J.M. с соавторами, методом иммунофлюоресценции исследовали наличие ламинина в различных тканях человека и животных [112]. Ими было показано, что ламинин локализуется в зонах базальных мембран исследованных тканей человека, цыплят, морских

свинок, крупного рогатого скота, обезьян, крыс и мышей, и что эпителиальные и эндотелиальные клетки в культуре синтезируют ламинин, а мезенхимальные – нет. Авторы пришли к выводу: «широкое распространение ламинина среди различных тканей у разных видов животных, а также на ранних стадиях эмбрионального развития свидетельствует о том, что ламинин является повсеместным компонентом базальных мембран». В приведенной статье также отсутствуют аргументы, подтверждающие тезис о связующей роли ламинина и фибронектина. Приводимые данные могут лишь использоваться как косвенное теоретическое предположение.

Kohn T. с соавторами в 1987 году исследовали распределение ламинина и фибронектина в диабетических глазах методом непрямой иммунофлуоресценции [176]. Во введении в статье указывается, что «ламинин и фибронектин – два внеклеточных гликопротеина, которые обеспечивают опосредованное соединение клетки с субстратом и обеспечивают межклеточную адгезию». Далее приводится ссылка в подтверждение высказанного тезиса на статью с подробным исследованием, касающимся адгезии клеточных культур к различного рода матриксам [175]. Ссылка корректна и подтверждает тезис, высказанный авторами, о роли ламинина и фибронектина в опосредованной межклеточной адгезии и адгезии клеток к субстрату. Авторы отметили, что «их интерес к ламинину и фибронектину основывается на гипотезе, что они играют роль в обеспечении связи между СТ и ВПМ». В самой же статье анализируется изменение количества ламинина и фибронектина в диабетических глазах человека. Показано, что концентрация ламинина и фибронектина в диабетических глазах более высокая, в частности, в преретинальных структурах. В статье нет аргументов в пользу того, что ламинин и фибронектин обеспечивает адгезию между сетчаткой и СТ. В приведенной статье показано, что концентрация ламинина и фибронектина более высокая в «диабетических» глазах, а косвенная ссылка указывает на то, что клеточно-субстратная и межклеточная связи могут быть обусловлены ламинином и фибронектином. Процитированная статья также не

подтверждает тезис о ламинине и фибронектине и может рассматриваться лишь как высказывание гипотезы.

Li X., Shi X., Fan J. в исследовании 2002 года привели результаты применения плазмينا с целью индукции ЗОСТ на кадаверных глазах [183]. В описании «цели» авторами высказано предположение: наравне с изучением эффективности плазмина в качестве индуктора ЗОСТ «изучить возможную роль в деградации гликопротеинов поверхности ВПМ». В статье анализируются только результаты при получении ЗОСТ и нет никаких оснований для утверждения о связующей роли ламинина и фибронектина.

Scheiffarth O.F., Kampik A. с соавторами в исследовании 1988 года приводят анализ белковых компонентов и компонентов экстрацеллюлярного матрикса в эпиретинальных мембранах различной этиологии [233]. В эпиретинальных мембранах обнаружен коллаген 1-4 типов, ламинин, фибронектин и т. д. Приведенная цитата также не дает оснований полагать, что результаты исследования патологических эпиретинальных мембран доказывают, что ламинин и фибронектин обеспечивают связь между кортикальным СТ и сетчаткой в норме. При анализе приведенных ссылок не обнаружено ни одного аргумента (кроме предположений), подтверждающего тезис о том, что ламинин и фибронектин «являются основными адгезивными гликопротеинами экстрацеллюлярного матрикса».

Алтынбаев У.Р. в статье 2015 года «Оценка уровня гликопротеинов в СТ при дегенеративных заболеваниях сетчатки» [1] указывает, что «в адгезии СТ и сетчатки установлена роль таких гликопротеинов, как фибронектин и ламинин», в подтверждение утверждения приводится ссылка на статью 1972 года Foos R.Y. [113], в которой описываются результаты морфологических исследований витреоретинальных взаимоотношений на 5 энуклеированных глазах человека, произведенных с применением трансмиссионной электронной микроскопии. Изучались отличия тонких структур витреоретинальных взаимоотношений в различных анатомических областях: базальной, экваториальной, парафовеолярной и папиллярной. Электронная

микроскопия не позволяет установить белковую принадлежность, в статье не содержится ни единого упоминания ни о ламинине, ни о фибронектине и об их роли в адгезии СТ. Однако часто используется слово «Lamina» в контексте анатомического термина (basal lamina («lamina densa»)). Утверждение автора «об установленной роли ламинина и фибронектина в адгезии СТ и сетчатки» не подтверждается ссылкой, хотя и подается как установленный факт.

В статье 2017 года «Иммунорфологические особенности идиопатической эпиретинальной мембраны, осложненной ламеллярным макулярным разрывом» [2] (Алтынбаев У.Р., Лебедева А.И.) упоминается «роль гликопротеинов фибронектина и ламинина, которые обеспечивают морфологическую взаимосвязь СТ и сетчатки». В подтверждение тезиса приводится ряд статей [113, 205, 208]. Приведена Статья Foos R.Y. [113] – ранее цитированное исследование результатов электронной микроскопии витреоретинальных взаимоотношений у разных возрастных групп, без упоминания ламинина и фибронектина (ссылка не подтверждает тезис). Следующая аргументирующая ссылка на статью 2015 года Pang C. E., Spaide R. F., Freund K.V. [205]. В статье проводится сравнение функциональных и морфологических характеристик эпиретинальной пролиферации, сочетанной с ламеллярным МО, и без такового. Исследования основаны на анализе остроты зрения пациентов и данных оптической когерентной томографии. Авторы показали, что в случаях сочетания ламеллярного МО с эпиретинальной пролиферацией острота зрения была ниже, а размер ламеллярного отверстия больше, деформация сетчатки более выраженная, нежели у пациентов, где ламеллярное отверстие не сочеталось с эпиретинальной пролиферацией. Ламинин и фибронектин в статье не упоминаются – ссылка не корректная, не подтверждает приводимый тезис. Следующая ссылка сделана на статью 2011 года [208]. В приведенной работе Parolini B., Schumann R. G. с соавторами произведено сравнительное исследование клинических показателей, данных результатов ОКТ и результатов иммуногистохимических исследований, удаленных эпиретинальных мембран и их электронная микроскопия. В статье

описывается, что «плотные эпиретинальные мембраны содержали большие скопления фиброзной ткани, сплетенной с нативным коллагеном, задний гиалоид в большинстве случаев был прикреплен к сетчатке». В эпиретинальных мембранах зарегистрирована положительная иммунная реактивность к протеинам глии, гиалоцитам и миофибробластам более позитивная реакция на миофибробласты определена в «тракционных» эпиретинальных мембранах. Далее приведены функциональные результаты хирургического лечения. В завершении сделано заключение, что морфологические компоненты различных эпиретинальных мембран отличаются клеточной пролиферацией. Комбинация дегенерации коллагена СТ, глиальных клеток и гиалоцитов, возможно, играет важную роль в развитии ламеллярного МО и в связи с тем, что польза от хирургического лечения оказалась весьма ограниченной, авторы рекомендуют с осторожностью подходить к решению о хирургическом лечении таких случаев. Далее авторы заключают, «что необходимы дальнейшие исследования, чтобы выяснить, представляют ли «плотные» и «тракционные» ламеллярные МО различные болезни или разные стадии одного заболевания». Как следует из довольно подробно процитированной работы, авторы не ставили целью исследовать роль ламинина и фибронектина в витреомакулярной адгезии. В статье нет упоминания об этих белках. Анализ всех трех ссылок, приведенных в подтверждение тезиса авторов статьи «о роли гликопротеинов фибронектина и ламинина, которые обеспечивают морфологическую взаимосвязь СТ и сетчатки» показывает, что выдвинутый авторами тезис ничем не подтвержден, хотя контекстное изложение может создать впечатление, что роль фибронектина и ламинина изучена и подтверждена.

Примечательной в своем роде является статья 2017 года Anna E. Męś-Słomska с соавторами [192]. Приводится анализ результатов лечения ВМТ методом интравитреального введения окриплазмина. Авторы пишут: ««Клееподобные» протеины витреоретинального контакта, такие как ламинин

и фибронектин, фиксируют коллагеновые фибриллы заднего СТ к ВПМ сетчатки». Далее следуют подробности о витреоретинальных взаимоотношениях. Контекстная коннотация в изложении предполагает, что факт связующего эффекта ламинина и фибронектина доказан и сомнению не подлежит. Примечательна ссылка, сделанная на уже вышеупомянутую статью 1984 года Matsumoto В. [190], в которой говорится, что прочность витреоретинального контакта в глазах кролика весьма велика в сравнении с прочностью витреоретинального контакта в глазах макак, глаза макак по анатомии витреоретинального интерфейса ближе к человеческим и соответственно больше подходят для экспериментального моделирования в аспекте исследования патологических процессов в глазах человека. Как упоминалось ранее, в процитированной работе были проведены исследования с использованием метода трансмиссионной электронной микроскопии. О ламинине, фибронектине и об их роли в ВРА не упоминается. Неподтвержденные утверждения о доказанности связующей роли ламинина и фибронектина в ВРА создают ложное впечатление, и предположение, высказанное в виде постулата, начинает восприниматься, как аксиома, т. е. истина, не требующая доказательств.

Одной из статей, где приводится своего рода корректное упоминание ламинина и фибронектина в аспекте витреоретинальных взаимоотношений, является статья, опубликованная в журнале *Ophthalmology* 2015 года «Efficacy of Intravitreal Ocriplasmin for Treatment of Vitreomacular Adhesion», у статьи 9 соавторов [142]. В статье обсуждается эффективность интравитреального введения окриплазмина для лечения витреомакулярной адгезии. В ней же, в контексте протеолитического воздействия окриплазмина на ламинин и фибронектин, указывается, что «ламнин и фибронектин – важные компоненты витреоретинального интерфейса», причем указание это приводится без каких бы то ни было аргументирующих ссылок. Примечательным является то, что многочисленный авторский коллектив из 9 человек, в статье не приводит ни единой ссылки, указывающей на то, что

предположение о связующей роли ламинина и фибронектина в витреоретинальном интерфейсе реально подтверждается какими-либо исследованиями. Утверждение о том, что «ламнин и фибронектин важные компоненты витреоретинального интерфейса» является абсолютно корректным, хотя по сути не несет в себе какой бы то ни было объективной информации. Аналогичное утверждение будет справедливо к любому компоненту витреоретинального интерфейса: коллагену, гиалуроновой кислоте, связанной воды и прочим компонентам состава СТ. Отдельного внимания заслуживает то обстоятельство, что авторскому коллективу из 9 человек были доступны чрезвычайно широкие возможности анализа современных научных данных, однако в своей статье они не приводят ни одной ссылки, аргументировано подтверждающей тезис о связующей роли ламинина и фибронектина в витреоретинальном интерфейсе.

Приведенные данные указывают на то, что механизм ВРА до настоящего времени окончательно не выяснен. В качестве аргументов, приводимых в поддержку тезиса о связующей роли ламинина и фибронектина как основных компонентах, обеспечивающих ВРА, высказываются предположения либо некорректное цитирование. Объективные доказательства истинности приводимого утверждения отсутствуют, и оно может рассматриваться как предположение или гипотеза. Механизм ВРА требует дальнейшего изучения.

Таким образом, анализ данных литературы показал, что накоплены обширные данные о биохимии и белковом составе СТ, его анатомических особенностях, очевиден активный научный интерес в описании и исследовании механизмов нормальной и патологической физиологии СТ. Очевиден прогресс в применении протеолитических ферментов для лечения ВМТ за рубежом, хотя основная работа ведется в аспекте их практического применения. Вместе с этим недостаточно информации об анатомии витреоретинальных взаимоотношений. Выявлен целый ряд несоответствий в теоретических предпосылках о патофизиологических процессах,

происходящих в СТ, используемых для обоснования лечения ВМТ.

Недостаточно изучена микроструктура ВПМ, и микроструктура витреоретинальных взаимоотношений, до настоящего времени не выяснена функция клеток СТ, остается невыясненным, существует ли прижизненный синтез коллагена в СТ взрослого человека. Интраоперационное обнаружение так называемого «резидуального» СТ указывает на очевидное несоответствие теоретических представлений о витреоретинальном контакте с реальной практикой. Отсутствуют аргументированные доказательства того, что ламинин и фибронектин являются белками, обеспечивающими ВРА. Многократно постулируемый тезис о том, что лечебный эффект от применения окриплазмина, используемого в лечении ВМТ, заключается в разрушении обеспечивающих ВРА ламинина и фибронектина остается недоказанным. Отсутствие в отечественной практике методики микроинвазивного лечения ВМТ, не требующего проведения витрэктомии, указывает на необходимость исследований в этом направлении. Российская практика применения протеолитического фермента бактериальной коллагеназы отечественного производства в лечении витреоретинальной патологии показывает перспективу дальнейшего расширения показаний к его применению, в том числе для лечения ВМТ.

Исходя из вышеизложенного, необходимым является продолжение исследования в направлении уточнения микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений, механизма ВРА и ЗОСТ, уточнения функций клеток СТ. Целесообразным является изучение воздействия бактериальной коллагеназы на СТ и область витреоретинального контакта в аспекте разработки и создания технологии микроинвазивного лечения ВМТ с использованием препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Дизайн исследования

Дизайн исследования построен с целью создания технологии максимально атравматичного микроинвазивного лечения ВМТ с использованием коллагенолитического фермента отечественного производства (препарат бактериальной коллагеназы «Коллализин») и основывается на теоретической концепции механизма витреоретинальной адгезии (ВРА), обуславливаемого коллагеновыми структурами стекловидного тела. При получении данных, подтверждающих теоретические предпосылки, очевидным и логичным выглядит применение энзима, способного воздействовать именно на коллагеновые структуры стекловидного тела для устранения ВМТ. Для этого наиболее предпочтителен коллагенолитический фермент отечественного производства, разрешенный для интравитреального применения.

Для обоснования предложенной теоретической концепции необходимы дополнительные исследования микроструктуры области витреоретинального контакта, подтверждающие теоретическую концепцию механизма витреоретинальной адгезии, обуславливаемого коллагеновыми структурами стекловидного тела.

В случае подтверждения концепции механизма витреоретинальной адгезии, обуславливаемого коллагеновыми структурами необходимы исследования коллагенолитических свойств коллагеназы. Бактериальная коллагеназа, а именно препарат отечественного производства «Коллализин» длительное время применяется для интравитреального введения, однако до настоящего времени не получено экспериментальных данных о его воздействии на интравитреальные структуры глаза человека. Нет данных о воздействии бактериальной коллагеназы на отдельные фибриллы

стекловидного тела, являющиеся его наименьшей структурной единицей, и на преретинальные структуры области витреоретинального контакта.

Несмотря на заявленную высокую специфичность не проводилось исследований по воздействию препарата на интравитреальные структуры. Не изучалась цитотоксичность препарата в аспекте определения безопасного цитотоксического диапазона дозировок.

Результаты вышеперечисленных исследований дадут возможность создания технологии микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции методом энзимного витреолизиса с применением бактериальной коллагеназы отечественного производства, после чего необходимы клинические исследования применения разработанной методики.

Работа содержит три части исследований: исследование микроструктуры области витреоретинального контакта в аспекте изучения механизма ВРА, экспериментальные и клинические исследования.

Последовательная структура исследования приведена ниже.

I. Исследования микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений в аспекте применения бактериальной коллагеназы отечественного производства для устранения ВМТ проведены с применением метода сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии:

1. изучение микроструктуры ВПМ – на десяти донорских глазах от пяти доноров возраста 43-45 лет;

2. изучение микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений в центральных отделах сетчатки – на шестнадцати донорских глазах от восьми доноров. Возраст доноров 45-50 лет;

3. изучение клеточной микроструктуры витреоретинального контакта – на восемнадцати донорских глазах от девяти доноров. Возраст доноров 30-40 лет;

4. изучение механизма ВРА – на восемнадцати донорских глазах от девяти доноров. Возраст доноров 30-40 лет.

II. Исследование воздействия бактериальной коллагеназы на СТ человека, область витреоретинального контакта и интравитреальную структуру:

1. изучение воздействия препарата коллагеназы на отдельные коллагеновые фибриллы СТ проведено на СТ на десяти донорских глазах пяти доноров в возрасте 40-42 лет;

2. изучение воздействия коллагеназы на эпиретинальное СТ и ВПМ проведено на шестнадцати глазах от восьми доноров в возрасте 40-42 лет;

3. определение начальной пороговой дозы и изменения эффекта воздействия в зависимости от дозы препарата проведено на тридцати глазах от пятнадцати доноров возраста 45-50 лет;

4. изучение воздействия коллагеназы на интравитреальные структуры проведено на восемнадцати глазах от девяти доноров возраста 43-54 лет;

5. изучение цитотоксичности коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции в аспекте интравитреального применения проведено с применением методов трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии на культуре фибробластов мыши линии NIH 3T3.

Микроструктурные и экспериментальные исследования проведены с использованием донорских глаз, после забора из них материала для трансплантации. Время, прошедшее от момента смерти до энуклеации, в среднем составило 5 часов, период от момента смерти до начала проведения исследований в среднем составил 9 часов. Исследуемые глаза имели правильную сферическую форму, без внешних патологических признаков и были расценены, как эметропические.

III. Клинические исследования.

Проведены для изучения эффективности разработанного метода лечения ВМТ с применением бактериальной коллагеназы отечественного производства. В исследование вошли 130 пациентов (130 глаз). Среди пролеченных пациентов 124 женщины (95,3%) и 6 мужчин (4,7%). Средний возраст составил $66,79 \pm 7,25$ лет. Были сформированы две группы пациентов –

основная (исследуемая) и контрольная с тремя подгруппами в каждой. Пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, исходным анатомическим параметрам глаз и патологическому процессу как в целом в группе, так и в подгруппах.

Исследована эффективность разработанной технологии, выявлены побочные эффекты и осложнения. Проведено сравнение анатомической и функциональной эффективности традиционно применяемой хирургической методики с разработанной технологией микроинвазивного лечения.

2.2. Метод электронной микроскопии

Выбор метода исследования

Традиционно используемые методы гистологических исследований с применением световой микроскопии не позволяют в должной мере исследовать микроструктуру ВПМ, сетчатки и витреоретинальных взаимоотношений. Разрешение световой микроскопии невелико и этот метод позволяет анализировать только плоскостные срезы исследуемых тканей. Исследование микроструктур с применением световой микроскопии неинформативно.

Сканирующая электронная микроскопия позволяет получать изображение не только поверхности, но и структуру приповерхностных слоев. Сканирующий электронный микроскоп позволяет получать увеличение от 10 до 1 000 000 крат, что приблизительно в 500 раз превышает предел увеличения световых микроскопов. Сканирующие электронные микроскопы обладают чрезвычайно большой глубиной резкости (0,6-0,8 мм, т. е. 600-800 мкм), что на два порядка выше, чем у оптического микроскопа. Это дает возможность получать изображения с характерным трехмерным эффектом для объектов со сложным рельефом и высококачественное изображение с разрешением до 1 мкм [27].

Перечисленные качества сканирующей электронной микроскопии делают ее чрезвычайно привлекательной и практически безальтернативной именно для микроструктурных исследований.

Зрелые коллагеновые фибриллы являются наименьшей структурной единицей стекловидного тела. Их диаметр составляет порядка 20 нм (1/50 мкм). Диаметр фибрилл находится за пределами разрешающей способности сканирующего электронного микроскопа. Трансмиссионная электронная микроскопия позволяет получать изображение объектов с разрешением около 3 нм, что дает возможность исследовать объекты менее 1 мкм, в данном случае – отдельные коллагеновые фибриллы СТ человека.

Подготовка препаратов для сканирующей электронной микроскопии

Фиксация с заливкой в целлоидин. Подготовка препарата для исследования микроструктуры ВПМ производили следующим образом: глазное яблоко фиксировали в жидкости Сент-Джордьи семь суток. Дофиксацию проводили в смеси из 100 мл фиксатора и 50 мл ацетона три дня. Затем материал проводили через ацетон, 100% спирт, спирт-эфир, и выполняли последующую заливку в целлоидин. Фиксацию материала и заливку в целлоидин проводили в лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» под руководством кандидата медицинских наук Шацких А.В. Для исследования ВПМ макулярной области сетчатки выполняли непрерывный срез в трансверсальной плоскости (параллельно плоскости центральной сетчатки). Следующим этапом целлоидин вымывали из препаратов эфиром.

Предварительная заливка в целлоидин исключала деформацию препарата в процессе изготовления срезов. При вымывании из препарата целлоидина эфиром микроструктурные взаимоотношения сохранялись в неизменном виде. Таким образом исключалась деформация тканей препарата

в процессе его приготовления. Следующим этапом изготавливали препараты макулярной области сетчатки для сканирующей электронной микроскопии.

Подготовка препаратов с фиксацией в глутаровом альдегиде.

Предварительно проводили отсепаровку передних отделов СТ от хрусталика с последующим удалением иридо-хрусталикового блока. Для выделения области, соответствующей центральным отделам сетчатки, выполняли 4 радиальных разреза склеры от лимбальной зоны до экватора без повреждения стекловидного тела с одновременной его отсепаровкой. Таким образом формировали четыре лепестка склеры, отсепарованной от СТ до экватора при сохранении целостности СТ. Следующим этапом иссекали сформированные лепестки склеры на уровне экватора. Из сформированного блока удаляли СТ и формировали препарат заднего полюса глаза с сохранением всех оболочек. Затем выполняли выкраивание препаратов центральной области сетчатки. В дальнейшем проводили анатомические и экспериментальные исследования на сформированном препарате.

Фиксацию препарата выполняли с использованием глутаральдегида. Глутаральдегид позволяет сохранить ткань в нативном состоянии, максимально близком к прижизненному, без постфиксационной деформации. Проводили фиксацию препарата в смеси растворов глутарового альдегида и двукратного фосфатно-солевого буфера (дигидрофосфата калия K_2HPO_4) в соотношении глутаровый альдегид: буфер: дистиллированная вода – 8:25:25. Фиксировали препарат в течение 1 суток. После фиксации образцы отмывали в трех сменах дистиллированной воды с последующим обезвоживанием в спиртах восходящей концентрации: 30% этиловый спирт 15 мин, 50% этиловый спирт 15 мин, 70% этиловый спирт 15 мин, 96% этиловый спирт 15 мин, 100% этиловый спирт – 2 смены по 15 мин. После обезвоживания препарат помещали в промежуточную жидкость (ацетон) для последующей подготовки к сканирующей электронной микроскопии.

Подготовка к сканированию и сканирующая электронная микроскопия

Препараты, помещенные в промежуточную жидкость, переносили в барокамеру установки HitachiHCP-2 (Япония). В среде жидкой углекислоты производили высушивание препарата в критической точке. Высушенный препарат наклеивали на специальный токопроводящий предметный столик и помещали в ионно-распылительную установку Eiko IB-3 (Япония), где в атмосфере аргона на поверхность препарата напыляли золото-палладиевое покрытие толщиной 15 нм при режиме ионного тока 6 мА и межэлектродном напряжении 1,5 кВ.

Сканирующую электронную микроскопию выполняли на сканирующем электронном микроскопе «Camscan-S2» (Cambridge Instruments, Великобритания) в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 20 кВ. Захват и обработку изображения проводили с использованием системы оцифровки изображений: плата АЦП LCard под управлением программы MicroCapture (ООО «СМА»). Морфометрию выполняли с использованием масштабного маркера, который изменяет свою длину в процессе компьютерного увеличения (Рисунки 2.1, 2.2).

Исследования выполнены в Общефакультетской лаборатории электронной микроскопии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова». Заведующий лабораторией Давидович Г.Н., ведущий инженер лаборатории электронной микроскопии Богданов А.Г.



Рисунок 2.1 – Оборудование для электронной микроскопии: барокамера (сверху слева), ионно-распылительная установка (сверху справа), сканирующий электронный микроскоп (снизу)

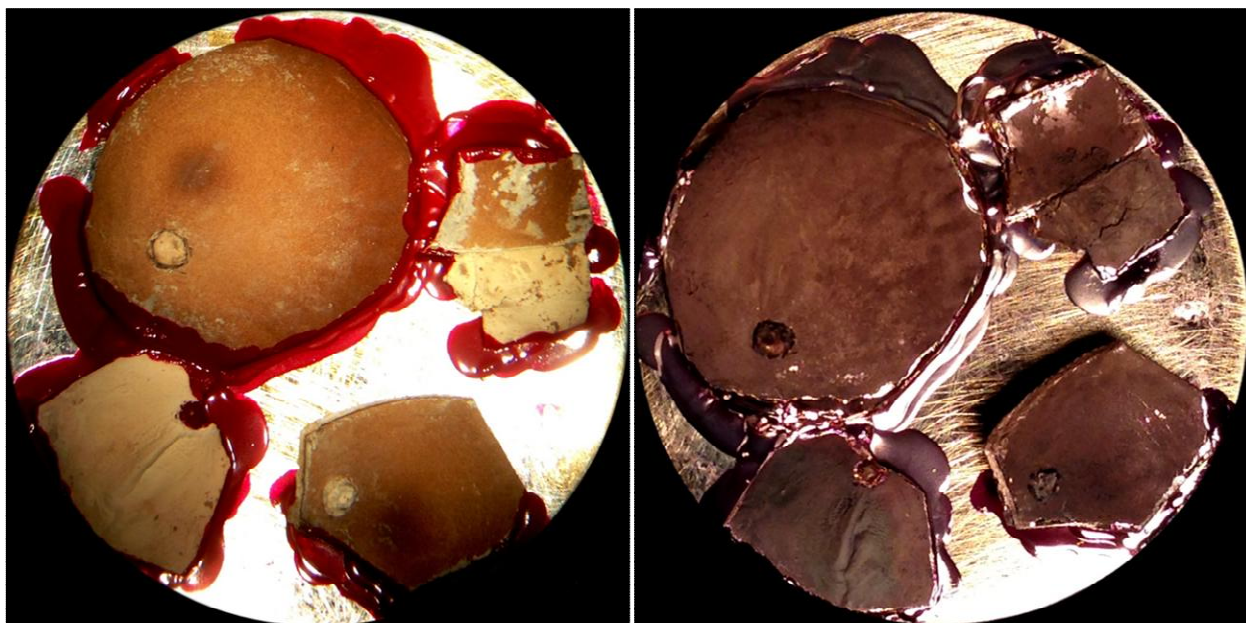


Рисунок 2.2 – Подготовка препаратов к сканирующей электронной микроскопии. Слева: высушенные препараты наклеены на токопроводящий предметный столик. Справа: те же препараты после нанесения золотого покрытия в ионно-распылительной установке

Подготовка препаратов стекловидного тела для трансмиссионной электронной микроскопии

Предварительно проводили отсепаровку передних отделов СТ от хрусталика с последующим удалением иридо-хрусталикового блока. Разрезы выполняли без повреждения стекловидного тела с одновременной его отсепаровкой. Производили 4 радиальных разреза склеры донорского глаза от лимбальной зоны до экватора. Таким образом формировали четыре лепестка склеры, отсепарованной от СТ до экватора при сохранении целостности СТ. Переднее кортикальное СТ вскрывали ножницами, после чего СТ в центре захватывали пинцетом и производили иссечение каплевидной формации, размером 0,5 на 2 см. Полученный фрагмент СТ рассекали на две части. Одна часть использовалась в качестве контроля, вторая – для экспериментальных исследований.

Фрагменты СТ фиксировали в смеси растворов глютарового альдегида и двукратного фосфатно-солевого буфера (дигидрофосфата калия KH_2PO_4) в

соотношении глютаровый альдегид: буфер: дистиллированная вода как 8:25:25. Фиксировали препарат в течение 1 суток. Далее образцы отмывали раствором дигидрофосфата калия KH_2PO_4 , после чего обрабатывали 1%-м раствором тетраоксида осмия OsO_4 . После фиксации образцы отмывали в трех сменах дистиллированной воды с последующим обезвоживанием в спиртах восходящей концентрации – 30% этиловый спирт 15 мин, 50% этиловый спирт 15 мин, 70% этиловый спирт 15 мин, 96% этиловый спирт 15 мин, 100% этиловый спирт – 2 смены по 15 мин. После обезвоживания образцы помещали в ацетон и выполняли постепенную пропитку образцов эпон-аралдитовой смесью, последовательно увеличивая содержание смолы относительно ацетона до замены чистой смолой. Далее образцы помещали в специальную заливочную форму и заливали чистой смолой. Через 12 часов образцы помещали в термостат при 60°C на двое суток. Полученный блок затачивали в форме четырехгранной пирамиды. Из полученного блока предварительно готовили полутонкие срезы, толщиной 0,5 мкм, которые анализировали на световом микроскопе для определения нужного участка для последующего изготовления ультратонких срезов, толщиной 50-60 нм. Срезы производили микротомом Ultracut-R (Leica Microsystems). Ультратонкие срезы наносили на сетки с формваровым покрытием и контрастировали 2%-м уранилацетатом и цитратом свинца.

Трансмиссионную электронную микроскопию в режиме исследования объектов в проходящих электронных пучках выполняли на трансмиссионном электронном микроскопе «JEOL JEM-1011» (Япония). Ускоряющее напряжение 80 кВ. Захват и обработку изображения производили цифровой фотокамерой GATAN ES500W, работающей под управлением программы Digital Micrograph фирмы GATAN. Морфометрию выполняли с использованием масштабного маркера, который изменяет свою длину в процессе компьютерного увеличения.

2.2.1. Микроструктурные исследования

Метод изучения микроструктуры внутренней пограничной мембраны

Задача исследования состояла в изучении микроструктуры ВПМ в аспекте противоречивых литературных данных для составления более точного представления о ее анатомии и получение исходной сравнительной информации об интактной ВПМ центральных отделов сетчатки для продолжения дальнейших исследований.

Исследование ВПМ проводили на десяти донорских глазах от пяти доноров возраста 43-45 лет, с предварительной фиксацией в целлоидине. Исследовали толщину ВПМ в области центральной ямки, структуры поверхности ВПМ фовеолярной и макулярной области. Исследование проводили методом сканирующей электронной микроскопии.

Метод изучения микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений центральных отделов сетчатки

Задача исследования состояла в изучении витреоретинальных взаимоотношений центральных отделов сетчатки в аспекте существующих анатомических представлений, тезисе о резидуальном СТ, концепции ВРА, теоретически возможного синтеза коллагена в СТ взрослого человека и получении исходной сравнительной микроструктурной картины для проведения дальнейших экспериментальных исследований.

Изучение микроструктуры витреоретинальных взаимоотношений центральных отделов сетчатки проводили на шестнадцати донорских глазах от восьми доноров. Возраст доноров составил 45-50 лет. В процессе подготовки препарата предварительно отделяли СТ от поверхности сетчатки, после чего изготавливали препарат, включающий в себя центральные отделы сетчатки в пределах центральных сосудистых аркад. Выполняли фиксацию в глутаровом альдегиде, после чего его вымывали и производили дальнейшую

подготовку препарата к электронной микроскопии. Исследование проводили методом сканирующей электронной микроскопии.

Метод изучения клеточной микроструктуры витреоретинального контакта

Изучение клеточной микроструктуры витреоретинального контакта проводили на восемнадцати донорских глазах от девяти доноров. Возраст доноров – 30-40 лет. В процессе подготовки препарата предварительно отделяли СТ от поверхности сетчатки, после чего изготавливали препарат единым блоком, который включал в себя задний полюс глаза с центральными отделами сетчатки в пределах сосудистых аркад. Выполняли фиксацию в глутаровом альдегиде, после чего его вымывали и производили дальнейшую подготовку препарата к электронной микроскопии. Исследование проводили методом сканирующей электронной микроскопии.

Метод изучения витреоретинальной адгезии

Изучение ВРА было производили на тех же восемнадцати донорских глазах от девяти доноров, на которых проводили исследование микроструктуры витреоретинального контакта. Возраст доноров 30-40 лет. Производили исследование микроструктуры СТ на препарате, изготовленном единым блоком, который включал в себя задний полюс глаза центральных отделов сетчатки в пределах сосудистых аркад. Фиксацию производили в глутаровом альдегиде. После вымывания глутарового алдегида изготавливали препарат для электронной микроскопии. Исследование проводили с использованием сканирующей электронной микроскопии.

2.2.2. Экспериментальные методы

Исследования воздействия коллагеназы на фибриллы стекловидного тела

Исследования проводили на СТ от десяти донорских глаз пяти доноров возраста 40-42 лет. Исследовали эффекты воздействия препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин», произведенного Санкт-Петербургским НИИ вакцин и сывороток.

Выполняли препарирование и выделение СТ единым блоком. Из выделенного блока СТ иссекали фрагмент, объемом около 1 мл. Иссеченный фрагмент СТ разделяли на две, примерно равные части. Один из фрагментов фиксировали в растворе глутаральдегида для использования в качестве контроля, второй фрагмент СТ помещали в предварительно приготовленный раствор коллагеназы. Коллагеназу растворяли в физиологическом растворе, предварительно подогретом до 36°C, концентрация коллагеназы составила 300 КЕ на 1 мл, объем раствора 10 мл. Фрагмент СТ, находящийся в растворе коллагеназы, помещали на 1 час в термостат при температуре 36°C. Далее фрагмент СТ извлекали, фиксировали в растворе глутаральдегида. Выполняли дальнейшую обработку препарата для подготовки к исследованию. Исследование проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии.

Исследование воздействия коллагеназы на эпиретинальное стекловидное тело

Исследование воздействия бактериальной коллагеназы на эпиретинальное СТ проводили на 16 донорских глазах от 8 доноров возраста 40-42 лет. Предварительно отделяли СТ единым блоком от сетчатки и выполняли последующую круговую резекцию заднего полюса глаза с формированием препарата, включающего область диска зрительного нерва, макулярную и парамакулярную область. Один из приготовленных препаратов

использовали в качестве контроля, препарат, изготовленный из парного глаза, подвергали воздействию коллагеназы. Приготовленный блок погружали в раствор коллагеназы при температуре 36°C, содержащий 100 КЕ коллагеназы на 1 мл и помещали в термостат с температурой 36°C на 1 час. Контрольный препарат погружали в сбалансированный солевой раствор и также помещали в термостат с температурой 36°C на 1 час. Контрольный и исследуемый препараты фиксировали в растворе глутаральдегида, после чего выполняли их подготовку для дальнейшего исследования. Исследование микроструктурных изменений проводили методом сканирующую электронную микроскопию.

Определение начальной пороговой дозы коллагеназы и исследование динамики эффекта воздействия в зависимости от дозы препарата

Исследование проводили на тридцати глазах от пятнадцати доноров возраста 40-45 лет. Предварительно выделяли СТ единым блоком и производили последующую круговую резекцию заднего полюса и формировали препарат, включающий область диска зрительного нерва, макулярную и парамакулярную область. Один из приготовленных препаратов оставляли в качестве контроля, препарат из парного глаза подвергали воздействию коллагеназы. Препараты помещали в растворы коллагеназы с постепенным увеличением доза от 1 КЕ на 1 мл до 30 КЕ на 1 мл с экспозицией в 20 минут при температуре 36°C. По окончании экспозиции фиксировали препараты в растворе глутаральдегида, после чего проводили его вымывание и высушивали препарат для последующей подготовки к электронной микроскопии. Исследование проводили с применением сканирующей электронной микроскопии.

Исследование воздействия коллагеназы на интравитреальные структуры

Исследование проводили на восемнадцати донорских глазах от девяти доноров возраста 40-45 лет, по два парных глаза на каждую дозу и время экспозиции, один глаз использовали в качестве контроля. Исследовали воздействие коллагеназы в концентрации 30 КЕ на 1 мл с экспозицией в 24 часа при температуре 36°C. Предварительно удаляли основной объем СТ, в витреальную полость исследуемого глаза вводили раствор коллагеназы, в витреальную полость контрольного глаза – сбалансированный физиологический раствор, после чего исследуемые препараты помещали в термостат при температуре 36°C. После необходимой экспозиции препараты фиксировали в растворе глутаральдегида, затем проводили последующую подготовку для дальнейшего исследования. После высушивания препарата производили его дополнительное препарирование. Препарат разделяли на фрагменты: фрагмент с частично отделенной с поверхности сетчатки ВПМ (для исследования состояния слоя нервных волокон), фрагмент сетчатки, отделенной от пигментного листка (для исследования сетчатки со стороны палочек и колбочек), фрагмент с ретинальным пигментным эпителием.

Исследование проводили методом сканирующей электронной микроскопии.

Исследование цитотоксичности коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции в аспекте интравитреального применения

Проведено изучение цитотоксичности препарата «Коллализин» производства Санкт-Петербургского НИИ вакцин и сывороток в возрастающих дозах с различной экспозицией. Исследование произведено на культуре фибробластов мыши линии NIH 3T3 для определения отношений «доза-реакция». Работа выполнена на базе Института медико-биологических исследований и технологий (АНО «ИМБИИТ»). За основу были взяты рекомендации международного стандарта ГОСТ Р ИСО 10993.5-99. Часть 5.

«Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*», который является обязательным в исследовании цитотоксичности медицинских изделий. Культура фибробластов мыши линии NIH 3T3 признана стандартной для такого рода исследований. Исследованиям на цитотоксичность подвергали раствор препарата «Коллализин» в концентрациях: 5 КЕ/100 мкл, 15 КЕ/100 мкл, 30 КЕ/100 мкл, 40 КЕ/100 мкл, 60 КЕ/100 мкл, 80 КЕ/100 мкл, 120 КЕ/100 мкл с возрастающим временем экспозиции 10, 20, 30 мин, 1, 3, 24 часа.

Схема эксперимента. Клетки высевали в культуральные плоскостонные 96-луночные планшеты и инкубировали 24 ч во влажной атмосфере, содержащей $5\pm 1\%$ CO_2 до образования $80\pm 10\%$ монослоя, затем вносили в культуру исследуемый препарат в различных концентрациях. На каждую концентрацию – не менее 3 лунок. Морфологию и лизис клеток оценивали через 5, 10, 30 мин, 1, 3 и 24 ч инкубации при температуре 37°C во влажной атмосфере, содержащей $5\pm 1\%$ CO_2 . Отрицательным контролем служила среда F-12 без сыворотки, положительным – раствор цинка в азотной кислоте (Zn 1-2 wt.% HNO_3 , разбавление 1:100 физиологическим раствором). Различные дозы препарата «Коллализин» были промаркированы. Маркировка представлена в Таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Маркировка дозировки препарата «Коллализин»

№	Концентрация в лунке (КЕ/100 мкл)	Маркировка
1	15	15
2	30	30
3	40	40
4	60	60
5	80	80
6	120	120

Подготовка клеток

Клетки удаляли из культурального флакона методом трипсинизации, ресуспендировали культуральной средой, содержащей сыворотку. Готовили суспензию клеток с необходимой концентрацией $1-2 \times 10^5$ (или 10^5) кл/мл. Определение количества клеток в суспензии проводили с использованием гемоцитометра (камеры Горяева). Клетки высевали в культуральные 96-луночные плоскодонные планшеты, добавляя по 100 мкл суспензии необходимой концентрации в каждую лунку. Планшеты инкубировали 24 ч при 37°C во влажной атмосфере, содержащей $5 \pm 1\%$ CO_2 , до образования клетками $80 \pm 10\%$ монослоя. Уровень конфлюэнтности монослоя оценивали с помощью бинокулярного инвертированного микроскопа Биолам П-1 (Россия) при увеличении $\times 100$.

Через 24 ч в лунки вносили испытываемые препараты в необходимых концентрациях в объеме 100 мкл/лунку. Планшеты инкубировали 5, 10, 30 мин, 1, 3, 24 ч при температуре 37°C во влажной атмосфере, содержащей $5 \pm 1\%$ CO_2 . Через 5, 10, 30 мин, 1, 3, 24 ч инкубации из планшета с препаратом удаляли содержимое и промывали фосфатным буфером. В каждую лунку добавляли 0,1% раствор витального красителя трипанового синего на фосфатном буфере. Через 1-2 мин краситель удаляли из лунок, аккуратно промывали лунки фосфатным буфером, после чего сразу же производили оценку культуры микроскопически на наличие морфологических изменений и/или уменьшение плотности клеток. Трипановый синий окрашивает лизированные клетки и/или клетки с поврежденными клеточными мембранами.

2.3. Клинические исследования

2.3.1 Общая характеристика клинических материалов

Для изучения результатов лечения ВМТ по разработанной технологии, побочных эффектов и осложнений, определения показаний и противопоказаний к применению разработанной технологии и сравнения эффективности разработанной технологии с традиционным хирургическим лечением проведены клинические исследования.

В исследование вошли 130 пациентов (130 глаз). Клиническое исследование проводили в отделении витреоретинальной хирургии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России в период с 2014 по 2019 г. Среди пролеченных пациентов 124 женщины (95,3%) и 6 мужчин (4,7%). Средний возраст составил $66,79 \pm 7,25$ лет. Были сформированы две группы пациентов – основная (исследуемая) и контрольная с тремя подгруппами в каждой. Пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, исходным анатомическим параметрам глаз и патологическому процессу, как в общей группе, так и в подгруппах. Группы пациентов для клинических исследований сформированы на добровольных началах, в соответствии с положениями Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (1996, 2002).

Основная группа

В исследуемую группу вошли пациенты с ВМТ, которым проведено лечение по разработанной технологии микроинвазивного лечения ВМТ.

Критерии отбора пациентов

Наличие ВМТ, подтвержденной данными ОКТ, прозрачность оптических сред, позволяющая провести исследование методом ОКТ. Наличие жалоб пациента на ухудшение зрения, метаморфопсии. Срок динамического наблюдения за пациентом не менее трех месяцев при

отсутствии подтвержденного анамнеза наличия ВМТ более трех месяцев. Предварительное наблюдение в течение трех месяцев проводили с целью исключить пациентов, у которых может произойти спонтанное разрешение ВМТ. В период наблюдения в течение трех месяцев у 3 пациентов произошло спонтанное разрешение ВМТ. При сочетании ВМТ с макулярным отверстием динамического наблюдения в течение трех месяцев не проводили в силу высокого риска прогрессирования заболевания.

Критерии исключения пациентов из исследования

Единственный видящий глаз, невозможность проведения ОКТ из-за снижения прозрачности сред на момент обращения, подвывих хрусталика, наличие признаков иридоциклита, либо увеита, отягощенный аллергологический анамнез, тяжелое общее соматическое состояние, требующее специального лечения, сахарный диабет, психические заболевания, наличие наркотической или алкогольной зависимости, невозможность проведения динамического наблюдения за пациентом.

Характеристика пациентов основной группы

В основную исследуемую группу вошли 65 пациентов (65 глаз), из них 63 – женщины, 2 – мужчин. Возраст пациентов варьировал от 44 до 83 лет (средний возраст – $66,74 \pm 7,51$ лет). Большая часть пациентов была в возрасте от 60 до 70 лет (Рисунок 2.3).

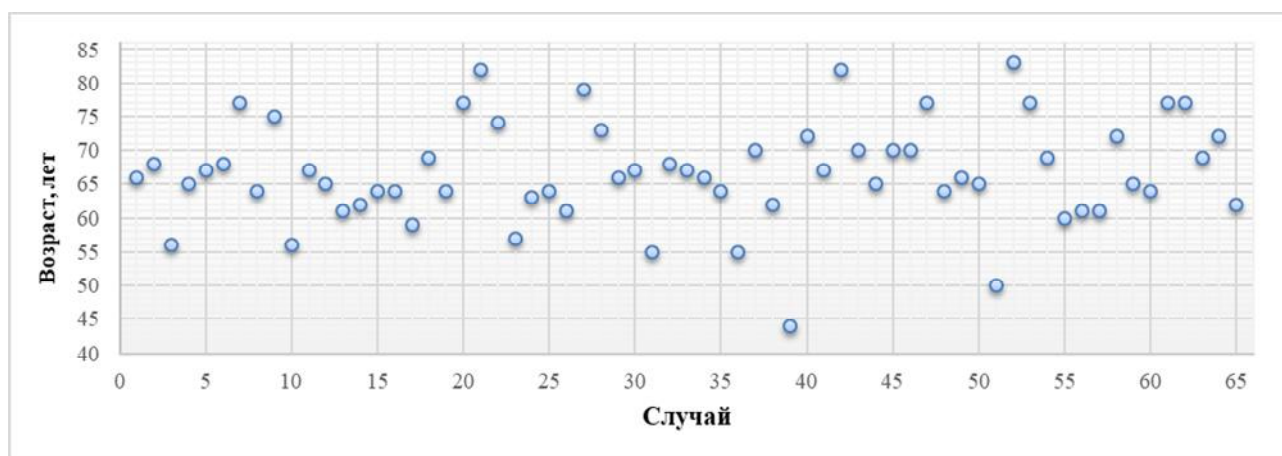


Рисунок 2.3 – Распределение пациентов по возрасту в основной группе

Длина глаза в основной группе колебалась от 19,90 до 24,98 мм (среднее значение – $23,18 \pm 0,96$ мм). Наибольшее число случаев ВМТ пришлось на случаи с длиной глаза от 22 до 24 мм.

В 7 случаях глаза были артифакчными (11%), в 58 (89%) – факичными. ВГД в пределах нормальных значений $17,95 \pm 2,12$ мм рт. ст.

Во всех случаях методом ОКТ была диагностирована ВМТ. Длительность существования ВМТ колебалась от 3 до 24 месяцев. Протяженность фиксации ВМТ составила от 20 до 3100 мкм. В 26 случаях (40,0%) ВМТ сочеталась со сквозным макулярным отверстием, диаметр отверстия составил от 50 до 545 мкм. В 12 (18,5%) случаях ВМТ сочеталась с эпиретинальным фиброзом (ЭРФ). Острота зрения колебалась от 0,1 до 1,0. Для более детального анализа пациенты распределены на 3 подгруппы с учетом особенностей патологического процесса: 1) изолированная ВМТ, 2) ВМТ, сочетанная с макулярным отверстием, 3) ВМТ, сочетанная с эпиретинальным фиброзом.

Характеристика подгрупп основной группы

1-я подгруппа – случаи изолированной ВМТ – О1

В первую подгруппу вошло 27 случаев ВМТ без сопутствующего МО и эпиретинального фиброза. Возраст пациентов составил $69,00 \pm 8,15$ лет; длина глаза – $22,87 \pm 0,95$ мм; ВГД – $18,59 \pm 2,12$ мм рт. ст; в 22 случаях глаза были факичными, в 2 – артифакчными. Протяженность ВМТ в подгруппе варьировала от 59 до 3100 мкм.

2-я подгруппа – случаи ВМТ, сочетанной с МО – О2

Во вторую подгруппу вошло 26 случаев ВМТ, сочетанной с макулярным отверстием, без сопутствующего эпиретинального фиброза. Возраст пациентов составил $63,96 \pm 6,42$ лет; длина глаза – $23,48 \pm 0,94$ мм; ВГД – $17,58 \pm 2,02$ мм рт. ст; в 25 случаях глаза были факичными, в 1 – артифакчными. Протяженность ВМТ варьировала от 50 до 1603 мкм, диаметр МО – от 50 до 545 мкм.

3-я подгруппа – случаи ВМТ, сочетанной с ЭРФ – ОЗ

В третью подгруппу вошло 12 случаев ВМТ, сочетанных с эпиретинальным фиброзом. Возраст пациентов составил $67,66 \pm 6,79$ лет; длина глаза – $23,20 \pm 0,87$ мм, ВГД – $17,33 \pm 2,15$ мм рт. ст., в 10 случаях глаза были факичными, в 2 – артифакичными. Протяженность ВМТ варьировала от 226 до 2370 мкм.

В сформированных подгруппах пациенты были сравнимы по полу, возрасту, длине глаза и исходным данным ВГД.

Характеристика пациентов основной исследуемой группы по подгруппам представлена в Таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Характеристика подгрупп основной группы (n=65)

Критерии	Изолированная ВМТ О1	ВМТ с МО О2	ВМТ с ЭРФ О3
Количество случаев	27	26	12
Возраст, лет	$69,00 \pm 8,15$	$63,96 \pm 6,42$	$67,66 \pm 6,79$
ПЗО, мм	$22,87 \pm 0,95$	$23,48 \pm 0,94$	$23,20 \pm 0,87$
ВГД, мм рт. ст.	$18,59 \pm 2,12$	$17,58 \pm 2,02$	$17,33 \pm 2,15$

Контрольная группа

В контрольную группу включены пациенты с ВМТ, которым было выполнено хирургическое лечение по стандартной методике: факоэмульсификация хрусталика с имплантацией ИОЛ в капсульный мешок, трехпортовая микроинвазивная субтотальная витрэктомия с использованием инструментов калибра 25 G. Во всех случаях проводили удаление ВПМ в макулярной области, в случаях ВМТ, сочетанной с МО, после удаления ВПМ выполняли газовую тампонаду витреальной полости.

Критерии отбора пациентов

Наличие ВМТ, подтвержденной данными ОКТ, жалобы пациента на ухудшение зрения. Динамическое наблюдение за пациентом не проводили.

Хирургическое лечение проводили в плановом порядке. В контрольную группу отобраны пациенты с учетом сопоставимости исходных параметров с основной группой: по полу, возрасту, длине глаза, исходным показателям ВГД и сходными параметрами патологического состояния.

Критерии исключения пациентов из исследования

Критерии исключения были аналогичны критериям основной группы, кроме того, были исключены пациенты с интра- и послеоперационными осложнениями, потребовавшими повторного хирургического вмешательства.

Характеристика пациентов контрольной группы

В контрольную группу вошли 65 пациентов (65 глаз), из них 61 – женщина, 4 – мужчин. Возраст пациентов составил от 50 до 82 лет (средний возраст – $66,85 \pm 7,04$ лет). Большая часть пациентов была в возрасте от 60 до 70 лет (Рисунок 2.4.)

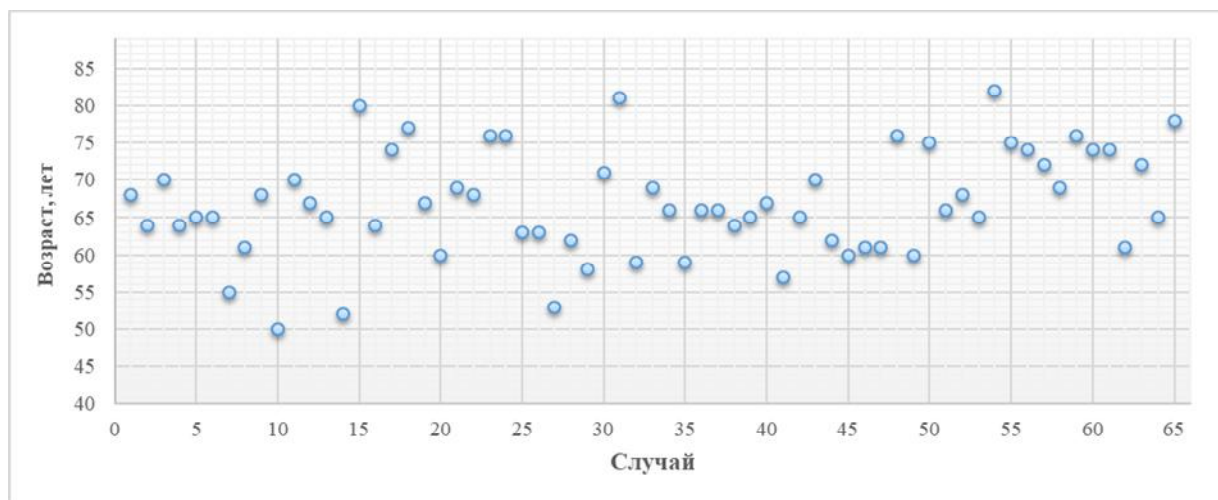


Рисунок 2.4 – Распределение пациентов контрольной группы по возрасту

Длина глаза в контрольной группе колебалась от 21,13 до 24,81 мм (среднее значение – $23,28 \pm 0,76$ мм). Наибольшее число случаев ВМТ пришлось на длину глаза от 22 до 24 мм.

В 63 случаях глаза были факичными, в 2 – артификачными. ВГД в пределах нормальных значений – $17,82 \pm 2,15$ мм рт. ст.

Во всех случаях была диагностирована ВМТ методом ОКТ. Длительность существования ВМТ колебалась от 3 до 18 месяцев. Протяженность фиксации ВМТ составила от 100 до 2100 мкм. В 26 случаях (44,0%) ВМТ сочеталась со сквозным макулярным отверстием, диаметр отверстия составил от 80 до 530 мкм. В 12 (18,5%) случаях ВМТ сочеталась с ЭРФ. Острота зрения колебалась от 0,1 до 0,7. Пациенты были распределены на 3 подгруппы, аналогично с основной группой: 1) изолированная ВМТ, 2) ВМТ, сочетанная с макулярным отверстием, 3) ВМТ, сочетанная с эпиретинальным фиброзом.

Характеристика подгрупп контрольной группы

1-я подгруппа случаев изолированной ВМТ – К1

В первую подгруппу вошло 27 случаев ВМТ без сопутствующего МО и эпиретинального фиброза. Возраст пациентов составил $65,70 \pm 7,52$ лет, длина глаза – $23,28 \pm 0,85$ мм; ВГД – $18,00 \pm 2,20$ мм рт. ст, в 25 случаях глаза были факичными, в 2 – артифакичными. Протяженность ВМТ в подгруппе варьировала от 100 до 2100 мкм.

2-я подгруппа случаев ВМТ, сочетанной с МО – К2

Во вторую подгруппу вошло 26 случаев ВМТ, сочетанной с макулярным отверстием, без сопутствующего эпиретинального фиброза. Возраст пациентов составил $65,35 \pm 5,84$ лет; длина глаза – $23,28 \pm 0,75$ мм; ВГД – $17,88 \pm 2,23$ мм рт. ст. Во всех случаях глаза были факичными. Протяженность ВМТ варьировала от 150 до 910 мкм, диаметр МО – от 80 до 530 мкм.

3-я подгруппа случаев ВМТ, сочетанной с ЭРФ – К3

В третью подгруппу вошло 12 случаев ВМТ, сочетанных с эпиретинальным фиброзом. Возраст пациентов составил $72,67 \pm 5,61$ лет; длина глаза – $23,30 \pm 0,60$ мм; ВГД – $17,25 \pm 1,91$ мм рт. ст. Во всех 12 случаях глаза были факичными. Протяженность ВМТ варьировала от 100 до 1970 мкм.

В сформированных подгруппах пациенты были сравнимы по полу, возрасту, длине глаза и исходным данным ВГД.

Характеристика пациентов контрольной группы по подгруппам представлена в Таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Характеристика подгрупп контрольной группы (n=65)

Критерии	Изолированная ВМТ К1	ВМТ с МО К2	ВМТ с ЭРФ К3
Количество случаев	27	26	12
Возраст, лет	65,70±7,52	65,35±5,84	72,67±5,61
ПЗО, мм	23,28±0,85	23,28±0,75	23,30±0,60
ВГД мм рт. ст.	18,00±2,20	17,88±2,23	17,25±1,91

2.3.2. Методы клинического исследования

Общее обследование пациентов

Перед отбором пациентов в клинические группы проводили общее обследование пациентов, с целью исключить либо подтвердить наличие сопутствующих заболеваний. Обследование включало проведение клинического и биохимического анализа крови, определение уровня глюкозы крови, определение показателей свертываемости крови, анализ крови на ВИЧ-инфекцию, реакцию Вассермана, определение в крови антигенов к гепатитам В и С, клинический анализ мочи и определение уровня глюкозы в моче при наличии сахарного диабета. Пациенты, страдающие сахарным диабетом, вне зависимости от стадии тяжести и степени компенсации, не были включены в исследование.

Для определения общего соматического состояния пациентам проводили электрокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, обязательными были консультации оториноларинголога, стоматолога, терапевта и эндокринолога по показаниям. При необходимости до начала проведения лечения предварительно проводили санацию очагов острого и хронического воспаления полости рта, носоглотки и околоносовых пазух с целью купирования воспалительного процесса.

Офтальмологическое обследование пациентов

Всем пациентам проводили офтальмологическое обследование с использованием стандартных и дополнительных методик. Стандартные методики включали: авторефрактометрию, визометрию, тонометрию, периметрию, эхобиометрию, биомикроскопию, биомикроофтальмоскопию. Специальные офтальмологические методы включали: спектральную оптическую когерентную томографию, микропериметрию, фотографирование глазного дна.

Авторефрактометрию проводили на авторефрактометре «KR-8100» (Topcon, Япония).

Визометрию проводили на комбайне «Combiline» (Rodenstock, Германия), используя проектор знаков «Hoel», SZP 350 (Carl Zeiss, Германия) также применяли стандартный набор стекол для коррекции аметропии.

Тонометрию выполняли при помощи пневмотонометра «Reichert 7» (Reichert, США) и апланационного тонометра Маклакова весом 10 гр. по общепринятой методике.

Периметрию проводили в темном помещении на проекционном периметре ПРП-60 (Россия) через каждые 30 градусов, используя объекты белого цвета разной величины и яркости. Обследование проводили после темновой адаптации больного в течение 30-40 минут.

Биомикроскопию выполняли при помощи щелевой лампы «Opton» (Германия). Биомикроофтальмоскопию осуществляли с помощью бесконтактной линзы «OcularMaxField» 78D в условиях медикаментозного мидриаза (Ocular Instruments, США).

Бинокулярную офтальмоскопию проводили всем пациентам с помощью аппарата «HEINE OMEGA 200» (Германия), используя линзу 20D «OCULAR MAXLIGHT® TRIPLE TWO PANFUNDUS» (США), обеспечивающую большое, динамическое поле обзора, достаточное для детального осмотра структур глазного дна. При необходимости визуализации зоны сетчатки на крайней периферии использовали метод склерокомпрессии.

Ультразвуковую биометрию (А-метод) для определения величины передне-задней оси (ПЗО) глаза, глубины передней камеры и толщины хрусталика проводили на приборе «Ophthalmoscan 200» (SONOMETRICS SYSTEMS INC, США).

Ультразвуковое В-сканирование осуществляли с помощью прибора «Sonomed» (США) с резонансной частотой ультразвука 10 МГц. Применяли транспальпебральную методику исследования.

Эхобиометрию проводили на ультразвуковом аппарате «Biometr AL- 43 100» (Tomey, Германия).

Фотографирование глазного дна выполняли с использованием ретинальной фундус-камеры «Visucam 500» (Carl Zeiss Meditec AG, Германия) при условии медикаментозного мидриаза.

Спектральную ОКТ проводили на приборах «Cirrus HD-ОСТ» (Carl Zeiss Meditec, США), CirrusHD-ОСТ 5000 (Carl Zeiss, Германия), Optovue Angiovue Avanti RTVue-100 XR с функцией ОКТ-ангиографии (Optovue, США), 3ДОСТ 2000 (Topcon, Япония).

Микропериметрию проводили для оценки функционального состояния сетчатки в макулярной области. Исследование выполняли на микропериметре MP-1 фирмы «Nidek Technologies» (Vigonza, Италия) по программе «Macula-8» (45 точек, в пределах 8° от точки фиксации) с использованием стандартного стимула размером $0,43^\circ$ (Goldmann III) и длительностью 200 мс.

При офтальмоскопическом осмотре уделяли внимание состоянию конъюнктивы, роговицы, оценивали глубину и равномерность передней камеры, радужку, наличие эксфолиаций, новообразованных сосудов радужки, синехий, зрачковой пленки, оценивали прозрачность оптических сред, степень и локализацию помутнения хрусталика, состояние передней и задней капсул хрусталика. При выявлении рубеоза радужки, синехий, признаков иридоциклита, гемофтальма пациентов не включали в исследование. После общего и офтальмологического обследования при отсутствии противопоказаний пациентов включали в исследуемую группу.

2.3.3. Предоперационная подготовка пациентов, оборудование, материалы и инструменты, используемые в ходе лечения

После комплексного офтальмологического и общего обследования с выявлением и в случае необходимости санации очагов острого и хронического воспаления, при условии отсутствия соматических противопоказаний к операции, пациентов госпитализировали в стационар за 1 день до планируемой операции.

Предоперационная подготовка пациентов и анестезиологическое пособие

Предоперационная подготовка и анестезиологическое пособие всех пациентов были сходными. В ходе предоперационной подготовки, в том числе ингибирования миоза, проводили инстилляцию нестероидного противовоспалительного препарата (0,1% раствор непафенака или 0,1% раствор диклофенака) и антибактериального препарата (моксифлоксацин 0,5 % или тобрамицин 0,3%) по 1 капле 4 раза в день в течение 3 дней до планируемого вмешательства. За 30-40 минут до операции в конъюнктивальную полость дважды инстиллировали раствор, содержащий неселективный α -адреномиметик 5,0% фенилэфрин и М-холиноблокатор 0,8% тропикамид (Мидримакс™).

Хирургическое вмешательство проводили под комбинированной анестезией. Комплексное анестезиологическое пособие включало: ретробульбарную инъекцию, крылонебноорбитальную блокаду (смесь лидокаина и маркаина), акинезию век, атаральгезию и седацию по ходу анестезии. В качестве премедикации, за 40 минут до вмешательства парентерально вводили кетарол 0,4 мг/кг и реланиум 0,15-0,2 мг/кг, для обезболивания и седации с сохранением сознания и релаксации.

Местная анестезия включала в себя ретробульбарное введение смеси из наропина 0,2 мг/кг и лидокаина 0,7 мг/кг в объеме 2,5 мл. Акинезия достигалась применением 8,0 мл 2% раствора лидокаина.

Производили 2-кратную обработку операционного поля марлевым шариком, смоченным в 0,5% растворе хлоргексидина. В конъюнктивальную полость инстиллировали 0,005% раствор антисептика пиклоксидина (Витабакт™) или повидон-ИОД 5% (Иодофтал™). Затем для эпibuльбарной анестезии в конъюнктивальный мешок инстиллировали 0,5% раствор местного анестетика проксиметакаина (Алкаин™) или 0,4% раствор оксибупрокаина (Инокаин™). Операционное поле накрывали стерильной офтальмологической салфеткой с карманом и липким слоем «Здравмедтех-М» (Россия). Для расширения и удержания век накладывали металлический блефаростат. В течение операции осуществляли мониторинг артериального давления, ЧСС и общего состояния пациента.

Хирургическая техника

Первым этапом, при необходимости, выполняли ультразвуковую факоэмульсификация с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ) в капсульный мешок.

Вторым этапом проводили витреоретинальное вмешательство с использованием инструментов калибра 25 G. В проекции плоской части цилиарного тела в 3 мм от лимба устанавливали три порта. В один из портов осуществляли непрерывную подачу сбалансированного солевого раствора (BSS) с автоматическим поддержанием ВГД 25 мм рт. ст., через два других с использованием эндоосветителя и витректора выполняли субтотальную витрэктомию. Проводили удаление ВМТ, после чего ретинальным пинцетом удаляли ЭРМ и ВПМ. Для облегчения процедуры удаления ЭРМ и ВПМ мембраны прокрашивали с использованием красителя Membraneblue Dual (DORC, Нидерланды). При наличии макулярного отверстия проводили замену раствора BSS на газо-воздушную смесь. После извлечения портов операцию завершали накладыванием узловых склеральных швов 8-0 на склеротомические разрезы и субконъюнктивальной инъекцией 0,3 мл 0,4% раствора дексаметазона.

Тактика ведения пациентов в раннем и отдаленном послеоперационном периоде

После операции всем пациентам назначали двухчасовой постельный режим. Дальнейший послеоперационный режим и лечение назначали индивидуально в зависимости от состояния оперированного глаза и общего состояния больного.

В раннем послеоперационном периоде лечебные мероприятия заключались в инстилляции в конъюнктивальную полость раствора стероидных противовоспалительных препаратов в комбинации с антибиотиком широкого спектра действия (Тобрадекс™) по убывающей схеме закапывания в течение 1-го месяца и нестероидного противовоспалительного препарата (0,1% раствор непафенака или 0,1% раствор диклофенака) по 1 капле 4 раза в день в течение 2 недель. В первые сутки после операции всем пациентам назначали однократную подконъюнктивальную инъекцию кортикостероида (0,5 мл 0,4% раствора дексаметазона субконъюнктивально).

Длительность пребывания в стационаре составила в среднем 4-5 дней. Пациентов выписывали на амбулаторное долечивание по месту жительства. Контрольный осмотр проводили в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» через 1-1,5 месяца.

Оборудование, материалы и инструменты, используемые при хирургическом вмешательстве

Все операции выполняли с использованием операционного микроскопа OMS-800 OFFISS («Topcon», Япония) с бесконтактной насадкой для визуализации витреальной полости. Факоэмульсификацию и витрэктомию проводили с применением системы Constellation® Vision System (Alcon Laboratories Inc., США). Во время проведения эндовитреального вмешательства для поддержания объема витреальной полости использовали ирригационный раствор BSS (Alcon Laboratories Inc., США). Для окрашивания

кортикальных слоев стекловидного тела и ЭРМ интравитреально вводили 0,06% раствор трипанового синего «Membrane Blue» (DORC, Нидерланды). Удаление ЭРМ осуществляли эндовитреальным пинцетом GRIESHABER REVOLUTION® DSP End Grasping Forceps 705.43 25 Gauge (Alcon Laboratories Inc., США). Для тампонирования витреальной полости применяли газо-воздушную смесь с газом октафторпропан (C_3F_8) «Arceole» (Arcadophta, Франция). Для интраокулярной коррекции после факоемульсификации катаракты имплантировали ИОЛ AcrySof® Natural (Alcon Laboratories Inc., США). Расчёт оптической силы ИОЛ проводили по формулам Hoffer Q, Holladay 1, SRK/T, с использованием программного обеспечения прибора IOLMaster (Carl Zeiss, Германия).

2.4. Статистические методы исследования

Статистическую обработку осуществляли на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Excel, «Биостатистика», предназначенной для медицинских и биологических исследований. Применяли методы параметрической и непараметрической статистики. Нормально распределенные показатели приведены в формате $M \pm \sigma$, где M – среднее значение показателя, а σ – стандартное отклонение. Достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Значимыми считали различия при $t \geq 2$. При распределении, отличном от нормального, использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Корреляционный анализ с вычислением рангового коэффициента корреляции Спирмена (r) выполняли для определения характера взаимоотношений между изучаемыми переменными. Для интерпретации величин коэффициента корреляции применяли таблицу Чеддока (Таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Определение силы связи в зависимости от величины коэффициента корреляции

Интервал значений коэффициента корреляции (r)	Корреляционная связь
$0,01 < r \leq 0,29$	слабая положительная связь
$0,30 < r \leq 0,69$	умеренная положительная связь
$0,70 < r \leq 1,00$	сильная положительная связь
$-0,01 > r \geq -0,29$	слабая отрицательная связь
$-0,30 > r \geq -0,69$	умеренная отрицательная связь
$-0,70 > r \geq -1,00$	сильная отрицательная связь

Основная и контрольная группы были разделены на три малых подгруппы каждая. Исследуемые значения в основной и контрольной группах находились в нормальном распределении, в связи с этим не потребовалось включение дополнительных параметров оценки статистической достоверности полученных результатов в малых подгруппах, т. к. нормальное распределение показателей в этом случае сохраняется и в малых подгруппах. В связи с этим расчеты статистических показателей в малых подгруппах проводили только с поправкой на количество оцениваемых случаев. Поправка была введена для повышения точности оценки достоверности полученных результатов в малых подгруппах. Это позволило получить статистически достоверные данные как в общих группах, так и в малых подгруппах.

**Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
МИКРОСТРУКТУРЫ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНЫХ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ, МЕХАНИЗМОВ ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНОЙ
АДГЕЗИИ, БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛЛАГЕНАЗЫ
В АСПЕКТЕ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

Целью данной главы явилось исследование микроструктуры витреоретинального контакта в аспекте исследования механизма ВРА, обоснования возможности применения коллагенолитических протеолитических ферментов для устранения ВМТ, изучение воздействия бактериальной коллагеназы на СТ человека, область витреоретинального контакта и сетчатку, определение доза-эффект зависимости и цитотоксичности препарата для продолжения исследований по разработке методики микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции.

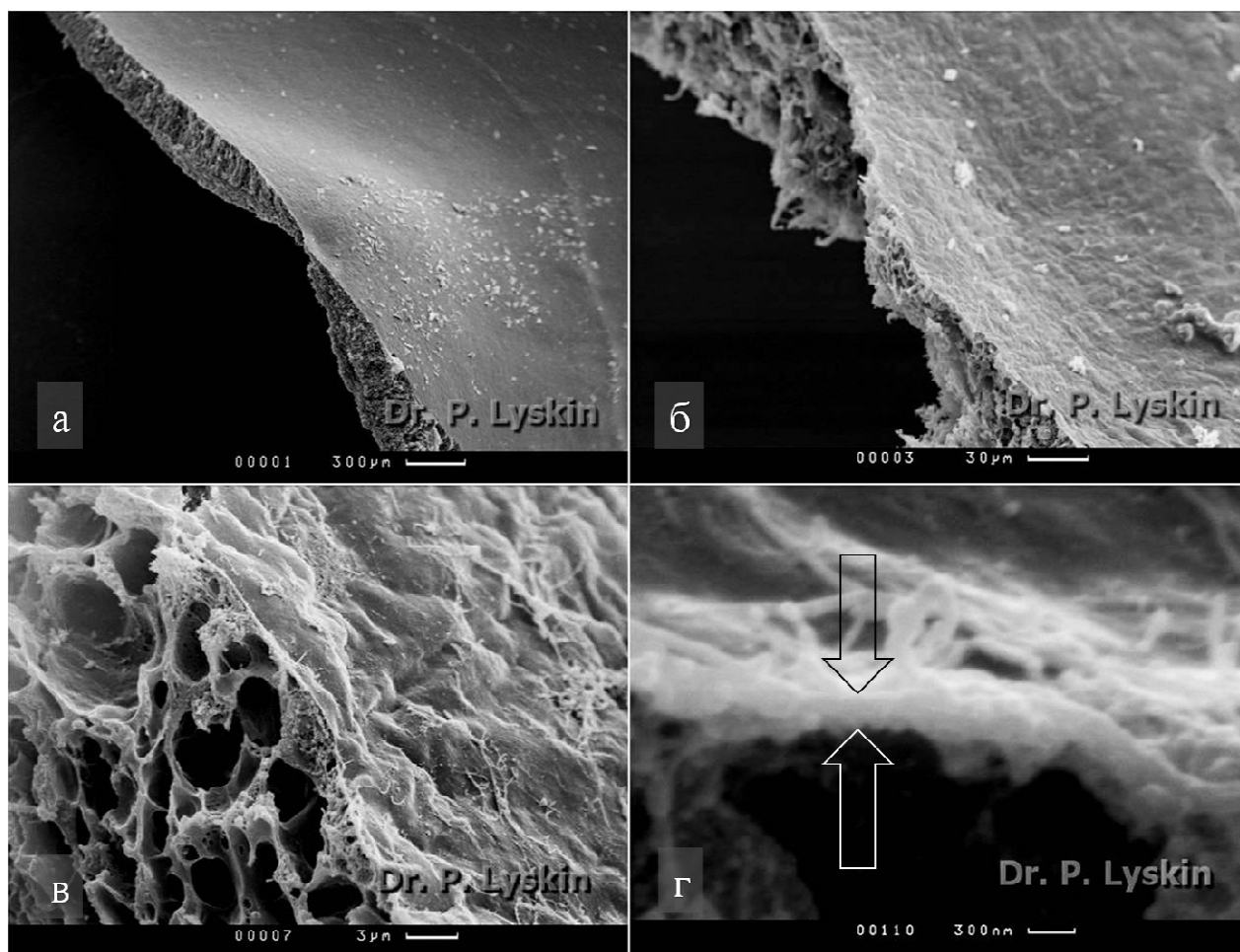
Для достижения указанной цели был поставлен ряд задач, решаемых в эксперименте с применением сканирующей электронной микроскопии:

- уточнить микроструктуру ВПМ и изучить микроструктуру витреоретинальных взаимоотношений в центральных отделах сетчатки;
- изучить клеточную микроструктуру центральной области витреоретинального контакта и микроструктуру ВРА, обосновать возможность применения бактериальной коллагеназы для лечения ВМТ;
- исследовать воздействие бактериальной коллагеназы на отдельные коллагеновые фибриллы СТ, эпиретинальные структуры СТ, на ВПМ, интравитреальные структуры и ретинальный пигментный эпителий;
- определить начальную пороговую коллагенолитическую дозу препарата;
- исследовать цитотоксичность коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции.

3.1. Микроструктура внутренней пограничной мембраны и витреоретинальных взаимоотношений в центральных отделах сетчатки

Результаты исследований – Препарат изолированной сетчатки человека, макулярная область

Фото сканирующей электронной микроскопии фовеолярной области сетчатки, аксиальная проекция (Рисунок 3.1).



а – общий план скана макулярной области сетчатки – центральная ямка;
 б, в, г – фото области «а» с последовательным возрастающим увеличением.
 Двумя оппозитными стрелками обозначена толщина ВПМ в фовеоле

Рисунок 3.1 – Глаз донора 43 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии макулярной области сетчатки с возрастающим увеличением, аксиальная проекция: а) увеличение 30х, б) увеличение 300х, в) увеличение 2700х, г) увеличение 21500х

В фовеоле ВПМ наиболее тонкая, толщина ее составляет 0,25 мкм (Рисунок 3.1г). Поверхность ВПМ макулярной области моноструктурная, однородная. На поверхности ВПМ не выявлено признаков вплетения в нее волокон СТ.

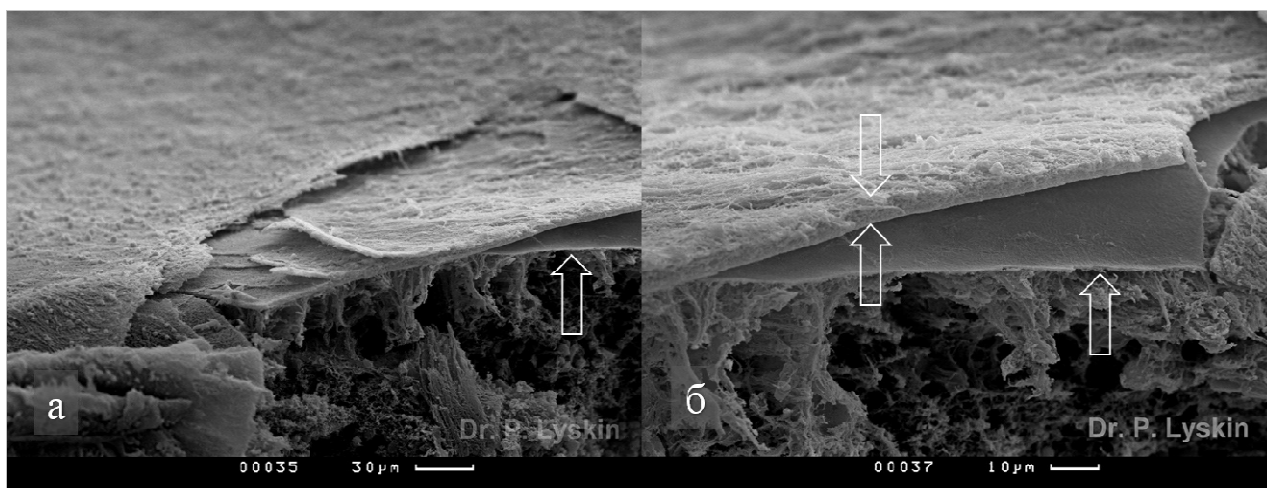
ВПМ макулярной области имеет отчетливую мембранную структуру. В фовеоле ВПМ наиболее тонкая, толщиной 0,25 мкм, поверхность ВПМ моноструктурна, без признаков пор и признаков вплетения волокон СТ в мембрану. Полученные данные объективно подтверждают, что наименьшая толщина ВПМ регистрируется в фовеоле. Поверхность ВПМ в макулярной области моноструктурна.

Результаты исследований – Препарат перифовеолярной сетчатки человека

Фото сканирующей электронной микроскопии перифовеолярной сетчатки, аксиальная проекция (Рисунок 3.2).

Препарат изготовили с предварительным препарированием (перед фиксацией препарата проводили удаление кортикального СТ). Перед напылением золотого покрытия проводили разламывание препарата, для исключения деформации тканей, возникающей в случае разрезания препарата.

На сканах препарата в боковой проекции определяется тонкий слой СТ, оставшийся на поверхности ВПМ после предварительного отделения кортикального СТ. Слой СТ располагается поверх ВПМ, состоит из тонких, плотно организованных волокон СТ (Рисунок 3.2а). Толщина слоя составляет около 5 мкм (Рисунок 3.2б). Толщина волокон составляет доли микрона, длину волокон СТ в слое определить невозможно. Обнаруженный слой СТ интимно соединен с поверхностью ВПМ, имеет мембраноподобную структуру.



а – стрелкой указана ВПМ со стороны слоя нервных волокон;

б – скан с возрастающим увеличением, стрелкой снизу указана ВПМ со стороны слоя нервных волокон сетчатки, двумя оппозитными стрелками указан эпиретинальный слой СТ

Рисунок 3.2 – Глаз донора 46 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии перифовеолярной области сетчатки после удаления

кортикального СТ, аксиальная проекция;

а) увеличение 267х, б) увеличение 700х

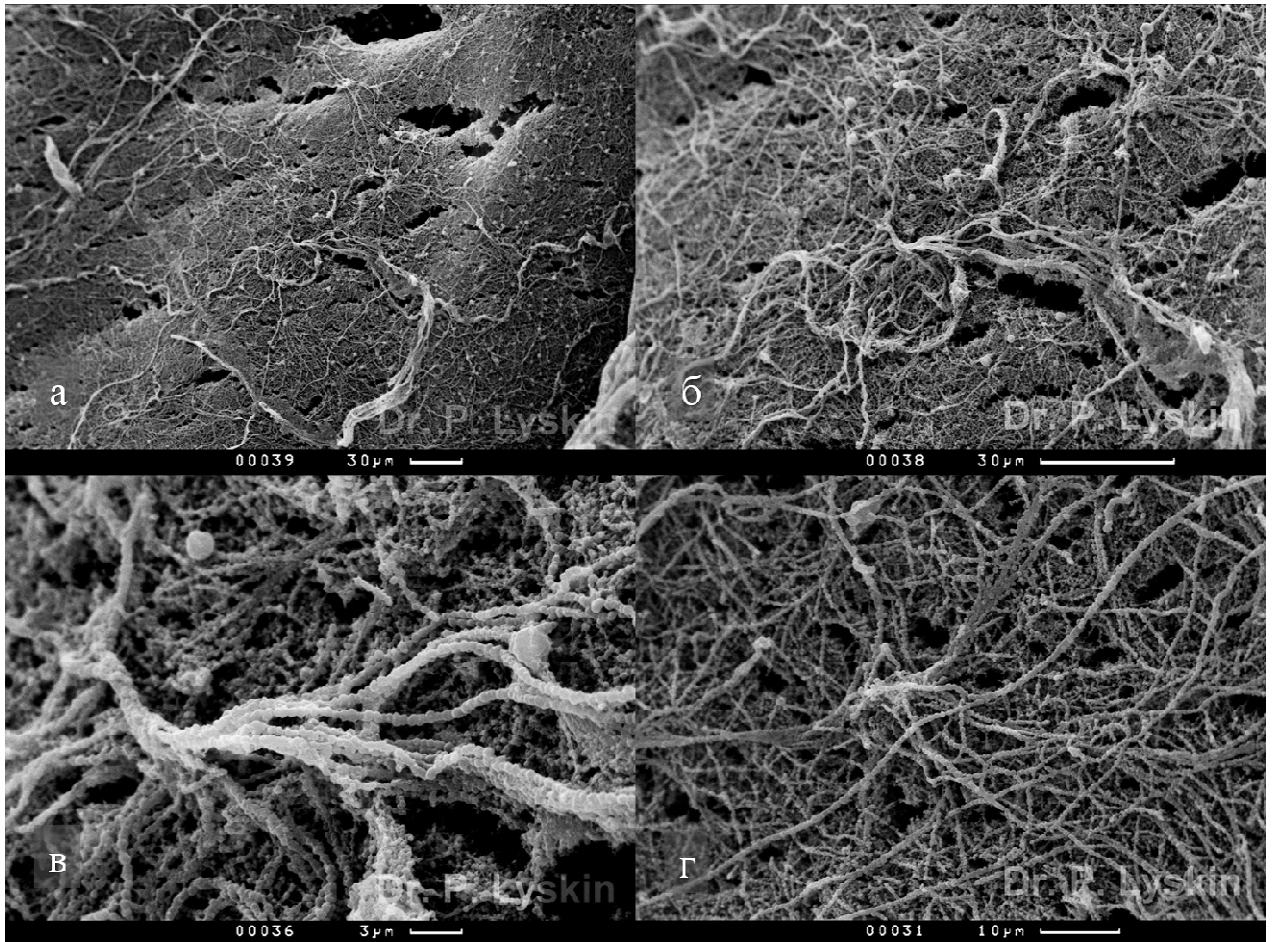
Препарат перифовеолярной сетчатки человека

Фото сканирующей электронной микроскопии препарата перифовеолярной сетчатки, фронтальная проекция (Рисунок 3.3).

Препарат изготовили с предварительным препарированием (перед фиксацией препарата проводили удаление кортикального СТ). При сканировании выявлено, что поверхность сетчатки покрыта непрерывным тонким слоем СТ, оставшимся на поверхности сетчатки после удаления кортикального СТ. На его поверхности, со стороны витреальной полости видны волокна СТ, существенно отличающиеся по толщине, протяженности и плотности организации.

На поверхности слоя, контактирующего с ВПМ, образованного плотно организованными короткими волокнами СТ, толщина которых составляет доли микрона, а определение длины не представляется возможным, находятся

волокна СТ, существенно отличающиеся от нижележащих по толщине, протяженности и плотности организации. Толщина волокон существенно большая и доходит до 0,6 мкм, протяженность – до 250 мкм (Рисунок 3.3а), волокна имеют очевидно неплотную, рыхлую организацию и характерный вид «жемчужной нити» – плотно соединенных округлых образований (Рисунок 3.3в-г).



а, б, в – сканы эпиретинального СТ с возрастающим увеличением;
г – скан близлежащего локуса сетчатки

Рисунок 3.3 – Глаз донора 45 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии различных областей перифовеолярной сетчатки человека после удаления кортикального СТ, фронтальная проекция: а) увеличение 250х, б) фото той же области с возрастающим увеличением 700х, в) увеличение 2500х; г) близлежащий локус, увеличение 1100х

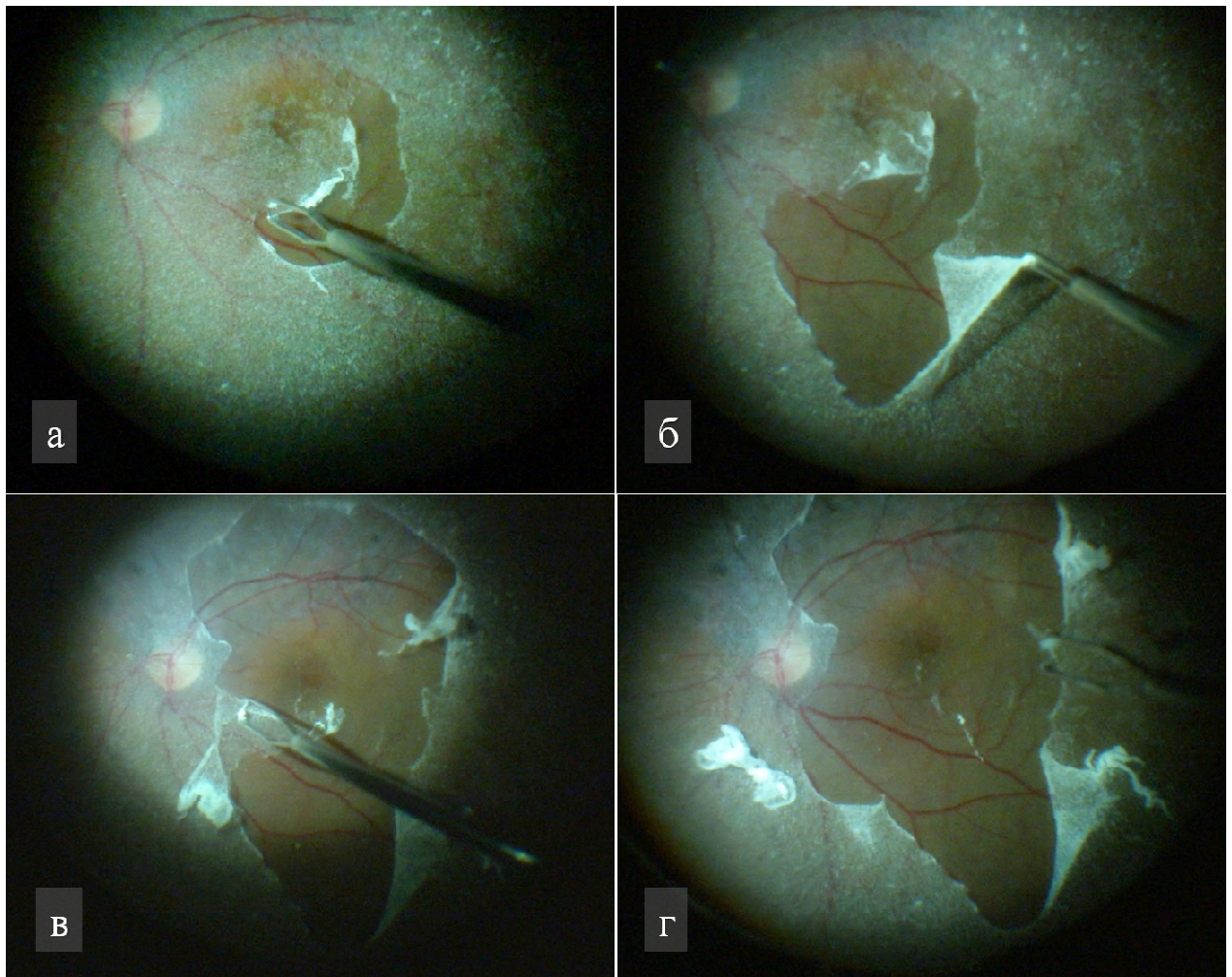
Увеличенный диаметр волокон и низкая плотность организации свойственны так называемому «незрелому» новообразованному СТ, что является косвенным признаком синтеза волокон новообразованного СТ тела в поверхностном слое эпиретинального СТ, обращенного в сторону витреальной полости.

Результаты проведенных исследований показали, что после удаления основного СТ и его кортикальных слоев с поверхности сетчатки, произведенного в процессе подготовки препарата, на поверхности сетчатки остается тонкий слой эпиретинального СТ. Толщина обнаруженного эпиретинального СТ составляет 5 мкм. Эпиретинальный слой СТ со стороны ВПМ образован в основном короткими, тонкими, плотно организованными волокнами СТ. Его поверхностный слой, обращенный в сторону витреальной полости, образован наибольшими по толщине и протяженности волокнами, имеющими рыхлую организацию. Волокна имеют вид «жемчужных нитей», по совокупности признаков, такого рода волокна возможно отнести к новообразованным. По мере приближения к ВПМ волокна эпиретинального СТ уменьшаются по толщине, длине, а плотность их организации увеличивается.

Полученные данные подтверждаются собственными интраоперационными наблюдениями, когда после проведения субтотальной витрэктомии с предварительным аспирационно-тракционным отделением кортикального СТ на поверхности сетчатки остается тонкий слой СТ, обнаруживаемый контрастированием суспензией кортикостероида (Рисунок 3.4).

Тонкий слой СТ остается на поверхности сетчатки, несмотря на мощное тракционное воздействие, оказываемое на него при аспирационно-тракционном отделении кортикального стекловидного тела от поверхности сетчатки в процессе операции. Нередко, этот слой СТ обозначается практикующими хирургами термином «резидуальное» СТ. Термин «резидуальное», т. е. остаточное СТ, не несет анатомического контекста, и

обозначает только интраоперационную находку. До настоящего времени окончательного мнения в отношении к так называемому «резидуальному» СТ в аспекте нормы и патологии не сформировано. В приведенном клиническом примере часть эпиретинального СТ в процессе операции отделена от поверхности сетчатки. Отчетливо видна граница удаленного с поверхности сетчатки эпиретинального СТ. Удаляемое эпиретинальное СТ имеет мембраноподобную структуру.



а, б, в, г – этапы удаления эпиретинального СТ

Рисунок 3.4 – Клинический пример: интраоперационные фото удаления эпиретинального СТ, контрастированного суспензией кортикостероида, оставшегося на поверхности сетчатки после произведенной витрэктомии (собственное наблюдение)

Полученные результаты исследований дают основания к утверждению, что обнаруживаемый слой СТ может быть отнесен к нормальному СТ, которое целесообразно обозначать термином «эпиретинальное СТ». Эпиретинальное СТ по сути является своего рода опосредованной границей и связующим элементом между сетчаткой и кортикальным СТ. Наличие в эпиретинальном СТ «незрелого» СТ в виде волокон, имеющих вид «жемчужных нитей» существенно большего диаметра и длины, является непрямым признаком прижизненного синтеза волокон СТ в СТ взрослого человека.

На основании полученных данных в концепцию механизма ВРА целесообразно введение дополнительного, компонента – «эпиретинального СТ», которое более прочно связано с поверхностью сетчатки, нежели с кортикальным СТ. В свою очередь это указывает на то, что адгезия кортикального СТ происходит не между кортикальным СТ и ВПМ, а между кортикальным и эпиретинальным СТ по границе, имеющей признаки новообразованных волокон стекловидного тела.

3.2. Клеточная микроструктура витреоретинального контакта и витреоретинальной адгезии

Результаты исследований – Препарат перифовеолярной сетчатки человека

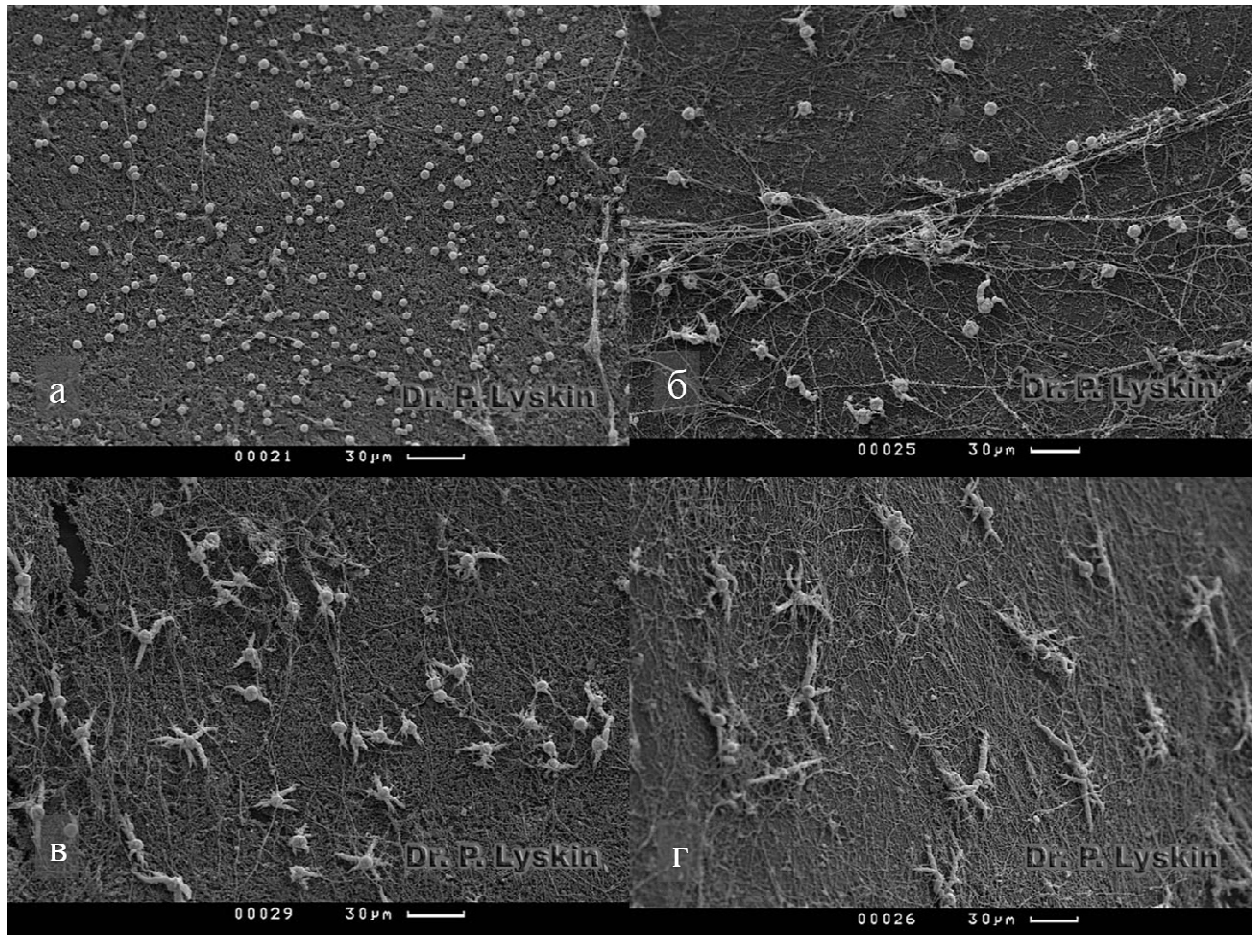
Фото сканирующей электронной микроскопии препарата перифовеолярной сетчатки, фронтальная проекция (Рисунки 3.5, 3.6).

При изготовлении препарата проводили предварительное препарирование. С поверхности сетчатки удаляли кортикальное СТ.

При сканировании выявили сплошной, тонкий слой эпиретинального СТ. В некоторых областях препарата эпиретинальное СТ стало отчетливо видимым вследствие того, что в процессе фиксации, в эпиретинальном СТ образовались отдельные щелевидные дефекты, частично обнажившие

поверхность ВПМ и контрастировавшие таким образом эпиретинальное СТ (Рисунок 3.5в). На сканах, на поверхности эпиретинального СТ обнаружили гиалоциты, расположенные монослоем и имеющие различную форму и размеры. Гиалоциты не контактировали с ВПМ. Размеры, форма и плотность расположения клеток были неоднородны и варьировали в широких пределах. Размеры клеток варьировали от 6 до 90 мкм. Форма – от шаровидной (см. Рисунки 3.5а, 3.6а) до звездчатой (см. Рисунок 3.5г). Были обнаружены переходные формы клеток (см. Рисунок 3.5б, в, 3.6б, в). Наиболее плотно располагались шаровидные клетки – 24 468 клеток на 1 мм² (см. Рисунок 3.5а), наименее плотно звездчатые клетки – 166 клеток на 1 мм² (см. Рисунок 3.5г). По мере увеличения размеров клеток уменьшалась плотность их расположения на единицу поверхности (см. Рисунок 3.5в, г).

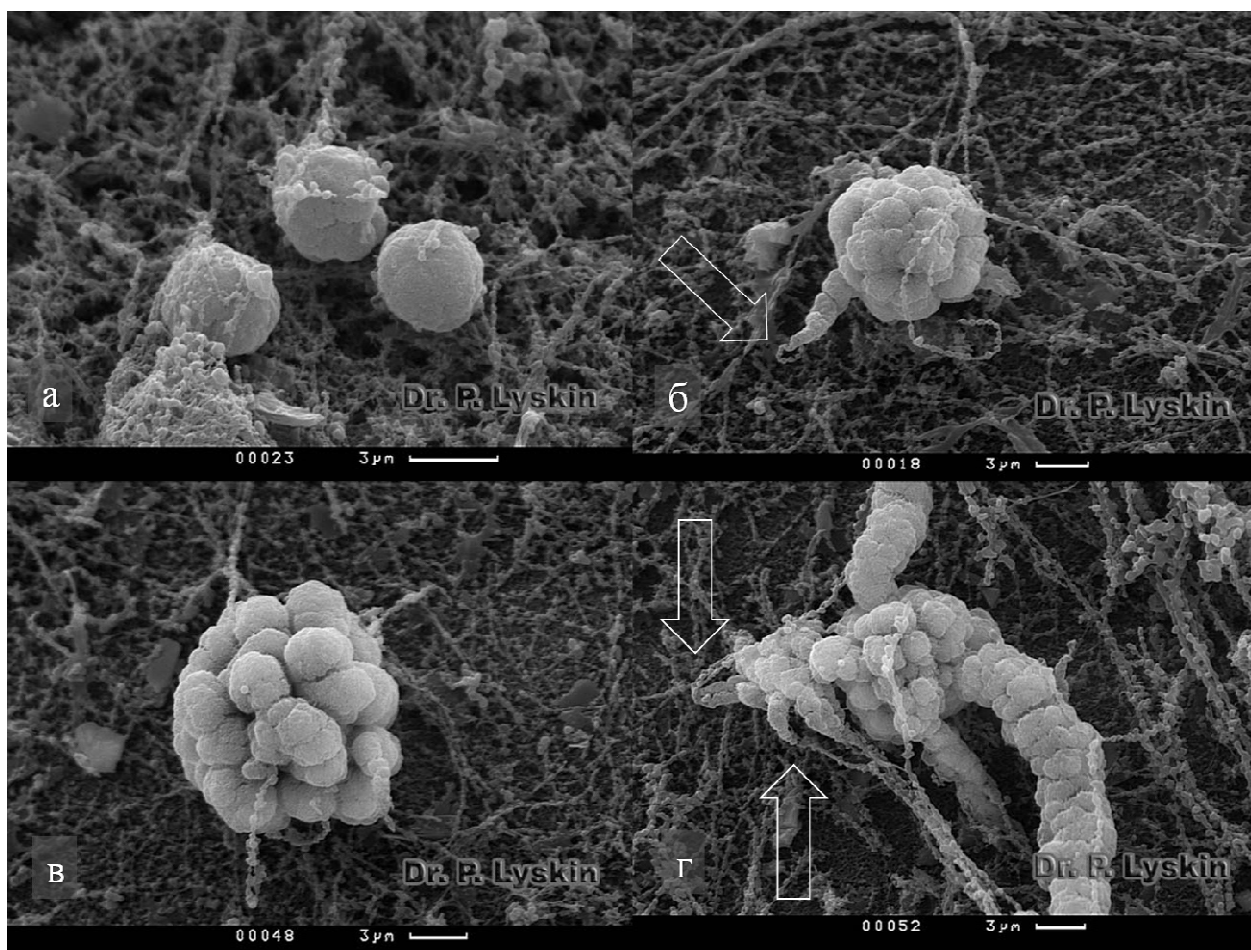
Клеткам наибольших размеров сопутствовали более толстые и рыхло переплетенные волокна СТ, находящиеся на поверхности тонких и более плотно упакованных волокон эпиретинального СТ (см. Рисунки 3.5г, 3.6г). Вокруг шаровидных клеток наименьшего размера аналогичные коллагеновые волокна практически отсутствовали (см. Рисунок 3.5а; 3.6а). По мере увеличения размера клеток и числа их отростков, увеличивалось количество сопутствующих им, более толстых и длинных волокон СТ, располагающихся на поверхности более тонких и плотно упакованных волокон эпиретинального СТ (см. Рисунки 3.5г, 3.6г). При увеличении кратности сканирования выявили, что из отростков звездчатых клеток исходили новообразованные коллагеновые волокна СТ большого диаметра, имеющие вид «жемчужных нитей». Волокна новообразованного СТ имели вид аналогичный волокнам, сопутствующим звездчатым клеткам (см. Рисунок 3.6б, г).



а – шаровидные клетки; б, в – клетки переходных форм;

б, г – сеть из новообразованных волокон СТ, г – звездчатые клетки

Рисунок 3.5 – Глаз донора 30 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии различных локусов перифовеолярной сетчатки человека фронтальная проекция, увеличение 270х. Клетки в различной степени активности и новообразованные волокна СТ на поверхности эпиретинального СТ



а – шаровидные клетки в состоянии покоя; б, в – клетки переходных форм;
г – звездчатая клетка в фазе синтетической активности

Рисунок 3.6 – Глаз донора 30 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии различных локусов перифовеолярной сетчатки человека, фронтальная проекция, увеличение 2700х. Клетки на поверхности эпиретинального СТ в различной степени синтетической активности.

Стрелками указаны новообразованные волокна СТ, синтезируемые гиалоцитами

В результате исследований зарегистрирован прижизненный синтез новообразованных коллагеновых волокон СТ гиалоцитами эпиретинального СТ в глазу взрослого человека, это дает основание часть пула гиалоцитов эпиретинального СТ отнести к фибробластам – клеткам, продуцирующим соединительно тканые волокна, в данном случае – коллагеновые волокна СТ. Синтетическая активность клеток эпиретинального СТ, их форма и размер

неоднородны. При минимальных размерах и шаровидной форме гиалоциты не обладали синтетической активностью. При максимальных размерах и звездчатой форме синтетическая активность клеток была наибольшей, и они производили наибольшее количество волокон эпиретинального СТ. Синтетическая активность гиалоцитов переходных форм зависела от размера клеток, числа и величины их отростков. При уменьшении размера клеток и количества их отростков уменьшалось производство волокон СТ в эпиретинальном СТ. Гиалоциты располагались поверх тонкого слоя эпиретинального СТ, и не контактировали с ВПМ. Основываясь на показанной выше структуре эпиретинального СТ, признаках уменьшения диаметра волокон СТ от поверхности эпиретинального СТ к поверхности ВПМ (см. главу 3.2 «Микроструктура витреоретинальных взаимоотношений») и результатах настоящих исследований, логичным будет утверждение, что эпиретинальное СТ производится пулом гиалоцитов в его поверхностном слое.

Результаты исследования показали, что отделение СТ от поверхности сетчатки в эксперименте происходит не по границе ВПМ, а по границе поверхностного слоя эпиретинального СТ, содержащего гиалоциты и новообразованные волокна СТ, синтезируемые клетками в эпиретинальном слое СТ. Также логичным будет тезис о том, что часть гиалоцитов, синтезирующих новообразованные волокна СТ и сами новообразованные волокна остаются в отделенном кортикальном СТ, граничившим с эпиретинальным СТ. Полученные результаты подтверждаются хирургической практикой, когда после интраоперационного механического отделения кортикального СТ на поверхности сетчатки остается так называемое «резидуальное» СТ (см. главу 3.2 «Микроструктура витреоретинальных взаимоотношений»), т. е. по результатам настоящих исследований – эпиретинальное СТ.

Таким образом, впервые зарегистрирован синтез новообразованных коллагеновых волокон стекловидного тела в СТ взрослого человека.

Новообразованный коллаген синтезируется гиалоцитами, располагающимися в эпиретинальном СТ. Основываясь на выявленной синтетической функции гиалоцитов, располагающихся в эпиретинальном СТ, логичным является тезис о возможной принадлежности их к фибробластам и что аналогичные процессы синтеза новообразованного коллагена могут происходить в других отделах СТ, и в частности в кортикальном СТ, граничащим с эпиретинальным СТ. Отделение СТ от поверхности сетчатки в эксперименте происходит по границе эпиретинального СТ, что указывает на его более прочную связь с поверхностью сетчатки, чем с кортикальным СТ, что в свою очередь является свидетельством того, что ВРА происходит между эпиретинальным и кортикальным СТ, а не между ВПМ и СТ, как это считалось ранее.

Микроструктура витреоретинальной адгезии

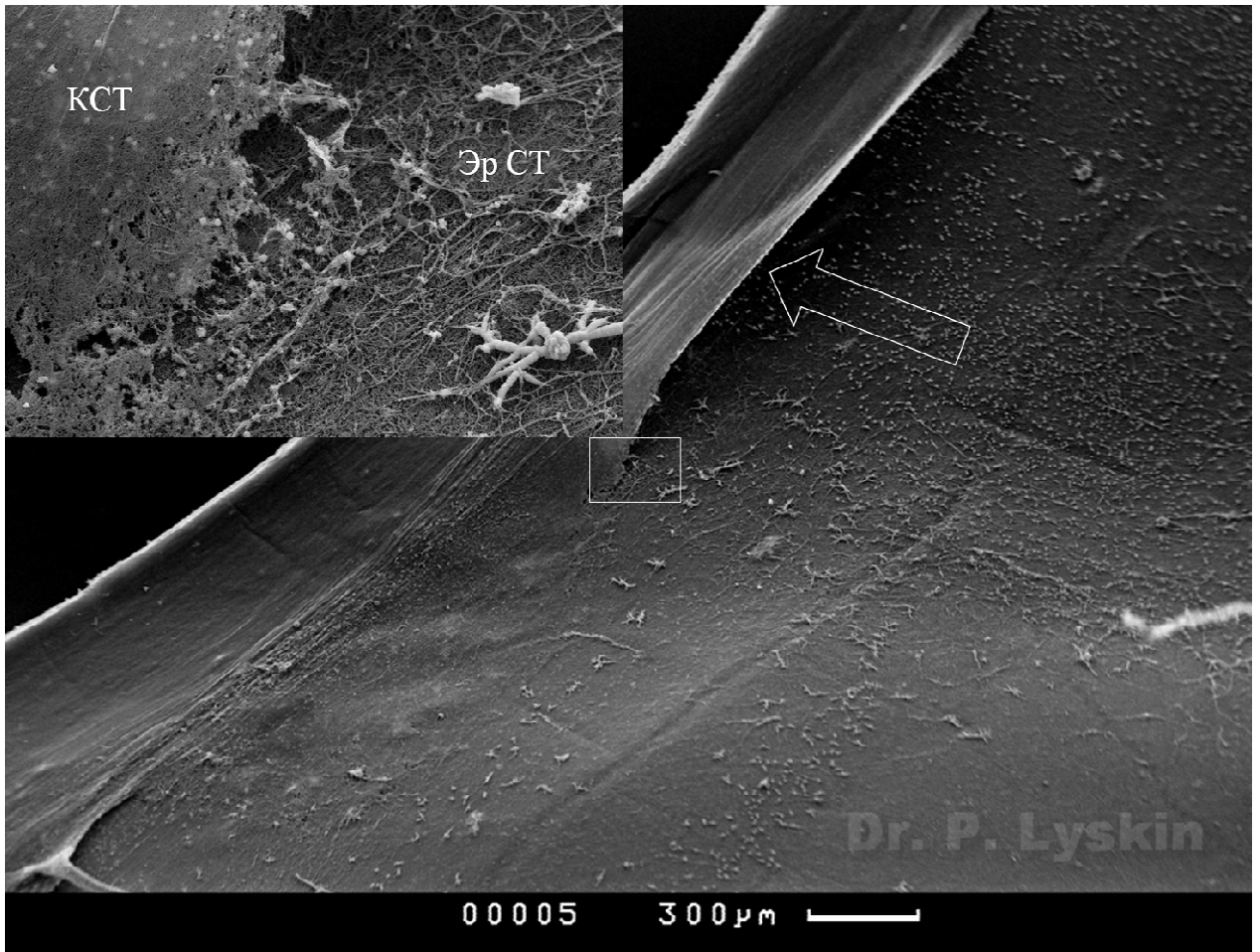
Результаты исследований – Препарат парацентральной области сетчатки человека

Фото сканирующей электронной микроскопии препарата парацентральной сетчатки, фронтальная проекция (см. Рисунки 3.7, 3.8).

При изготовлении препарата проводили неполное отделение кортикального СТ от поверхности сетчатки, после чего фиксацию препарата проводили так, чтобы граница между отделенным и неотделенным кортикальным СТ была доступна для последующего сканирования (Рисунок 3.7).

На общем плане – поверхность сетчатки, покрытая эпиретинальным СТ, на котором располагаются гиалоциты разнообразных форм и размеров. Кортикальное СТ частично осталось не удаленным (указано стрелкой). На поверхности эпиретинального СТ располагается большое количество клеток (правая часть фото). Часть клеток находится под «козырьком», образованным оставшимся не удаленным и частично отслоенным кортикальным СТ. На поверхности оставшегося кортикального СТ клетки отсутствуют. В нижней

левой части фото визуализируется меньшее число клеток, т. к. они находятся под слоем кортикального СТ, оставшегося поверх эпиретинального СТ.



«КСТ» – кортикальное СТ; «Эр Ст» – эпиретинальное СТ; стрелкой указано частично отделенное от эпиретинального СТ кортикальное СТ;

прямоугольником выделен увеличенный фрагмент в верхнем левом углу

Рисунок 3.7 – Глаз донора 32 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии поверхности сетчатки в области контакта кортикального и эпиретинального СТ. Фронтальная проекция. Общий план увеличение 53х, прямоугольником выделена область контакта кортикального СТ с эпиретинальным СТ, увеличение 340х (верхний левый угол)

При более крупном увеличении (см. Рисунок 3.7, верхняя левая часть фото) отчетливо видна поверхность эпиретинального СТ, на которой располагается звездчатая клетка, производящая новообразованные волокна СТ

(эпиретинальное СТ обозначено буквами «Эр СТ»). Волокна существенно большей толщины и длины образуют сеть, располагающуюся на поверхности эпиретинального СТ, состоящего из тонких и плотно упакованных волокон (нижняя правая часть фото). В верхней левой части фото виден кортикальный слой СТ, оставшийся неудаленным, и граница между эпиретинальным и кортикальным СТ (на фото кортикальное СТ обозначено буквами «КСТ»). Оставшееся неудаленным, кортикальное СТ образовано существенно более тонкими и плотно упакованными волокнами. Под кортикальным СТ просматриваются шаровидные гиалоциты.

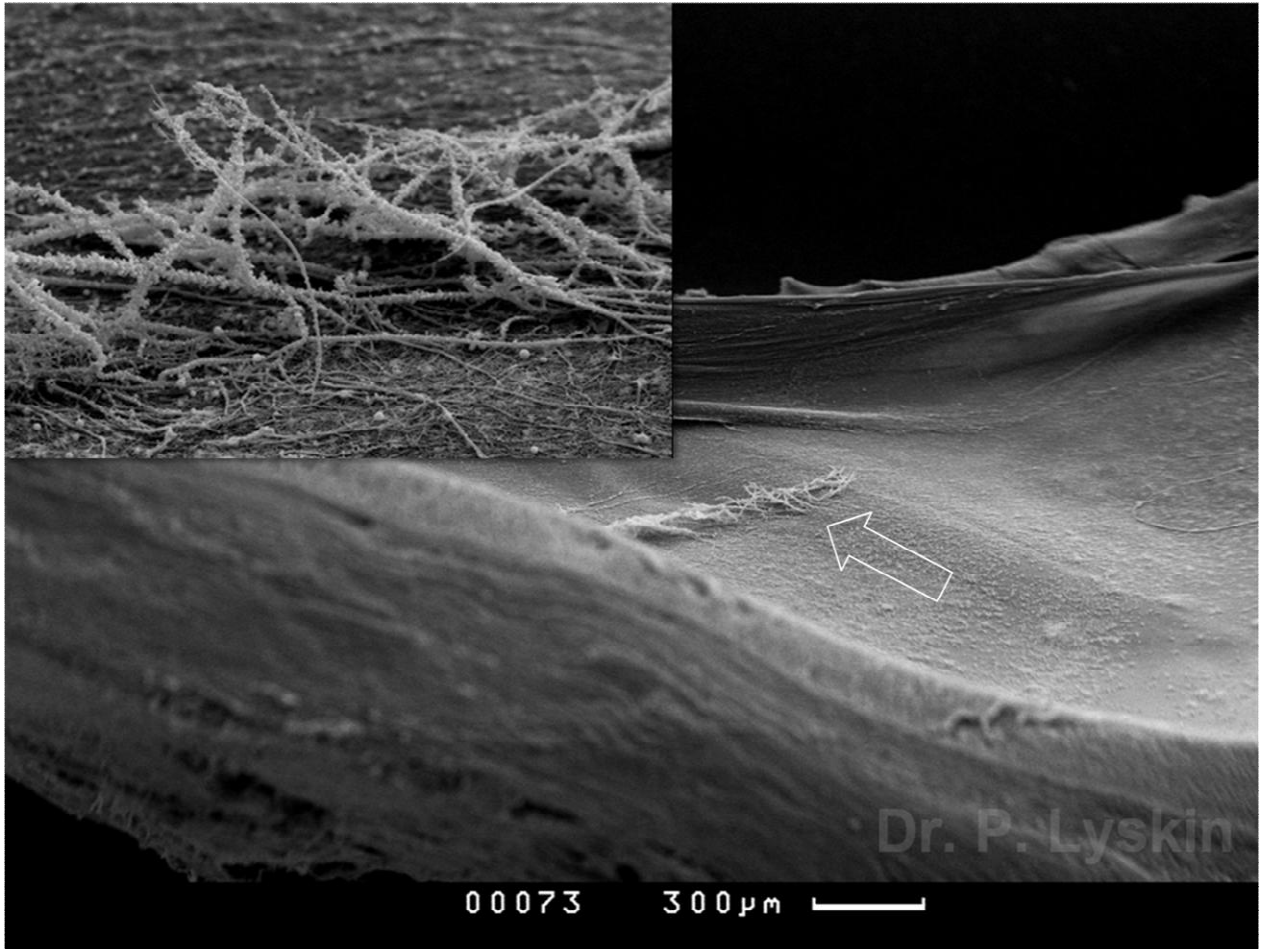
Выявленная в результате сканирования микроструктурная организация витреоретинального контакта может быть описана следующим образом: на поверхности ВПМ находится слой эпиретинального СТ, поверх которого располагается слой гиалоцитов, синтезирующих волокна СТ, которые формируют неплотно организованную сеть из длинных и толстых новообразованных волокон СТ. Поверх слоя гиалоцитов и сети новообразованных волокон СТ располагается кортикальное СТ, состоящее из тонких и более плотно организованных волокон.

При дальнейшем исследовании, на поверхности с эпиретинальным СТ выявлен фрагмент кортикального СТ, оставшийся на эпиретинальном СТ после отделения кортекса (Рисунок 3.8, фрагмент кортекса указан стрелкой).

Находка позволила выявить особенности микроструктурных пространственных взаимоотношений (на уровне волокон СТ) между эпиретинальным и кортикальным СТ. На фото с большим увеличением (см. Рисунок 3.8, верхняя левая часть фото) видна сеть из существенно более толстых и длинных волокон, располагающаяся поверх слоя из тонких, плотно организованных волокон, вплетающаяся в них, являясь их продолжением.

По мере перехода в зону кортикального СТ толщина волокон увеличивается. Волокна СТ имеют «рыхлую» пространственную организацию и имеют вид «покрытых инеем» или «жемчужных нитей» (признак новообразованных волокон СТ). Исходя из аксиомы обнаруженного

вплетения волокон в эфиретинальное СТ логичным будет утверждение, что новообразованные волокна эфиретинального СТ аналогичным образом вплетаются в кортикальное СТ, одновременно уменьшаясь в толщине и становясь более плотно организованными.



Фрагмент кортикального СТ, оставшегося на поверхности эфиретинального СТ, указан стрелкой

Рисунок 3.8 – Глаз донора 32 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии поверхности сетчатки в области контакта кортикального и эфиретинального СТ (близлежащий локус), аксиальная проекция.

Общий план увеличение 53x, верхний левый угол – увеличенное фото указанного стрелкой фрагмента, увеличение 340x

Наиболее вероятным объяснением выявления волокон СТ, напоминающих «жемчужные нити» или вид «покрытых инеем» представляется тезис о том, что эти утолщения образованы синтезированным гиалоцитами внеклеточным матриксом – протеогликанами, в том числе ламинином и фибронектином. Экстраполяция пространственной организации обнаруженного фрагмента на зону контакта между эпиретинальным и кортикальным СТ предполагает наличие между ними густо переплетенной сети из новообразованных волокон СТ с высоким содержанием протеогликанов, синтезированных фибробластами эпиретинального стекловидного тела. Сеть из новообразованных волокон СТ является границей между эпиретинальным и кортикальным СТ и обеспечивает их адгезию. Основываясь на анализе полученных результатов, стало возможным выделить следующие компоненты витреоретинального интерфейса: ВПМ, эпиретинальное СТ, гиалоциты эпиретинального СТ, синтезирующие сеть новообразованных волокон СТ, протеогликаны, кортикальное СТ.

Полученные данные дают основание предложить новую концепцию механизма ВРА: на поверхности сетчатки находится тонкий, 5-микронный слой эпиретинального СТ, синтезируемый гиалоцитами. Гиалоциты, находящиеся на поверхности эпиретинального СТ, синтезируют новообразованные волокна СТ, которые взаимно переплетаются с эпиретинальным и кортикальным СТ, обеспечивая тем самым ВРА. Эпиретинальное СТ постоянно обновляется гиалоцитами, производящими волокна СТ и, попутно, протеогликаны. Благодаря обилию фибробластов, их концентрация в эпиретинальном СТ поддерживается на высоком уровне и тем самым обеспечивает наиболее прочную адгезию между эпиретинальным СТ и сетчаткой. Контакт между эпиретинальным и кортикальным СТ опосредован сетью новообразованных волокон СТ, имеющих «рыхлую» пространственную организацию, что может обуславливать менее прочное соединение, и таким образом формирование ЗОСТ (либо интраоперационное отделение СТ) происходит по границе «рыхло» организованных волокон.

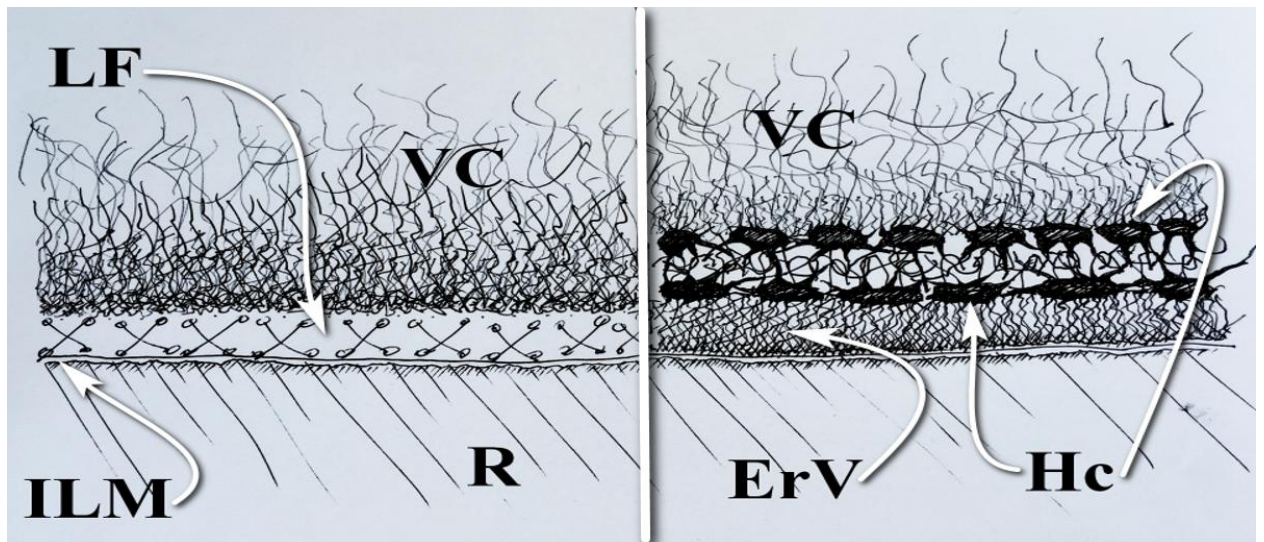
Предлагаемая концепция не противоречит ранее полученным данным о том, что в области витреоретинального контакта отмечается высокое содержание протеогликанов, ламинина и фибронектина. Это белковые адгезивные компоненты, производимые делящимися клетками, в данном случае – фибробластами. Ламинин и фибронектин таким образом являются следствием активной синтетической деятельности гиалоцитов, производящих коллагеновые волокна и попутные белки – протеогликаны, к которым относятся ламинин и фибронектин. Возрастное снижение концентрации ламинина и фибронектина считается причиной возникновения ЗОСТ. С учетом полученных новых данных причиной возникновения ЗОСТ с возрастом может быть апоптоз гиалоцитов эпиретинального СТ, приводящий к снижению и возможно прекращению синтеза новообразованных волокон СТ и ослаблению контакта между эпиретинальным и кортикальным СТ и соответственно к снижению концентрации ламинина и фибронектина. По новым данным, ЗОСТ может происходить по границе между эпиретинальным и кортикальным СТ, что также не противоречит уже имеющимся данным. Многочисленные работы приводят интраоперационные наблюдения, в которых описывается так называемое «резидуальное» СТ – тонкий слой СТ на поверхности сетчатки, интраоперационно обнаруживаемый на фоне уже произошедшей полной ЗОСТ, либо после произведенной субтотальной витрэктомии. Такого рода интраоперационные находки подтверждают наличие эпиретинального СТ.

По результатам исследований микроструктуры витреоретинального контакта глаза человека с применением сканирующей электронной микроскопии показано, что в макулярной области ВПМ наиболее тонкая, толщиной 0,25 мкм. В макулярной области она моноструктурна, без признаков пор и вплетения волокон СТ в ВПМ.

Изучена микроструктура витреоретинальных взаимоотношений центральной области сетчатки, клеточная микроструктура витреоретинального контакта. На поверхности сетчатки определен 5-

микронный слой «эпиретинального СТ», который более прочно соединен с поверхностью сетчатки, нежели с кортикальным СТ и остается на поверхности сетчатки после удаления основного СТ. Слой состоит из плотно упакованных волокон СТ и имеет свою микроструктуру. На поверхности эпиретинального СТ зарегистрирован монослой полиморфных клеток, форма которых варьирует от шарообразной до звездчатой, размер – от 3 до 90 мкм, плотность расположения – от 166 до 24468 на 1 мм², выявлено, что клетки на поверхности эпиретинального СТ производят новообразованные волокна СТ.

При изучении микроструктуры витреоретинальной адгезии выявлено, что адгезия между кортикальным СТ и сетчаткой происходит опосредованно через слой эпиретинального СТ, и обусловлена взаимным переплетением коллагеновых волокон кортикального и эпиретинального СТ, имеющих признаки новообразованного коллагена. Сопоставление традиционных представлений о механизме витреоретинального контакта и ВРА с вновь выявленными данными, полученными в результате исследований, представлено на Рисунке 3.9.



LF – ламинин, фибронектин; VC – кортикальное СТ; R – сетчатка;

ILM – ВЛМ; ErV – эпиретинальное СТ; Hc – гиалоциты

Рисунок 3.9 – Схематическое сравнение традиционных представлений (слева) о механизме витреоретинального контакта и ВРА с новыми данными (справа)

Таким образом, на основании полученных данных возможно предложить новое описание механизма ВРА. Витреоретинальная адгезия обеспечивается новообразованными волокнами СТ, синтезируемыми гиалоцитами эпиретинального СТ, при этом протеогликаны, в том числе ламинин и фибронектин, являются не основным, а вторичным адгезивным компонентом, являющимся следствием синтетической активности гиалоцитов. ЗОСТ происходит по границе между кортикальным и эпиретинальным СТ, т. к. эпиретинальное СТ имеет более прочное соединение с ВПМ, поэтому эпиретинальное СТ остается на поверхности сетчатки после ЗОСТ. Механизм возникновения ЗОСТ может быть обусловлен возрастным апоптозом гиалоцитов эпиретинального СТ, приводящим к постепенному прекращению синтеза новообразованных волокон СТ, обеспечивающих соединение и адгезию кортикального и эпиретинального СТ.

Результаты исследований показывают, что основным компонентом, обеспечивающим непосредственную ВРА, являются коллагеновые волокна СТ. При развитии ВМТ именно коллагеновые волокна СТ будут являться доминирующим компонентом в развитии патологического состояния. В этой связи очевидно обоснованным и перспективным является возможность воздействия коллагенолитическим ферментом на волокна СТ, обеспечивающие патологическую фиксацию СТ к сетчатке. Бактериальная коллагеназа отечественного производства может рассматриваться как оптимальный препарат для лечения ВМТ в российской практике.

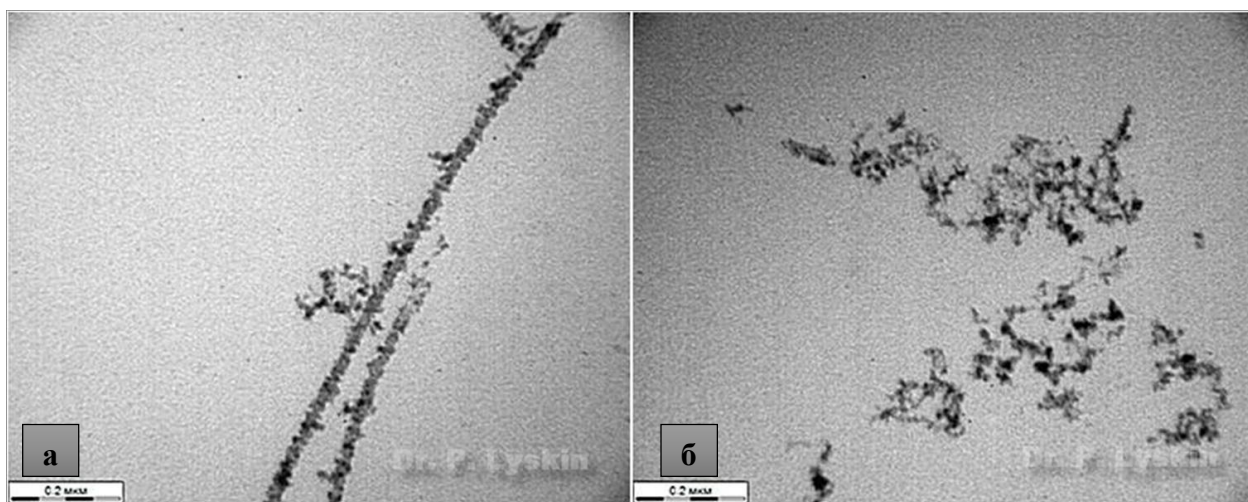
3.3. Воздействие бактериальной коллагеназы на структуры стекловидного тела и сетчатку

Исследование воздействия бактериальной коллагеназы на СТ и сетчатку необходимо для получения объективных исходных данных о воздействии фермента в аспекте его дальнейшего практического применения для лечения ВМТ. Для этого необходимо было изучить воздействие бактериальной

коллагеназы на отдельные фибриллы СТ, эпиретинальное СТ, ВПМ, интравитреальные структуры и ретинального пигментного эпителия (РПЭ).

3.3.1. Воздействие бактериальной коллагеназы на фибриллы стекловидного тела человека

Производили исследование воздействия бактериальной коллагеназы на отдельные фибриллы СТ с применением трансмиссионной электронной микроскопии. Получено изображение фибрилл нативного СТ (Рисунок 3.10).



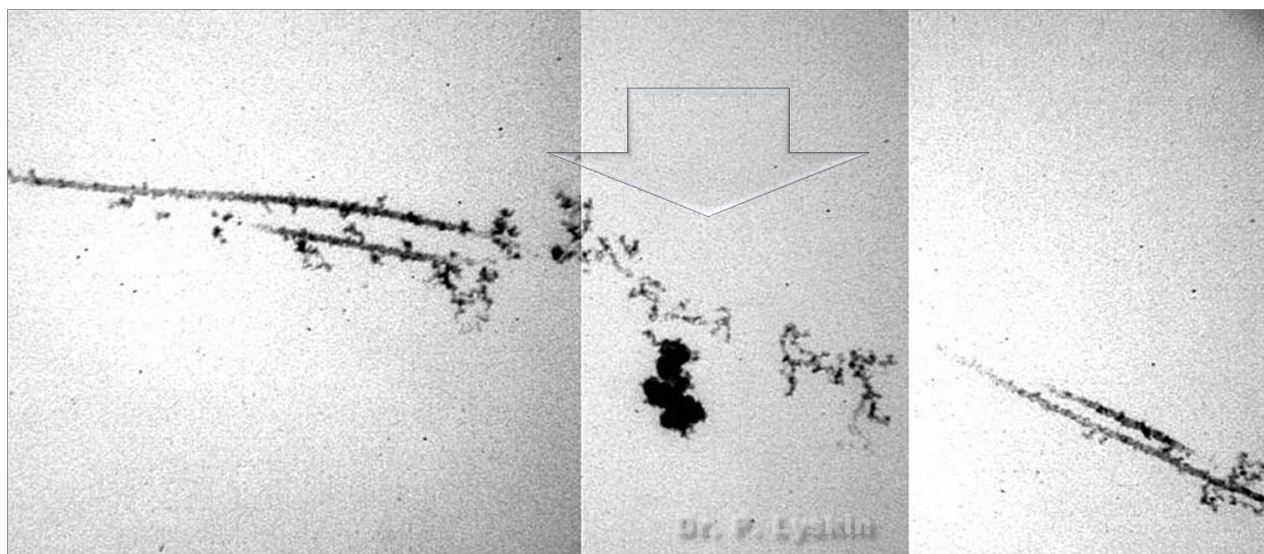
а – параллельно расположенные нормальные фибриллы нативного СТ человека; б – фибриллы после воздействия бактериальной коллагеназы

Рисунок 3.10 – СТ донора 40 лет. Фото трансмиссионной электронной микроскопии. Фибриллы СТ до (а) и после (б) воздействия коллагеназы, увеличение 75 000х

Нормальные фибриллы СТ человека имели характерную для коллагена поперечную исчерченность. Толщина фибрилл составила порядка 25 нм. В пределах полученного изображения они имели прямолинейную форму, параллельную ориентацию (Рисунок 3.10а). Воздействие коллагеназы вызывало полную деструкцию фибрилл СТ, до олигопептидных фрагментов. Фрагменты подвергшихся деструкции фибрилл СТ приобретали облаковидную форму с неравномерным распределением фрагментов

олигопептидов в нем (Рисунок 3.10б). Размер «облака» из фрагментов фибриллы СТ примерно в 15 раз превышал первоначальный диаметр фибриллы СТ.

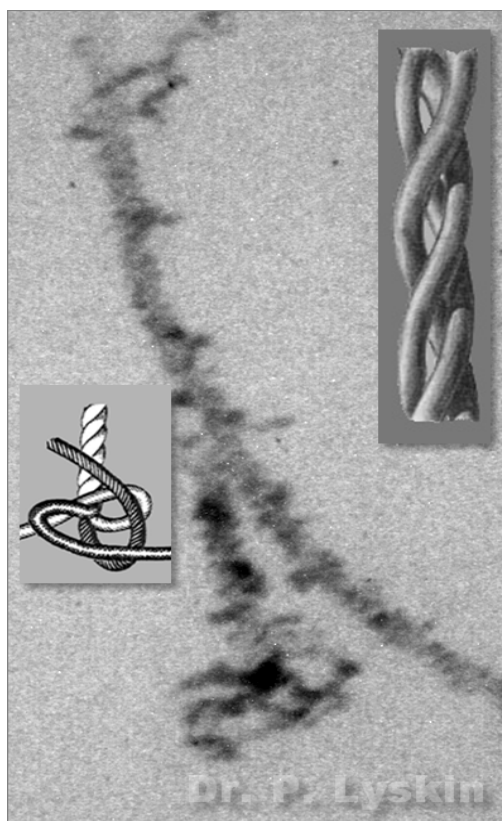
Зарегистрирован эффект «разрезания» коллагеновых фибрилл СТ при локальном воздействии фермента. Происходила деструкция фибрилл на фрагменты в зоне контакта с ферментом, соседние участки фибрилл оставались интактными (Рисунок 3.11). Данный эффект, возможно, связан с тем, что окружающая фибриллы СТ гиалуроновая кислота не позволила произойти контакту между ферментом и коллагеном фибрилл. Воздействие коллагеназы в первую очередь происходило с областью фибриллы не содержащей, либо содержащей «слабую оболочку» из гиалуроновой кислоты и связанной с ней воды. Зарегистрирована каплевидная агрегация продуктов деградации фибрилл СТ (Рисунок 3.11, средняя часть фото, обозначена стрелкой).



Область воздействия фермента на коллагеновые фибриллы СТ обозначена стрелкой

Рисунок 3.11 – СТ донора 40 лет. Фото трансмиссионной электронной микроскопии. Область коллагеновых фибрилл СТ с локальным воздействием коллагеназы, увеличение 37 500x

Выявлен эффект раскручивания тройной спирали коллагеновой фибриллы СТ под воздействием коллагеназы (Рисунок 3.12). Раскручивание коллагеновых фибрилл СТ регистрировали в единичных локусах исследуемых препаратов. В большинстве локусов исследуемых препаратов наблюдали деструкцию фибрилл до олигопептидных фрагментов.



Слева – схема раскручивания триплекса фибриллы,
справа сверху – схема коллагенового триплекса

Рисунок 3.12 – СТ донора 42 лет. Фото трансмиссионной электронной микроскопии. Раскручивание тройной спирали фибриллы СТ (нижняя часть фото), увеличение 187 000х

В результате экспериментальных исследований впервые показано воздействие бактериальной коллагеназы на фибриллы СТ человека на микроструктурном уровне. Объективным методом зарегистрирован эффект деструкции коллагеновых фибрилл до их фрагментов – олигопептидов. Зарегистрирован эффект раскручивания тройной спирали коллагеновой

фибриллы СТ. Выявлено, что деструкция коллагеновых фибрилл СТ происходит не последовательно (раскручивание спирали коллагеновой фибриллы и затем фрагментация), а параллельно, то есть раскручивание фибрилл может происходить одновременно с их деструкцией в соседних локусах. Обнаружен эффект каплевидной агрегации фрагментов разрушенных фибрилл СТ. Выявлено, что в результате локального воздействия коллагеназы оказывает эффект «разрезания» фибрилл СТ, что указывает на несплошное воздействие фермента. Такого рода специфическое локальное воздействие указывает на то, что коллагеназа, наиболее вероятно, в первую очередь воздействует на зоны фибрилл СТ с наименьшим содержанием гиалуроновой кислоты и связанной воды, которые защищают волокна СТ от воздействия фермента.

Воздействие бактериальной коллагеназы приводит к деструкции и разрушению отдельных коллагеновых фибрилл СТ человека. Бактериальная коллагеназа может быть использована в лечении витреоретинальной патологии, где требуется нехирургическое воздействие, вызывающее растворение волокон стекловидного тела, либо как дополнение к витрэктомии, для растворения неудаленного в процессе хирургического вмешательства СТ.

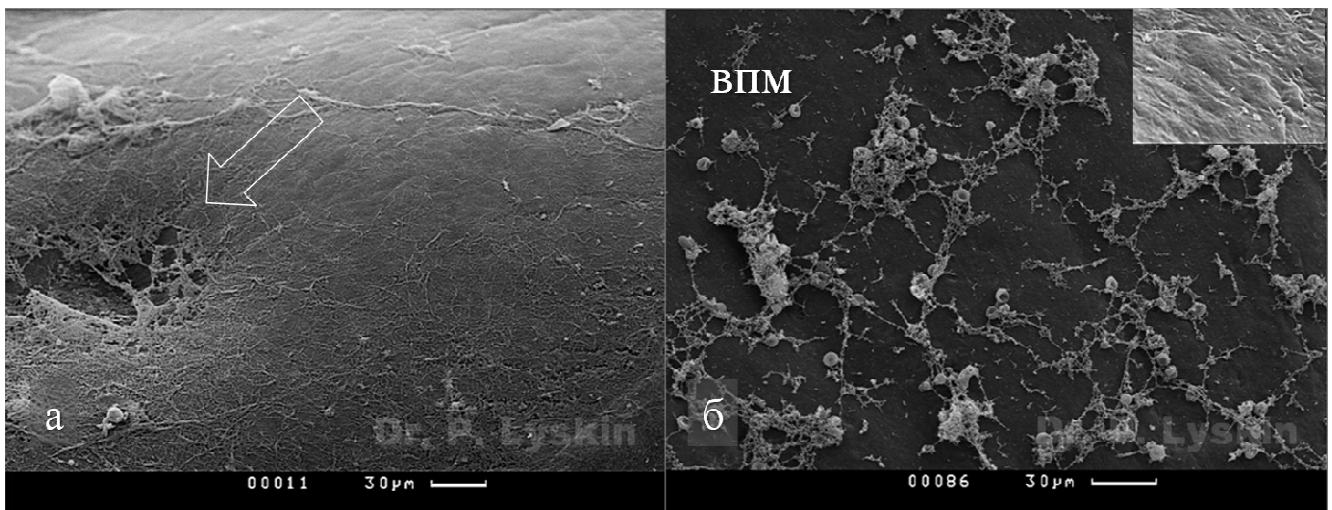
3.3.2. Воздействие коллагеназы на эпиретинальные структуры стекловидного тела

При изготовлении препаратов проводили предварительное препарирование. С поверхности сетчатки удаляли кортикальное СТ, препарат разделяли на две части, одна из которых использовалась в качестве контроля. Проводили исследование воздействия бактериальной коллагеназы на эпиретинальные структуры глаза человека.

В контрольном препарате, после удаления кортикального СТ, на поверхности сетчатки остался тонкий слой эпиретинального СТ. Эпиретинальное СТ образовано плотно переплетенными волокнами, оно

полностью покрывает ВПМ, которая под слоем эпиретинального СТ не просматривается (Рисунок 3.13а). Над фовеолой эпиретинальный слой СТ имеет разрежение в сравнении с близлежащей парафовеолярной областью (см. Рисунок 3.13а, фовеола указана стрелкой).

В исследуемом препарате наблюдается эффект воздействия коллагеназы на эпиретинальное СТ. Воздействие фермента вызвало неполное растворение и деструкцию эпиретинального СТ. Мембраноподобный монослой эпиретинального СТ полностью утратил свою первоначальную структуру. Произошла его полная микроструктурная дезорганизация, обширное обнажение поверхности ВПМ. Остатки эпиретинального СТ представляют собой участки локально агрегированного детрита в виде отдельных неплотно организованных фрагментов без признаков первоначальной микроструктурной организации (Рисунок 3.13б). Под воздействием коллагеназы эпиретинальное СТ приобрело «творожистую» структуру.



а – сетчатка, покрытая слоем эпиретинального СТ (контроль), стрелкой указана фовеола; б – после воздействия коллагеназы, «ВПМ» – поверхность ВПМ, в верхнем правом углу – фото интактной ВПМ

Рисунок 3.13 – Глаз донора 42 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии, фронтальная проекция, увеличение 280х. Поверхность сетчатки: а) контроль; б) поверхность сетчатки после воздействия

коллагеназы

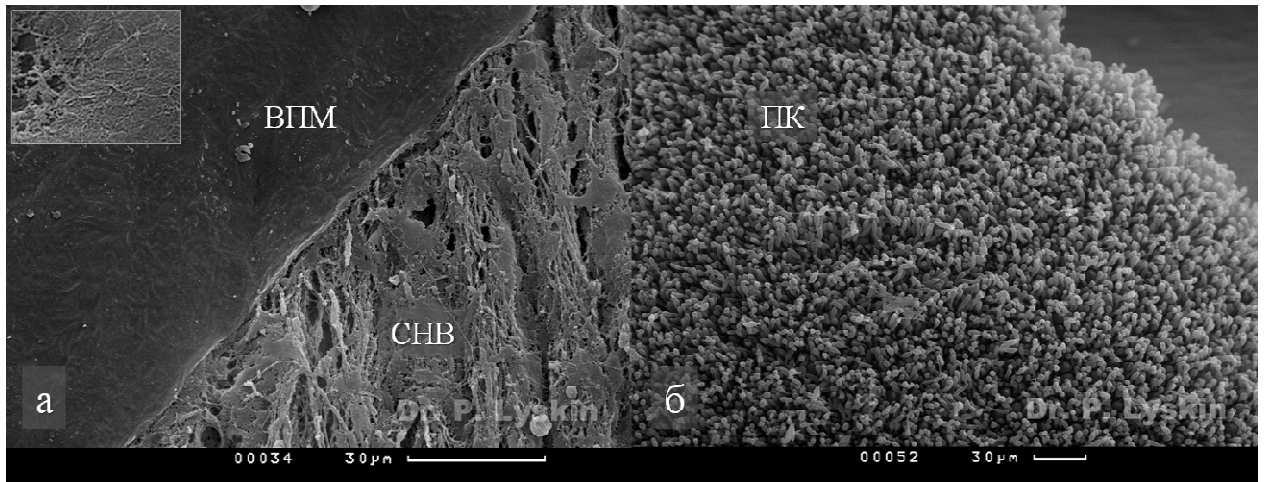
Экспериментальные исследования позволили объективными методами зарегистрировать эффекты воздействия бактериальной коллагеназы как на отдельные коллагеновые фибриллы СТ человека, так и на эпиретинальные структуры СТ, и показали возможность использования бактериальной коллагеназы для лизирующего воздействия на СТ человека в клинической практике.

3.3.3. Воздействие коллагеназы на интравитреальные структуры и ретикулярный пигментный эпителий

Исследование проводили с целью определения наличия или отсутствия протеолитического деструктивного воздействия бактериальной коллагеназы на микроструктурные компоненты сетчатки.

Исследование проводили на парных донорских глазах. Один глаз подвергали воздействию коллагеназы, парный служил в качестве контроля. Для сканирующей электронной микроскопии проводили препарирование центральной области сетчатки. Перед фиксацией отделяли сетчатку от пигментного слоя, изготавливали препарат сетчатки со стороны палочек и колбочек и препарат с пигментным слоем сетчатки.

Под воздействием коллагеназы произошло растворение слоя эпиретинального СТ на поверхности ВПМ, в слое нервных волокон, непосредственно под ВПМ, не обнаружено признаков деструкции и тканевой дезорганизации. Отличие исследуемого препарата от контроля заключается в отсутствии на поверхности сетчатки слоя эпиретинального СТ (Рисунок 3.14а). Тот же препарат с аналогичным увеличением, оппозитная часть – слой палочек и колбочек (Рисунок 3.14б). Признаков общей структурной дезорганизации слоя палочек и колбочек нет. Общий вид слоя палочек и колбочек также не имеет отличий от контроля. Фотографии препаратов выполнены с одинаковым увеличением.



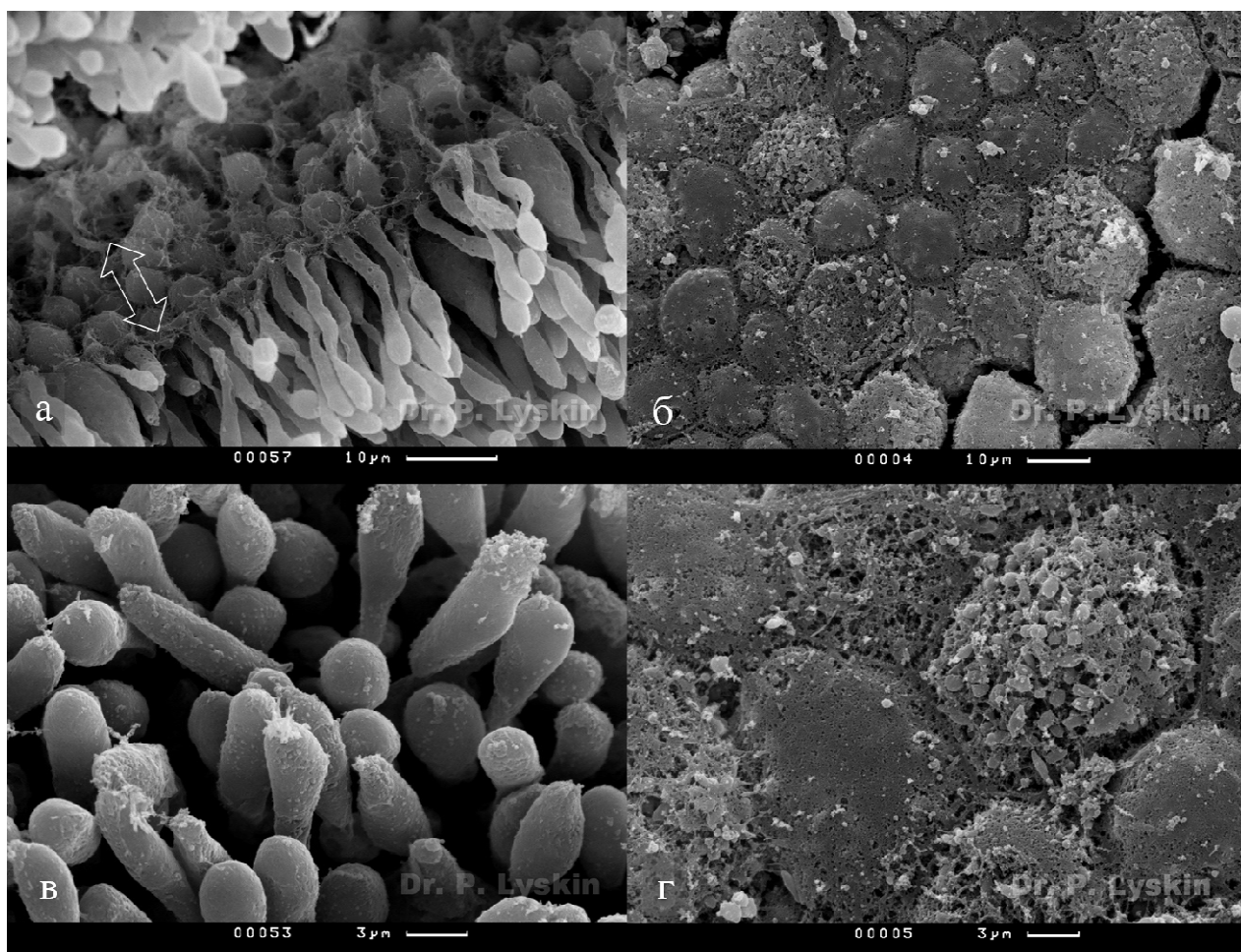
а – поверхность сетчатки после воздействия коллагеназы, ВПМ – поверхность ВПМ, СНВ – слой нервных волокон, в верхнем левом углу – фрагмент эпиретинального СТ в норме (контроль);

б – сетчатка со стороны палочек и колбочек (обозначено буквами «ПК»)

Рисунок 3.14 – Глаз донора 43 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии сетчатки после воздействия коллагеназы. Фронтальная проекция, увеличение 650х (а); 270х (б)

При более крупном увеличении палочки и колбочки фоторецепторов сетчатки без признаков протеолитического воздействия (Рисунок 3.15).

Длина палочек составляет приблизительно 20 мкм, колбочек – около 10 мкм. Толщина палочек приблизительно в 4 раза меньше толщины колбочек. Наибольшую толщину палочки имеют в области контакта с пигментными клетками – около 3 мкм, наименьшую – ближе к ядерному слою, толщина их составляет около 1,5 мкм. В отличие от множества приводимых схематических изображений палочек и колбочек, содержащих 1 ядро, на исследуемом препарате палочки имеют 3 ядра (Рисунок 3.15а). Обращает на себя внимание, что поверхность клеток фоторецепторного аппарата равномерная, однородная, равно как и их форма. Изменений в ядерном слое фоторецепторов также не отмечается (Рисунок 3.15а, в).



а, в – слой палочек и колбочек, ядерный слой обозначен двойной стрелкой;
 б, г – слой пигментных клеток (апикальная поверхность)

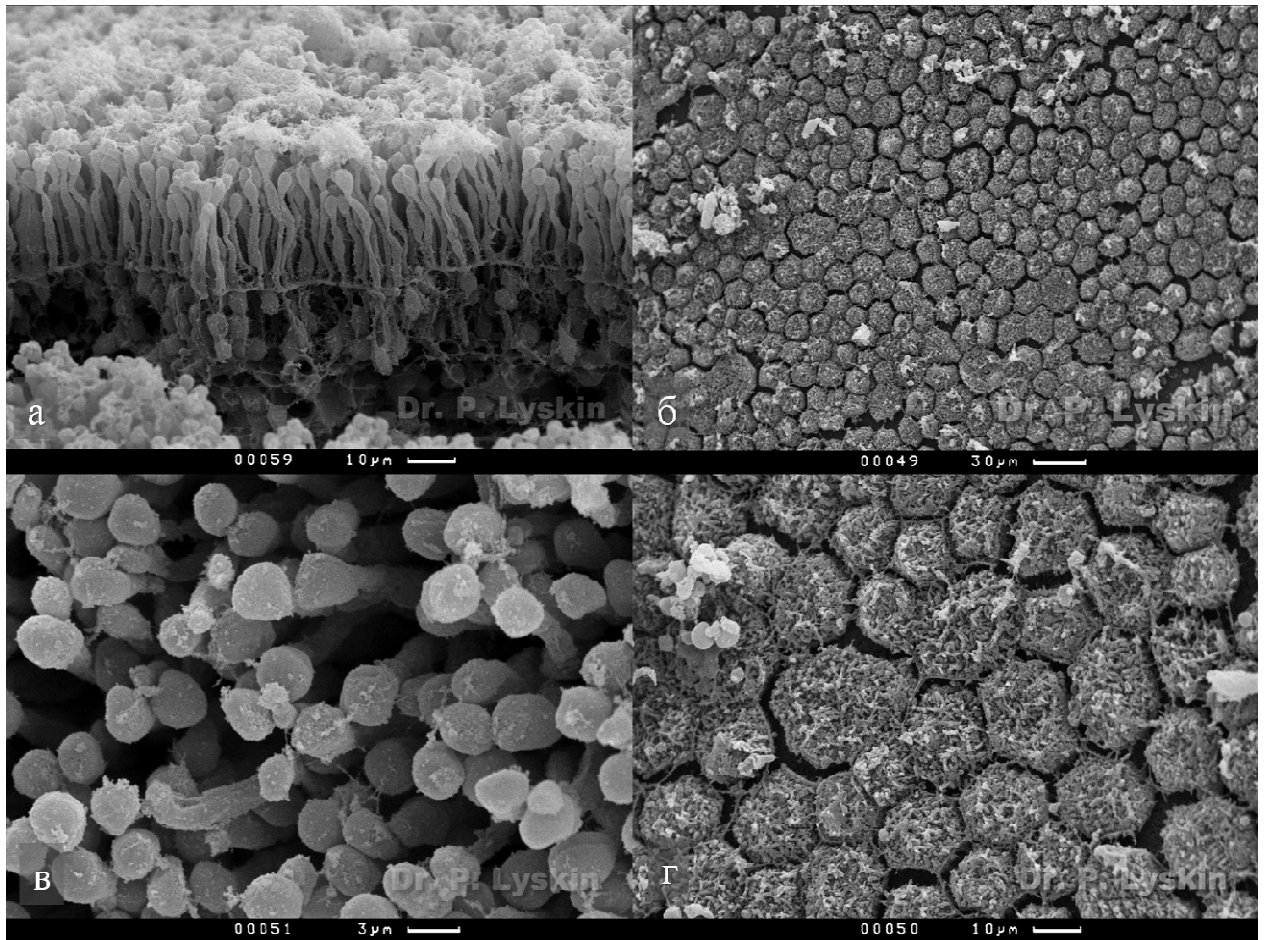
Рисунок 3.15 – Глаз донора 43 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии палочек и колбочек, пигментных клеток после воздействия коллагеназы. Аксиальная проекция (а), фронтальная проекция (б, в, г).

Возрастающее увеличение: 1100х (а, б); 2500х (в, г)

Внешний вид фоторецепторного аппарата не имеет отличий от контроля (Рисунок 3.16а, в).

Пигментные клетки округлые, имеют от 5 до 7 граней, преобладают клетки шестигранной формой, поперечный размер клеток колеблется от 8 до 30 мкм. (Рисунок 3.15б, г; 3.16б, г). В отдельных клетках наблюдается содержимое в виде гранул. В сравнении с контролем форма и поверхность клеток не изменена, клетки имеют одинаковую плотность расположения и не имеют видимых аномальных изменений (см. Рисунок 3.16б, г). Признаков

нарушений целостности, как в отдельных клеточных элементах, так и в общей тканевой микроархитектуре не наблюдается.



а, в – фоторецепторный слой; б, г – пигментные клетки (апикальная поверхность)

Рисунок 3.16 – Глаз донора 43 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии палочек и колбочек, пигментных клеток без предварительного воздействия коллагеназы (контроль). Аксиальная проекция (а), фронтальная проекция (б, в, г). Возрастающее увеличение 700х (а); 270х (б); 2500х (в); 700х (г)

При сравнении исследуемого и контрольного препаратов не выявлено очевидных различий в микроархитектуре фоторецепторного слоя сетчатки и в слое ретинального пигментного эпителия. Различия не выявлены, как на

отдельном клеточном уровне, так и на уровне тканевой микроструктурной структурной организации исследуемых объектов.

В результате экспериментального исследования показано, что бактериальная коллагеназа не оказывает видимого протеолитического деструктивного воздействия на интратетинальные структуры, в частности слой нервных волокон, нейросенсорный слой сетчатки и на слой ретинального пигментного эпителия. Экспериментально подтверждена узкая специфичная протеолитическая направленность бактериальной коллагеназы в аспекте ее интравитреального применения. Отсутствие признаков протеолитического повреждения во внутренних слоях сетчатки указывает на отсутствие так называемого диффузного протеолитического воздействия. Результаты экспериментального исследования подтверждают заявленную узкую специфическую протеолитическую направленность коллагеназы по отношению к коллагену, указывают на отсутствие в препарате сопутствующих балластных протеолитических ферментов, способных вызывать повреждение внутренних слоев сетчатки и ретинального пигментного эпителия.

3.4. Определение начальной пороговой коллагенолитической дозы и исследование цитотоксичности коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции

Определение начальной коллагенолитической дозы препарата и цитотоксичности коллагеназы важно с точки зрения определения степени потенциальной опасности токсического воздействия препарата в аспекте его практического применения. Чем больше разница между пороговой, эффективной дозой препарата и цитотоксической дозой, тем меньше степень опасности цитотоксического воздействия препарата. Для решения поставленной задачи необходимым было определить начальную дозу

коллагеназы и исследовать цитотоксичность коллагеназы в широком диапазоне дозы и экспозиции.

3.4.1. Определение начальной пороговой дозы коллагеназы и изменение эффекта воздействия в зависимости от дозы препарата

Исследование проводили с целью определения начальной пороговой дозы протеолитического воздействия бактериальной коллагеназы на фибриллы СТ в эпиретинальном слое СТ. Перед исследованием проводили предварительное препарирование. С поверхности сетчатки отделяли кортикальное СТ, после чего подвергали препарат воздействию бактериальной коллагеназы, фиксировали для последующей электронной микроскопии.

Фото сканирующей электронной микроскопии препарата после воздействия бактериальной коллагеназы. Фронтальная проекция (Рисунок 3.17).

После воздействия раствора коллагеназы в концентрации 1 КЕ на 1 мл с экспозицией в 20 мин не зарегистрировано явных изменений в структуре волокон эпиретинального СТ. Его структура осталась практически неизменной. Эпиретинальное СТ состояло из густо переплетенных длинных волокон, имело однородную организацию и структуру, вместе с этим зарегистрированы отдельные единичные каплевидные структуры на некоторых фибриллах СТ (Рисунок 3.17а). С учетом последующих выявленных изменений после увеличения дозировки, указанные изменения интерпретированы как начальное проявление воздействия коллагеназы.

После увеличения концентрации коллагеназы до 5 КЕ на 1 мл с экспозицией в 20 мин зарегистрированы следующие изменения в эпиретинальном СТ: отмечено увеличение числа каплевидных структур на фибриллах СТ, по толщине сравнимых с толщиной фибрилл. Изменений общей структуры волокон и плотности их организации не происходило (Рисунок 3.17б). Каплевидные структуры были интерпретированы как

капельвидная агрегация фрагментов фибрилл СТ под воздействием коллагеназы – начальные проявления лизиса коллагеновых структур под воздействием фермента.

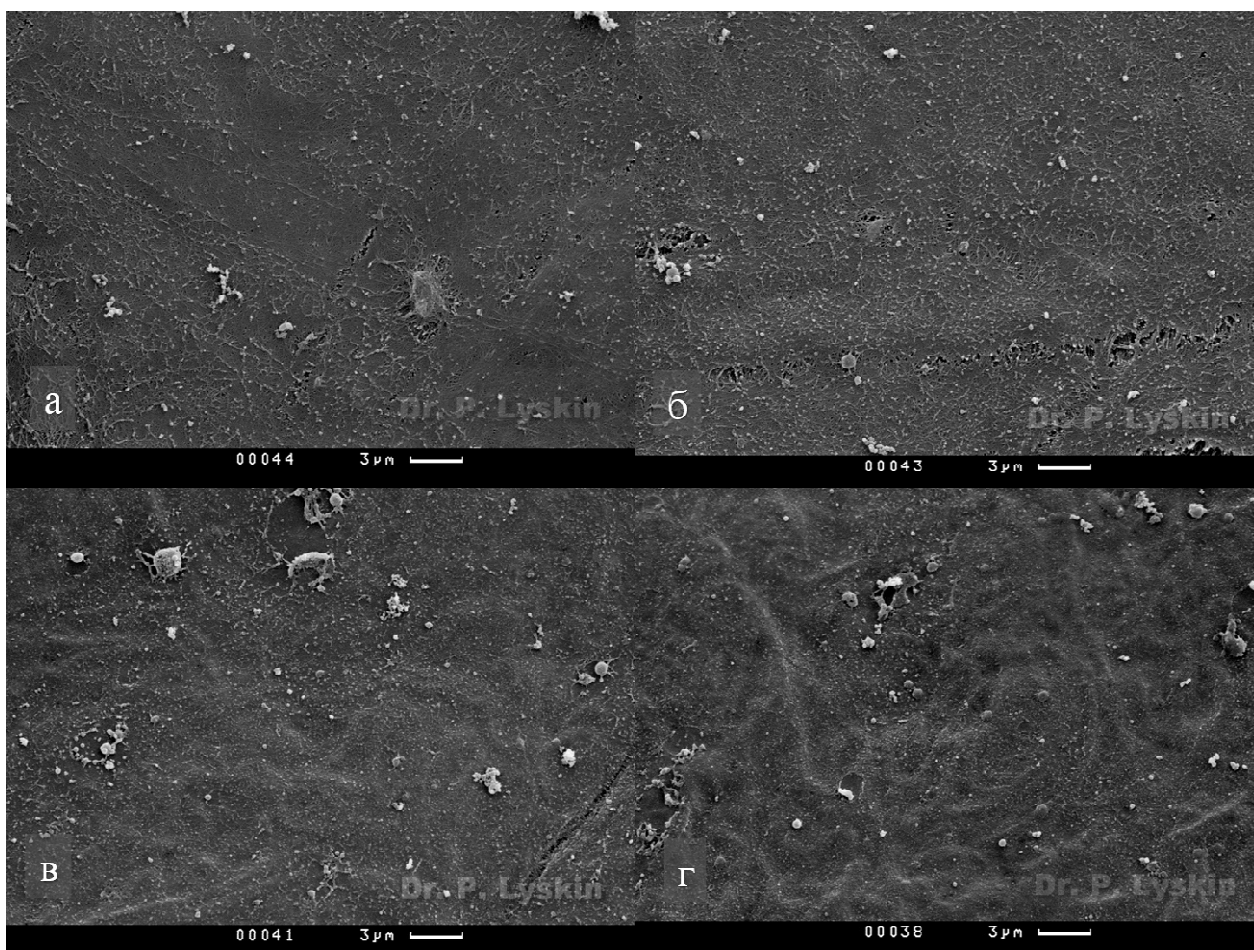


а – доза 1 КЕ на 1 мл, экспозиция 20 минут;

б – доза 5 КЕ на 1 мл, экспозиция 20 минут

Рисунок 3.17 – Глаз донора 45 лет. Фото сканирующей электронной микроскопии эпиретинального СТ после воздействия бактериальной коллагеназы в разных дозировках. Стрелками указаны капельвидные структуры на фибриллах СТ. Фронтальная проекция, увеличение 2700х (а); 5000х (б)

Последующее увеличение концентрации фермента до 15 КЕ и 30 КЕ с экспозицией 10 и 20 мин приводило к полной потере волокнистой структуры эпиретинального СТ, дальнейшему уменьшению его толщины и последующей полной структурной дезорганизации (Рисунок 3.18).



а – 15 КЕ 10 мин; б – 15 КЕ 20 мин; в – 30 КЕ 10 мин; г – 30 КЕ 20 мин

Рисунок 3.18 – Глаз донора 46 лет. Фото сканов эпиретинального СТ при увеличении концентрации фермента и экспозиции воздействия.

Фронтальная проекция, увеличение 2500х

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали, что ферментное воздействие на эпиретинальное СТ в дозе 1 КЕ на 1 мл с экспозицией в 20 минут вызывает минимальные видимые изменения в эпиретинальном СТ в виде формирования каплевидных структур на фибриллах СТ. Более заметные проявления воздействия в виде увеличения числа каплевидных структур на волокнах СТ выявляются при концентрации фермента в 5 КЕ на 1 мл и экспозиции 20 мин. Дальнейшее увеличение концентрации фермента и экспозиции воздействия приводили к прогрессирующим изменениям эпиретинального СТ вплоть до его полной дезорганизации. Начальная пороговая доза воздействия препарата

бактериальной коллагеназы «Коллализин» на эпиретинальное СТ при кратковременном воздействии составила 1 КЕ на 1 мл.

3.4.2. Результаты исследования цитотоксичности бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции на фармакокинетической модели доза-эффект зависимости в аспекте ее интравитреального применения

Протеолитический фермент бактериальной коллагеназы «Коллализин» – узко специфический коллагенолитический препарат отечественного производства. По результатам проведенных экспериментальных исследований показана очевидная перспектива его применения для лечения ВМТ. Ранее исследований цитотоксичности препарата в широком диапазоне дозы и экспозиции в аспекте интравитреального применения не производилось. Необходимо было изучить диапазон цитотоксичности препарата в зависимости от дозы и экспозиции, определить безопасную в аспекте цитотоксичности максимальную дозу и экспозицию препарата.

Для исследования цитотоксичности бактериальной коллагеназы была использована клеточная фармакокинетическая модель доза-эффект зависимости цитотоксической реакции. В исследовании решались следующие задачи: определение общего диапазона цитотоксичности препарата в аспекте изменения цитотоксичности в зависимости от дозы и экспозиции и определение безопасной пороговой дозы при максимальной экспозиции препарата.

Проведено исследование цитотоксичности препарата «Коллализин» производства Санкт-Петербургского НИИ вакцин и сывороток. Исследовались возрастающие дозы и экспозиция препарата для определения отношений «доза-реакция» на культуре фибробластов мыши линии НИН 3Т3. Исследования проведены на базе Института медико-биологических исследований и технологий АНО «Имбиит» в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993.5-99 Часть 5. «Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*».

Исследовалась цитотоксичность различных доз препарата: 5 КЕ/100 мкл (50 КЕ на 1 мл), 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ на 1 мл), 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ на 1 мл), 40 КЕ/100 мкл (400 КЕ на 1 мл), 60 КЕ/100 мкл (600 КЕ на 1 мл), 80 КЕ/100 мкл (800 КЕ на 1 мл), 120 КЕ/100 мкл (1200 КЕ на 1 мл) с возрастающим временем экспозиции 10 мин, 20 мин, 30 мин, 1 час, 3 часа, 24 часа.

Полученные результаты цитотоксической реакции культуры фибробластов мыши линии NIH 3T3 интерпретировали с использованием таблицы «Степень ответной реакции клеток» (Таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Степень ответной реакции клеток

Степень реакции	Реакция	Наблюдения	
0	Отсутствует	Единичные интрацитоплазматические гранулы	Нет лизиса
1	Незначительная	Не больше 20% клеток круглые, слабо прикрепленные, без интрацитоплазматических гранул	Лизис не больше 20%
2	Нерезкая	Не больше 50% клеток круглые, не имеющие интрацитоплазматических гранул	Лизис не больше 50%
3	Умеренная	Не больше 70% монослоя содержат круглые клетки	Лизис не больше 70%
4	Резкая	Практически полностью разрушенный монослой	Лизис больше 70%

Проведенные испытания показали, что концентрация препарата «Коллализин», не превышающая дозировку 15 КЕ в 100 мкл/лун (150 КЕ на 1 мл), в условиях данного эксперимента не оказывает цитотоксического действия на культуру фибробластов мыши линии NIH 3T3 даже через 24 ч инкубации. Через 5 и 10 мин после инкубации все исследуемые концентрации не оказывают цитотоксического действия на культуру фибробластов. Через 30 мин, 1 ч и 3 ч все концентрации препарата, начиная с дозировки 30 КЕ в 100 мкл/лун (300 КЕ на 1 мл) оказывают незначительное цитотоксическое

действие на фибробласты. Через 24 ч незначительное цитотоксическое действие сохраняется при концентрации 30 КЕ в 100 мкл/лун (300 КЕ на 1 мл). При концентрациях 40-120 КЕ в 100 мкл/лун (400-1200 КЕ на 1 мл) наблюдается нерезкая цитотоксичность (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Степень ответной реакции фибробластов мыши линии NIN 3T3 после контакта с различными концентрациями препарата «Коллализин»

Образец	15 КЕ/ 100 мкл	30 КЕ/ 100 мкл	40 КЕ/ 100 мкл	60 КЕ/ 100 мкл	80 КЕ/ 100 мкл	120 КЕ/ 100 мкл
5 мин	0	0	0	0	0	0
10 мин	0	0	0	0	0	0
30 мин	0	1	1	1	1	1
1 ч	0	1	1	1	1	1
3 ч	0	1	1	1	1	1
24 ч	0	1	2	2	2	2

Результаты исследований цитотоксичности препарата «Коллализин» на культуре фибробластов мыши в дозировке от 15 до 120 КЕ/100 мкл (от 150 до 1200 КЕ на 1 мл) указывают на умеренную цитотоксичность препарата при максимальной дозировке и экспозиции, что в целом положительно характеризует сам препарат с точки зрения его переносимости в аспекте потенциального токсического воздействия. График зависимости изменения концентрации и экспозиции от появления и нарастания эффектов негативного воздействия представлен на Рисунке 3.19.

При дозировке препарата 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ на 1 мл) и максимальной экспозиции не зарегистрировано признаков токсического воздействия.

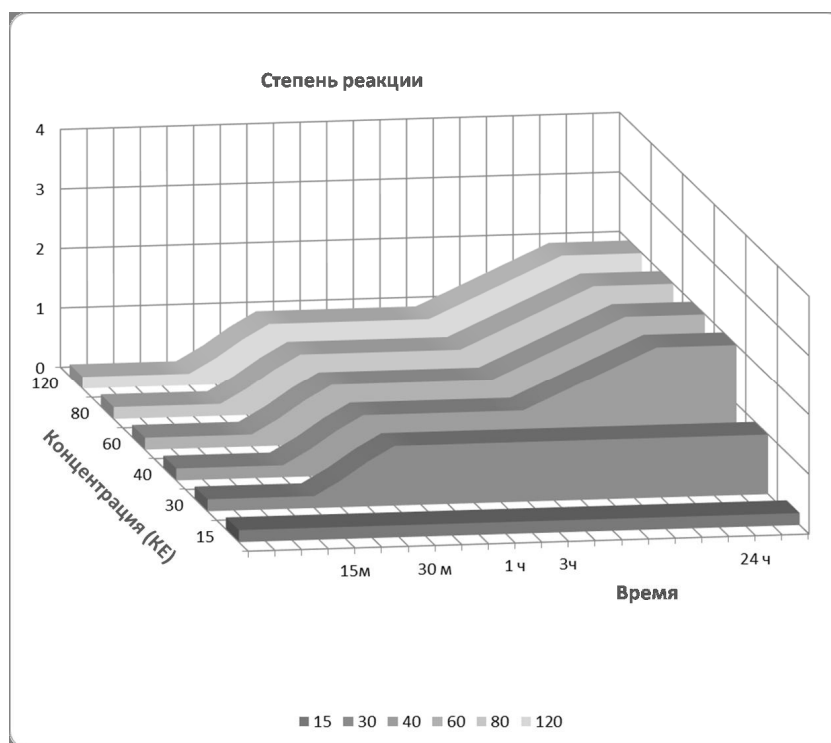


Рисунок 3.19 – Зависимость токсической реакции от дозы препарата и времени экспозиции

Концентрация, приводящая к появлению эффекта негативного воздействия в виде незначительной токсической реакции, зарегистрирована при дозе препарата 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ на 1 мл) и экспозиции 30 минут, без последующего нарастания токсической реакции со временем. Концентрация нарастания токсического эффекта от нулевой до нерезкой токсической реакции зарегистрирована при дозах препарата от 40 до 120 КЕ/100 мкл (от 400 до 1200 КЕ/1 мл). После 30-минутной экспозиции регистрировалась незначительная токсическая реакция, которая к 24 часам экспозиции возростала до нерезкой. Следует обратить дополнительное внимание, что при этом не происходило дальнейшего нарастания токсической реакции несмотря на увеличение дозы препарата от 40 к 120 КЕ/100 мкл (от 400 до 1200 КЕ на 1 мл) (см. Рисунок 4.10). Отсутствие прямой линейной зависимости от увеличения дозы препарата и степени ответной реакции клеток указывает на изначально низкую цитотоксичность коллагеназы.

Таким образом, фармакокинетическая модель доза-эффект зависимости цитотоксической реакции на препарат «Коллализин» показала полное отсутствие цитотоксичности при дозировке препарата 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл), нарастание цитотоксической реакции до незначительной при дозировке в 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ/1 мл), увеличение реакции до нерезкой при увеличении дозировки от 40 до 120 КЕ/100 мкл (от 400 до 1200 КЕ/1 мл) и отсутствие дальнейшего нарастания ответной клеточной реакции несмотря на увеличение дозы. Экстраполяция модели из условий *in vitro* в *in vivo* позволила прийти к заключению, что дозировка препарата до 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл) не несет в себе потенциальной опасности токсического воздействия на биологические ткани при максимальной экспозиции. Доза в 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ/1 мл) может оказать незначительное токсическое воздействие на окружающие ткани при условии максимальной экспозиции. Основываясь на результатах токсикологических исследований, можно заключить, что применение препарата в клинике, при условии максимальной экспозиции не несет в себе риска токсического воздействия препарата при его дозировке до 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл).

Результаты экспериментальных и токсикологических исследований отечественного препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин» в аспекте интравитреального применения показали следующее: препарат бактериальной коллагеназы способен растворять коллагеновые фибриллы СТ человека, оказывает лизирующее воздействие на эпиретинальное СТ. Исследования подтвердили высокую специфичность бактериальной коллагеназы, оказывающей воздействие только на коллагеновые структуры. Бактериальная коллагеназа не оказывает воздействия на интравитреальные структуры сетчатки (палочки и колбочки сетчатки, пигментный эпителий). Начальная пороговая доза воздействия препарата бактериальной коллагеназы на эпиретинальное СТ при кратковременной экспозиции в эксперименте составила 1 КЕ на 1 мл.

Объем СТ человека при нормальной длине глаза в среднем составляет 4 мл [144]. При экстраполяционном пересчете полученных данных о безопасной, нетоксичной дозе коллагеназы на объем витреальной полости нормального глаза безопасная, нетоксичная доза коллагеназы составляет 885 КЕ на объем витреальной полости при длительной экспозиции. По совокупности экспериментальных и токсикологических исследований коллагеназы дозировка препарата от 1 до 5 КЕ на витреальную полость находится далеко за пределами опасности токсического воздействия на ткани глаза, т. к. доза препарата в 5 КЕ 160 раз меньше безопасной токсической дозы и может рассматриваться, как ориентир для применения препарата в клинической практике для лечения ВМТ.

Глава 4. ТЕХНОЛОГИЯ МИКРОИНВАЗИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ И КЛИНИКО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПО РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Целью данной главы явилась разработка новой микроинвазивной технологии лечения ВМТ с применением препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства и изучение результатов клинического применения разработанной технологии.

Для достижения этой цели был поставлен ряд задач:

- разработать технологию микроинвазивного лечения ВМТ, заключающуюся в устранении ВМТ без применения традиционного эндовитреального вмешательства, предполагающего проведение трехпортовой витрэктомии, с применением отечественного коллагенолитического препарата бактериальной коллагеназы;
- изучить клинические, анатомические и функциональные результаты лечения ВМТ по разработанной технологии (основная группа);
- определить побочные эффекты и осложнения, развивающиеся после лечения ВМТ по разработанной технологии;
- определить показания и противопоказания к применению предложенного лечения;
- изучить клинические, анатомических и функциональные результаты лечения ВМТ с применением традиционного хирургического лечения в контрольной группе пациентов.

4.1. Разработка технологии атравматичного микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции

Целью данного раздела исследования явилась разработка отечественной технологии микроинвазивного лечения ВМТ, не требующей объемного хирургического вмешательства. Разрабатываемая технология должна отвечать следующим требованиям: она должна быть минимально инвазивна, достаточно проста для выполнения, легко воспроизводима, не требовать применения дополнительного оборудования и высокой хирургической квалификации от врача, может быть выполнена в любой минимально оборудованной операционной. Вместе с этим, разрабатываемая технология должна быть максимально безопасной в аспекте риска развития ятрогенных повреждений при ее применении. Немаловажным является доступность приспособлений для осуществления лечения и их низкая стоимость.

Проведенные экспериментальные исследования выявили, что бактериальная коллагеназа способна растворять коллагеновые фибриллы СТ человека и не воздействует на интравитреальные структуры – это подтвердило теоретическую возможность ее применения для устранения ВМТ.

Для интравитреального применения производителем рекомендована дозировка в 1 КЕ. Токсикологические исследования с использованием фармакокинетической модели доза-эффект зависимости цитотоксической реакции на препарат «Коллализин» показали полное отсутствие цитотоксичности при дозировке препарата 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл) при условии длительной экспозиции.

4.1.1. Технология лечения витреомакулярной тракции методом интравитреальной инъекции в центр стекловидного тела (доклиническое применение)

Наиболее простым и безопасным является метод введения лекарственного препарата в витреальную полость через склеральный прокол в проекции плоской части цилиарного тела. Чрезвычайно широко используют интравитреальное введение ингибиторов ангиогенеза, которые применяют для лечения возрастной макулярной дегенерации, диабетического макулярного отека, последствий венозных окклюзий. Для интравитреального введения препаратов общепризнанным стандартом является использование инъекционных игл калибра 30 G (диаметр иглы составляет 0,3 мм). В современной практике число интравитреальных инъекций, получаемых одним пациентом, исчисляется десятками. Ятрогенное повреждение хрусталика, ввод лекарственного вещества под сетчатку или хориоидею, встречаются только в тех случаях, когда была допущена ошибка позиционирования иглы, т.е. нарушена технология проведения хирургической манипуляции.

Современный опыт интравитреальных инъекций очевидным образом демонстрирует безопасность применения инъекционной иглы калибра 30 G. Иглы этого калибра широко представлены на отечественном медицинском рынке, что и повлияло на выбор инъекционной иглы именно этого калибра. Выбор модели шприца требовал наличия возможности точно дозировать объем вводимого препарата. Учитывая, что инъекция лекарственного вещества производится в замкнутую витреальную полость, объем вводимого препарата не должен превышать 0,1 мл, т. к. инъекция приводит к кратковременному повышению внутриглазного давления. «Инсулиновый» шприц объемом 1,0 мл наиболее подходит для выполнения процедуры, т. к. его градуировка позволяет производить точный набор лекарственного препарата в малых объемах 0,05-0,2 мл.

Моделирование технологии введения бактериальной коллагеназы.

Одной из технологических задач явилась разработка способа гарантированного доставления препарата к макулярной области сетчатки, с минимальной ятрогенной опасностью, т. к. адресное доставление препарата способствует наиболее эффективному воздействию лекарственного вещества на патологический процесс.

Была использована примитивная теоретическая модель. На основании общепринятых анатомических параметров, глаз может быть представлен, как сфера диаметром 23,5-24,0 мм. В этом случае оптимальной будет игла длиной 12 мм. При условии введения в витреальную полость на всю длину в направлении геометрического центра сферы, острие иглы будет располагаться в центре глаза не ближе 12 мм от поверхности сетчатки и над поверхностью макулярной области (Рисунок 4.1), что минимизирует риск ятрогенного повреждения того участка сетчатки, в сторону которого направлено острие иглы. Направление иглы в геометрический центр сферы предполагает ее перпендикулярное расположение по отношению к склере.

На практике точному позиционированию иглы может способствовать медикаментозный мидриаз. В этом случае острие иглы должно располагаться ниже хрусталика в центральной оптической оси глаза. Такое положение иглы гарантирует расположение ее острия над макулярной областью (Рисунок 4.2). Это возможно при соблюдении двух простых условий – перпендикулярном расположении шприца к поверхности глаза и расположении острия иглы в проекции оптической оси, что обеспечит правильное положение иглы и соответственно доставку препарата в макулярную область.

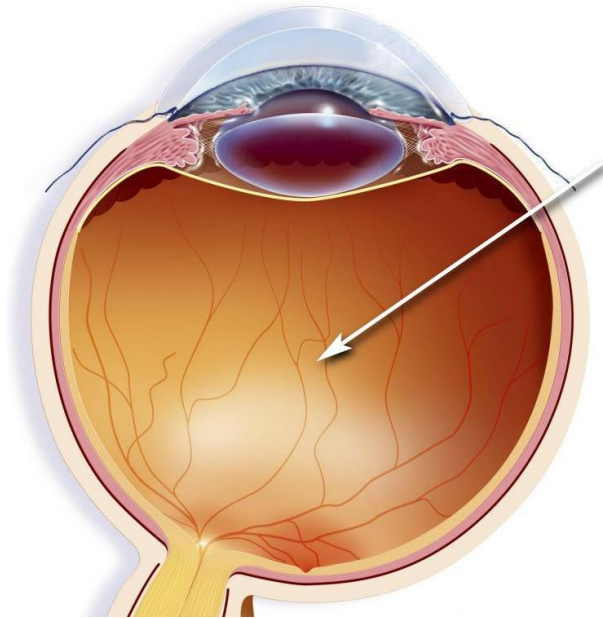


Рисунок 4.1 – Моделирование положения острия инъекционной иглы в витреальной полости, введенной на глубину 12 мм перед введением раствора коллагеназы при правильном позиционировании (указано стрелкой)

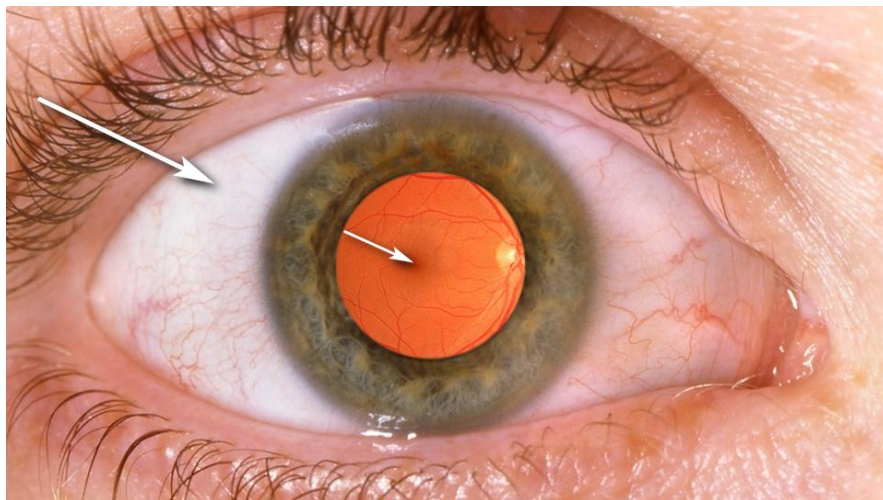


Рисунок 4.2 – Моделирование положения иглы над макулярной областью в ретролентальном пространстве относительно центральной оптической оси глаза (фотомонтаж)

Техника проведения инъекции

Введение препарата производится через прокол склеры в проекции плоской части цилиарного тела на расстоянии 3-4 мм в верхненаружном сегменте между 10 и 11 часами. Верхненаружный сегмент является наиболее оптимальным и наиболее удобным для позиционирования и правильного расположения инъекционной иглы. В этой области отсутствует сухожильная часть мышечного глазодвигательного аппарата, височная сторона наиболее удобна с точки зрения проведения манипуляций. Данная область не окружена выступающими частями скелета орбиты и поэтому наиболее приемлема для выполнения инъекции.

Расположение острия инъекционной иглы над макулярной областью примерно в 12 мм от нее позволяет не только точно доставить лекарственное вещество, но и вызывает некоторое его «рассеивание» по макулярной области. В процессе введения раствора препарата он, под действием силы тяжести, медленно опускается в макулярную область, при этом подвергаясь «рассеиванию» и частичному смешиванию с внутриглазной жидкостью при движении к поверхности сетчатки.

Следует обратить особое внимание на то, что введение раствора должно производиться медленно для исключения формирования струи при инъекции. Струйное введение приведет к попаданию раствора в парамакулярную область, что может снизить эффективность лечения. Для того чтобы избежать интра- и постинъекционных осложнений, связанных с техническим выполнением процедуры, обязательным условием является точное соблюдение технологии проведения инъекции, приводимой ниже (Рисунок 4.3).

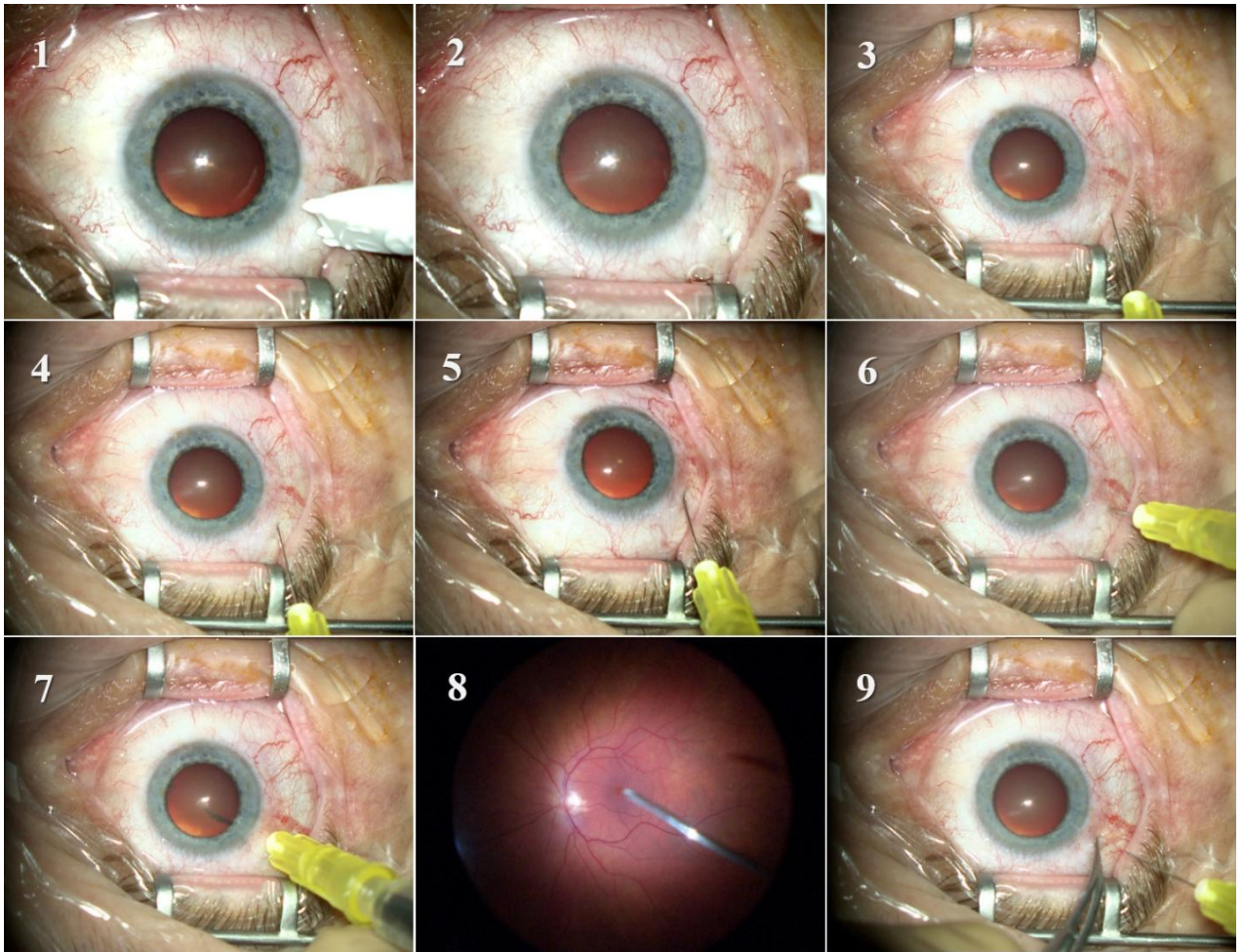


Рисунок 4.3 – Этапы процедуры инъекции интравитреального введения раствора бактериальной коллагеназы

Примечание: положение иглы в витреальной полости (фото 8) смоделировано во время проведения витреоретинального хирургического вмешательства, произведенного по поводу эпиретинального фиброза.

Разметка места инъекции. Производится аппланация циркуля или разметчика по краю роговицы, дистальная часть инструмента слегка прижимается через конъюнктиву к склере на 2-3 секунды. На факичном глазу отметка производится в 4 мм от лимба, на артифактном – в 3 мм (Рисунок 4.3.1). На поверхности формируется хорошо видимая отметка, которая бесследно исчезает через 20-30 секунд (Рисунок 4.3.2).

Смещение конъюнктивы над местом инъекции. В 3 мм дистальнее отметки места инъекции на конъюнктиву накладывается срез иглы, без прокола конъюнктивы (Рисунок 4.3.3). Слегка придавливаемая срезом иглы

конъюнктива смещается иглой к отметке на склере (Рисунок 4.3.4). Смещение конъюнктивы может быть произведено конъюнктивальным пинцетом.

Формирование туннельного двухходового канала. Под острым углом к поверхности склеры производится вкол инъекционной иглы на глубину 5 мм (Рисунок 4.3.5), после чего производится разворот иглы перпендикулярно поверхности склеры в направлении геометрического центра глаза (Рисунок 4.3.6) с последующим введением иглы на всю длину (Рисунок 4.3.7). Формирование туннельного двухходового канала производится с целью улучшения самогерметизации инъекционного канала после извлечения иглы.

Позиционирование иглы. Производится для обеспечения оптимального положения острия иглы в витреальной полости. Обязательным условием правильного позиционирования иглы является обеспечение горизонтального положения глаза на операционном столе. Для этого используется усилие, прилагаемое иглой к склере. Для позиционирования возможно дополнительное использование конъюнктивального пинцета. Ориентиром могут служить радужка и зрачок пациента. При правильном позиционировании зрачок будет правильной круглой формы, радужка равномерного диаметра. При удержании горизонтального положения глаза и перпендикулярного положения иглы к поверхности склеры, острие иглы позиционируется в центре зрачка (см. Рисунок 4.3.7). Правильное позиционирование иглы обеспечивает положение ее острия точно над макулярной областью сетчатки (Рисунок 4.3.8).

Проведение инъекции. Введение раствора препарата производится медленно для исключения формирования инъекционной струи в витреальной полости и неточной доставки препарата. В процессе введения препарата строго соблюдается правильная горизонтальная позиция глаза и положение острия иглы в центре проекции зрачка.

Извлечение иглы. Производится перпендикулярно поверхности склеры, в процессе извлечения иглы, на склеру накладывается конъюнктивальный пинцет, охватывая иглу. При извлечении иглы браншами

пинцета слегка защипывается, придавливается место инъекции и удерживается около 1 минуты (Рисунок 4.3.9). Данный прием позволяет исключить обратный ток жидкости из инъекционного канала.

В доклиническом применении для лечения ВМТ методом инъекции препарата в центр витреальной полости использована доза препарата 1 КЕ в 0,2 мл сбалансированного солевого раствора. Раствор приготавливается в операционной непосредственно перед проведением инъекции.

Описание процедуры инъекции

Перед началом лечения, согласно инструкции по применению препарата, проводили аллергологическую пробу на переносимость бактериальной коллагеназы: субконъюнктивально вводили 1 КЕ препарата с оценкой результата через 48 часов.

За 1 день до интравитреальной инъекции назначается четырехкратная инстиляция пиклоксидина в конъюнктивальную полость с целью профилактики инфекционного конъюнктивита.

Непосредственно перед процедурой интравитреального введения коллагеназы проводится местная анестезия трехкратным закапыванием в конъюнктивальную полость 0,5% раствора алкаина с промежутком 5 минут.

Пациент укладывается на операционный стол, производится 2-кратная обработка операционного поля марлевым шариком, смоченным в 0,5% растворе хлоргексидина.

В конъюнктивальную полость инстиллируется 0,005% раствор антисептика пиклоксидина (Витабакт™) или повидон-ИОД 5% (Иодофтал™).

Для дополнительной эпibuльбарной анестезии в конъюнктивальный мешок инстиллируется 0,5% раствор местного анестетика проксиметакаина (Алкаин™) или 0,4% раствор оксибупрокаина (Инокаин™).

Операционное поле накрывается стерильной офтальмологической салфеткой с карманом и липким слоем «Здравмедтех-М» (Россия).

Для расширения и удержания век открытыми накладывается металлический блефаростат.

В проекции плоской части цилиарного тела в 4 мм от лимба в верхне-наружном квадранте производится интравитреальная инъекция.

Интравитреальная инъекция производится иглой калибром 30G, длиной 12 мм. Предварительно раствор для инъекции приготавливается с использованием сбалансированного солевого раствора BSS (Balanced Salt Solution) производства Bausch+Lomb (Ирландия).

В завершении процедуры производится субконъюнктивальная инъекция 0,4% 0,3 мл Sol. Dexasoni и последующее наложение монокулярной асептической повязки. Пациенту рекомендуется в течение 30 минут находиться в горизонтальном положении лежа на спине.

Разработанная технология атравматичного микроинвазивного лечения ВМТ с применением препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства заключается в инъекционном введении в витреальную полость высоко специфического коллагенолитического препарата отечественного производства, разрешенного для интравитреального применения.

После медикаментозного мидриаза, местной капельной анестезии и стандартной обработки операционного поля с наложением стерильной салфетки на операционное поле и блефаростата на веки производится интравитреальная инъекция 0,2 мл раствора, содержащего 1 КЕ отечественного препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин».

Инъекция производится в верхненаружном сегменте с использованием иглы калибра 30 G, длиной 12 мм и проводится по сложной траектории. Конъюнктива смещается над местом инъекции, выполняется прокол склеры под острым углом на глубину 5 мм, после чего производится разворот иглы перпендикулярно поверхности склеры в направлении геометрического центра глаза с последующим введением иглы на всю длину и позиционированием ее острия в центральной оптической оси глаза. Затем выполняется медленное

введение раствора препарата, обеспечивающее его ламинарное истечение в витреальную полость.

Игла извлекается перпендикулярно склере с одновременным зажимыванием и придавливанием к склере в месте инъекции бранш конъюнктивного пинцета на 1 минуту. После проведенной инъекции пациенту на несколько дней назначаются капельные инстилляции антибактериальных препаратов.

Введенный препарат оказывает коллагенолитическое воздействие на коллагеновые формации в области патологической витреоретинальной фиксации, в результате чего происходит устранение ВМТ. Лечебный эффект оценивается через 1 месяц с применением метода ОКТ.

Разработанная технология минимально инвазивна, т.к. травмирующий компонент ограничивается проколом склеры иглой калибра 30 G, не требует применения высоко технологического хирургического оборудования, может быть выполнена хирургом начального профессионального уровня, требует минимального оснащения операционной и позволяет исключить проведение дорогостоящего высокотехнологического хирургического вмешательства, исключая при этом риск развития осложнений, свойственных витреоретинальным вмешательствам.

Разработанная технология введения показала свою безопасность в доклиническом исследовании на небольшой группе пациентов, которые не вошли в основное клиническое исследование. Однако эффективность лечения при таком способе введения препарата была недостаточной при использовании рекомендованной производителем дозировки, поэтому применение разработанной технологии может быть рассмотрено как перспективное при изменении производителем дозировки препарата для интравитреального применения в сторону увеличения. Доклиническое исследование показало недостаточную эффективность применения коллагеназы в дозе 1 КЕ при инъекционном введении в центр витреальной полости. Для клинического применения разработана технология,

позволяющая получить необходимый результат с использованием дозы препарата, рекомендованной производителем для интравитреального введения в 1 КЕ. Технология приводится ниже.

4.1.2. Технология лечения витреомакулярной тракции методом однопортового интравитреального введения препарата в фовеолярную область макулы

Задачей явилась модификация разработанной технологии лечения ВМТ с интравитреальным введением бактериальной коллагеназы, позволяющей без изменения рекомендованных производителем дозировки и способа введения препарата добиться эффективного лечения ВМТ. Для интравитреального применения производителем рекомендовано введение 1 КЕ препарата, растворенного в 0,2 мл физиологического раствора.

Моделирование технологии введения бактериальной коллагеназы в фовеолярную область

За основу была взята ранее разработанная технология интравитреального введения раствора коллагеназы в центр витреальной полости, в которой в момент введения препарата острие инъекционной иглы располагается в геометрическом центре витреальной полости. После медленного введения раствора, содержащего 1 КЕ коллагеназы, происходит его движение к макулярной области. Введенный раствор преодолевает расстояние в 12 мм до сетчатки. По мере движения раствора коллагеназы к сетчатке происходит его частичное смешивание с внутриглазной жидкостью и частичное рассеивание на пути следования и соответственно, некоторое снижение его концентрации на пути движения. Следовательно, концентрация действующего вещества на единицу поверхности сетчатки будет ниже в сравнении с его концентрацией у среза иглы в момент введения раствора препарата в центр витреальной полости (см. Рисунок 4.1).

Задачей разрабатываемой технологии является создание максимально эффективной концентрации препарата в зоне фиксации СТ к фовеа при использовании дозы в 1 КЕ. Выполнение данной задачи невозможно при введении раствора препарата в центр витреальной полости. Необходимым условием является обеспечение максимальной эффективности воздействия при применении рекомендованной производителем дозировки в 1 КЕ. Создание необходимых условий возможно при доставке раствора препарата непосредственно в область, где необходимо его воздействие, для чего требуется сократить дистанцию между источником введения препарата и областью воздействия до минимально возможной – 0,3-0,5 мм. Сокращение дистанции повышает риск ятрогенного повреждения сетчатки, поэтому следующим условием выполнения вмешательства является учет этого фактора.

На теоретической модели средних анатомических параметров нормального глаза при длине глаза 23,5-24,0 мм определено, что длина инъекционной иглы должна составлять не менее 30 мм. Диаметр инъекционных игл длиной более 30 мм начинается с 0,6 мм (калибр 23 G). Наличие острия иглы повышает риск ятрогенных повреждений при приближении к сетчатке и не позволяет сократить дистанцию при введении препарата до минимальной. Наиболее предпочтительно применение канюли, вводимой через предварительно устанавливаемый порт калибра 27 G. Для проведения процедуры выбрана канюля диаметром 0,3 мм, длиной 40 мм, с силиконовым кончиком.

Моделирование процедуры введения препарата показано на Рисунке 4.4. Наличие силиконового кончика снижает риск ятрогенных повреждений сетчатки при случайном прикосновении к ней. Порт 27 калибра оснащен силиконовым клапаном, позволяющим при необходимости деликатно и контролируемо дренировать интравитреальную жидкую часть СТ для предварительного снижения ВГД. Сокращение дистанции, при сохранении прежней дозировки препарата практически исключает его смешивание с

внутриглазной жидкостью по достижении им зоны воздействия и дополнительно увеличивает точность доставки действующего фермента к области фиксации СТ к макуле и соответственно эффективность воздействия.

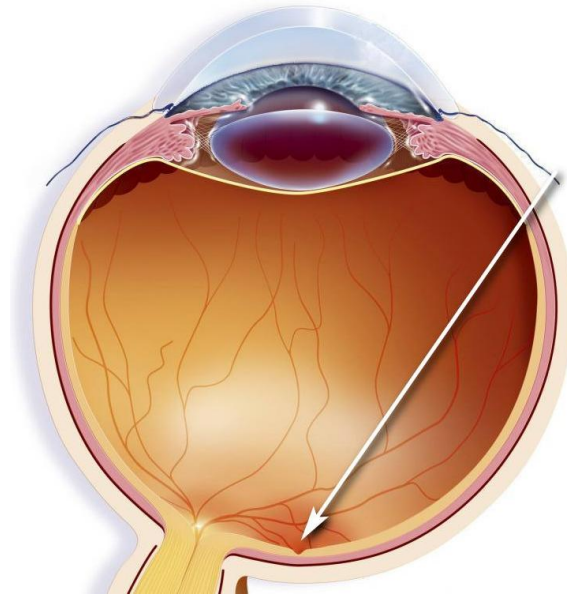


Рисунок 4.4 – Моделирование положения канюли, введенной в витреальную полость и расположенной в фовеолярной области перед введением раствора коллагеназы (указано стрелкой)

Манипуляции в непосредственной близости к макулярной области повышают риск ятрогенного повреждения наиболее оптически значимой области сетчатки. Одним из основных условий применения технологии является обеспечение безопасности ее применения, исключение риска ятрогенных повреждений сетчатки в процессе проведения манипуляции. Для этого необходима максимально качественная визуализация при выполнении вмешательства, что невозможно без достаточного освещения, традиционно обеспечиваемого эндоосветителем, вводимым через дополнительный установленный порт. Использование эндоосветителя предполагает нанесение дополнительной травмы при установке второго порта для введения эндоиллюминатора.

Исключить необходимость в установке второго порта для эндоосветителя позволяет применение микроскопа OMS-800 (Topcon, Япония), оснащенного системами визуализации OFFISS (Optical Fiber-free Intravitreal Surgery System). Система визуализации OFFISS позволяет обеспечить высокое качество освещения и интраоперационной визуализации витреальной полости и центральной сетчатки без введения дополнительного эндоосветителя через дополнительный порт. Возможность получения необходимого увеличения и соответственного качественного изображения макулярной области сетчатки позволяет выполнять манипуляции в непосредственной близости к ней, что отвечает всем условиям безопасности и минимизирует риск ятрогенного воздействия на сетчатку в процессе проведения вмешательства. Проведение процедуры может быть выполнено витреоретинальным хирургом, имеющим необходимые навыки и опыт более сложных витреоретинальных вмешательств.

Основываясь на выше указанных предпосылках и теоретическом моделировании, разработана технология однопортового интравитреального введения бактериальной коллагеназы непосредственно в фовеолярную область макулы для практического применения. Описание разработанной технологии приводится ниже (Рисунок 4.5).

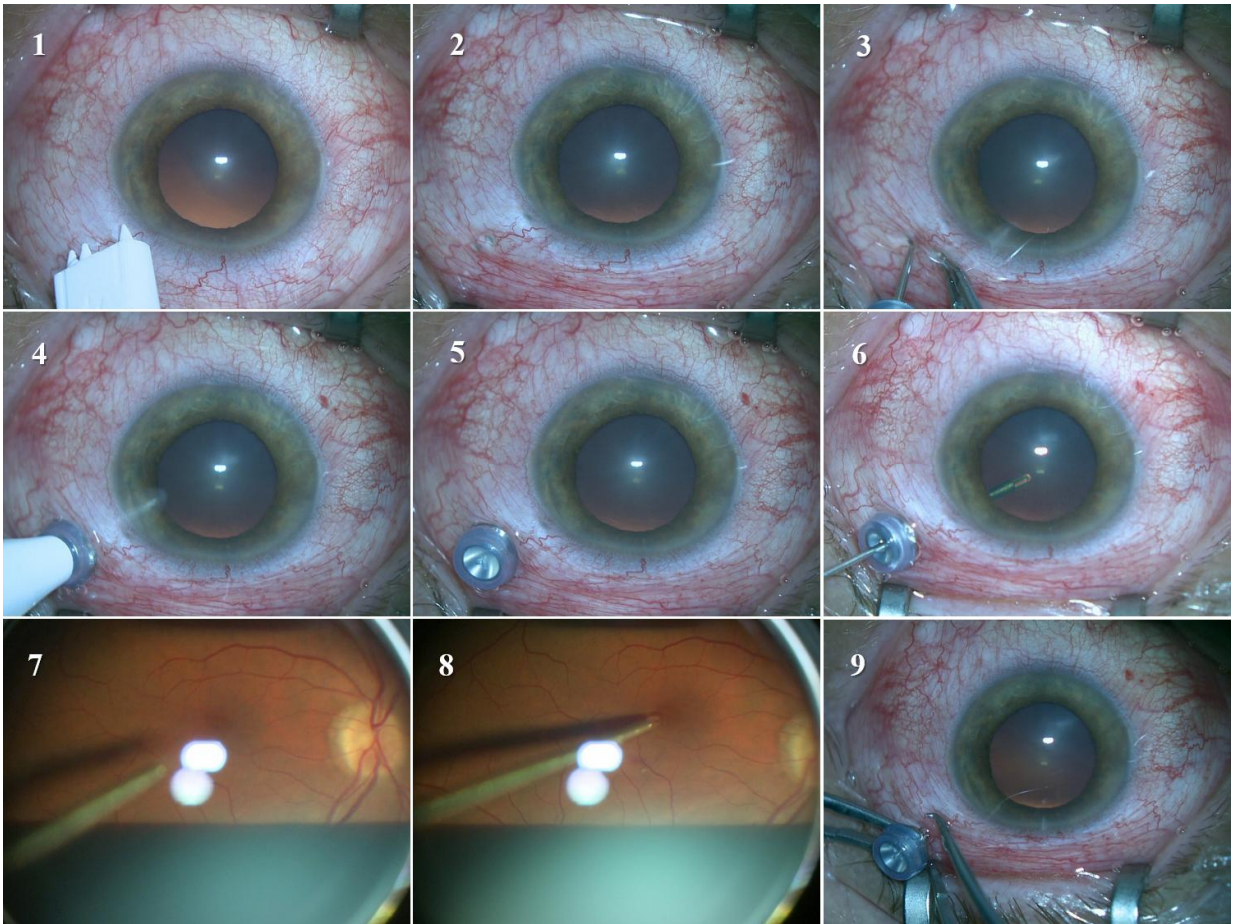


Рисунок 4.5 – Этапы однопортового интравитреального введения раствора бактериальной коллагеназы в фовеолярную область макулы

Разметка места инъекции. Производится аппланация циркуля или разметчика по краю роговицы, дистальная часть инструмента слегка прижимается через конъюнктиву к склере на 2-3 секунды. На факичном глазу отметка производится в 4 мм от лимба, на артифакчном – в 3 мм (Рисунок 4.5.1). На поверхности формируется хорошо видимая отметка, которая бесследно исчезает через 20-30 секунд (Рисунок 4.5.2).

Смещение конъюнктивы над местом инъекции. В 3 мм дистальнее отметки места инъекции конъюнктура смещается в сторону роговицы пинцетом (Рисунок 4.5.3).

Формирование туннельного двухходового канала. Под острым углом к поверхности склеры производится вкол стилета до уровня начала порта (см. Рисунок 4.5.3), после чего производится позиционирование порта

перпендикулярно склере и установка порта на всю глубину (Рисунок 4.5.4). Извлечение стилета производится перпендикулярно склере (Рисунок 4.5.5). Наличие силиконового клапана исключает неконтролируемое истечение внутриглазной жидкости из порта. Формирование туннельного двухходового канала производится с целью улучшения самогерметизации инъекционного канала после извлечения порта.

Для предупреждения повышения ВГД вследствие введения раствора коллагеназы в витреальную полость создается предварительная дозированная гипотония. Силиконовый клапан слегка приоткрывается браншей конъюнктивального пинцета, что приводит к медленному истечению жидкой части СТ через порт. При необходимости возможно использование инъекционной иглы калибра 30 G. По достижении требуемой гипотонии производится следующий этап.

Позиционирование канюли в ретролентальном пространстве. Через порт в витреальную полость вводится канюля с силиконовым кончиком, одетая на шприц, содержащий раствор коллагеназы. Канюля позиционируется в ретролентальном пространстве на расстоянии 5-7 мм от задней поверхности хрусталика по центру (Рисунок 4.5.6). Позиционирование канюли в ретролентальном пространстве исключает ятрогенное воздействия на интраокулярные структуры глаза.

Позиционирование канюли в витреальной полости. После расположения канюли в ретролентальном пространстве ассистент опускает над роговицей систему визуализации OFFISS. Канюля располагается в 5-7 мм от поверхности макулы (Рисунок 4.5.7). Одновременно с помощью педали производится настройка максимально качественного интраоперационного изображения по резкости освещению и увеличению.

Позиционирование канюли в фовеолярной области макулы и введение препарата. После настройки максимально комфортного для хирурга изображения канюля медленно подводится непосредственно к фовеа на расстояние 0,5-0,3 мм (масштабным ориентиром служит диаметр канюли).

После расположения кончика канюли над фовеа производится медленное введение раствора фермента, обеспечивающее ламинарное истечение раствора препарата и сосредоточение его преимущественно в фовеолярной области (Рисунок 4.5.8). Кончик канюли отводится от фовеа на расстояние около 12 мм и располагается в центре витреальной полости.

Извлечение канюли и порта. После позиционирования канюли в центре витреальной полости канюля извлекается из порта перпендикулярно склере. Система визуализации OFFISS поднимается. Производится извлечение порта с одновременным защипыванием склеры в области его входа браншами конъюнктивального пинцета на 60 секунд (Рисунок 4.5.9). Данный прием позволяет исключить обратный ток жидкости из инъекционного канала во время его адаптации и самогерметизации под воздействием тканевого тургора склеры.

После извлечения порта пациенту рекомендовалось находиться в положении лежа на спине в течение 30 минут.

Медикаментозное пособие при проведении манипуляций аналогично пособию, изложенному выше в описании технологии лечения ВМТ методом интравитреальной инъекции в центр стекловидного тела (доклиническое применение).

Технология лечения ВМТ методом однопортового интравитреального введения препарата в фовеолярную область макулы позволяет добиться максимально эффективной концентрации препарата в зоне витреомакулярной тракции при использовании дозировки в 1 КЕ, рекомендованной производителем для интравитреального применения, хотя является более сложной в исполнении и требует наличия специализированного оборудования. Разработанная технология соответствует рекомендациям, данным производителем по дозировке препарата для интравитреального применения. Технология лечения была применена для лечения в основной клинической группе.

Тактика ведения пациентов в раннем и отдаленном послеоперационном периоде

В течение семи дней пациентам рекомендовали пятикратные инстилляции витабакта в конъюнктивальную полость. Контрольный осмотр пациентов проводили на первый, третий и седьмой дни после процедуры. Производили осмотр за щелевой лампой. Оценивали состояние конъюнктивы, передних отделов глаза: роговицы, передней камеры глаза, состояние иридо-хрусталиковой диафрагмы, наличие признаков воспалительной реакции, прозрачность витреальной полости. Выполняли офтальмоскопию глазного дна, оценивая состояние сетчатки. Проводили опрос пациента для выявления жалоб и субъективных ощущений. При наличии признаков воспалительной реакции назначали четырехкратные инстилляции в конъюнктивальную полость раствора стероидных противовоспалительных препаратов в комбинации с антибиотиком широкого спектра действия (Тобрадекс™) на 3-4 дня с последующим плавным снижением дозы и нестероидные противовоспалительные препараты (0,1% раствор непафенака или 0,1% раствор диклофенака) по 1 капле 3 раза в день в течение 7 дней. В единичных случаях возникновения иридо-хрусталиковой спайки дополнительно назначались 4-кратные инстилляzioni мидриатика (Мидримакс™) на 2-3 дня. Назначаемое лечение позволило во всех случаях купировать воспалительный процесс.

Результат лечения оценивали не ранее чем через 1 месяц после инъекции. Пациентам рекомендовали ежемесячное динамическое наблюдение в течение 6 месяцев, далее наблюдение 1 раз в 6-12 месяцев. При отсутствии результата в течение 3 месяцев пациентам проводили стандартное эндовитреоретинальное вмешательство. При сохранении ВМТ без макулярного отверстия производили факоемульсификацию хрусталика в случаях факических глаз, субтотальную витрэктомию с устранением ВМТ и ЭРМ в случае их наличия. При сопутствующем макулярном отверстии хирургическое вмешательство дополняли необходимыми манипуляциями.

4.2. Анализ клинико-функциональных результатов лечения витреомакулярной тракции по разработанной технологии микроинвазивного лечения с использованием бактериальной коллагеназы отечественного производства

В основную группу исследования вошло 65 случаев ВМТ, которая сочеталась с сопутствующими патологическими компонентами: МО, ЭРФ. В этой связи в основной группе были сформированы три анализируемые подгруппы: О1 – изолированная ВМТ; О2 – ВМТ, сочетанная с МО; О3 – ВМТ, сочетанная с сопутствующим ЭРФ. В связи с неоднородностью случаев в исследуемой группе оценка эффективности лечения проводилась как в общей группе в целом, так и в отдельных подгруппах.

Анализ клинических результатов проводили по следующим критериям: устранение ВМТ, излечение пациента, изменение остроты зрения, побочные эффекты и осложнения. Показатели, не выходящие за пределы средних нормальных значений, подробному анализу не подвергали.

4.2.1. Характеристика пациентов основной группы

Основная группа в целом

В основную группу вошло 65 случаев ВМТ, из них в 3 случаях (4,6%) в течение трех месяцев после установления диагноза и динамического наблюдения произошло самопроизвольное разрешение тракции с восстановлением макулярного профиля. Указанные случаи вошли в общую группу пациентов.

Возраст пациентов варьировал от 44 до 83 лет и в среднем составил $66,7 \pm 7,5$ лет. Из них 63 женщины, 2 мужчин. ПЗО глаза варьировала от 19,90 до 24,98 мм. Распределение пациентов по длине глаза представлено на Рисунке 4.6.

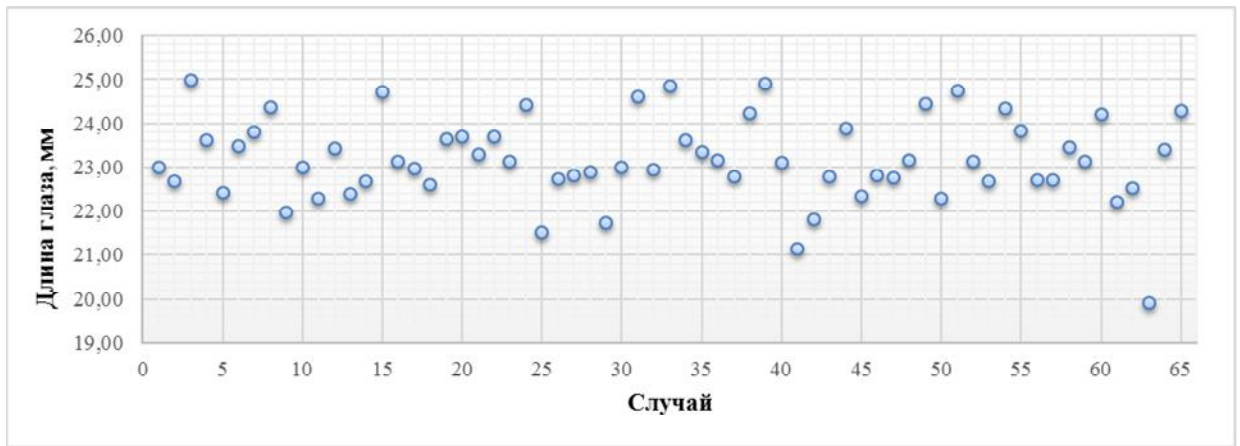


Рисунок 4.6 – Распределение клинических случаев по длине глаза

Во всех случаях ВГД находилось в пределах нормы: от 14 до 23 мм рт. ст. и в среднем составило $17,95 \pm 2,12$ мм рт. ст. Случаев с факичными глазами – 58, с артификацией – 7.

Протяженность ВМТ варьировала от 50 до 3100 мкм и в среднем составила $451,5 \pm 598,7$ мкм. Число случаев с сопутствующим МО – 26. Диаметр МО составил от 50 до 545 мкм. Число случаев с сопутствующим ЭРФ – 12.

МКОЗ до лечения варьировала от 0,1 до 1,0 и в среднем составила $0,46 \pm 0,21$. Острота зрения до лечения в основной группе в целом представлена на Рисунке 4.7.

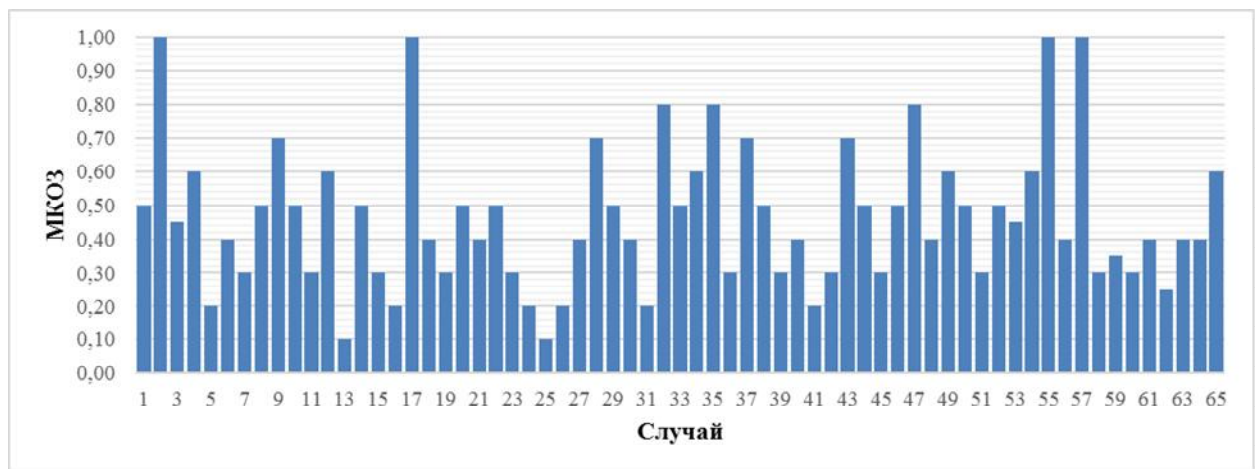


Рисунок 4.7 – Исходная острота зрения в основной группе до начала лечения

Подгруппа пациентов с изолированной ВМТ – О1

В подгруппу О1 вошло 27 случаев ВМТ без сопутствующего МО и ЭРФ. Возраст пациентов варьировал от 59 до 83 лет. Преобладали клинические случаи возраста от 59 до 77 лет.

ПЗО варьировала от 19,90 до 24,28 мм. По длине глаза преобладали клинические случаи от 22 до 24 мм. Исходная МКОЗ в подгруппе до начала лечения варьировала от 0,1 до 1,0. У всех пациентов ВГД находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 16 до 22 мм рт. ст.

Распределение пациентов по возрасту, длине глаза и МКОЗ представлено на Рисунках 4.8-4.10.

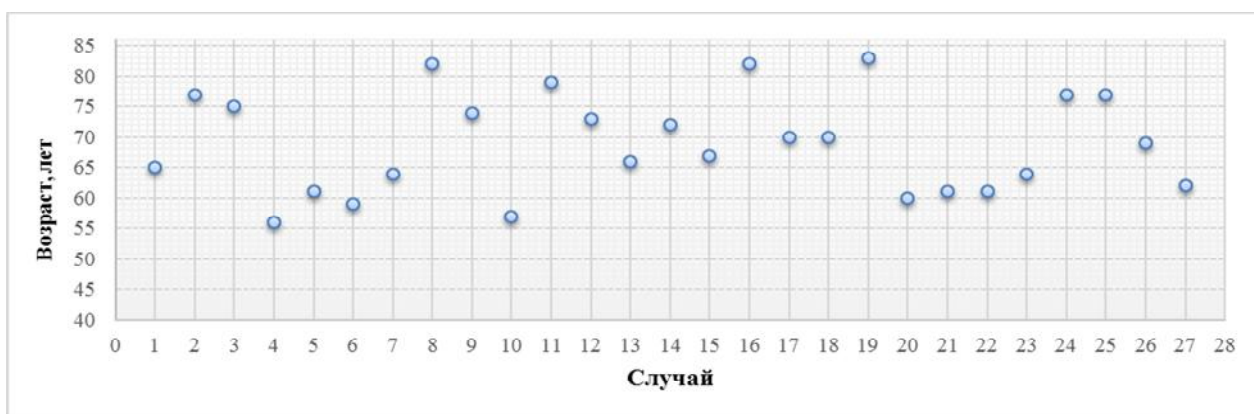


Рисунок 4.8 – Распределение по возрасту в подгруппе О1 изолированной ВМТ

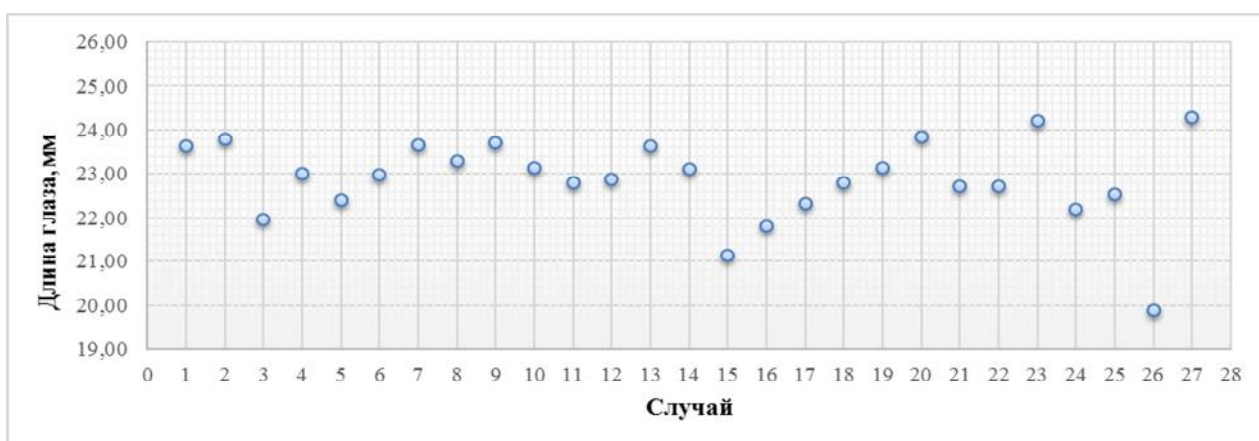


Рисунок 4.9 – Распределение по длине глаза в подгруппе О1
изолированной ВМТ

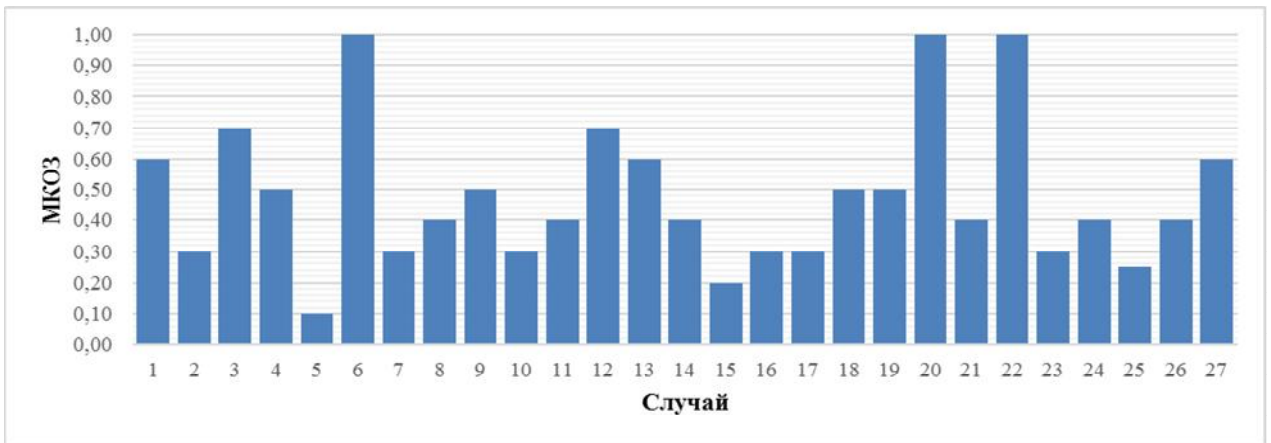


Рисунок 4.10 – Исходная острота зрения в подгруппе O1 изолированной ВМТ

В 23 случаях глаза были факичными, в 4 случаях – артификачными. Протяженность ВМТ варьировала от 59 до 3100 мкм.

Подробная характеристика подгруппы представлена в Таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Характеристика клинических случаев до лечения в подгруппах основной группы

Критерии	O1 – Изолированная ВМТ	O2 – ВМТ с МО	O3 – ВМТ с ЭРФ
Количество случаев	27	26	12
Возраст, лет	69,3±8,3	64,0±6,4	67,7±6,8
ПЗО, мм	22,9±0,9	23,5±0,9	23,2±0,9
ВГД, мм рт. ст.	18,6±2,1	17,6±2,0	17,3±2,1
Факия/Артификация	23/4	25/1	10/2
Протяженность ВМТ, мкм			
- Минимальная	59	50	226
- Максимальная	3100	1603	2370
- Средняя	476,8±619,9	284,9±277,5	1081,1±695,1
Диаметр МО, мкм			
- Минимальный	-	50	-
- Максимальный	-	545	-
- Средний	-	225,2±125,4	-
МКОЗ до лечения			
- Минимальная	0,1	0,1	0,3
- Максимальная	1,0	0,8	0,8
- Средняя	0,5±0,2	0,4±0,2	0,5±0,1

Подгруппа пациентов ВМТ с сопутствующим МО – О2

В подгруппу О2 вошло 26 случаев ВМТ с сопутствующим МО. Подробная характеристика подгруппы представлена в Таблице 5.1. Возраст пациентов варьировал от 44 до 72 лет. Преобладали пациенты в возрасте от 60 до 70 лет. Данные о распределении случаев ВМТ с сопутствующим МО по возрасту представлены на Рисунке 4.11.

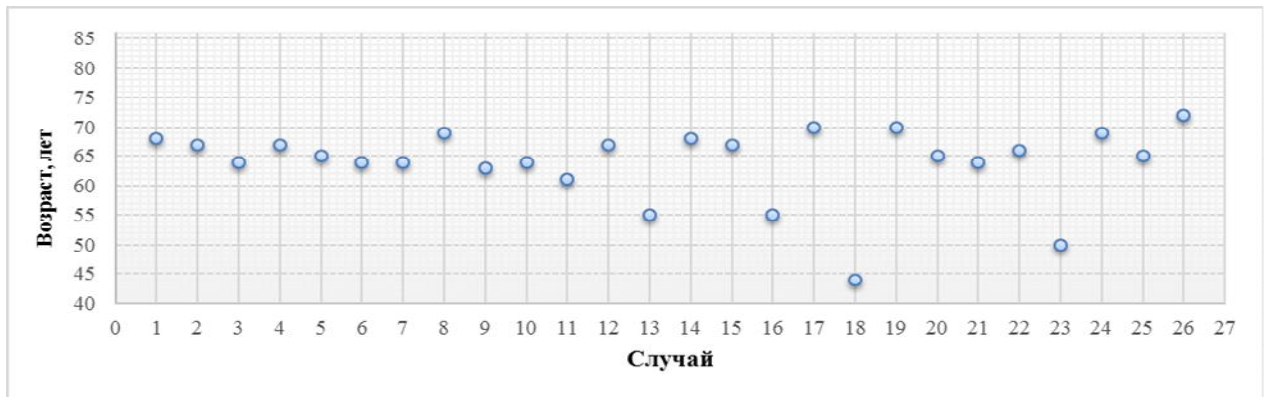


Рисунок 4.11 – Распределение по возрасту в подгруппе О2 – ВМТ с сопутствующим МО

ПЗО варьировала от 21,50 до 24,90 мм, преобладали случаи с ПЗО от 22,0 до 24,9 мм. Распределение пациентов по длине глаза представлено на Рисунке 4.12.

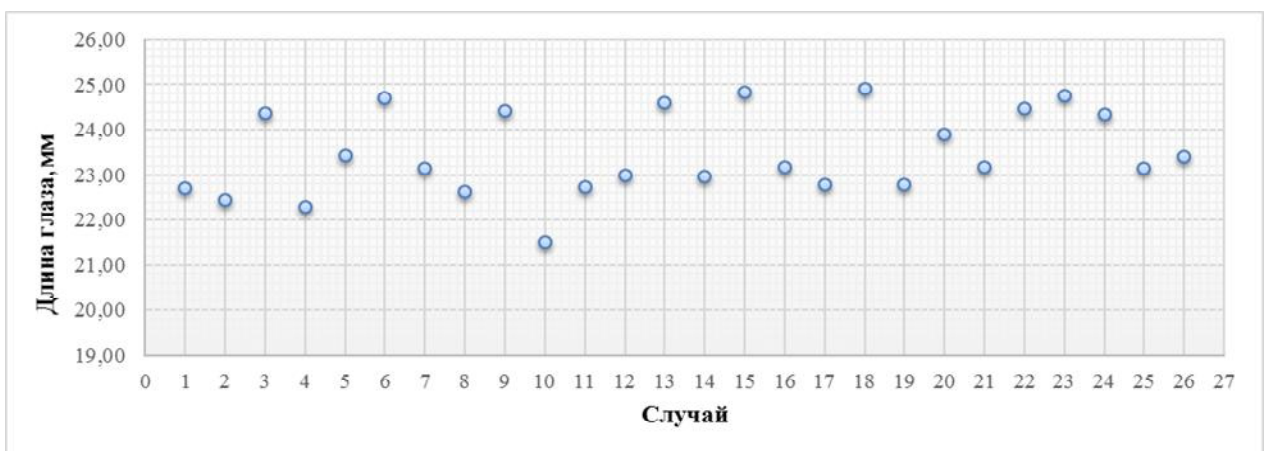


Рисунок 4.12 – Распределение по длине глаза в подгруппе О2 – ВМТ с сопутствующим МО

ВГД у всех пациентов находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 15 до 23 мм рт. ст. В 25 случаях глаза были факичными, в 1 случае – артификация.

Протяженность ВМТ варьировала от 50 до 1603 мкм. Диаметр МО варьировал от 50 до 545 мкм. МКОЗ варьировала от 0,1 до 1,0 (Рисунок 4.13).

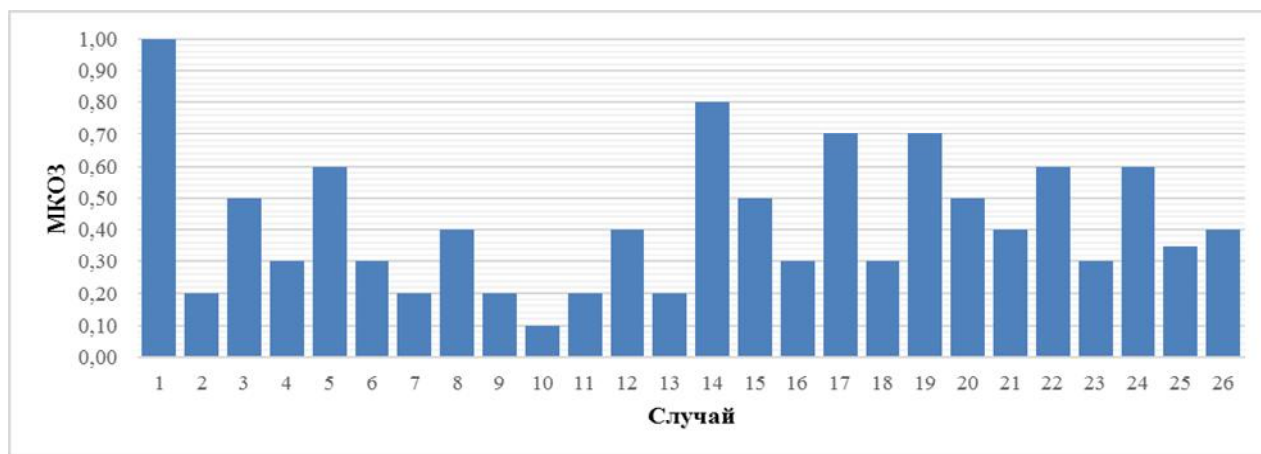


Рисунок 4.13 – МКОЗ до лечения в подгруппе О2 – ВМТ с сопутствующим МО

Подгруппа пациентов ВМТ с сопутствующим ЭРФ – О3

В подгруппу О3 вошло 12 случаев ВМТ. Возраст пациентов варьировал от 56 до 77 лет, преобладающий возраст от 62 до 77 лет. Распределение пациентов по возрасту представлено на Рисунке 4.14.

ПЗО варьировала от 21,70 до 24,98 мм. Преобладали случаи с ПЗО от 22,00 до 24,00 мм. Подробные данные о распределении случаев по ПЗО представлены на Рисунке 4.15.

МКОЗ варьировала от 0,3 до 0,8. Распределение клинических случаев по МКОЗ представлено на Рисунке 5.16. Подробные данные о подгруппе также представлены в Таблице 4.1.

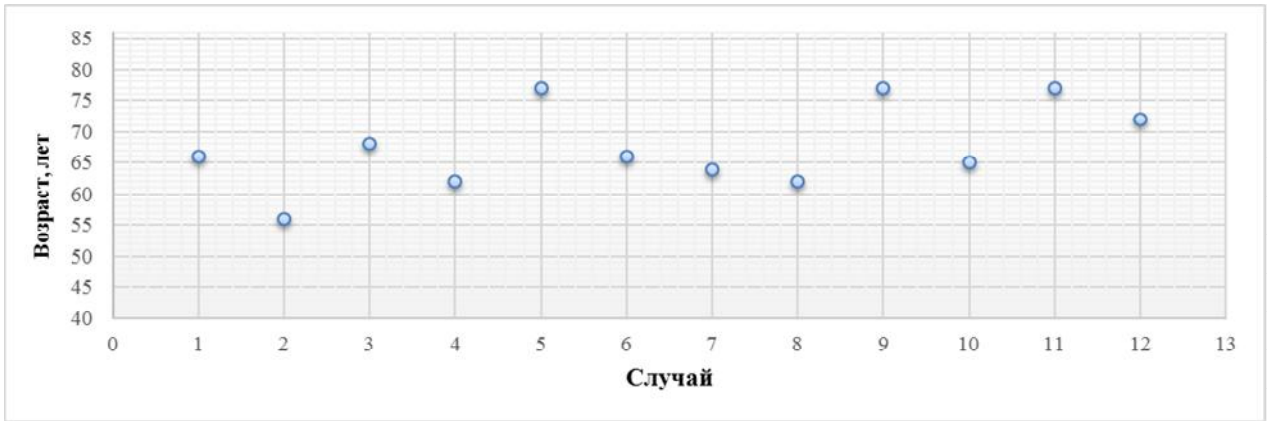


Рисунок 4.14 – Подгруппа ОЗ – ВМТ с сопутствующим ЭРФ.
Распределение по возрасту

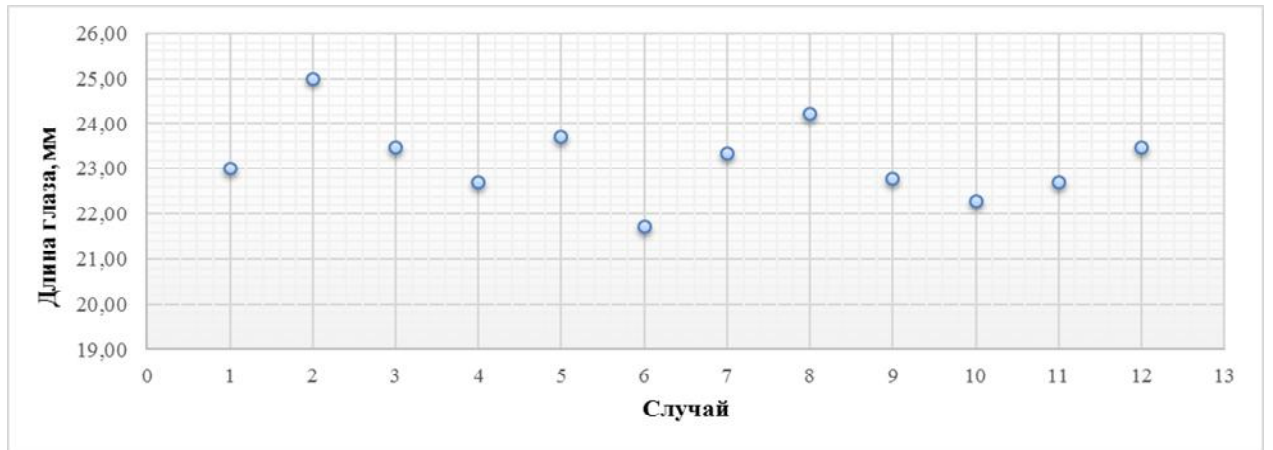


Рисунок 4.15 – Подгруппа ОЗ – ВМТ с сопутствующим ЭРФ.
Распределение по длине глаза

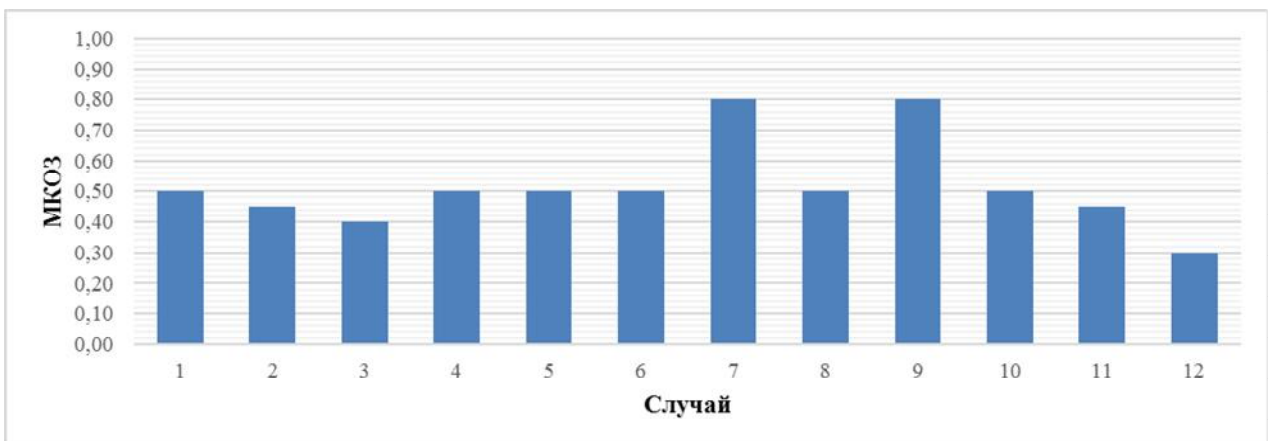


Рисунок 4.16 – МКОЗ до лечения в подгруппе ОЗ –
ВМТ с сопутствующим ЭРФ

У всех пациентов ВГД находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 14 до 21 мм рт. ст. В 10 случаях глаза были факическими, в 2 случаях – артификачными. Протяженность ВМТ варьировала от 226 до 2370 мкм.

4.2.2. Анализ результатов в общей исследуемой группе пациентов

Анализ эффективности устранения ВМТ

Эффективность методики анализировали по результату устранения ВМТ. В анализируемую группу не вошли 3 пациента, у которых произошло спонтанное разрешение ВМТ в течение 3 месяцев «карантинного» наблюдения. Анализируемая группа составила 62 клинических случая. Положительным результатом считали устранение ВМТ. В случаях сочетания ВМТ с МО устранение ВМТ с сохранением МО расценивали как положительный результат устранения тракции. Кроме результата устранения ВМТ, в общей группе анализировали изменение МКОЗ, зависимость эффективности применяемой методики от протяженности фиксации ВМТ, возраста и длины глаза.

После лечения устранение ВМТ в общей группе произошло в 48 случаях (77,4%). В 14 случаях (22,6%) ВМТ устранить не удалось. После лечения МКОЗ в общей группе возросла по сравнению с исходной, варьировала от 0,1 до 1,0 и в среднем составила $0,66 \pm 0,26$. Зарегистрировано достоверное увеличение МКОЗ. Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,20 \pm 0,21$ ($p < 0,001$). Расчет достоверности различий между МКОЗ до и после лечения осуществляли через определения t-критерия Стьюдента. Схема определения достоверности представлена на Рисунке 4.17.

Результат: $t_{эмп} = 7.9$



Полученное эмпирическое значение t (7.9) находится в зоне значимости.

Рисунок 4.17 – Расчет критерия Стьюдента для оценки достоверности различий МКОЗ до и после лечения во всех случаях ВМТ

В анализируемую группу входили все случаи. В том числе случаи, где не удалось устранить ВМТ, и в которых устранение ВМТ не сопровождалось закрытием МО. В некоторых случаях сочетания ВМТ с МО, после устранения ВМТ с сохранением МО отмечалось некоторое увеличение диаметра МО, что сопровождалось умеренным снижением остроты зрения по отношению к исходной МКОЗ. Детальное изменение остроты зрения в общей группе после лечения представлено на Рисунке 4.18.

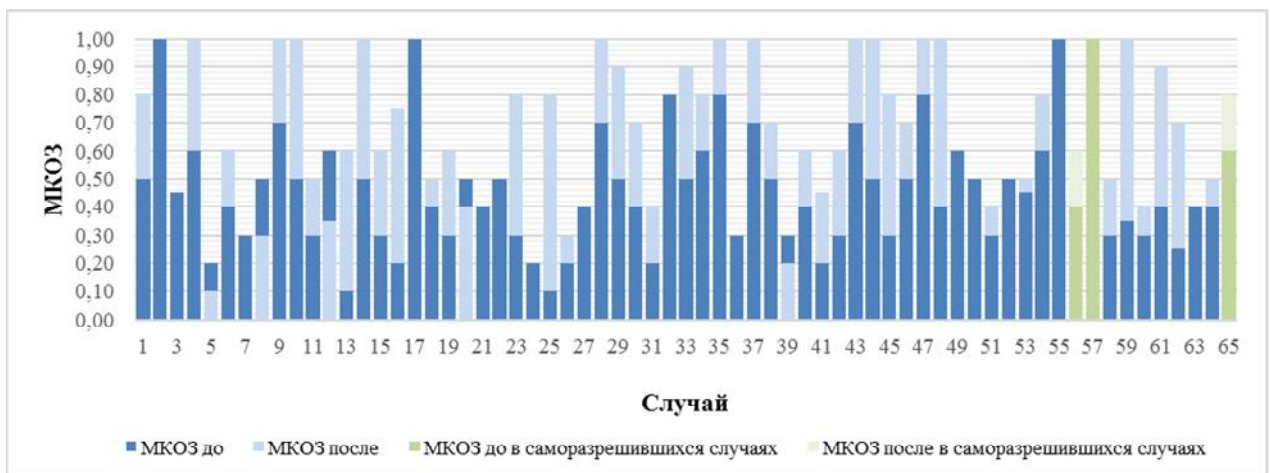


Рисунок 4.18 – Изменение МКОЗ в основной группе в целом после проведенного лечения

Из 62 случаев полного излечения удалось добиться в 37 случаях (59,7%). К полному излечению отнесены случаи устранения ВМТ и закрытия МО при его изначальном наличии. В этих случаях была исследована прибавка МКОЗ. В среднем МКОЗ до лечения у этих пациентов составила $0,49 \pm 0,22$, после лечения – $0,80 \pm 0,18$. Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,31 \pm 0,19$ ($p < 0,05$). Изменения МКОЗ в группе излеченных случаев представлено на Рисунке 4.19.



Рисунок 4.19 – Прирост МКОЗ в случаях полного излечения

В среднем в половине случаев пациенты не прибывали для длительного динамического наблюдения. Как показала практика наблюдения за пациентами, восстановление макулярного профиля и соответственно улучшение остроты зрения может продолжаться до 6 месяцев и более и зависит от исходного состояния центральной области сетчатки, что позволяет предположить возможность дальнейшего прироста МКОЗ в случаях с полным излечением.

Подробные данные о результатах лечения ВМТ в основной группе в целом представлены в Таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Результаты после лечения в основной группе (n=62)

Параметры	ВМТ разрешилась	ВМТ не разрешилась
Количество случаев	48	14
Возраст, лет	65,9±6,8	70,7±9,2
Длина глаза, мм	23,2±0,9	23,2±1,3
ВГД мм рт. ст.	18,2±1,6	18,6±2,3
Факия/Артифакия	42/6	13/1
Протяженность ВМТ, мкм		
Минимальная	50	100
Максимальная	3100	1506
Средняя	506,9±668,2	452,7±358,3
МО закрылись / МО не закрылись	13/11	0/2
МКОЗ после лечения		
Минимальная	0,1	0,3
Максимальная	1,0	0,8
Средняя	0,69±0,26	0,48±0,17

Анализ зависимости результата лечения от протяженности ВМТ показал, что протяженность ВМТ не влияла на эффективность предлагаемой технологии. Сравнение протяженности ВМТ в неразрешившихся случаях со случаями положительного результата показало, что данные сопоставимы (Рисунок 4.20).

Достоверность различий протяженности ВМТ в случаях положительного и отсутствия результата, определенная по t-критерию Стьюдента, ниже допустимого значения $p=0,05$, что позволяет сделать вывод об отсутствии очевидной зависимости между протяженностью ВМТ и эффективностью применяемой технологии.

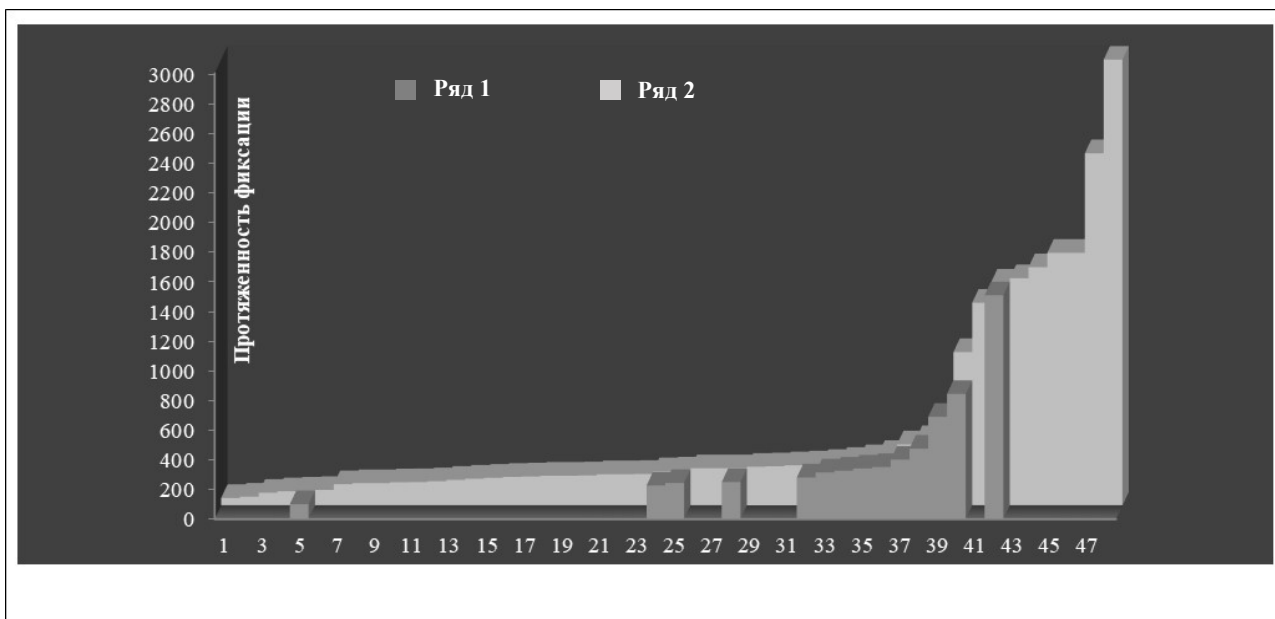


Рисунок 4.20 – Сопоставление протяженности ВМТ в мкм в неразрешившихся случаях (ряд 1) с протяженностью ВМТ в случаях положительного исхода (ряд 2)

Для дополнительной оценки возможного влияния протяженности ВМТ на эффективность предлагаемой технологии был проведен корреляционно-регрессионный анализ. Выявлена слабая корреляционная связь между протяженностью ВМТ и исходом лечения ($r=0,04$). Статистическая значимость коэффициента корреляции низкая ($p>0,05$), что опровергает возможность влияния протяженности ВМТ на исход лечения. Уравнение регрессии, составленное по исходным данным, показывает, что расчетные параметры не объясняют зависимость между изучаемыми параметрами ($R^2=0,008$) (Рисунок 4.21).

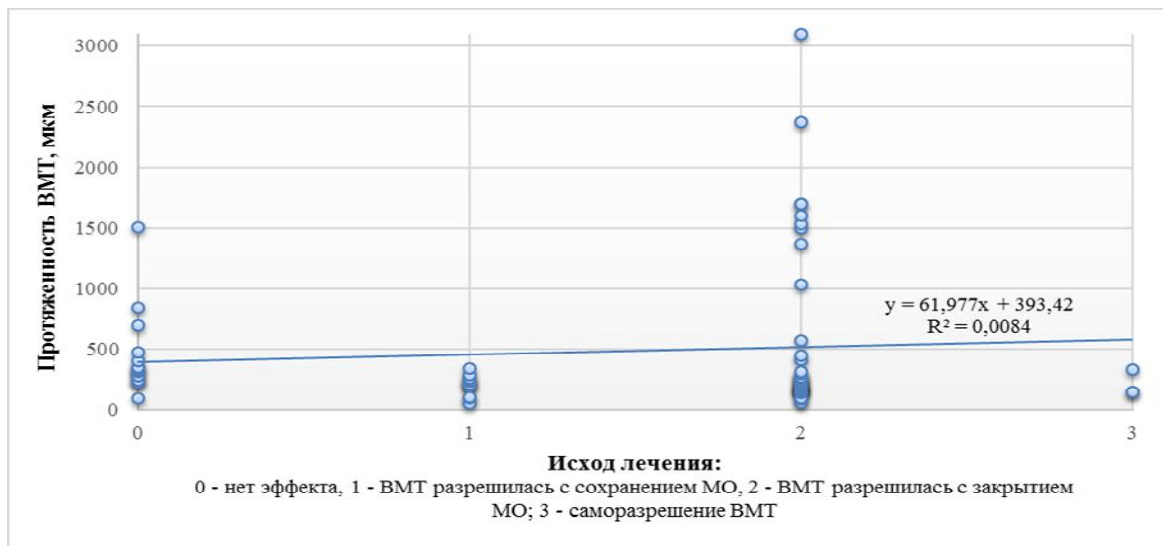


Рисунок 4.21 – Корреляционно-регрессионный анализ влияния протяженности ВМТ на исход лечения

Изучена зависимость исхода применения предложенной технологии от длины глаза. Оценку зависимости проводили через определение достоверности различий длины глаза в случаях с положительным и отсутствующим результатом (см. Таблицу 4.2), а также с использованием корреляционно-регрессионного анализа (Рисунок 4.22). Результаты показали отсутствие влияния длины глаза на исход лечения.

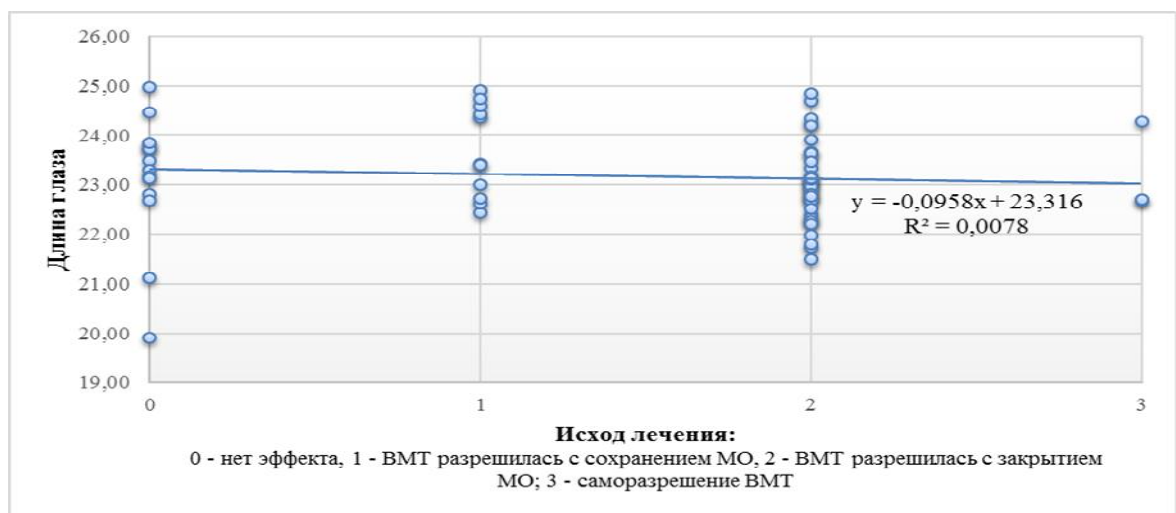


Рисунок 4.22 – Корреляционно-регрессионный анализ влияния длины глаза на исход лечения

Изучено влияние возраста на исход лечения. Выявлено отсутствие влияния возраста на исход лечения. Данный вывод сделан по результатам оценки достоверности различий между возрастом в случаях положительного исхода и возрастом в случаях отсутствия результата (см. Таблицу 4.2) и результатам корреляционно-регрессионного анализа (Рисунок 4.23).

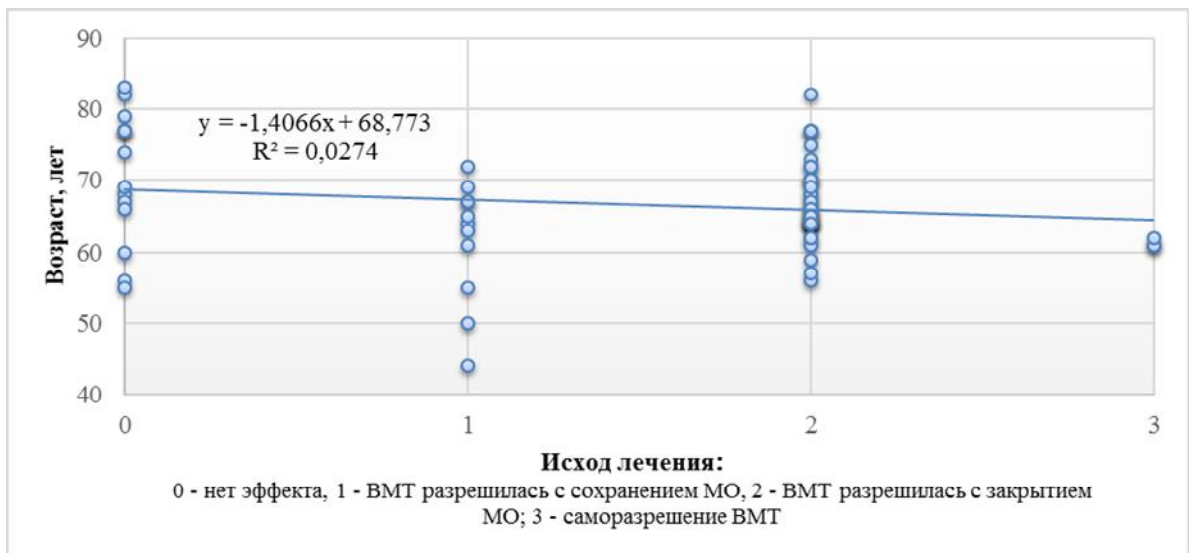


Рисунок 4.23 – Корреляционно-регрессионный анализ влияния возраста пациента на исход лечения

При анализе результатов лечения в общей группе клинических случаев не было выявлено влияния протяженности ВМТ, длины глаза и возраста на исход лечения. В связи с этим подробный анализ выше указанных параметров в подгруппах не проводили.

4.2.3. Анализ результатов лечения в подгруппе пациентов с изолированной витреомакулярной тракцией

В анализируемую подгруппу О1 вошло 24 случая изолированной ВМТ, 3 случая саморазрешения ВМТ были исключены из анализируемой подгруппы. Положительным считался результат устранения ВМТ. Протяженность ВМТ варьировала от 59 до 3100 мкм и в среднем составила $407,8 \pm 619,9$ мкм. В результате лечения произошло разрешение ВМТ

в 16 случаях (66,7%), в 8 случаях (33,3%) не удалось достигнуть положительного результата.

МКОЗ до лечения варьировала от 0,1 до 1,0 и в среднем составила $0,48 \pm 0,23$. После лечения МКОЗ варьировала от 0,3 до 1,0 и в среднем составила $0,69 \pm 0,22$. В среднем прибавка МКОЗ составила $0,21 \pm 0,19$. Выявлено достоверное увеличение остроты зрения после лечения ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в подгруппе представлено на Рисунках 4.24 и 4.25.

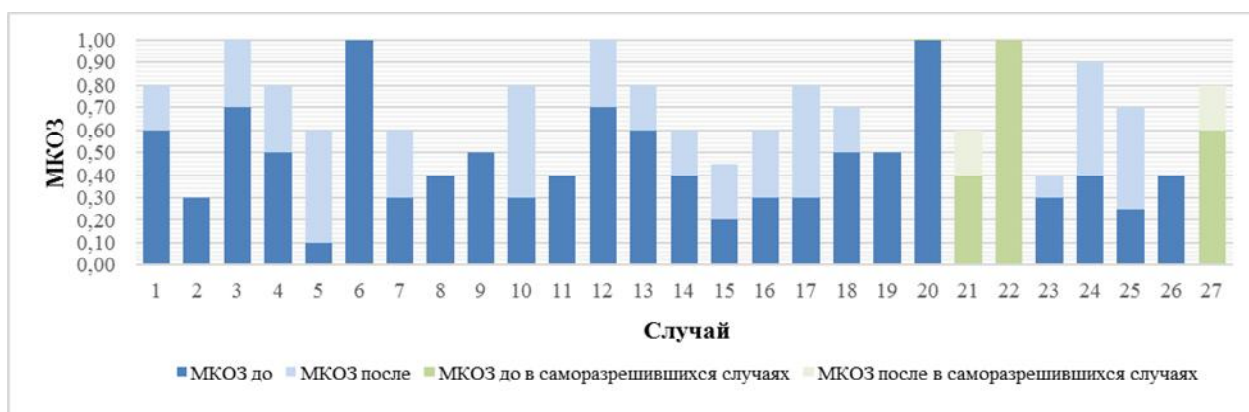


Рисунок 4.24 – Изменение МКОЗ в подгруппе О1 с изолированной ВМТ

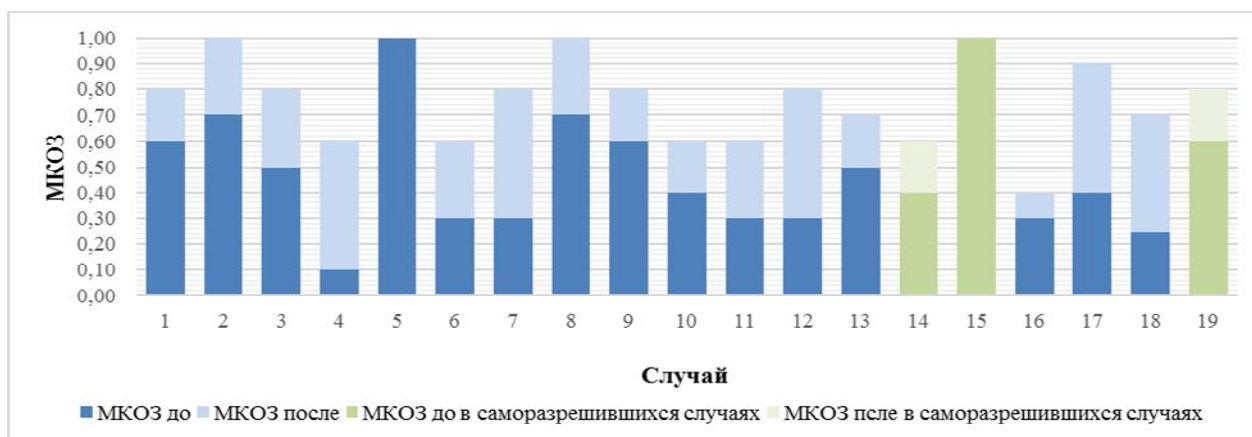


Рисунок 4.25 – Изменение МКОЗ в случаях разрешившейся ВМТ

Детальная информация об особенностях клинических случаев и результатах лечения представлена в Таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Результаты после лечения в подгруппе О1 изолированной ВМТ

Параметры	Излечились	Не излечились
Количество случаев	16	8
Возраст, лет	68,0±7,7	73,9±8,0
Длина глаза, мм	22,9±0,7	22,7±1,4
Факия/Артифакия	12/4	8/0
Протяженность ВМТ, мкм		
Минимальная	59	100
Максимальная	3100	688
Средняя	469,6±798,5	358,4±173,1
МКОЗ		
До	0,45±0,22	0,46±0,24
После	0,76±0,17	0,49±0,21

4.2.4. Анализ результатов лечения в подгруппе витреомакулярной тракции, сочетанной с макулярным отверстием

В анализируемую подгруппу О2 вошло 26 случаев ВМТ, сочетанных с МО (41,9%). Протяженность ВМТ варьировала от 50 до 1603 мкм и в среднем составила 285,2±291,3 мкм. Диаметр МО варьировал от 50 до 545 мкм и в среднем составил 221,5±125,9 мкм. Исходная МКОЗ варьировала от 0,1 до 1,0 и в среднем составила 0,42±0,22.

Положительным считался результат излечения пациентов, сопровождающийся устранением ВМТ и закрытием МО. В 24 случаях (92,3%) удалось достичь устранения ВМТ. В 2 случаях ВМТ не устранена (7,7%). В 13 случаях (50%) устранение ВМТ сопровождалось закрытием МО.

МКОЗ после лечения варьировала от 0,1 до 1,0 и в среднем составила 0,61±0,31. Прибавка МКОЗ в среднем составила 0,18±0,27. В 4 случаях (случаи 2, 3, 5, 18) после устранения ВМТ без закрытия МО произошло некоторое увеличение диаметра МО, что сопровождалось снижением исходной МКОЗ. Изменение МКОЗ после лечения представлено на Рисунке 4.26.

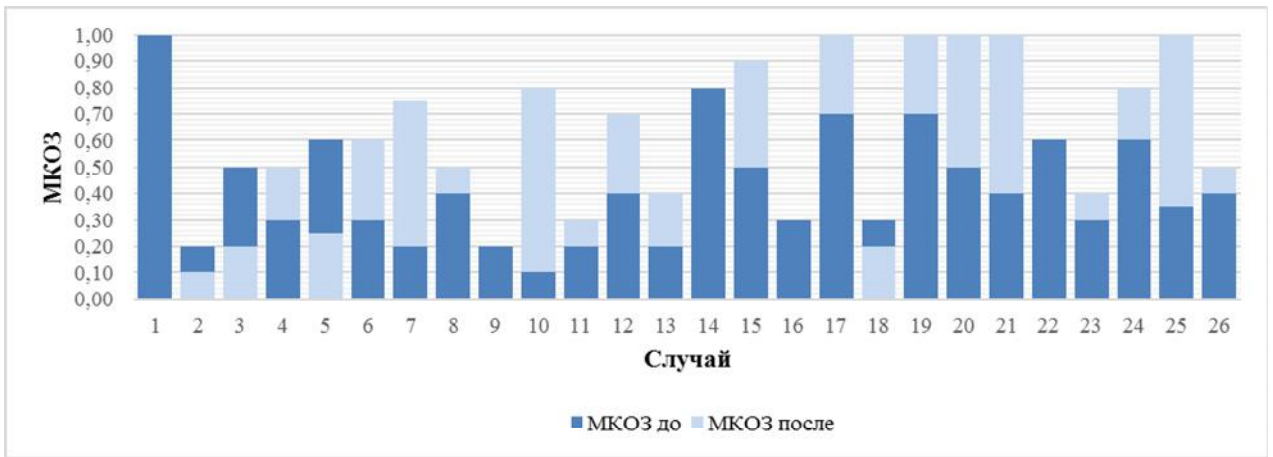


Рисунок 4.26 – Изменение МКОЗ в подгруппе О2 – ВМТ, сочетанной с МО

В случаях с полным излечением МКОЗ до лечения в среднем составила $0,50 \pm 0,25$, после лечения – $0,86 \pm 0,16$. Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,36 \pm 0,23$. В указанных случаях выявлено достоверное повышение остроты зрения после лечения ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в этих случаях представлено на Рисунке 4.27.

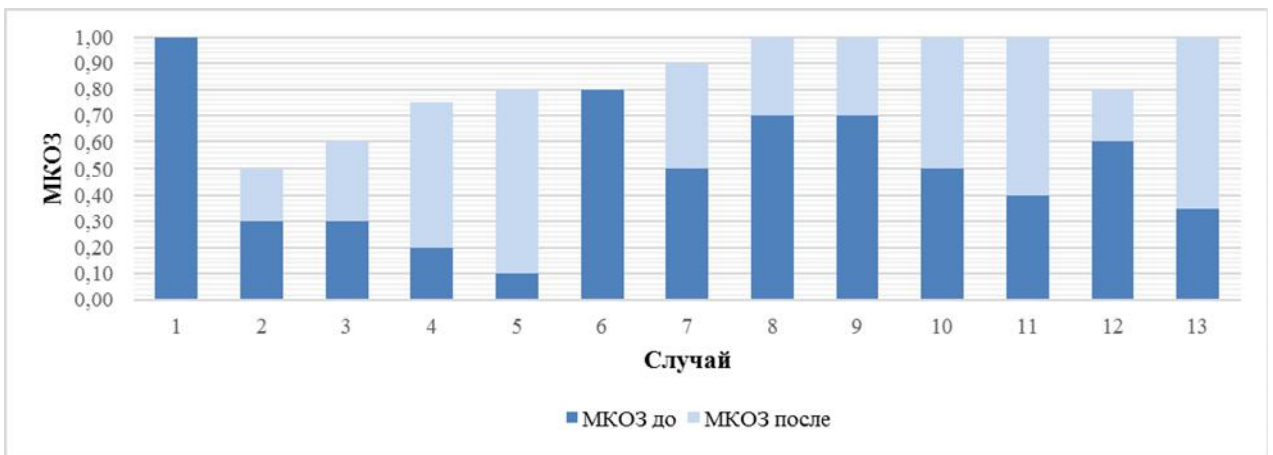


Рисунок 4.27 – Изменение МКОЗ в подгруппе с ВМТ, сочетанной с МО у излечившихся пациентов

Подробно данные о клинических случаях представлены в Таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Характеристика случаев в подгруппе О2 – ВМТ, сочетанных с МО

Параметры	ВМТ разрешилась		ВМТ не разрешилась
	МО закрылось	МО не закрылось	МО не закрылось
Количество случаев	13	11	2
Возраст, лет	64,9±5,0	64,2±6,3	55 и 66
Факия/Артифакия	14/2	11/0	1/1
Протяженность ВМТ, мкм			
Минимальная	85	50	314
Максимальная	1603	346	340
Средняя	347,6±414,9	203,7±88,9	-
Диаметр МО, мкм			
Минимальный	100	50	230
Максимальный	545	350	530
Средний	226,4±123,1	206,8±129,0	-
МКОЗ до лечения			
Минимальная	0,1	0,2	0,3
Максимальная	0,8	0,6	0,6
Средняя	0,50±0,26	0,34±0,14	-
МКОЗ после лечения			
Минимальная	0,5	0,2	0,3
Максимальная	1,0	0,7	0,6
Средняя	0,86±0,17	0,34±0,18	-

Было проанализировано влияние размера диаметра МО на исход лечения. Диаметр МО в случаях полного излечения варьировал от 100 до 545 мкм и в среднем составил 226,4±123,1 мкм. Диаметр не закрывшихся МО варьировал от 50 до 530 мкм и в среднем составил 216,5±133,4 мкм. Достоверных различий размеров МО в случаях положительного исхода и без такового не выявлено. Сравнение размеров закрывшихся и не закрывшихся МО представлено на Рисунке 4.28.

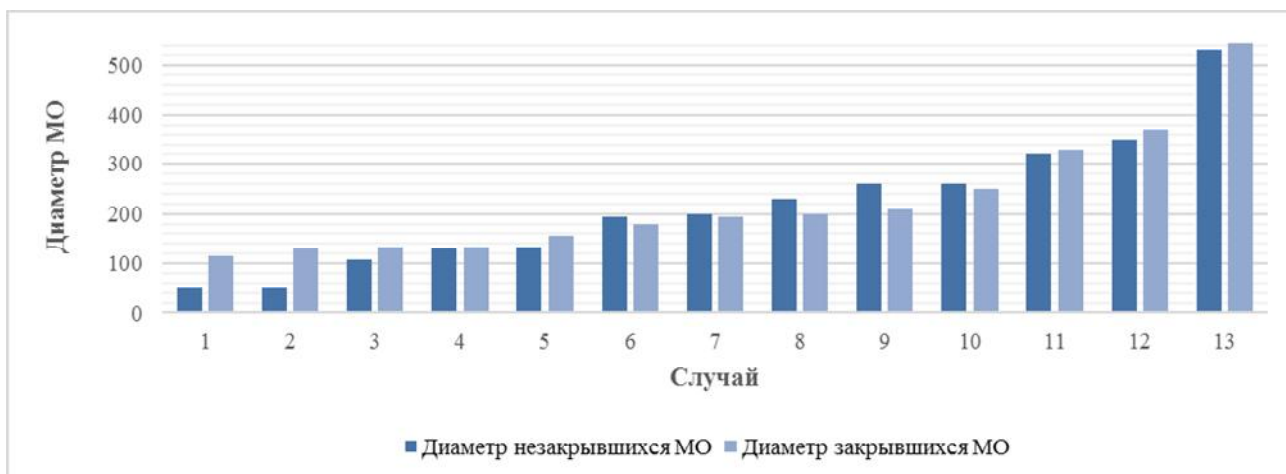


Рисунок 4.28 – Сопоставление размеров закрывшихся МО и незакрывшихся МО (диаметр в мкм)

Использование предложенной методики показало 50% эффективность излечения ВМТ, сочетанного с МО размером до 545 мкм. При этом не выявлено зависимости между результатом и размером МО.

4.2.5. Анализ результатов лечения в подгруппе витремакулярной тракции, сочетанной с эпиретинальным фиброзом

В исследуемую подгруппу ОЗ вошло 12 случаев (19,4%) ВМТ, сочетанных с ЭРФ. Положительным результатом считалось устранение ВМТ. В 8 случаях (66,7%) удалось добиться устранения ВМТ. В 4 (33,3%) случаях разрешения ВМТ не произошло. Протяженность ВМТ варьировала от 243 до 2370 мкм и в среднем составила $1081,1 \pm 695,1$ мкм. МКОЗ до лечения варьировала от 0,30 до 0,80 и в среднем составила $0,52 \pm 0,14$. После лечения МКОЗ варьировала от 0,5 до 1,0 и в среднем составила $0,68 \pm 0,21$. В среднем прибавка МКОЗ составила $0,16 \pm 0,21$. Выявлено достоверное повышение остроты зрения после лечения ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в подгруппе представлено на Рисунке 4.29.

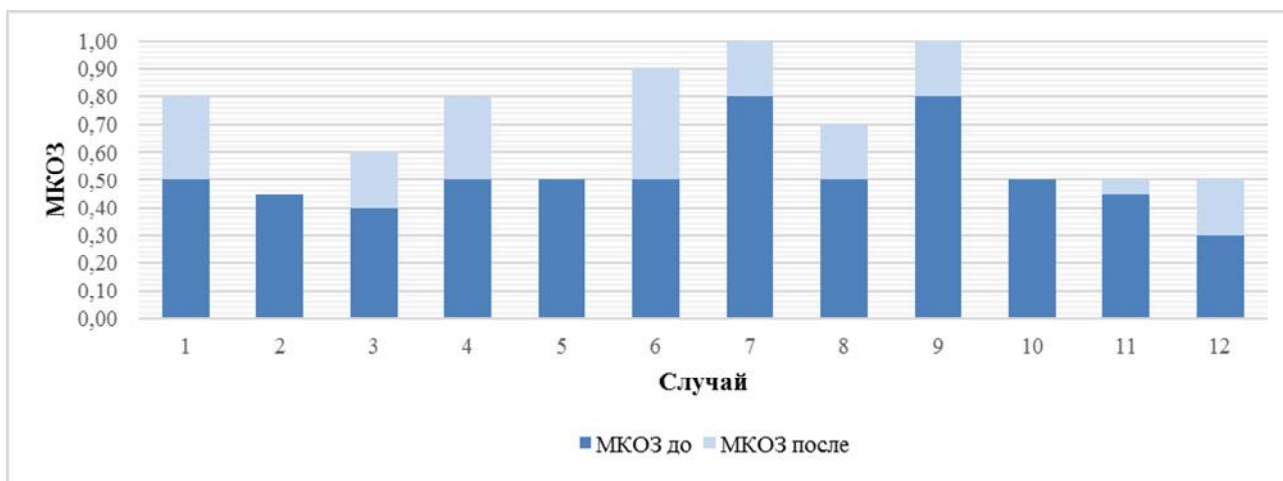


Рисунок 4.29 – Изменение МКОЗ в подгруппе ОЗ – ВМТ, сочетанной с ЭРФ

В излечившихся случаях МКОЗ до лечения в среднем составила $0,55 \pm 0,17$, после лечения – $0,78 \pm 0,20$. Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,23 \pm 0,12$. Выявлено достоверное повышение остроты зрения после лечения ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в излеченных случаях представлено на Рисунке 4.30.

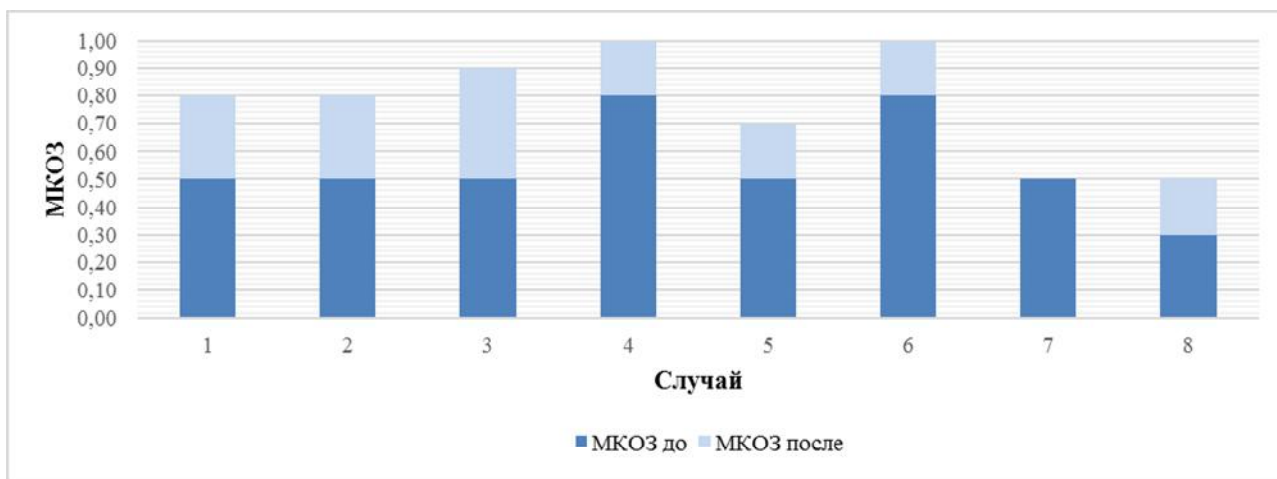


Рисунок 4.30 – Изменение МКОЗ в излечившихся случаях в подгруппе ОЗ – ВМТ, сочетанной с ЭРФ

Детальная информация об особенностях клинических случаев и результатах лечения представлена в Таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Характеристика случаев подгруппы ОЗ – ВМТ, сочетанных с ЭРФ

Параметры	Излечились	Не излечились
Количество случаев	8	4
Возраст, лет	69,5±9,9	66,8±5,2
Факия/Артифакия	6/2	4/0
Протяженность ВМТ, мкм		
Минимальная	250	226
Максимальная	2370	1506
Средняя	1269,5±692,9	704,3±606,4
МКОЗ до лечения		
Минимальная	0,3	0,4
Максимальная	0,8	0,5
Средняя	0,55±0,17	0,45±0,10
МКОЗ после лечения		
Минимальная	0,5	0,4
Максимальная	1,0	0,6
Средняя	0,78±0,20	0,49±0,10

Детальный анализ эффективности предлагаемой технологии для лечения ВМТ показал, что применение технологии позволяет устранить ВМТ в 77,4% случаев. Эффективность применяемой технологии не зависит от возраста пациентов, длины глаза и протяженности фиксации ВМТ. В анализируемой группе пациентов удалось достигнуть полного излечения в 59,7% случаев. В случаях комбинации ВМТ с МО эффективность составила 50,0% полного излечения. При этом не установлено зависимости между эффективностью лечения и диаметром МО. В случаях изолированной ВМТ и ВМТ, сочетанной с ЭРФ, эффективность составила 66,7% полного излечения.

4.3. Анализ частоты и характера побочных эффектов и осложнений, определение показаний и противопоказаний к проведению лечения по разработанной технологии

Анализ побочных эффектов и осложнений проводился в аспекте выявления возможных специфических проявлений применяемой технологии. К побочным эффектам отнесены проявления, которые разрешались самостоятельно, не требовали дополнительного лечения и проходили бесследно, не оказывая в дальнейшем отрицательного влияния на структуры глаза и остроту зрения. К осложнениям – проявления, требующие активного лечения с применением инстилляционных, инъекционных препаратов местного и общего действия, вызывающие риск снижения исходной остроты зрения и потребовавшие хирургического вмешательства для их устранения.

К побочным эффектам были отнесены: кровоизлияние в области инъекции, боль, светобоязнь, слезотечение, ощущение инородного тела в глазу, помутнение СТ, кратковременное снижение исходной остроты зрения, помутнение хрусталика, петехиальные кровоизлияния на сетчатке, субъективное изменение цветовосприятия, повышение ВГД свыше 23 мм рт. ст.

К осложнениям отнесены: развитие и прогрессирование ЭРФ, формирование разрывов сетчатки, развитие иридо-хрусталиковой синехии, смещение иридо-хрусталиковой диафрагмы кпереди.

Были зарегистрированы типичные проявления последствий процедуры интравитреальной инъекции. В 10% случаев отмечена умеренная боль в области инъекции, которая проходила в течение 1-3 дней и не требовала дополнительного лечения. Светобоязнь отмечена в 4,6% случаев в течение 1-2 дней. Слезотечение и ощущение инородного тела в глазу в течение 1-2 дней после инъекции зарегистрированы в 7,7% случаев.

К специфическим проявлениям отнесены помутнение СТ и петехиальные кровоизлияния на сетчатке. Помутнение СТ отмечено в 27,7%

случаев. Степень помутнения не превышала средней выраженности (Рисунок 4.31). При офтальмоскопии бинокулярным офтальмоскопом просматривался ДЗН и крупные сосуды сетчатки. Соответственно пациенты отмечали некоторое снижение МКОЗ относительно исходного состояния. Помутнение СТ не требовало дополнительного лечения и разрешалось самостоятельно в течение 7-14 дней. После восстановления прозрачности СТ происходило восстановление остроты зрения. Специфических изменений в структуре СТ после восстановления его прозрачности не зарегистрировано ни в одном случае.

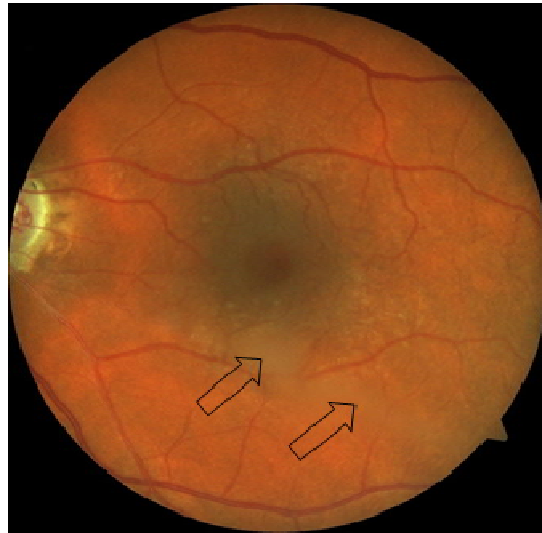


Рисунок 4.31 – Фундус-фото. Локальное помутнение стекловидного тела (указано стрелками)

Петехиальные кровоизлияния на поверхности сетчатки зарегистрированы в 15,4% случаев (Рисунок 4.32). Наблюдались единичные или групповые мелкоточечные кровоизлияния на поверхности сетчатки в макулярной или парамакулярной области, развитие петехиальных кровоизлияний не всегда сопровождалось помутнением СТ. Петехиальные кровоизлияния резорбировались самостоятельно без лечения в течение 7-14 дней. Структурных изменений в сетчатке методом ОКТ не выявлено ни в одном случае.



Рисунок 4.32 – Фундус-фото. Петехиальные микрогеморрагии на поверхности сетчатки

Описанные специфические проявления (помутнение СТ и петехиальные кровоизлияния) могут быть связаны со специфическим воздействием бактериальной коллагеназы на стенку сосудов, что приводило к повышению сосудистой проницаемости, приводящей к петехиальным кровоизлияниям, либо к попаданию небольшого количества крови в витреальную полость.

Повышение ВГД не зарегистрировано ни в раннем, ни в отдаленном периоде наблюдения, ни в одном случае не было развития или прогрессирования помутнения хрусталика и ЭРФ. Так же не зафиксировано случаев разрывов сетчатки.

В 4,6% случаев зарегистрировано формирование иридо-хрусталиковой спайки (Рисунок 4.33), которое было купировано назначением инстилляций мидриатиков и НПВС в течение 2 дней. При дополнительном детальном сборе анамнеза у этих пациентов в отдаленном предшествующем лечению периоде выявлены косвенные признаки перенесенного циклита. Пациенты за врачебной помощью не обращались, однако отмечали болевые ощущения и покраснение глаза, которые длились от 1 до 2 недель и проходили самостоятельно. Таким образом, диагноз перенесенного иридоциклита мог быть установлен только анамнестически. Возможно применение

бактериальной коллагеназы вызывает гиперреакцию у таких пациентов. Вместе с этим ни в одном из описываемых случаев не зарегистрировано иридоциклита в раннем и отдаленном периодах.

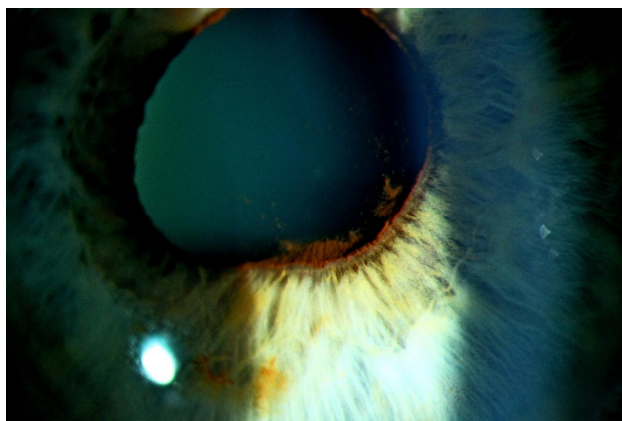


Рисунок 4.33 – Иридо-хрусталиковая спайка

Подробно данные о побочных эффектах и осложнениях представлены в Таблице 4.7.

Таблица 4.7 – Частота встречаемости побочных эффектов и осложнений в основной группе

Побочные эффекты	
Кровоизлияния в области инъекции в течение 7 дней после инъекции	7 (10,7%)
Боль	10 (15,4%)
Светобоязнь	3 (4,6%)
Слезотечение	5 (7,7%)
Помутнение СТ	18 (27,7%)
Помутнение хрусталика	0 (0%)
Петехиальные кровоизлияния	10 (15,4%)
Изменение цветовосприятия (субъективно)	0 (0%)
Повышение ВГД свыше 23 мм рт. ст.	0 (0%)
Ощущение инородного тела в глазу	5 (7,7%)
Осложнения	
Развитие или прогрессирование ЭРФ	0 (0%)
Разрывы сетчатки	0 (0%)
Формирование иридо-хрусталиковой синехии	3 (4,6%)

Определение показаний и противопоказаний

Показания к применению разработанной технологии: ВМТ, приводящая к искажению макулярного профиля сетчатки и снижению остроты зрения. Результаты лечения указывают, что данная технология может быть применена для лечения ВМТ как изолированной, так и сочетающейся с МО или ЭРФ. Протяженность фиксации ВМТ может быть до 3100 мкм, диаметр МО – до 545 мкм. Методика не имеет возрастных ограничений.

Противопоказаниями к применению предложенной технологии являются любые заболевания, сопровождающиеся воспалительными процессами и повышением проницаемости сосудистого русла. Абсолютные противопоказания: пролиферативная диабетическая ретинопатия, острые и хронические вирусные инфекции, острые бактериальные инфекции, увеиты, острые иридоциклиты, низкая комплаэнтность пациента (нарушение режима контрольных осмотров), помутнение оптических сред глаза, не позволяющее провести ОКТ, глаукома, острые и хронические нарушения кровообращения, сопутствующие соматические воспалительные и аутоиммунные заболевания, заболевание крови или иные состояния, проявляющиеся повышенной патологической проницаемостью сосудистого русла, психические расстройства, алкогольная и наркотическая зависимость.

4.4. Оценка результатов лечения в контрольной группе

4.4.1. Характеристика пациентов

Контрольная группа пациентов

В контрольную группу вошло 65 случаев ВМТ. Возраст пациентов варьировал 50 до 82 лет и в среднем составил $66,85 \pm 7,04$ лет. Из них 61 женщина, 4 мужчин. ПЗО глаза варьировала от 21,13 до 24,81 мм и в среднем составила $23,28 \pm 0,76$ мм. Распределение пациентов по длине глаза представлено на Рисунке 4.34.

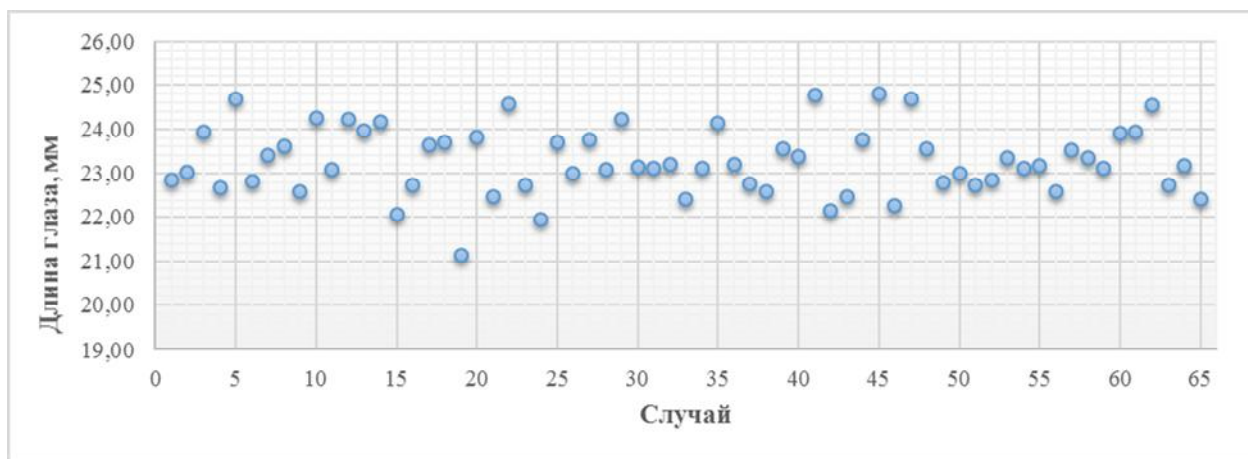


Рисунок 4.34 – Распределение клинических случаев в контрольной группе по длине глаза

ВГД до лечения во всех случаях находилось в пределах нормы, варьируя от 13 до 23 мм рт. ст., и в среднем составило $17,82 \pm 2,15$ мм рт. ст. Случаев с факичными глазами – 63, с артификацией – 2.

Протяженность ВМТ варьировала от 100 до 2100 мкм и в среднем составила $470,43 \pm 355,16$ мкм. Число случаев с сопутствующим МО – 26. Диаметр МО составил от 80 до 530 мкм. Число случаев с сопутствующим ЭРФ – 12.

МКОЗ до лечения варьировала от 0,1 до 0,7 и в среднем составила $0,39 \pm 0,16$. Острота зрения до лечения в контрольной группе в целом представлена на Рисунке 4.35.

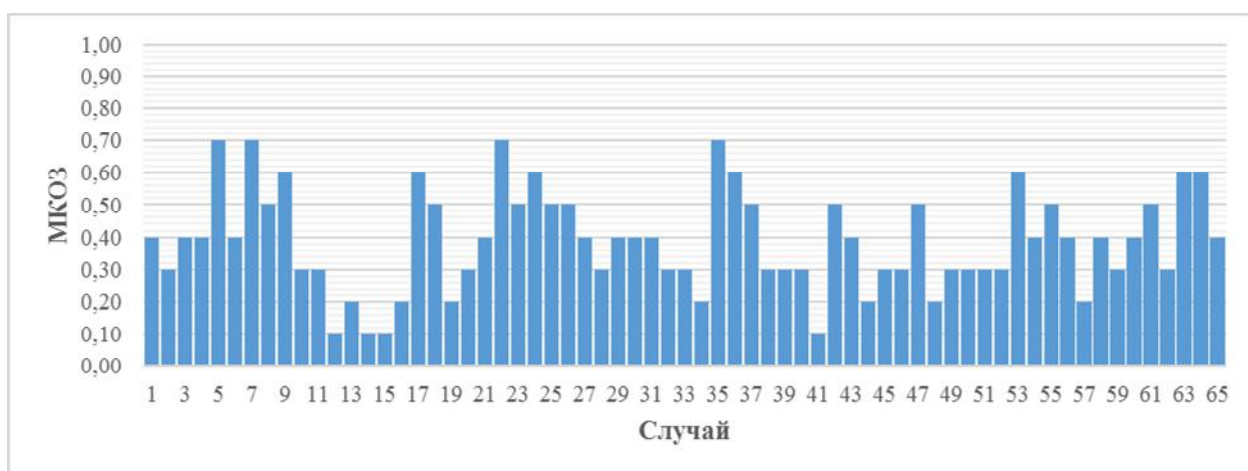


Рисунок 4.35 – Исходная острота зрения в контрольной группе до начала лечения

Основная и контрольная группы полностью сопоставимы по таким показателям, как пол, возраст, протяженность ВМТ и количество случаев, что позволяет проводить сравнение статистических показателей как в общем в группах, так и в подгруппах изолированной ВМТ, ВМТ с МО и ВМТ с сопутствующим ЭРФ.

Контрольная подгруппа пациентов с изолированной ВМТ – К1

В подгруппу вошло 27 случаев ВМТ без сопутствующего МО и ЭРФ. Возраст пациентов варьировал от 50 до 80 лет. Преобладали клинические случаи возраста от 60 до 70 лет. ПЗО варьировала от 21,13 до 24,69 мм и в среднем составила $23,28 \pm 0,85$. По длине глаза преобладали клинические случаи от 22,50 до 24,50 мм. Распределение клинических случаев в подгруппе по возрасту и ПЗО представлено на Рисунках 4.36 и 4.37 соответственно.

ВГД у всех пациентов находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 15 до 23 мм рт. ст. и в среднем составило $18,00 \pm 2,20$. В 25 случаях глаза были факичными, в 2 случаях – артифакичными. Протяжённость ВМТ варьировала от 100 до 2100 мкм. Исходная МКОЗ в подгруппе до начала лечения варьировала от 0,1 до 0,7 и в среднем составила $0,40 \pm 0,18$ (Рисунок 4.38).

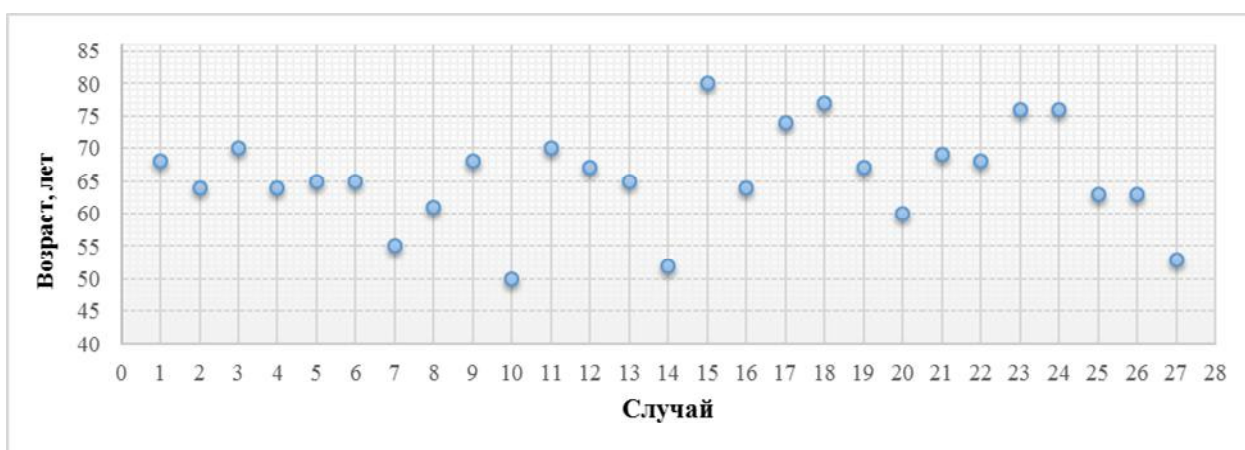


Рисунок 4.36 – Распределение по возрасту в контрольной группе в подгруппе К1 с изолированной ВМТ

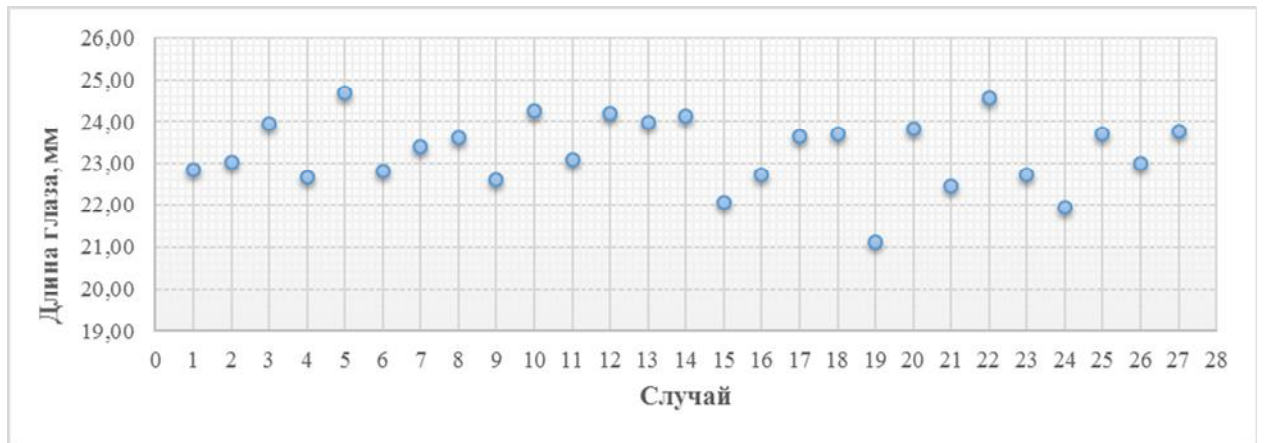


Рисунок 4.37 – Распределение по длине глаза в контрольной группе в подгруппе К1 с изолированной ВМТ

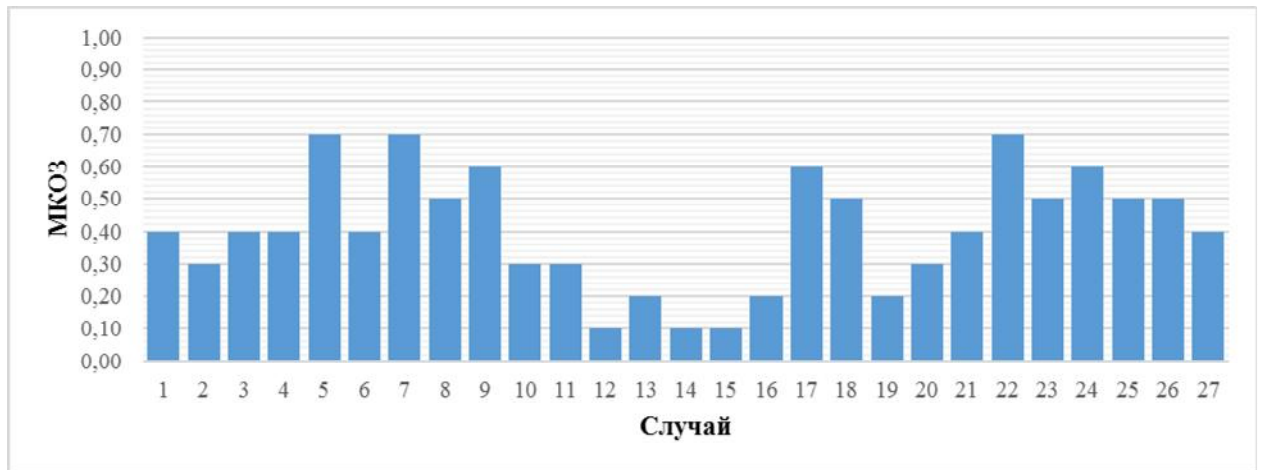


Рисунок 4.38 – Исходная острота зрения в контрольной группе в подгруппе К1 с изолированной ВМТ

Подробная характеристика подгрупп контрольной группы представлена в Таблице 4.8.

Таблица 4.8 – Характеристика клинических случаев в подгруппах контрольной группы (n=65)

Параметры	К1 – Изолированная ВМТ	К2 – ВМТ с МО	К3 – ВМТ с ЭРФ
Количество случаев	27	26	12
Возраст, лет	65,70±7,52	65,35±5,84	72,67±5,61
ПЗО, мм	23,28±0,85	23,28±0,75	23,30±0,60
ВГД, мм рт. ст	18,00±2,20	17,88±2,23	17,25±1,91
Факия/Артификия	25/2	26/0	12/0
Протяженность ВМТ, мкм			
Минимальная	100	150	100
Максимальная	2100	910	1970
Средняя	465,96±372,96	358,62±159,92	722,75±497,93
Диаметр МО, мкм			
Минимальная		80	
Максимальная	-	530	-
Средняя		278,12±121,83	
МКОЗ до лечения			
Минимальная	0,1	0,1	0,2
Максимальная	0,7	0,7	0,6
Средняя	0,40±0,18	0,36±0,14	0,42±0,12

Контрольная подгруппа пациентов ВМТ с сопутствующим МО – К2

В подгруппу вошло 26 случаев ВМТ с сопутствующим МО. Подробная характеристика подгруппы также представлена в Таблице 5.1. Возраст пациентов варьировал от 57 лет до 81 года. Преобладали пациенты в возрасте от 55 до 70 лет.

ПЗО варьировала от 22,15 до 24,81 мм и в среднем составила 23,28±0,75. Преобладали случаи с ПЗО от 22,50 до 24,00 мм. Подробные данные о подгруппе также представлены в Таблице 4.8.

Данные о распределении по возрасту случаев ВМТ с сопутствующим МО представлены на Рисунке 4.39, распределение пациентов по длине глаза – на Рисунке 4.40.

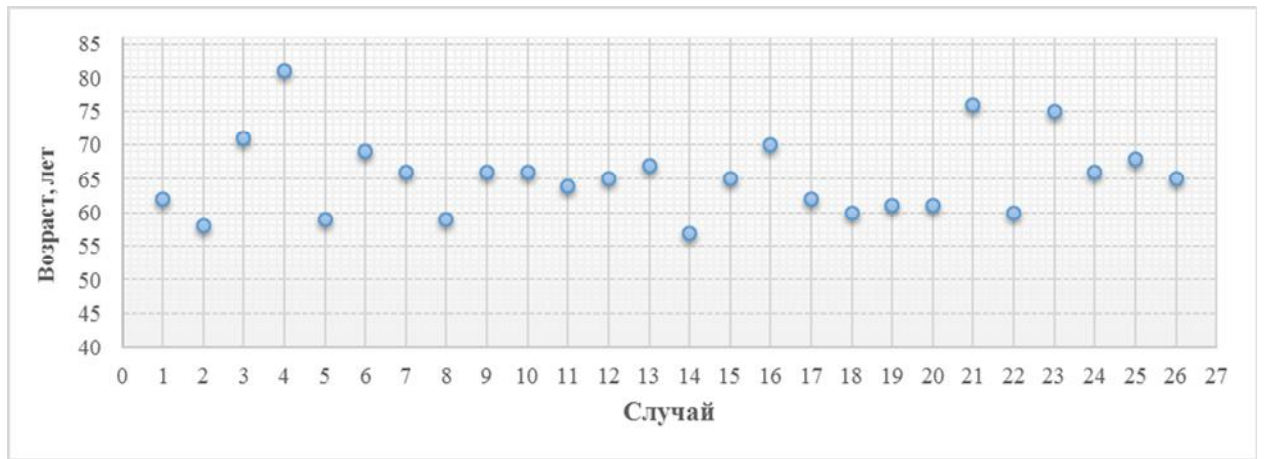


Рисунок 4.39 – Распределение по возрасту в контрольной группе в подгруппе К2 – ВМТ с сопутствующим МО

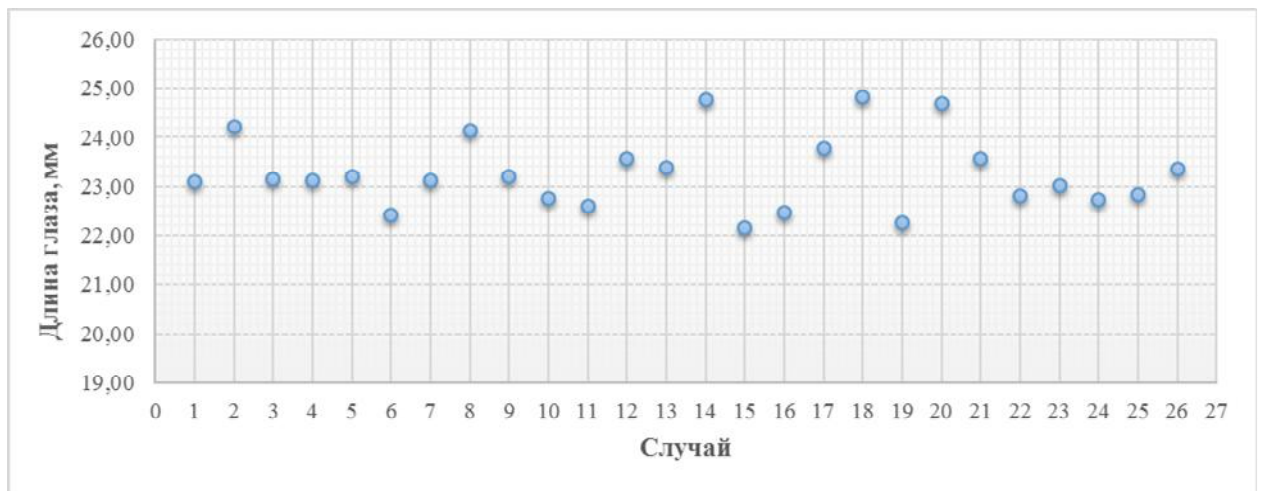


Рисунок 4.40 – Распределение по длине глаза в контрольной группе в подгруппе К2 – ВМТ с сопутствующим МО

У всех пациентов ВГД находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 13 до 21 мм рт. ст., в среднем ВГД составило $17,88 \pm 2,23$ мм рт. ст. Во всех 26 случаях глаза были факичными. Протяжённость ВМТ варьировала от 120 до 910 мкм, диаметр МО – от 80 до 530 мкм.

МКОЗ варьировала от 0,1 до 0,7 (Рисунок 4.41).

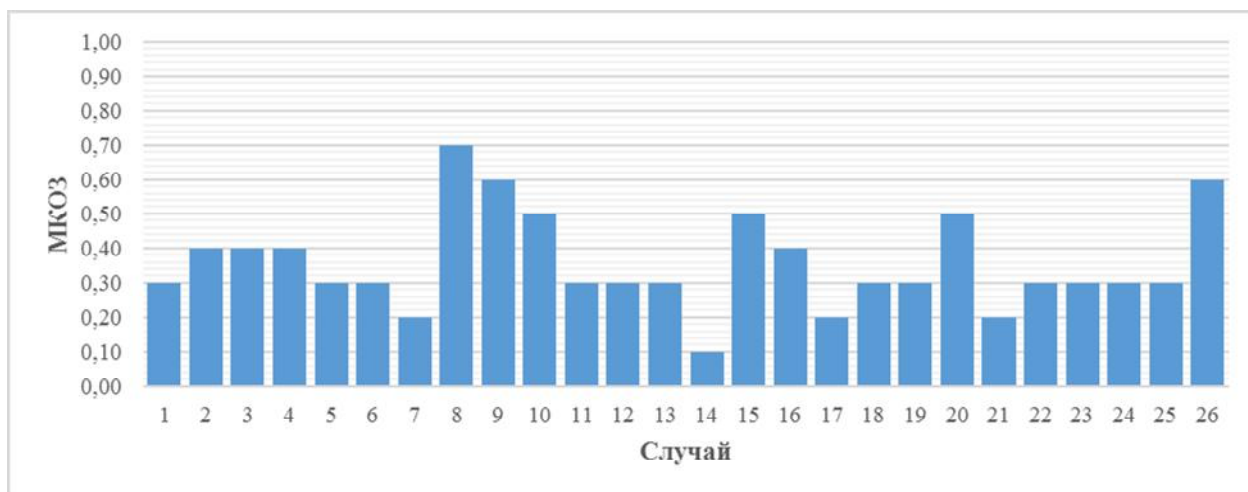


Рисунок 4.41 – МКОЗ до лечения в контрольной группе
в подгруппе К2 – ВМТ с сопутствующим МО

Подгруппа пациентов ВМТ с сопутствующим ЭРФ – К3

В подгруппу вошло 12 случаев ВМТ. Возраст пациентов варьировал от 61 года до 82 лет, преобладающий возраст – от 65 до 75 лет.

ПЗО варьировала от 22,43 до 24,53 мм и в среднем составила $23,30 \pm 0,60$ мм. Преобладали случаи с ПЗО от 22,50 мм до 24,00 мм. Распределение пациентов по возрасту и длине глаза представлено на Рисунках 4.42, 4.43.

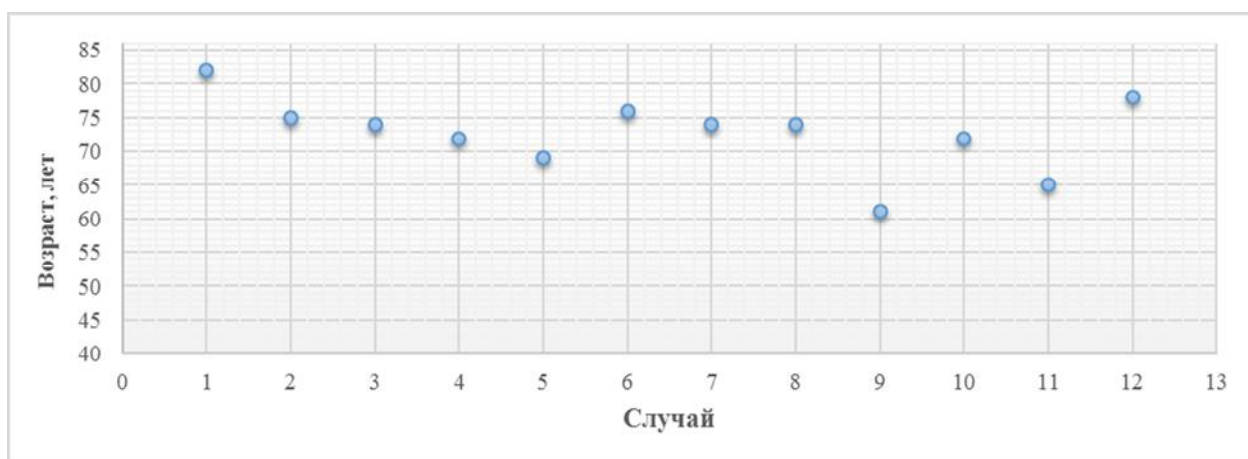


Рисунок 4.42 – Контрольная группа, подгруппа К3 – ВМТ с сопутствующим
ЭРФ. Распределение по возрасту

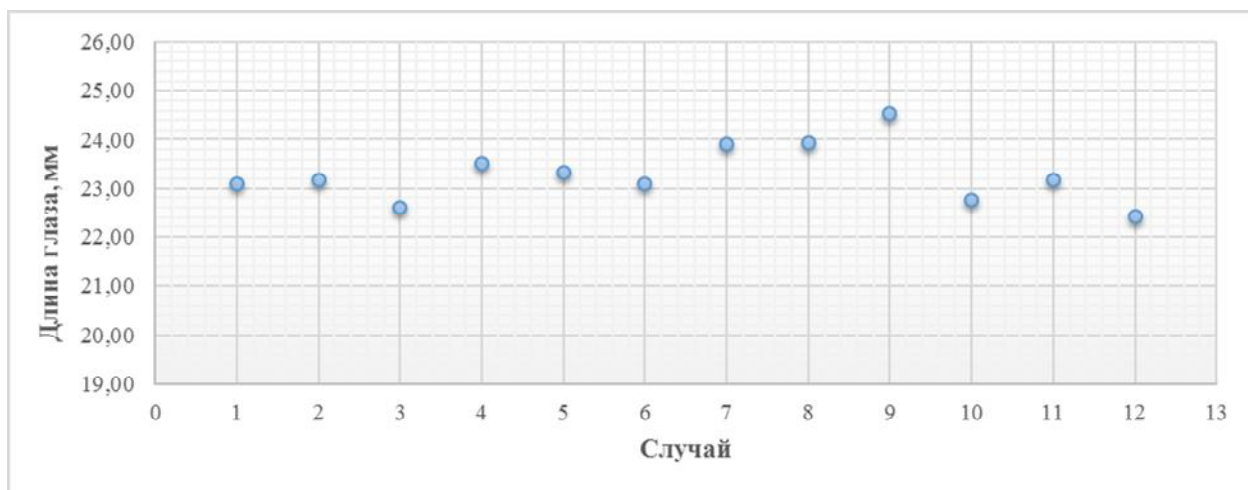


Рисунок 4.43 – Контрольная группа, подгруппа КЗ – ВМТ с сопутствующим ЭРФ. Распределение по длине глаза

У всех пациентов ВГД находилось в пределах нормальных значений и варьировало от 14 до 21 мм рт. ст., в среднем составило $17,25 \pm 1,91$ мм рт. ст. Во всех случаях глаза были факичными. Протяжённость ВМТ варьировала от 100 до 1970 мкм.

МКОЗ была в пределах от 0,2 до 0,6. Распределение пациентов по МКОЗ представлено на Рисунке 4.44.

Подробные данные о подгруппе также представлены в Таблице 4.8.

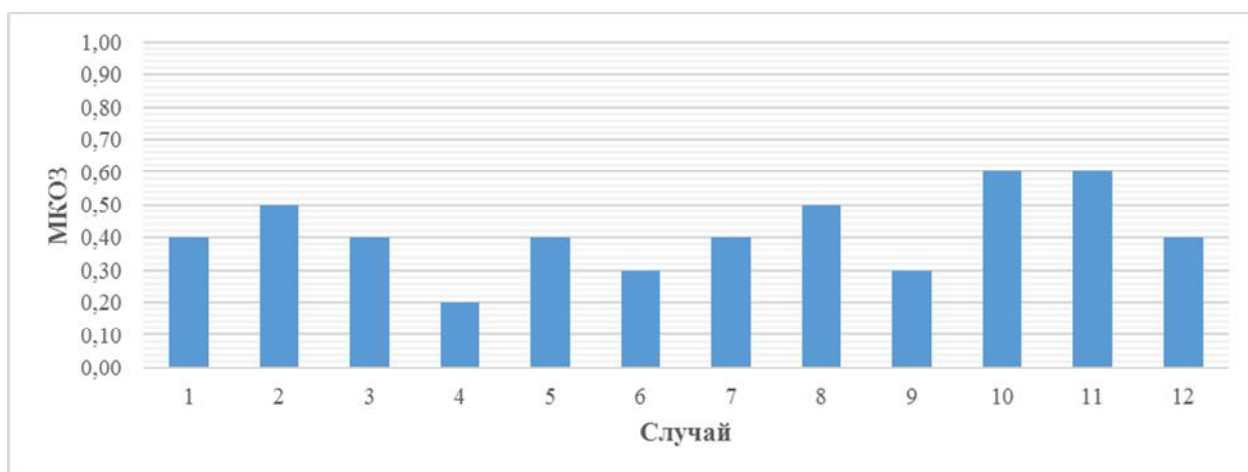


Рисунок 4.44 – МКОЗ до лечения в подгруппе КЗ – ВМТ с сопутствующим ЭРФ

4.4.2. Анализ результатов лечения витреомакулярной тракции в контрольной группе

Анализ эффективности устранения витреомакулярной тракции

Эффективность методики анализировали по результату устранения ВМТ. Анализируемая группа составила 65 клинических случаев. При сочетании ВМТ с МО устранение ВМТ с сохранением МО расценивали как положительный результат устранения тракции. Кроме результата устранения ВМТ в контрольной группе, как и в основной, анализировали изменение МКОЗ.

После лечения устранение ВМТ в контрольной группе в целом произошло во всех 65 случаях (100%). После лечения МКОЗ возросла по сравнению с исходной от 0,1 до 1,0 и в среднем составила $0,58 \pm 0,19$. Прибавка МКОЗ – в среднем $0,19 \pm 0,09$. Зарегистрировано достоверное увеличение МКОЗ ($p < 0,05$). Расчет достоверности различий между МКОЗ до и после лечения осуществляли через определение t-критерия Стьюдента.

В 1 случае сочетания ВМТ с МО, после устранения ВМТ с сохранением МО отмечалось некоторое увеличение диаметра МО, что сопровождалось умеренным снижением остроты зрения по отношению к исходной МКОЗ.

Из 65 случаев полного излечения удалось добиться в 64 случаях (98,5%). К полному излечению отнесены случаи устранения ВМТ и закрытия МО при его изначальном наличии. Через 1 месяц после лечения МКОЗ в этих случаях составила $0,59 \pm 0,18$; прибавка МКОЗ – $0,20 \pm 0,08$ ($p < 0,05$).

Изменение МКОЗ после лечения во всех случаях в контрольной группе представлено на Рисунке 4.45.

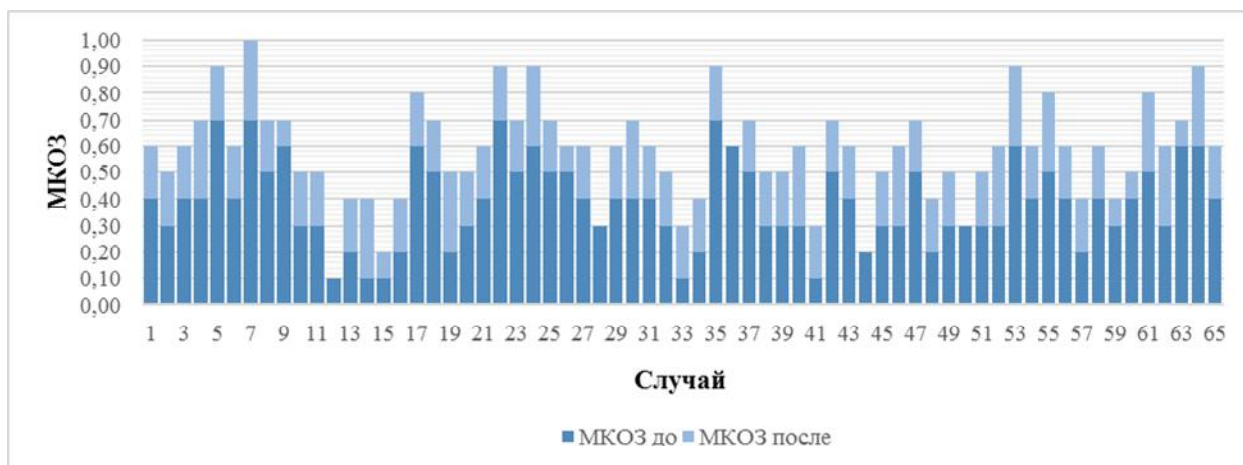


Рисунок 4.45 – Изменение МКОЗ в контрольной группе после проведенного хирургического лечения

Анализ результатов лечения в контрольной подгруппе пациентов с изолированной ВМТ

В анализируемую подгруппу вошло 27 случаев изолированной ВМТ. Положительным считался результат устранения ВМТ. Протяженность ВМТ варьировала от 100 до 2100 мкм и в среднем составила $465,96 \pm 372,96$ мкм. В результате лечения произошло разрешение ВМТ в 27 случаях (100%).

МКОЗ до лечения варьировала от 0,1 до 0,7 и в среднем составила $0,40 \pm 0,18$. После лечения МКОЗ варьировала от 0,1 до 1,0, в среднем – $0,60 \pm 0,21$. В среднем прибавка МКОЗ $0,20 \pm 0,07$. Было отмечено достоверное увеличение МКОЗ после лечения ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в подгруппе представлено на Рисунке 4.46.

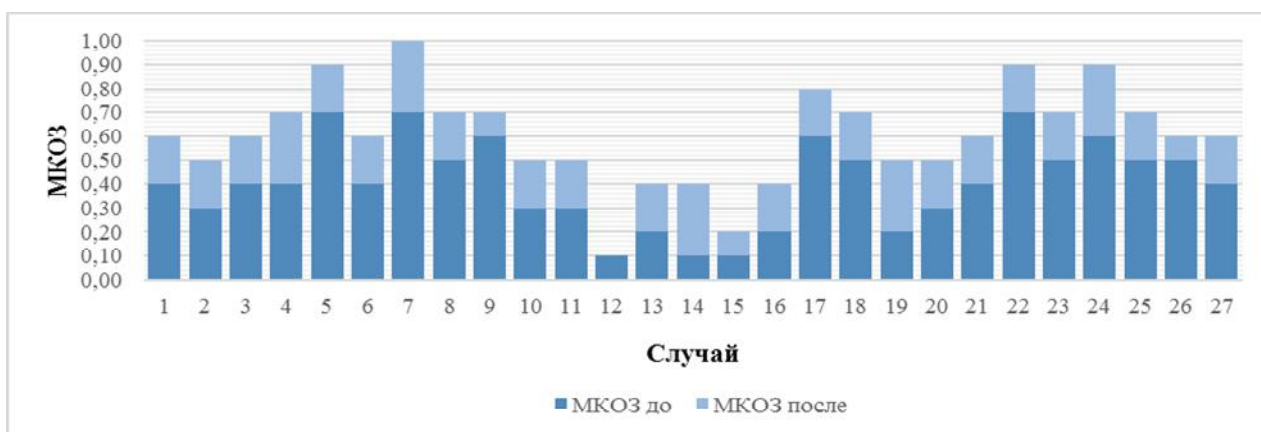


Рисунок 4.46 – Изменение МКОЗ в контрольной группе в подгруппе К1 с изолированной ВМТ

Анализ результатов лечения в контрольной подгруппе витреомакулярной тракции, сочетанной с макулярным отверстием

В анализируемую подгруппу вошло 26 случаев ВМТ, сочетанных с МО (40%). Протяженность ВМТ варьировала от 120 до 910 мкм и в среднем составила $358,62 \pm 159,92$ мкм. Диаметр МО варьировал от 80 до 530 мкм и в среднем составил $278,12 \pm 121,83$ мкм. Исходная МКОЗ варьировала от 0,1 до 0,7 и в среднем составила $0,36 \pm 0,14$.

Положительным считался результат излечения пациентов, сопровождающийся устранением ВМТ и закрытием МО. В 25 случаях (96,2%) удалось достичь устранения ВМТ и закрытия МО. В 1 случае не удалось добиться закрытия МО диаметром 379 мкм (3,8%). В данном случае было проведено повторное хирургическое лечение.

МКОЗ после лечения варьировала от 0,2 до 0,9 и в среднем составила $0,53 \pm 0,19$. Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,16 \pm 0,08$. Изменение МКОЗ после лечения представлено на Рисунке 4.47.

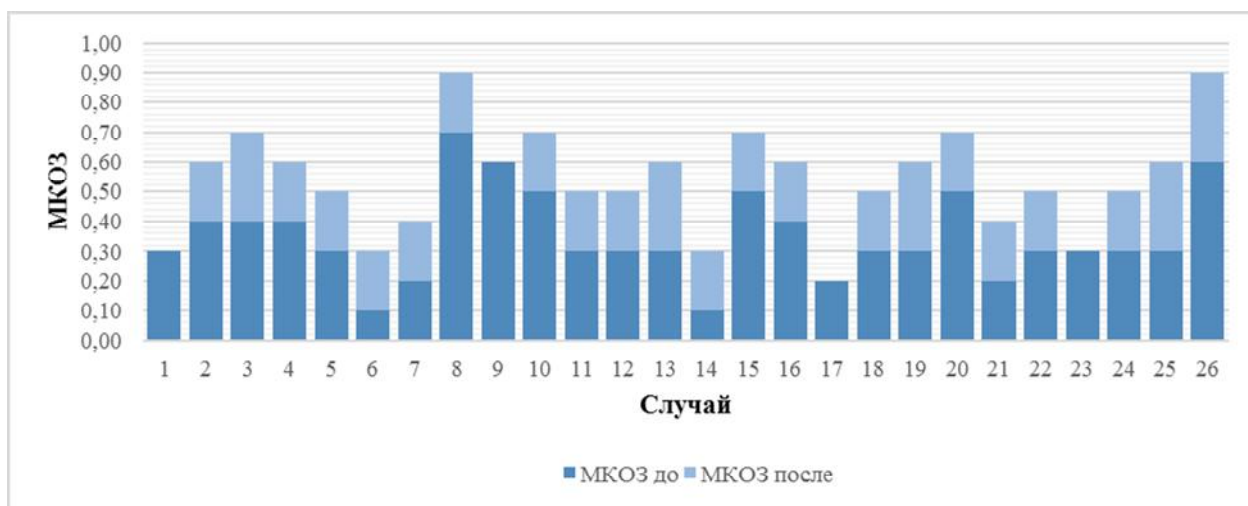


Рисунок 4.47 – Изменение МКОЗ в контрольной группе в подгруппе К2 – ВМТ, сочетанной с МО

Полное излечение было достигнуто в 25 из 26 случаев. В случае незакрытия МО после устранения ВМТ произошло некоторое увеличение диаметра МО, что сопровождалось снижением исходной МКОЗ (цифра 6 на

Рисунке 4.47). МКОЗ после лечения у излеченных пациентов составила $0,55 \pm 0,17$. Прибавка МКОЗ у излеченных пациентов – $0,18 \pm 0,09$.

Анализ результатов лечения в контрольной подгруппе витреомакулярной тракции, сочетанной с эпиретинальным фиброзом

В исследуемую подгруппу вошло 12 случаев (18,5%) ВМТ, сочетанных с ЭРФ. Положительным результатом считалось устранение ВМТ. Во всех 12 случаях (100%) удалось добиться устранения ВМТ. Протяженность ВМТ варьировала от 100 до 1970 мкм и в среднем составила $722,75 \pm 497,93$ мкм.

МКОЗ до лечения варьировала от 0,20 до 0,60 и в среднем составила $0,42 \pm 0,12$. После лечения МКОЗ варьировала от 0,4 до 0,9 и в среднем составила $0,61 \pm 0,13$. В среднем прибавка МКОЗ составила $0,18 \pm 0,05$ ($p < 0,05$). Изменение МКОЗ в подгруппе представлено на Рисунке 4.48.

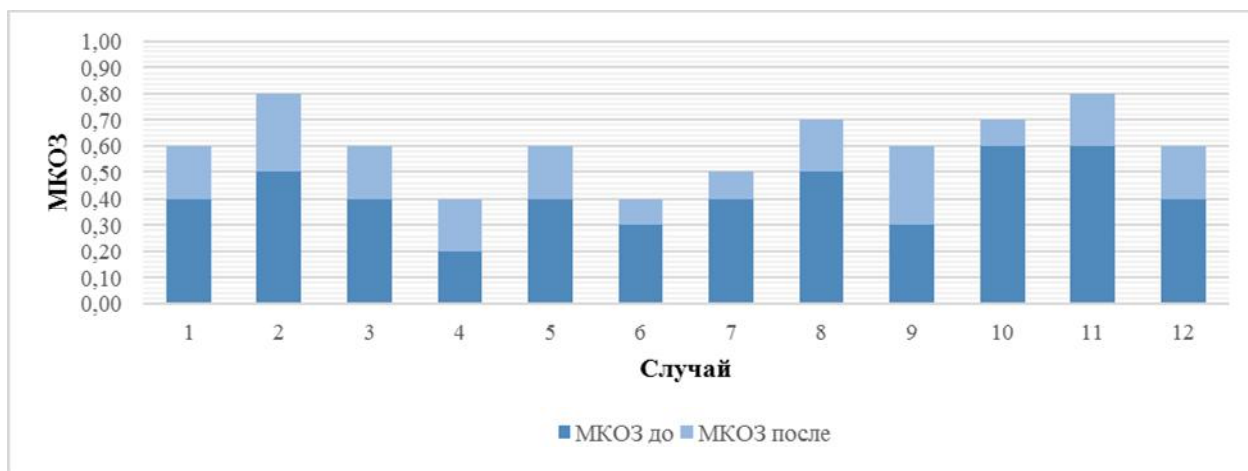


Рисунок 4.48 – Изменение МКОЗ в контрольной группе в подгруппе КЗ – ВМТ, сочетанной с ЭРФ

ГЛАВА 5. СРАВНЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ ПО РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ И ТРАДИЦИОННОЙ МЕТОДИКЕ, РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ЛЕЧЕНИЯ ВИТРЕОМАКУЛЯРНОЙ ТРАКЦИИ

Целью данной главы явилось сравнение анатомической и функциональной эффективности разработанной технологии с контрольной группой пациентов, а также разработка алгоритма подхода к лечению ВМТ для применения в клинической практике с учетом результатов, полученных при микроинвазивном лечении ВМТ.

Для достижения указанной цели решались следующие задачи:

- сравнить анатомическую и функциональную эффективность разработанной технологии с контрольной группой пациентов;
- предложить алгоритм подхода к лечению ВМТ с учетом результатов, полученных при микроинвазивном лечении ВМТ для применения в клинической практике.

5.1. Сравнение анатомических и функциональных результатов лечения витреомакулярной тракции в основной и контрольной группах

Сравнение проводили по двум основным параметрам: анатомическому и функциональному результатам, как в группах в целом, так и в сформированных подгруппах. Отдельно сравнивали функциональные результаты в случаях полного излечения.

Сравнение анатомических и функциональных результатов основной и контрольной групп

Сравнение проводили по полученному результату устранения ВМТ, достижению полного излечения после проведенного лечения и изменению

остроты зрения в группах в целом. В основной исследуемой группе удалось достичь устранения ВМТ в 77,4% (в число случаев устранения ВМТ вошли случаи ВМТ с МО, в которых была устранена ВМТ, но не произошло закрытие МО). Полного излечения удалось достичь в 59,7%. Исходная острота зрения составила $0,66 \pm 0,26$, прибавка МКОЗ в основной группе – $0,20 \pm 0,21$. В контрольной группе результат устранения ВМТ был достигнут в 100% случаев, полное излечение достигнуто в 98,5% (в одном случае не произошло закрытие МО после первого хирургического вмешательства). Исходная острота зрения составила $0,58 \pm 0,19$, прибавка МКОЗ в контрольной группе – $0,19 \pm 0,09$ (Таблица 5.1). При сравнении изменения функциональных результатов прибавки МКОЗ основной и контрольной групп не выявлено достоверных различий. Острота зрения в сравниваемых группах увеличилась практически одинаково.

Таблица 5.1 – Сравнение МКОЗ у пациентов основной и контрольной групп (n=130)

Группы	Устранение ВМТ/ излечение %	Функциональный результат	
		МКОЗ после	прибавка МКОЗ
Основная группа:	77,4/59,7%	$0,66 \pm 0,26$	$0,20 \pm 0,21$
- изолированная ВМТ	66,7/66,7%	$0,69 \pm 0,22$	$0,21 \pm 0,19$
- ВМТ с МО	92,3/50%	$0,61 \pm 0,31$	$0,18 \pm 0,27$
- ВМТ с ЭРФ	66,7/66,7%	$0,68 \pm 0,21$	$0,16 \pm 0,21$
Контрольная группа:	100/98,5%	$0,58 \pm 0,19$	$0,19 \pm 0,09$
- изолированная ВМТ	100/100%	$0,60 \pm 0,21$	$0,20 \pm 0,07$
- ВМТ с МО	100/96,2%	$0,53 \pm 0,19$	$0,16 \pm 0,08$
- ВМТ с ЭРФ	100/100%	$0,61 \pm 0,13$	$0,18 \pm 0,05$

Сравнение анатомических и функциональных результатов в подгруппах с изолированной ВМТ

Сравнение проводили по полученному анатомическому результату и изменению остроты зрения после лечения. В подгруппе О1 основной группы устранение ВМТ достигнуто в 66,7% случаев, исходная острота зрения

составила $0,69 \pm 0,22$, прибавка МКОЗ – $0,21 \pm 0,19$. В подгруппе К1 контрольной группы устранение ВМТ достигнуто в 100%. Исходная острота зрения составила $0,60 \pm 0,21$, прибавка МКОЗ – $0,20 \pm 0,07$. При сравнении изменения прибавки МКОЗ в основной и контрольной подгруппах с изолированной ВМТ, не выявлено достоверных различий (см. Таблицу 5.1).

Сравнение анатомических и функциональных результатов в подгруппах ВМТ, сочетанной с МО

Сравнивали результат устранения ВМТ, результат полного излечения (устранение ВМТ и закрытие МО) и изменение остроты зрения в подгруппах до и после лечения. В подгруппе О2 основной группы устранение ВМТ достигнуто в 92,3% случаев (учитывались все случаи устранения ВМТ, в том числе случаи незакрытия МО). Полное излечение (устранение ВМТ и закрытие МО) произошло в 50% случаев. Исходная острота зрения в подгруппе О1 составила $0,61 \pm 0,31$, прибавка МКОЗ после лечения – $0,18 \pm 0,27$. В подгруппе К2 контрольной группы устранение ВМТ достигнуто в 100% случаев. Полное излечение – в 96,2% (в одном случае потребовалось повторное хирургическое лечение в связи с незакрытием МО). Исходная острота зрения в подгруппе составила $0,53 \pm 0,19$, прибавка МКОЗ после лечения – $0,16 \pm 0,08$. Статистически значимых различий в прибавке МКОЗ в сравниваемых подгруппах не выявлено (см. Таблицу 5.1).

Сравнение анатомических и функциональных результатов в подгруппах с ВМТ, сочетанной с ЭРФ

Сравнение проводили по полученному анатомическому результату и изменению остроты зрения после лечения. В подгруппе О3 основной группы устранение ВМТ достигнуто в 66,7% случаев, исходная острота зрения составила $0,68 \pm 0,21$, прибавка МКОЗ – $0,16 \pm 0,21$. В подгруппе К3 контрольной группы устранение ВМТ достигнуто в 100% случаев. Исходная острота зрения составила $0,61 \pm 0,13$, прибавка МКОЗ – $0,18 \pm 0,05$. Прибавка

МКОЗ после лечения в сравниваемых подгруппах не имела статистически значимых достоверных различий (см. Таблицу 5.1).

Сравнение остроты зрения в излечившихся случаях

Отдельно проведено сравнение изменения остроты зрения в случаях полного излечения в основной и контрольных группах и соответственно в сформированных по особенностям патологического процесса подгруппах. Сравнение проводили по параметрам МКОЗ и прибавки МКОЗ после проведенного лечения (Таблица 5.2).

В основной исследуемой группе полное излечение достигнуто 59,7% случаев. МКОЗ составила $0,80 \pm 0,18$, ее прибавка – $0,31 \pm 0,19$. В контрольной группе полное излечение достигнуто в 98,5% случаев, МКОЗ составила $0,59 \pm 0,18$, ее прибавка – $0,20 \pm 0,08$. При сравнении выявлено достоверное увеличение МКОЗ и ее прибавки в основной группе пациентов по отношению к контрольной ($p < 0,05$).

В подгруппе О1 основной группы с изолированной ВМТ излечение достигнуто в 66,7% случаев, МКОЗ после лечения составила $0,76 \pm 0,17$, прибавка МКОЗ – $0,30 \pm 0,15$. В подгруппе К1 контрольной группы излечение достигнуто в 100% случаев, МКОЗ составила $0,60 \pm 0,21$, ее прибавка – $0,20 \pm 0,07$. При сравнении выявлена статистически значимая более высокая МКОЗ и ее прибавка в подгруппе О1 основной группы.

В подгруппе О2 основной группы пациентов с ВМТ, сочетанной с МО, полное излечение произошло в 50% случаев, МКОЗ после лечения составила $0,86 \pm 0,16$, ее прибавка – $0,36 \pm 0,23$. В подгруппе К2 контрольной группы полное излечение произошло в 96,2% случаев, МКОЗ составила $0,55 \pm 0,17$, прибавка – $0,19 \pm 0,09$. При сравнении также выявлена статистически значимая более высокая МКОЗ и ее прибавка в подгруппе О2 основной группы ($p < 0,05$).

В подгруппе О3 основной группы пациентов с ВМТ, сочетанной с ЭРФ, излечение достигнуто в 66,7% случаев, МКОЗ после лечения составила

0,78±0,20, ее прибавка – 0,23±0,12. В подгруппе КЗ контрольной группы излечение достигнуто в 100% случаев, МКОЗ составила 0,61±0,13, ее прибавка – 0,18±0,05. При сравнении выявлена статистически значимая более высокая острота зрения и ее прибавка в результате лечения у пациентов подгруппы ОЗ в основной группе ($p<0,05$).

При сравнении остроты зрения излечившихся случаев в основной и контрольной группах было обнаружено достоверное более высокое увеличение МКОЗ после лечения как в основной исследуемой группе пациентов, так и в ее подгруппах по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). Подробно данные об изменении МКОЗ после лечения представлены в Таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Сравнение МКОЗ и ее прибавки у излечившихся пациентов в основной и контрольной группах

Группы	Анатомический результат %	Функциональный результат	
		МКОЗ после	прибавка МКОЗ
Основная группа:	59,7%	0,80±0,18	0,31±0,19
- изолированная ВМТ	66,7%	0,76±0,17	0,30±0,15
- ВМТ с МО	50%	0,86±0,16	0,36±0,23
- ВМТ с ЭРФ	66,7%	0,78±0,20	0,23±0,12
Контрольная группа:	98,5%	0,59±0,18	0,20±0,08
- изолированная ВМТ	100%	0,60±0,21	0,20±0,07
- ВМТ с МО	96,2%	0,55±0,17	0,19±0,09
- ВМТ с ЭРФ	100%	0,61±0,13	0,18±0,05

Проведено сравнение двух методик лечения ВМТ: разработанной методики микроинвазивного лечения с использованием интравитреального введения бактериальной коллагеназы и применяемой в настоящее время хирургической методики, заключающейся в проведении факоэмульсификации хрусталика с имплантацией ИОЛ, субтотальной витрэктомии, удалении эпиретинальной мембраны и ВПМ.

При сравнении выявлено, что применение хирургического метода лечения позволяет получить практически гарантированный анатомический результат лечения ВМТ, близкий к 100%. Применение разработанной методики микроинвазивного лечения позволяет добиться излечения пациентов с ВМТ в 66,7% случаев, при лечении пациентов с ВМТ, сочетанной с МО, – в 50% случаев.

При сравнении функциональных результатов у полностью излечившихся пациентов выявлено, что методика микроинвазивного лечения ВМТ позволяет получать более высокие функциональные результаты как в общих сравниваемых группах, так и в отдельных подгруппах, нежели применение хирургического вмешательства. Более высокая функциональная эффективность разработанной методики микроинвазивного лечения ВМТ показывает целесообразность возможного изменения существующей тактики лечения таких пациентов. При лечении пациентов с ВМТ первым этапом может быть проведено микроинвазивное лечение. В случае отсутствия положительного результата вторым этапом может быть произведено хирургическое вмешательство.

5.2. Алгоритм лечения витреомакулярной тракции

На основании полученных результатов микроинвазивного лечения ВМТ по разработанной технологии целесообразным является предложение нового алгоритма лечения таких пациентов. Предлагаемый алгоритм основывается на ниже приводимых предпосылках.

ВМТ – это патологическое состояние незавершенной ЗОСТ, при котором сохраняется фиксация СТ к сетчатке в макулярной области с постоянным тракционным воздействием на нее со стороны СТ. В результате перманентного тракционного воздействия происходит патологическое изменение профиля сетчатки с возможным формированием в ней кистозных полостей. Кроме того, под сетчаткой могут формироваться полости,

заполненные внутриглазной жидкостью. В результате нарушения нормальной архитектуры нейросенсорного аппарата развиваются различной степени метаморфозии и снижение остроты зрения. Степень метаморфозии и уровень снижения остроты зрения пропорциональны изменению нормального анатомического профиля сетчатки и интравитреальных структур. Определяется прямая зависимость между протяженностью ВМА в области тракции и силой тракционного воздействия.

Нередко ВМТ приводит к формированию МО либо может сочетаться с ЭРФ. Вариабельность ВМТ чрезвычайно разнообразна: изолированная ВМТ, сочетанная с МО или с ЭРФ. Патологическое состояние может сохраняться годами, вместе с этим всегда существует вероятность самостоятельного разрешения патологического состояния. В целом ряде случаев у пациента с ВМТ может быть высокая острота зрения в сочетании с различной степени метаморфозиями. При сопутствующем ВМТ макулярном отверстии, как правило, не возникает сомнений в выборе тактики лечения. Определение подхода к лечению ВМТ, сочетанной с минимальными изменениями профиля сетчатки и высокой остротой зрения, может быть затруднительно. Несмотря на высокую результативность современной витреоретинальной хирургии всегда существует риск развития осложнений и соответственно ухудшения исходного состояния пациента вплоть до необратимого ухудшения зрения.

При принятии решения о тактике лечения пациента с ВМТ необходимо минимизировать риск перехода изолированной ВМТ в ВМТ, сочетанную с МО, и вместе с этим по возможности избежать хирургического лечения ВМТ в случаях с высокой остротой зрения. Для этого важным является определение состояния ВМТ, при которой выжидательная тактика не будет потенциально опасной в аспекте утяжеления исходного состояния.

Критерием потенциально неопасной, в аспекте формирования МО, ВМТ является формирование кистозной полости сетчатки непосредственно под ВПМ, когда не затрагиваются нижележащие слои сетчатки. Такого рода ВМТ не угрожает развитием МО, т. к. при усилении тракции возможен только

локальный отрыв ВПМ в зоне адгезии СТ и не произойдет формирование сквозного МО. У пациентов с такой ВМТ, как правило, высокая острота зрения, и необходимость лечения будет обусловлена только степенью метаморфопсии, испытываемой пациентом.

Предлагаемый алгоритм основывается на полученных результатах лечения с использованием разработанной технологии микроинвазивного лечения ВМТ. Разработанная технология позволяет устранять ВМТ в 77,4% случаев у пациентов с протяженностью фиксации ВМТ до 3100 мкм, сопутствующим МО диаметром до 545 мкм и у пациентов с ВМТ, сочетанной с ЭРФ. В случаях изолированной ВМТ эффективность лечения составляет 66,7%, лечение ВМТ, сочетанной с МО, эффективно в 50% случаев, ВМТ, сочетанной с ЭРФ – в 66,7%. Результативность применяемой технологии показывает, что она может быть использована как методика первого этапа лечения пациентов с ВМТ.

Алгоритм лечения

Определение показаний к проведению лечения. Обязательным условием является подтверждения диагноза ВМТ с использованием метода ОКТ. Показанием к проведению лечения являются жалобы пациента на метаморфопсии, либо сочетание ВМТ с МО. Отсутствие жалоб пациента на метаморфопсии является противопоказанием к проведению лечения, в таких случаях рекомендуется регулярное динамическое наблюдение с контролем динамики на основании данных ОКТ, данных остроты зрения и жалоб пациента.

Определение противопоказаний к проведению лечения. Проведение лечения по разработанной технологии противопоказано в случаях невозможности выполнения ОКТ пациенту. Низкая комплаентность пациента, т. к. лечение предполагает обязательное регулярное динамическое наблюдение за пациентом. Сопутствующая тяжелая психосоматическая патология, сахарный диабет, хронический увеит, прочие заболевания,

требующие проведения витреоретинального хирургического вмешательства. Относительным противопоказанием является наличие псевдоэкзофолиативного синдрома. При лечении пациентов с данным синдромом у врача должна иметься возможность безотлагательного проведения хирургического вмешательства в случае необходимости, т. к. у таких пациентов существует повышенный риск полной ЗОСТ со смещением иридо-хрусталиковой диафрагмы кпереди и развитием вторичной гипертензии.

Сопутствующая катаракта, при которой возможно проведение ОКТ, не является противопоказанием для лечения ВМТ по предложенной технологии. При разрешении тракции хирургическое лечение катаракты проводится в плановом порядке. Если разрешения тракции не произошло, то хирургическое лечение катаракты проводят одновременно с витреоретинальным вмешательством.

Определение сроков лечения. От исходного состояния ВМТ зависит планирование лечения. Пациентов можно разделить на две группы: пациенты, которым требуется предварительное динамическое наблюдение и плановое лечение.

Лечение с предварительным динамическим наблюдением. Производится в случаях изолированной ВМТ или ВМТ, сочетающейся с ЭРФ, при которых нет выраженных изменений во внутренних и внешних слоях сетчатки, а также угрозы формирования МО или ламеллярного МО при отсутствии подтвержденного анамнеза, указывающего на наличие ВМТ в предшествующие 3 месяца.

В таких случаях проводится предварительное динамическое наблюдение за пациентом с ежемесячным контролем ОКТ в течение трех месяцев в расчете на возможное самостоятельное разрешение ВМТ. При отсутствии положительной динамики пациенту предлагается проведение лечения. В случаях регистрации положительной динамики в период 3-месячного наблюдения в виде уменьшения протяженности фиксации ВМТ, выправлении профиля сетчатки в сторону нормального, срок наблюдения

рекомендуется продлить еще на три месяца. При отсутствии положительной динамики пациенту рекомендуется проведение лечения.

Плановое лечение без предварительного динамического наблюдения. К плановому лечению должны быть отнесены случаи ВМТ, сочетанные с МО, т. к. существует риск увеличения диаметра МО со временем. Случаи с угрозой развития МО и случаи с высокой тракционной дислокацией сетчатки с формированием в ней множественных кистозных полостей, что является признаком длительно существующего процесса, сопровождающегося выраженным нарушением микроструктуры центральной сетчатки, также не требуют предварительного динамического наблюдения.

Оценка результата лечения. Осуществляется через 1 месяц после проведения лечения по данным ОКТ и визометрии. К полностью излечившимся следует относить пациентов, у которых произошло разрешение тракции с восстановлением макулярного профиля и закрытием макулярного отверстия в случаях наличия такового. Следует обратить внимание на то, что устранение ВМТ не всегда дает немедленное улучшение зрения. В случаях ВМТ с исходно выраженным тракционным компонентом, для которых характерно наличие множественных интравитреальных кист, либо скопление жидкости в субретинальном пространстве, до полного восстановления микроструктуры макулярной сетчатки и улучшения зрения может пройти до 6 месяцев.

К неизлеченным следует отнести случаи, в которых не произошло разрешения ВМТ, и случаи ВМТ, сочетанной с МО, в которых произошло устранение ВМТ, но не закрылось МО. При отсутствии положительного результата пациенту предлагается проведение витреоретинального хирургического вмешательства.

Особенности планирования хирургического лечения. При планировании хирургического вмешательства пациентам, у которых не удалось достичь положительного результата, следует учитывать

среднестатистическую результативность технологии микроинвазивного лечения ВМТ.

Технология позволяет достичь излечения изолированной ВМТ и ВМТ, сочетанной с ЭРФ, в 66,7% случаев и в 50% случаев ВМТ, сочетанной с МО. При отсутствии результата лечения в случаях изолированной ВМТ предполагается проведение планового хирургического лечения. Более тщательно следует подходить к планированию лечения пациентов с ВМТ, сочетанной с МО. (При проведении лечения ВМТ, сочетанной с МО, произошло устранение ВМТ во всех случаях, но в половине случаев не произошло закрытия МО). При планировании лечения таких пациентов необходимо учесть, что в половине случаев не произойдет закрытия МО. Соответственно необходимым является обеспечение возможности проведения хирургического лечения таких пациентов в возможно более короткие сроки с целью минимизации риска увеличения диаметра отверстия со временем.

Использование нового алгоритма лечения пациентов с ВМТ позволит избежать проведения объемного витреоретинального хирургического вмешательства у существенной части таких пациентов и в оптимальные сроки обеспечить хирургическое лечение тем, кому оно будет необходимо.

Разработанный алгоритм основан на анализе результатов лечения ВМТ по разработанной технологии микроинвазивного атравматичного лечения ВМТ и сравнении полученных результатов с результатами лечения, полученными при использовании традиционной хирургии.

Схема алгоритма лечения представлена на Рисунке 5.1.

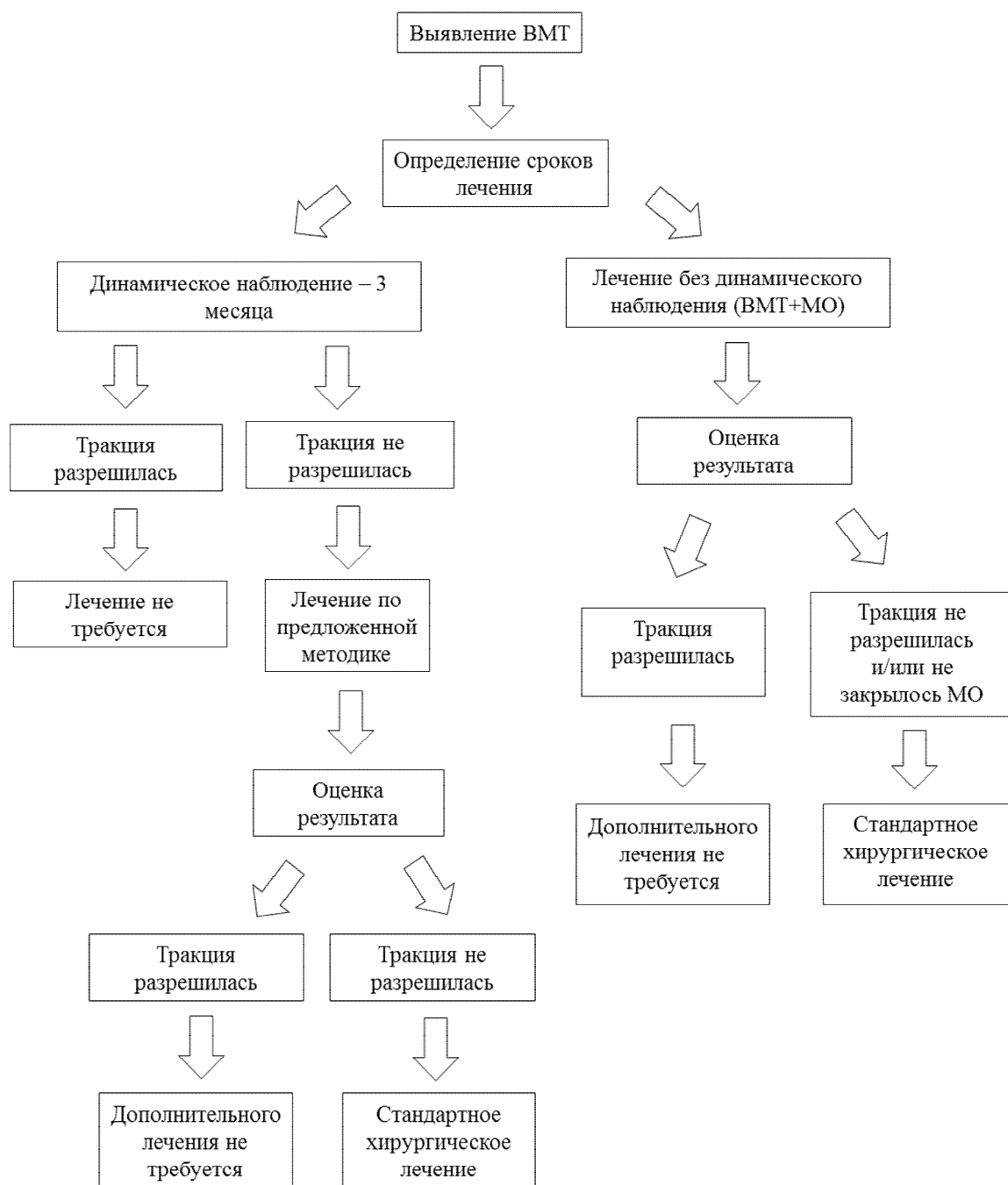


Рисунок 5.1 – Схема алгоритма лечения ВМТ

Разработанная технология позволяет излечивать пациентов с ВМТ в 60% случаев от общего числа пролеченных пациентов в группе. При этом достигается достоверное повышение остроты зрения (прибавка МКОЗ $0,20 \pm 0,21$) в общей группе, куда входят неизлечившиеся случаи. Результаты лечения ВМТ с применением традиционной хирургии показали существенно большую анатомическую эффективность излечения в 98,5% с достоверным

повышения остроты зрения (прибавка МКОЗ $0,19 \pm 0,09$) с учетом неизлечившихся случаев.

Сравнение общих групп пациентов показало, что улучшение зрения после лечения было практически одинаковым в сравниваемых группах. Это указывает на равноценность разработанной микроинвазивной методики и традиционного хирургического лечения в аспекте анализа совокупных результатов прибавки МКОЗ в группах, с учетом излеченных и неизлеченных случаев. Аналогичными были результаты сравнения прибавки МКОЗ по сформированным подгруппам основной и контрольной групп (Таблица 5.1). Прибавка МКОЗ была практически одинаковой в сравниваемых группах и подгруппах, несмотря на то что разработанная технология микроинвазивного лечения показала меньшую анатомическую эффективность – 60%, против 98,5% эффективности традиционной хирургии.

Сравнение остроты зрения в излеченных случаях выявило следующие различия: прибавка МКОЗ у излеченных пациентов в основной группе, пролеченной с применением микроинвазивной технологии, превышала прибавку МКОЗ в контрольной ($0,31 \pm 0,19$ – основная группа; $0,20 \pm 0,08$ – контрольная группа). Аналогичными оказались результаты лечения в сравниваемых подгруппах (таблица 5.2). Наибольшими были различия в подгруппах пациентов с ВМТ, сочетанной с МО (прибавка МКОЗ $0,36 \pm 0,23$ – подгруппа основной группы; прибавка МКОЗ $0,19 \pm 0,09$ – подгруппа контрольной группы). Разработанная технология показала более высокую функциональную эффективность у излеченных пациентов в сравнении с традиционным подходом.

Использование нового алгоритма лечения ВМТ с применением разработанной технологии микроинвазивного атравматического лечения, где разработанная технология применяется первым этапом, дает перспективу получения более высоких функциональных результатов у 60% пациентов с ВМТ в сравнении с традиционным хирургическим лечением.

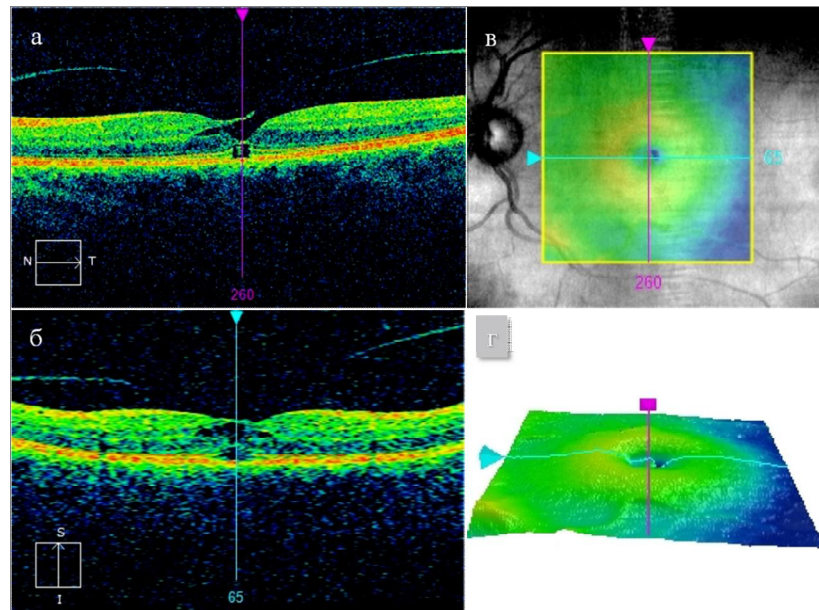
5.3. Клинические примеры

Приведено по несколько клинических примеров, иллюстрирующих результаты лечения с применением разработанной технологии большей части разновидностей ВМТ: угроза формирования МО, ВМТ с МО, ВМТ с формированием ламеллярного МО, ВМТ с формированием множественных мелких и крупных интравитреальных и субретинальных кист, ВМТ, протяженностью более 1000 мкм, ВМТ, сочетанные с ЭРФ.

Клинический пример 1

Пациентка Ж., 57 лет. OD: жалобы на ухудшение зрения, появление искажений в течении нескольких месяцев. МКОЗ 0,3. Глаз факичный, длина 23,13 мм; ВГД 19 мм рт. ст. Периферическое поле зрения соответствует норме. Офтальмоскопически особенностей не выявлено. По данным ОКТ выявлена ВМТ протяженностью 192 мкм, в результате тракционного воздействия со стороны СТ сформировалось ламеллярное МО, в наружных слоях сетчатки сформировалась интравитреальная киста, угроза развития сквозного МО, искажение профиля центральной ямки (Рисунок 5.2а, б).

На следующий день после лечения жалоб нет, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений предметов. МКОЗ 0,8. ВГД 18 мм рт. ст. Глаз спокоен, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с восстановлением макулярного профиля сетчатки (Рисунок 5.3а, б). За период наблюдения прозрачность хрусталика не изменилась, при осмотре за щелевой лампой оптические срезы хрусталиков правого и левого глаза симметричны, прозрачны.



а, б – ОКТ-сканограммы в вертикальной и горизонтальной плоскостях;
 в – цветное картирование сканируемой области сетчатки;
 г – виртуальная модель макулярной поверхности

Рисунок 5.2 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки пациентки Ж.

до лечения

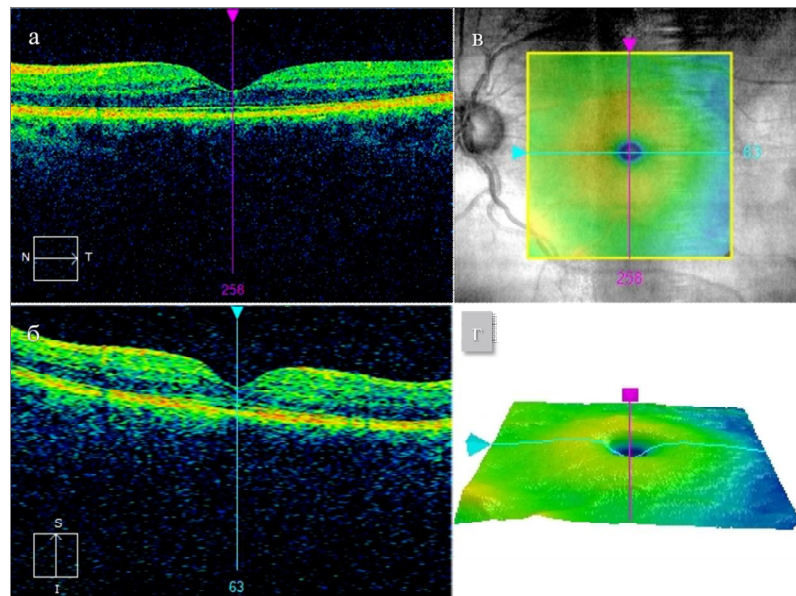
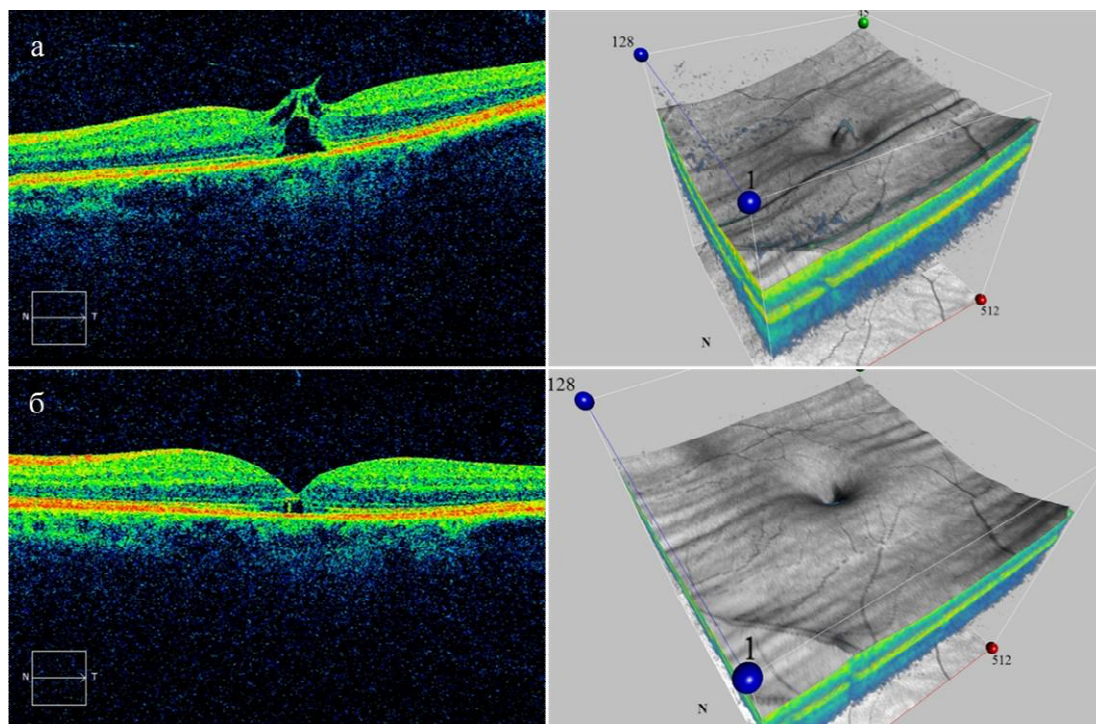


Рисунок 5.3 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки той же пациентки после лечения через 1 месяц

Клинический пример 2

Пациентка Р., 64 лет. OS: жалобы на ухудшение зрения, появление пятна в центре. Указанные жалобы отмечает около 2-3 месяцев. МКОЗ 0,4. Глаз факичный, длина 23,65 мм; ВГД 19 мм рт. ст. Периферическое поле зрения соответствует норме, в центре – скотома. Офтальмоскопически особенностей не выявлено. По данным ОКТ выявлена ВМТ протяженностью 156 мкм, в результате тракционного воздействия со стороны СТ сформировалось две интравитреальные и одна субретинальная кисты, формирование обратного профиля центральной ямки (Рисунок 5.4а).



а – до лечения; б – после лечения

Рисунок 5.4 – ОКТ-сканограмма (слева) и 3D-реконструкция поверхности макулярной области сетчатки (справа) пациентки Р.

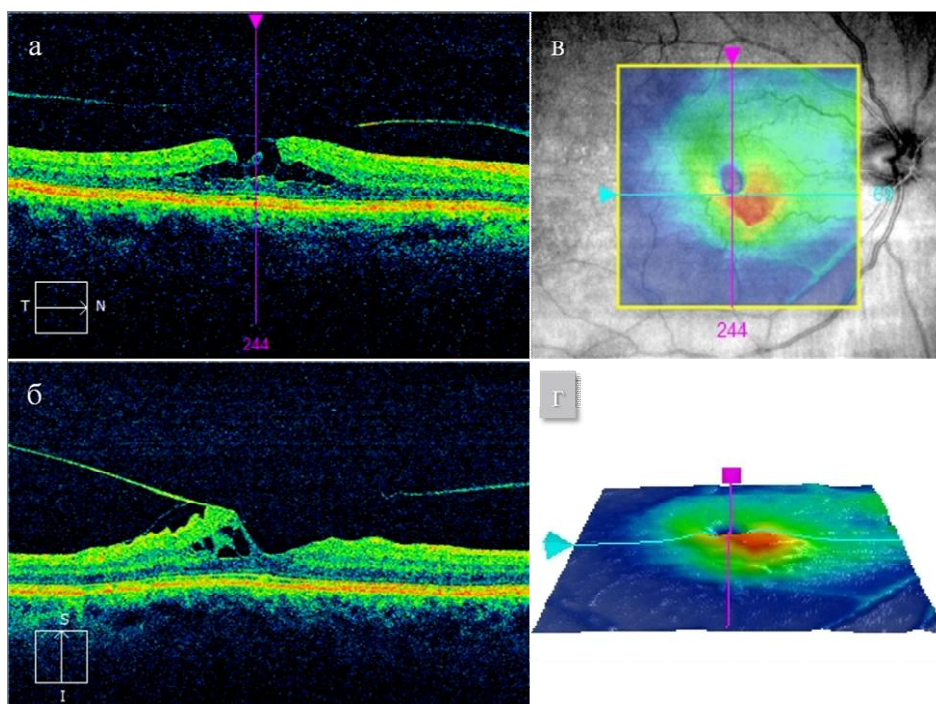
до и через 1 месяц после лечения

На следующий день после лечения жалоб нет, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ и сетчатка без особенностей. Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений предметов. МКОЗ 0,7. ВГД 20 мм рт. ст. Глаз спокоен, среды прозрачны,

передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с восстановлением макулярного профиля сетчатки, в наружных слоях сетчатки сохранилась небольшая интравитреальная киста (Рисунок 5.4б).

Клинический пример 3

Пациентка Н., 68 лет, OD: жалобы на искажения предметов около 18 месяцев, МКОЗ 0,8. Глаз факичный, длина 22,69 мм; ВГД 18 мм рт. ст. Центральное и периферическое поле зрения без особенностей. При биомикроофтальмоскопии изменений не выявлено. ВМТ протяженностью 1603 мкм, формирование ламеллярного МО и интравитреальных кист, расщепление сетчатки, искажение макулярного профиля (Рисунок 5.5). На следующий день после лечения жалоб нет, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ и сетчатка без особенностей.



а, б – ОКТ-сканограмма в вертикальной и горизонтальной плоскостях;

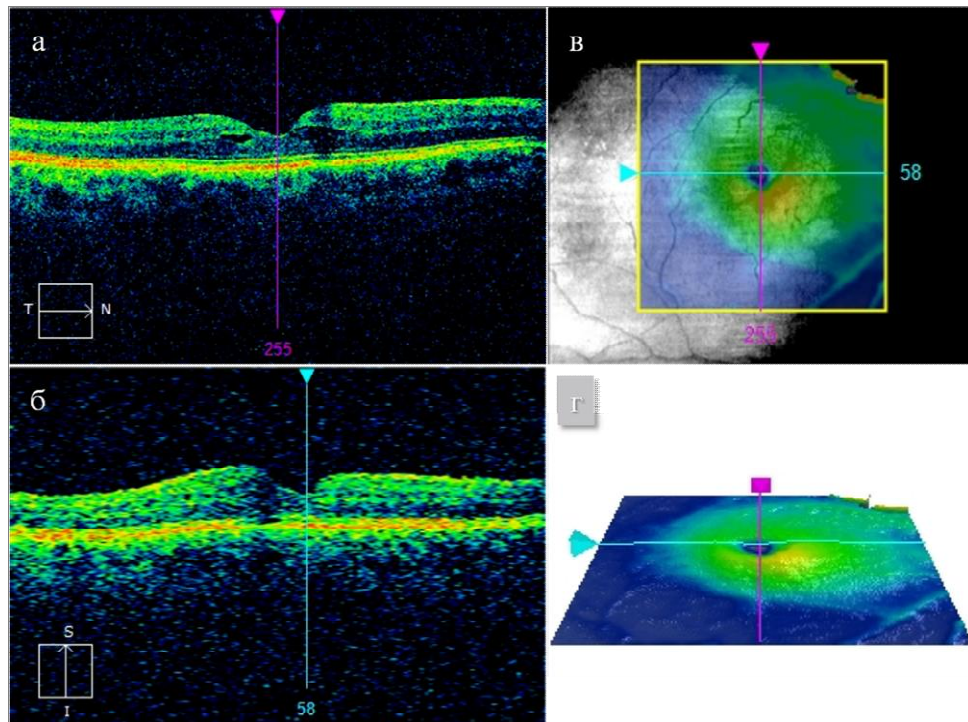
в – цветовое картирование сканируемой области сетчатки;

г – виртуальная модель поверхности сетчатки в области сканирования

Рисунок 5.5 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки пациентки Н.

до лечения

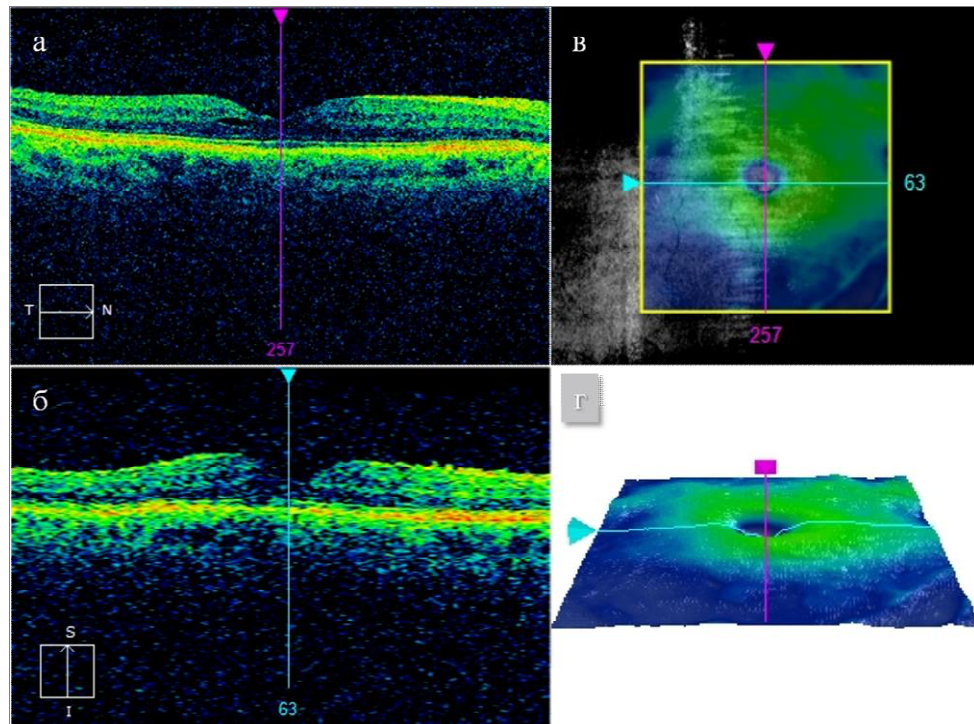
Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений предметов. МКОЗ 0,9. ВГД 19 мм рт. ст. Глаз спокоен, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ, макулярный профиль практически полностью восстановлен, сохраняются две небольшие интравитреальные кисты (Рисунок 5.6).



а, б – ОКТ-сканограмма в вертикальной и горизонтальной плоскостях;
 в – цветное картирование сканируемой области сетчатки;
 г – виртуальная модель поверхности сетчатки в области сканирования

Рисунок 5.6 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки той же пациентки через 1 месяц после лечения

Через 6 месяцев после лечения пациентка жалоб не предъявляла, отмечала улучшение зрения. МКОЗ 1,0; ВГД 18 мм рт. ст. По данным ОКТ: полное восстановление макулярного профиля (Рисунок 5.7).



а, б – ОКТ-сканограмма в вертикальной и горизонтальной плоскостях;
 в – цветное картирование сканируемой области сетчатки;
 г – виртуальная модель поверхности сетчатки в области сканирования

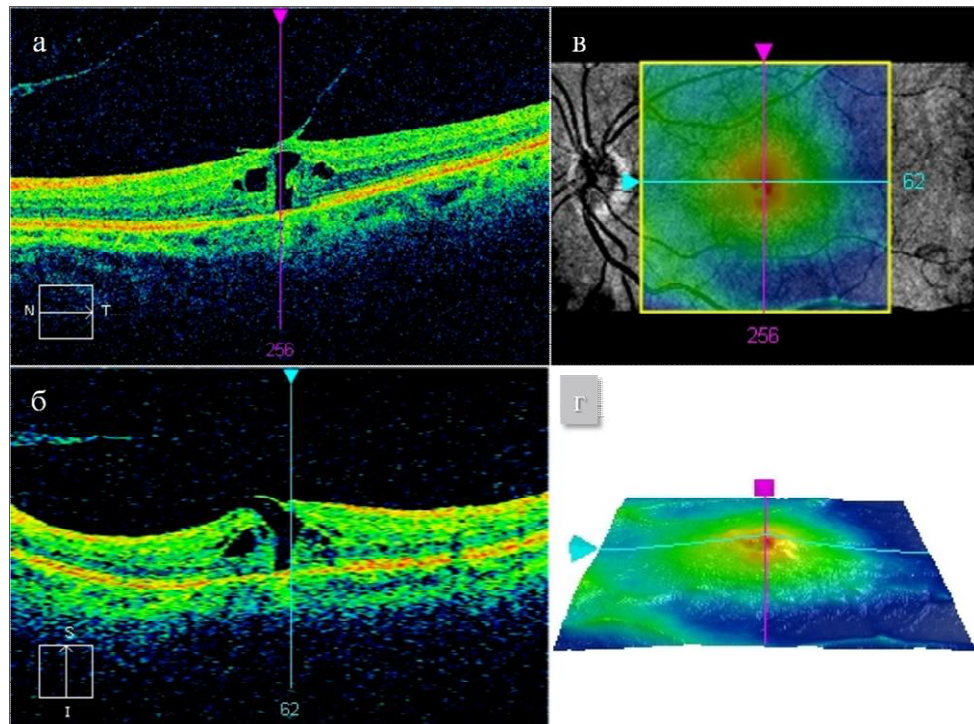
Рисунок 5.7 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки той же пациентки через 6 месяцев после лечения

Клинический пример 4

Пациентка А., 67 лет. OS: жалобы на ухудшение зрения, искажение предметов, ощущение пятна в центре. МКОЗ 0,3. Глаз факичный, длина 24,84 мм; ВГД 20 мм рт. ст. Периферическое поле зрения в норме. Офтальмоскопически без особенностей. ВМГ протяженностью 704 мкм, осложненная МО диаметром 150 мкм, по краю отверстия образовались кисты в сетчатке (Рисунок 5.8а, б), сформировался обратный профиль с конусообразным возвышением в области фовеа (Рисунок 5.8в, г).

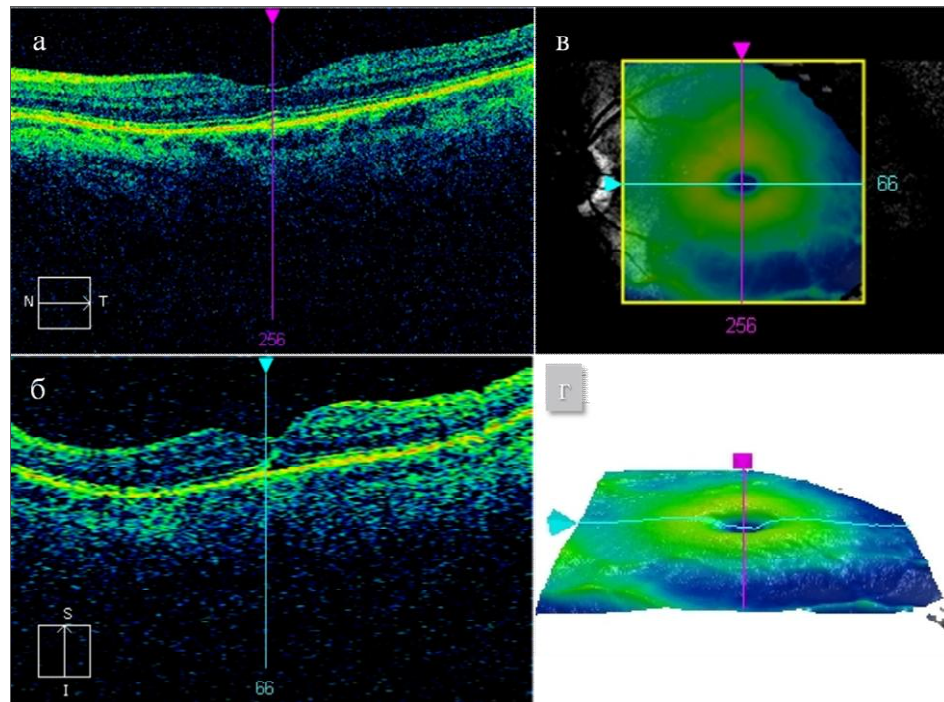
На второй день после лечения жалоб нет, среды прозрачны, передний отдел глаза, витреальная полость, сетчатка без особенностей. Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений предметов и пятна в центре. МКОЗ 0,5. ВГД 20 мм рт. ст. По

данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с восстановлением макулярного профиля сетчатки (Рисунок 5.9).



а, б – ОКТ сканограмма в горизонтальной и вертикальной плоскостях;
 в – цветное картирование сканируемой области сетчатки;
 г – виртуальная модель поверхности сетчатки

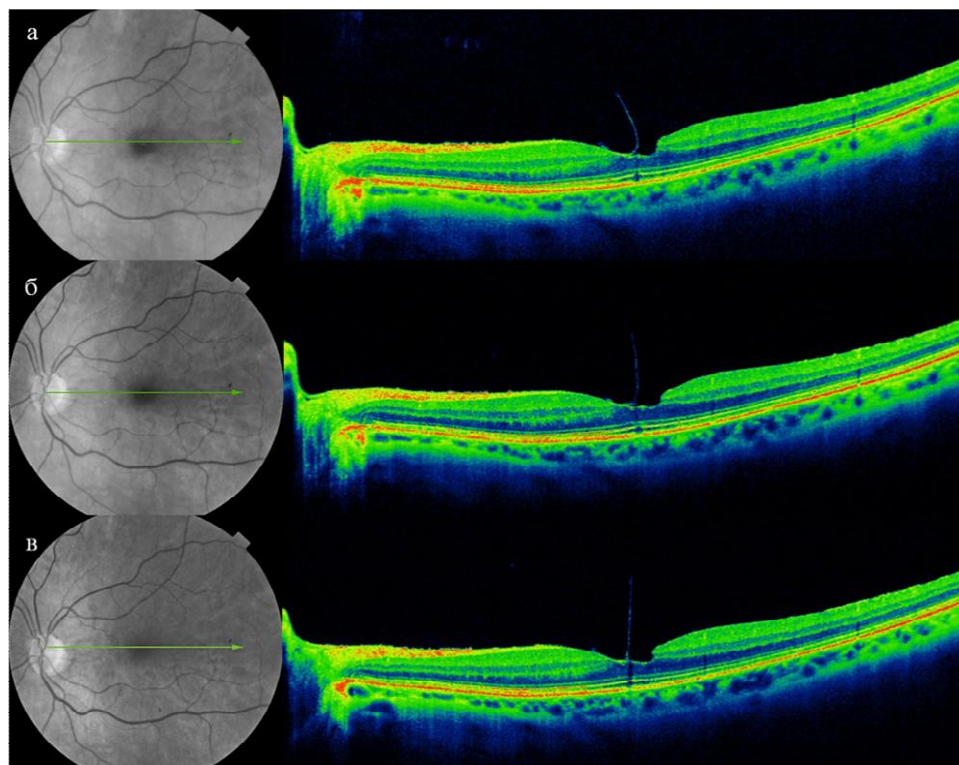
Рисунок 5.8 – ОКТ-сканограмма пациентки А. до начала лечения



а, б – ОКТ-сканограмма в горизонтальной и вертикальной плоскостях;
 в – цветное картирование сканируемой области;
 г – виртуальная модель поверхности сетчатки

Рисунок 5.9 – ОКТ-сканограмма пациентки А. через 1 месяц после лечения

При динамическом наблюдении через 1 год жалоб нет, МКОЗ 0,9. На ОКТ отмечается незначительная деформация макулярного профиля с остаточной микрофиксацией тонкого тяжа СТ в центре фовеа, не вызывающего тракционной деформации сетчатки. ВГД 20 мм рт. ст. При наблюдении через 2 и 3 года от начала лечения состояние без отрицательной динамики, МКОЗ 0,9; ВГД 19-20 мм рт. ст. Микротяж, фиксированный к центру фовеа, не вызывает тракционного воздействия на сетчатку. Пациентка удовлетворена своим зрением. За весь период наблюдения прозрачность хрусталика не уменьшается, при осмотре за щелевой лампой оптические срезы хрусталиков симметричны. ОКТ-данные в динамике представлены на Рисунке 5.10.



а – через 1 год; б – через 2 года; в – через 3 года после лечения

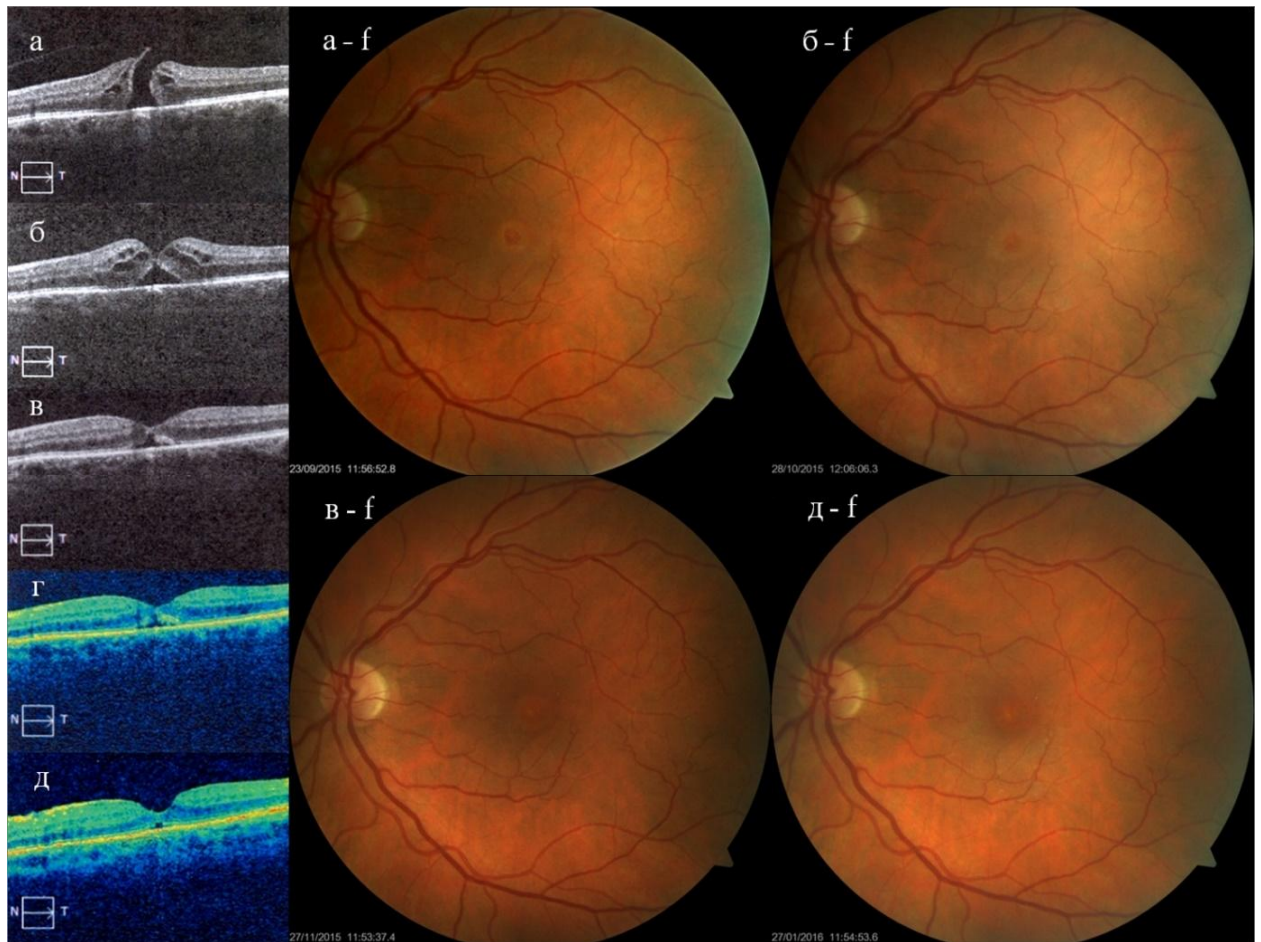
Рисунок 5.10 – ОКТ макулярной области пациентки А. в динамике

Клинический пример 5

Пациентка Л., 63 года. OS: жалобы на снижение зрения, пятно в центре. Диагностирована ВМТ, осложненная МО диаметром 332 мкм, протяженность фиксации ВМТ 150 мкм (Рисунок 5.11а, а-ф). Глаз факичный. Длина 21,59 мм; ВГД 23 мм рт. ст. По данным периметрии: центральная скотома. МКОЗ 0,1 не корректируется. Ранний период после лечения без особенностей.

При очередном осмотре через 3 месяца пациентка отметила дельнейшее улучшение остроты зрения. Офтальмоскопическая картина без особенностей. По данным ОКТ произошло закрытие макулярного отверстия с сохранением полости между нейроэпителием и пигментным листком. МКОЗ 0,55; ВГД 19 мм рт. ст. (Рисунок 5.11в, в-ф). При последующем проведении ОКТ через 4 месяца после лечения отмечена положительная динамика в виде уменьшения полости между нейроэпителием и пигментным листком (Рисунок 5.11г). Через 5 месяцев после лечения пациентка жалоб не предъявляет, удовлетворена своим зрением. Офтальмоскопическая картина без особенностей. По данным

ОКТ профиль макулярной области полностью восстановлен, МКОЗ 0,8; ВГД 19 мм рт. ст. (Рисисунок 5.11д, д-f).



а – ОКТ до лечения, а-f – фундус-фото до лечения; б – ОКТ через 1 месяц после лечения, б-f – фундус-фото через 1 месяц после лечения; в – ОКТ через 3 месяца после лечения, в-f – фундус-фото через 3 месяца после лечения; г – ОКТ через 4 месяца после лечения; д – ОКТ через 5 месяцев после лечения, д-f – фундус-фото через 5 месяцев после лечения

Рисунок 5.11 – ОКТ и фундус-фото пациентки Л. до и после лечения

По данным микропериметрии, через 10 месяцев после лечения функции центральной сетчатки в пределах нормы (Рисунок 5.12). Общая светочувствительность составила 16,7 дБ, светочувствительность сетчатки в отдельных точках колебалась от 14 до 20 дБ, что соответствовало возрастной норме.

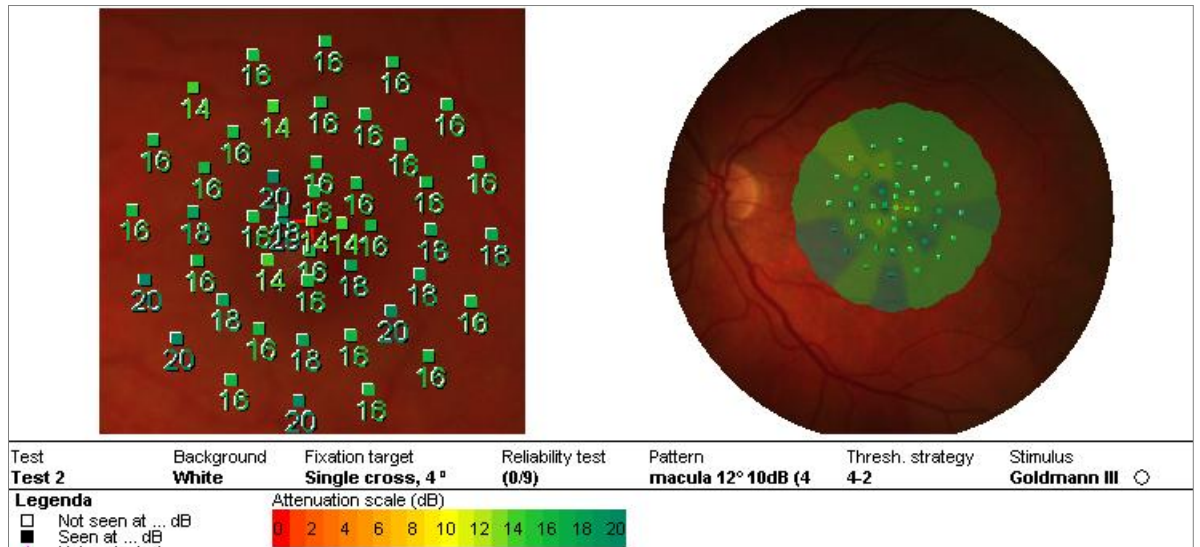
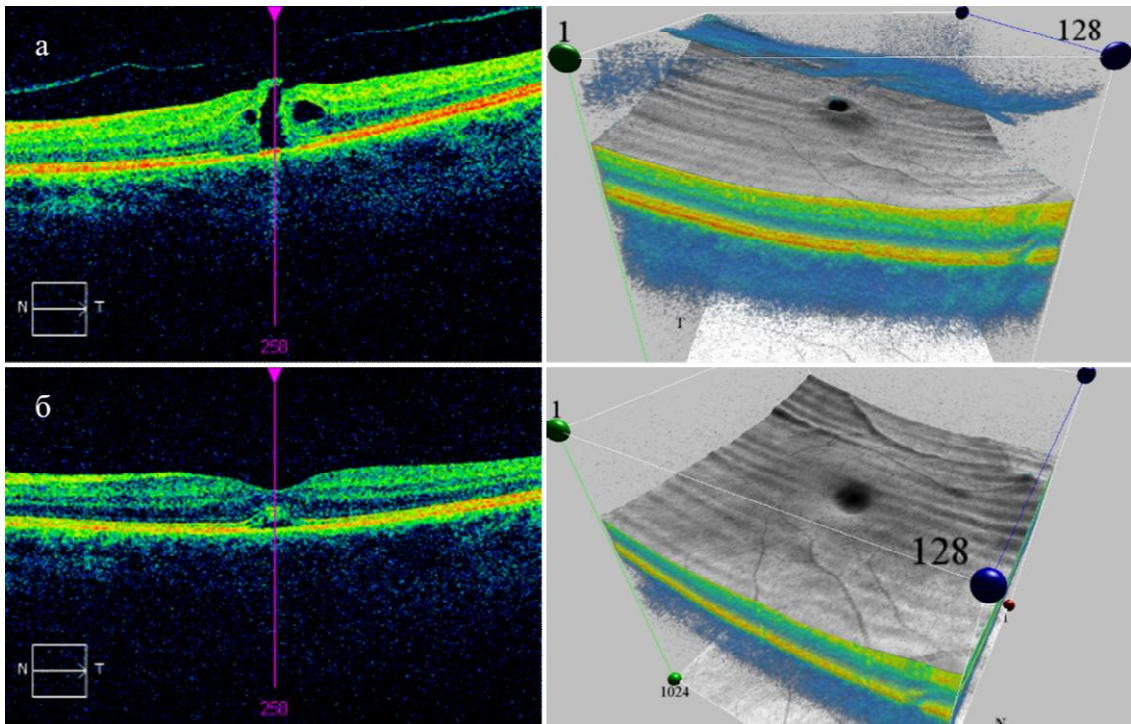


Рисунок 5.12 – Микропериметрия сетчатки той же пациентки через 10 месяцев после лечения

Клинический пример 6

Пациентка У., 64 лет. OS: жалобы на ухудшение зрения около полугода. МКОЗ 0,2. Глаз факичный, длина 23,14 мм; ВГД 17 мм рт. ст. Периферическое поле зрения соответствует норме. Офтальмоскопически в макулярной области выявлено отверстие. По данным ОКТ выявлена ВМТ протяженностью 267 мкм и макулярное отверстие диаметром 233 мкм (Рисунок 5.13а). Проведено интравитреальное введение раствора бактериальной коллагеназы в дозе 3 КЕ. На протяжении 1 недели после лечения жалоб нет, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. Через 1,5 месяца после лечения пациентка отметила улучшение зрения. МКОЗ 0,75. ВГД 18 мм рт. ст. Глаз спокоен, среды прозрачны, передний отдел глаза, СТ, сетчатка без особенностей. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с восстановлением макулярного профиля сетчатки и закрытием макулярного отверстия (Рисунок 5.13б).



а – до лечения; б – после лечения

Рисунок 5.13 – ОКТ-сканограмма (слева) и 3D-реконструкция поверхности макулярной области сетчатки (справа) пациентки У. до и после лечения

Клинический пример 7

Пациентка Г., 61 год. OS: жалобы на прогрессирующее снижение зрения и появление искажений. МКОЗ 0,1, глаз факичный, длина глаза 22,4 мм, ВГД 19 мм рт. ст. Методом ОКТ диагностирована ВМТ протяженностью 224 мкм. В результате тракционного воздействия со стороны СТ произошла отслойка нейроэпителия, сформировалась полость в субмакулярной области протяженностью 500 мкм, высотой 200 мкм, множественные интравитреальные кисты. Возникла угроза формирования макулярного отверстия (Рисунок 5.14а).

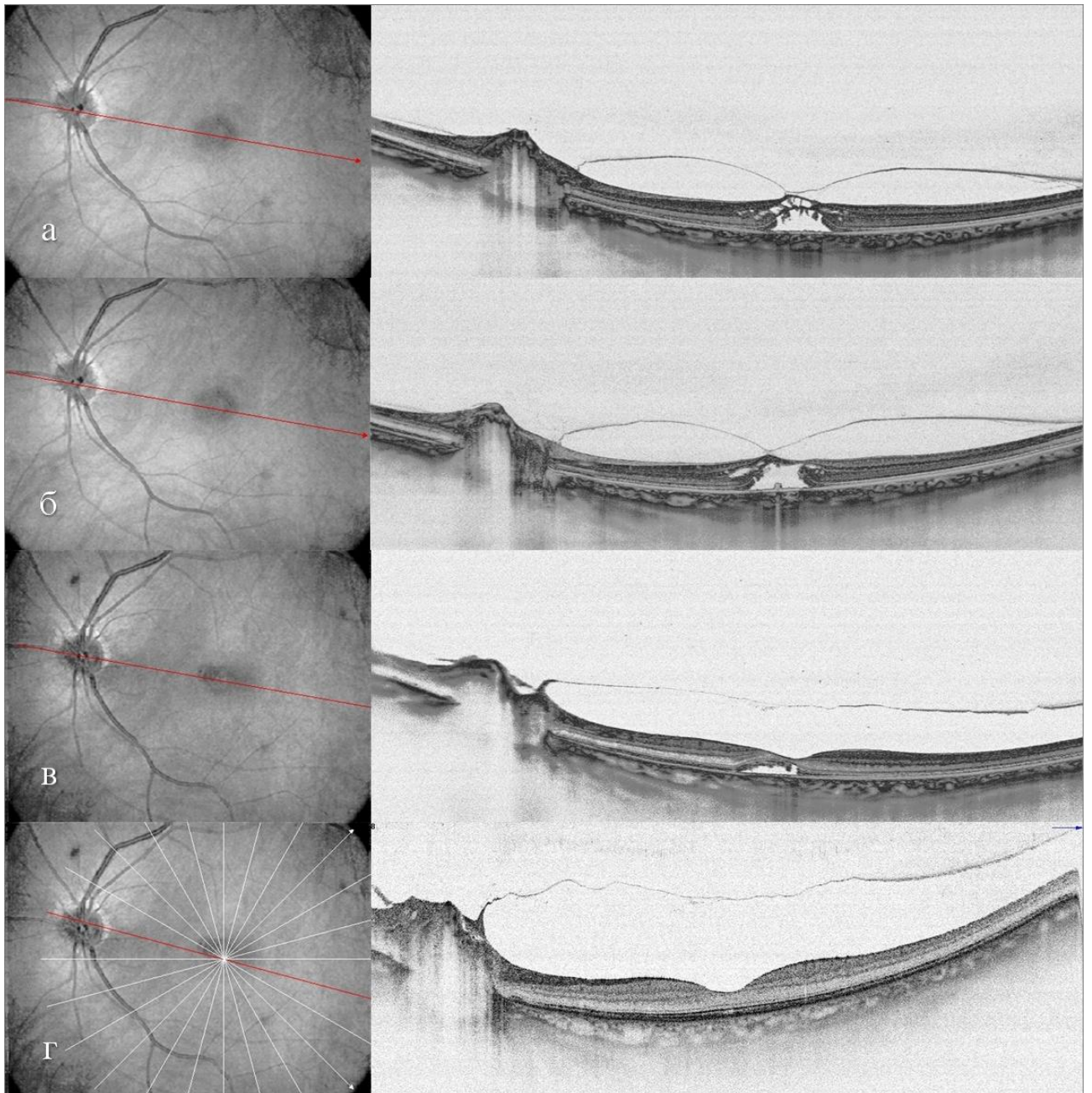
При осмотре на второй день после лечения отмечена умеренная инъекция сосудов конъюнктивы, передние отделы глаза без особенностей, витреальная полость прозрачна, при бинокулярной офтальмоскопии сетчатка без особенностей.

При наблюдении через две недели состояние без отрицательной динамики. Зрительные ощущения без изменений. При проведении ОКТ

выявлена положительная динамика. Приблизительно в три раза уменьшилась протяженность патологической фиксации СТ к сетчатке. Вследствие уменьшения тракционного компонента резорбировались интратетинальные кисты, ранее сформировавшиеся в зоне патологической фиксации СТ к сетчатке (Рисунок 5.14б).

При осмотре через 1 месяц пациентка отметила улучшение зрения, уменьшение искажений, МКОЗ 0,3. При осмотре патологических изменений не выявлено, ВГД 18 мм рт. ст. По данным ОКТ ВМТ устранена, кисты в макулярной области сетчатки отсутствуют, высота отслойки нейроэпителия уменьшилась до 120 мкм, протяженность отслойки нейроэпителия уменьшилась до 300 мкм (Рисунок 5.14в).

При осмотре через 8 месяцев от начала лечения глаз без особенностей, жалоб нет, МКОЗ 1,0, ВГД 19 мм рт. ст. По данным ОКТ произошло полное восстановление макулярного профиля. Поле зрения соответствует норме (Рисунок 5.14г).



а – до лечения; б – через две недели после лечения;

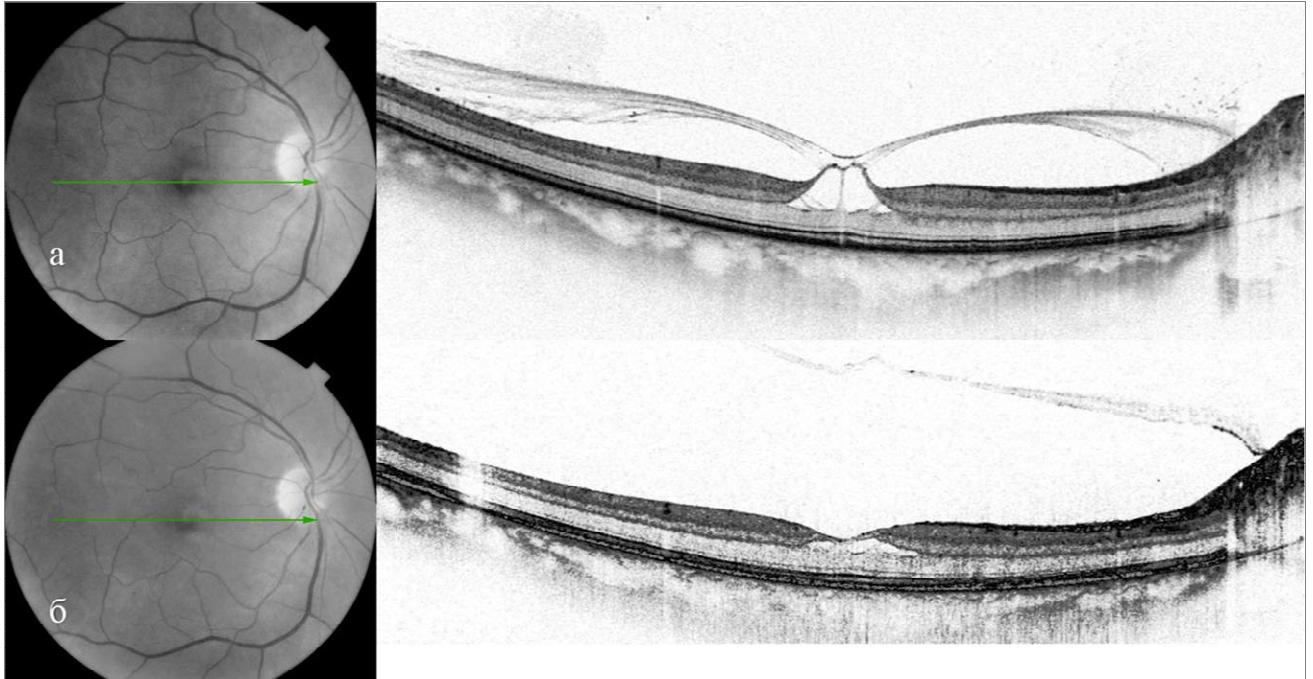
в – через 1 месяц после лечения; г – через 8 месяцев после лечения

Рисунок 5.14 – ОКТ макулярной области пациентки Г. до и после лечения

Клинический пример 8

Пациентка Х., 65 лет. OD: жалобы на снижение зрения, искажение предметов. МКОЗ 0,5. ВГД 22 мм рт. ст. длина глаза 23.90 мм, поле зрения без изменений. По данным ОКТ зарегистрирована ВМТ протяженностью 461 мкм. Тракционное воздействие на сетчатку со стороны СТ привело к

формированию интравитреальной кистозной полости высотой 227 мкм, протяженностью у основания 1014 мкм с угрозой формирования ламеллярного разрыва сетчатки (Рисунок 5.15а).



а – до лечения; б – после лечения

Рисунок 5.15 – ОКТ-сканограмма макулярной области сетчатки пациентки Х.

до и после лечения

Через 1 месяц от начала лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений. МКОЗ 1,0; ВГД 22 мм рт. ст. Поле зрения не изменено. По данным ОКТ ВМТ устранена, произошла ЗОСТ с восстановлением макулярного профиля. Сохранилось интравитреальное щелевидное пространство между наружными и внутренними слоями сетчатки (Рисунок 5.15б). В дальнейшем пациентка на осмотр не явилась.

Клинический пример 9

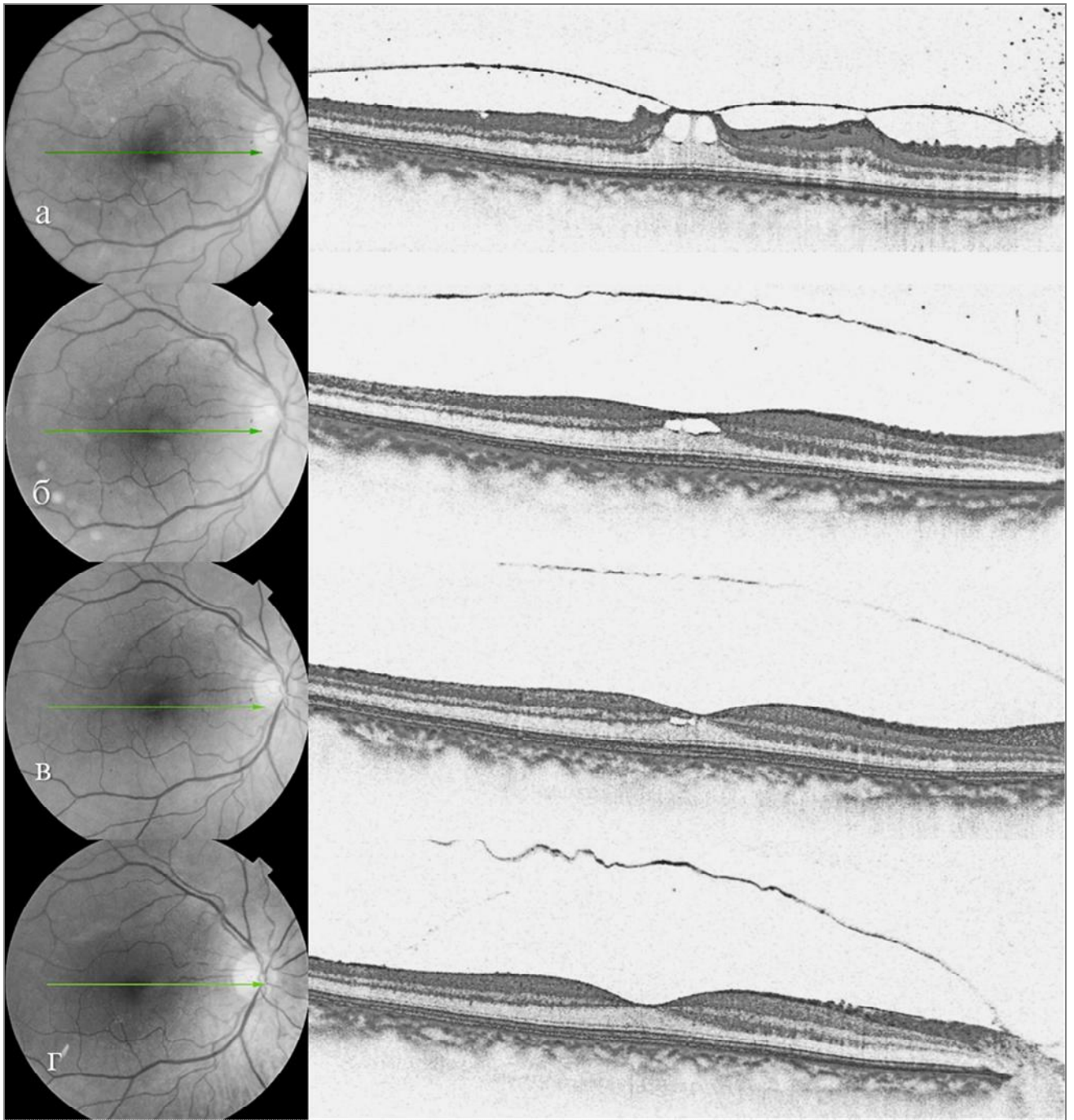
Пациентка Т., 70 лет. Жалобы не снижение остроты зрения на правый глаз, выраженную метаморфопсию. МКОЗ 0,3. Глаз артефакичный, длина глаза 22,34 мм; ВГД 15 мм рт. ст. Поле зрения не изменено.

Офтальмоскопически особенностей не выявлено. По данным ОКТ выявлена ВМТ протяженностью около 3000 мкм. Фиксация ВМТ многофокусная, вызывающая обширную фовеолярную деформацию сетчатки.

В ранние сроки наблюдения отклонений от нормы не выявлено. Пациентка жалоб не предъявляла, ВГД соответствовало нормальным значениям.

Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение метаморфопсии. МКОЗ 0,6. ВГД 16 мм рт. ст. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с сохранением интравитреальной кисты в макулярной области сетчатки (Рисунок 5.16б). При дальнейшем динамическом наблюдении через 2 месяца отмечено уменьшение интравитреальной кисты и улучшение МКОЗ до 0,7 (Рисунок 5.16в). При осмотре через 11 месяцев жалоб нет, офтальмоскопически глаз без особенностей. МКОЗ 0,8; ВГД 16 мм рт. ст., поле зрения не изменено. По данным ОКТ макулярный профиль полностью восстановился, остаточные интравитреальные кисты полностью резорбировались. Макулярный профиль соответствует норме (Рисунок 5.16г).

Динамика изменений в макулярной области до и после лечения представлена на Рисунках 5.16 и 5.17.



а – до лечения: ВМТ с многофокусной фиксацией;

б – через 1 месяц от начала лечения;

в – через 2 месяца; г – через 11 месяцев

Рисунок 5.16 – ОКТ макулярной области пациентки Т. в динамике

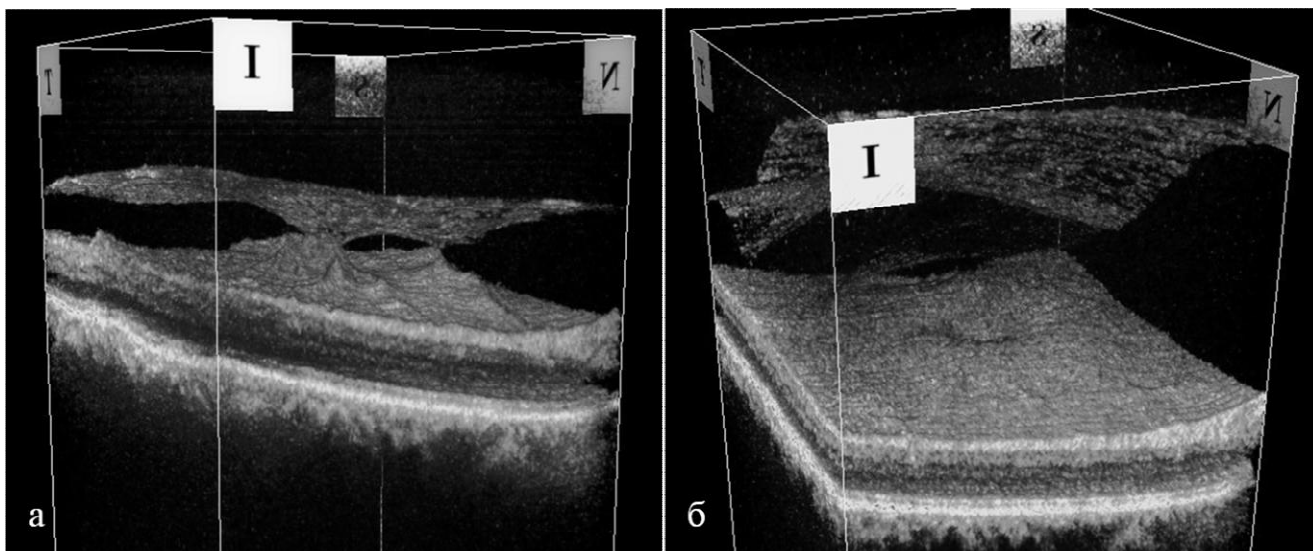


Рисунок 5.17 – ОКТ макулярной области той же пациентки
в режиме 3D до (а) и после (б) лечения

Клинический пример 10

Пациентка Б., 66 лет. OS: жалобы не снижение остроты зрения, метаморфопсию, вызывающую выраженный зрительный дискомфорт. МКОЗ 0,4. Снижение зрения отмечает последние 12 месяцев. Ранее пациентке предлагалось проведение хирургического лечения, от которого она отказалась. Глаз факичный, длина 21,73 мм; ВГД 22 мм рт. ст. Сужение поля зрения до 10 градусов с носовой стороны. Офтальмоскопически особенностей не выявлено. По данным ОКТ выявлена ВМТ, сочетанная с эпиретинальным фиброзом, протяженностью 1710 мкм. Тракционное воздействие со стороны СТ вызвало выраженную деформацию сетчатки макулярной области с формированием обратного профиля макулярной области и образованием интратретинальных и субретинальных кистозных полостей.

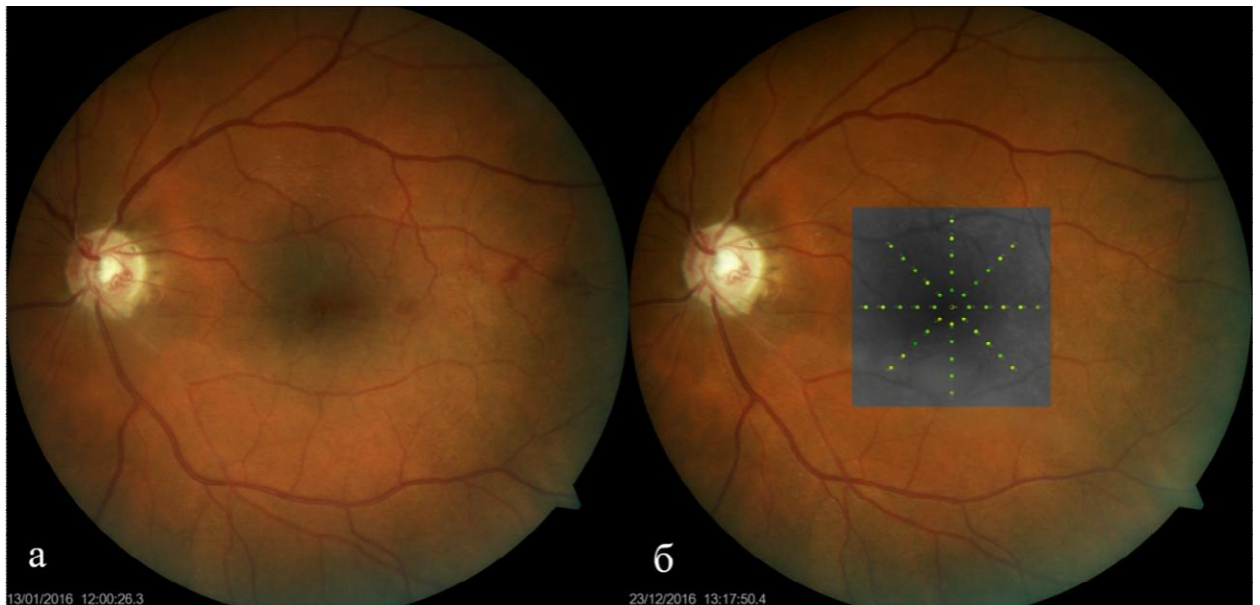
На второй день после лечения жалоб нет, среды прозрачны, в центральном отделе сетчатки паравазально с височной стороны офтальмоскопически отмечены единичные петехиальные кровоизлияния, резорбировавшиеся самостоятельно.

Через 1 месяц после лечения пациентка отметила улучшение зрения, исчезновение искажений предметов. МКОЗ 0,7. ВГД 20 мм рт. ст. Поле зрения

восстановилось. По данным ОКТ выявлено устранение ВМТ с восстановлением макулярного профиля сетчатки, в парамакулярной области сохранялась фиксация СТ к сетчатке.

При осмотре через 11 месяцев жалоб нет, офтальмоскопически глаз без особенностей. МКОЗ 0,9; ВГД 21 мм рт. ст., поле зрения не изменено. Жалоб не предъявляет. По данным ОКТ макулярный профиль сетчатки полностью восстановлен, произошла полная ЗОСТ. Микропериметрия в пределах нормы.

Изменения состояния глазного дна через 2 дня и 11 месяцев после лечения представлены на Рисунке 5.18.

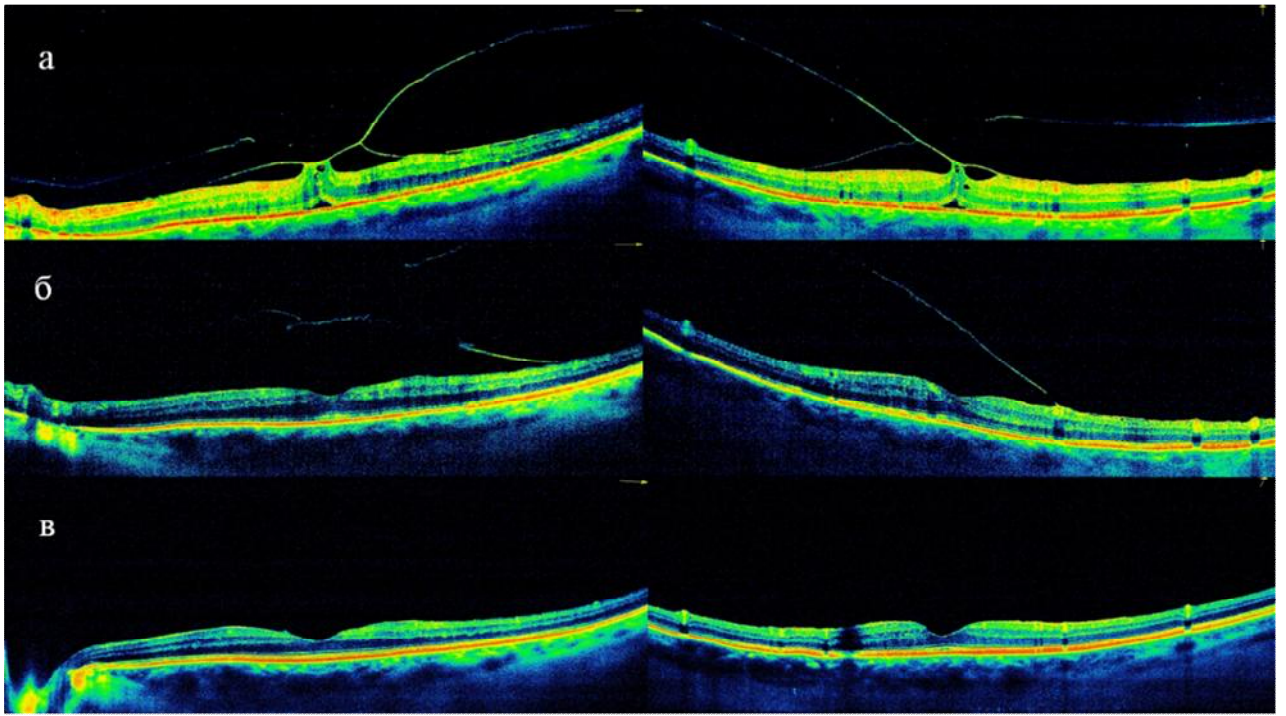


а – второй день после лечения;

б – 11 месяцев после лечения

Рисунок 5.18 – Фундус-фото на второй день и фундус-фото с микропериметрией через 11 месяцев после лечения пациентки Б.

Динамика изменений макулярной области сетчатки до и после лечения представлены на Рисунке 5.19.



а – до лечения; б – через 1 месяц; в – через 11 месяцев после лечения

Рисунок 5.19 – ОКТ-сканограмма пациентки Б. в горизонтальной (слева) и вертикальной (справа) плоскостях в динамике

Клинический пример 11

Пациентка М., 64 года. OS: снижение зрения и появление искажений заметила 12 месяцев назад. МКОЗ 0,7. Глаз факичный, длина глаза 23,35 мм. ВГД 19 мм рт. ст. Поле зрения не изменено. При биомикроофтальмоскопии изменений не выявлено.

По данным ОКТ выявлена ВМТ с протяженностью фиксации протяженностью 2370 мкм, обширные интравитреальные кисты с тенденцией к сливанию, угроза формирования ламеллярного отверстия в сетчатке (Рисунок 5.20).

После разрешения ВМТ отмечена выраженная положительная динамика, сохранялись незначительные интравитреальные кисты в фовеоле (Рисунок 5.21, горизонтальный скан). Через 1,5 месяца от начала лечения пациентка отметила значительное улучшение зрения, исчезновение искажений. При осмотре глаз спокоен, конъюнктив и передний отрезок нормальные, роговица, влага передней камеры, хрусталик прозрачные,

витреальная полость и СТ без особенностей, глазное дно без патологии (Рисунок 5.22). МКОЗ 1.0; ВГД 18 мм рт. ст. Поле зрения не изменено. По данным ОКТ ВМТ устранена, произошла ЗОСТ с восстановлением макулярного профиля. В дальнейшем пациентка на осмотр не приходила.

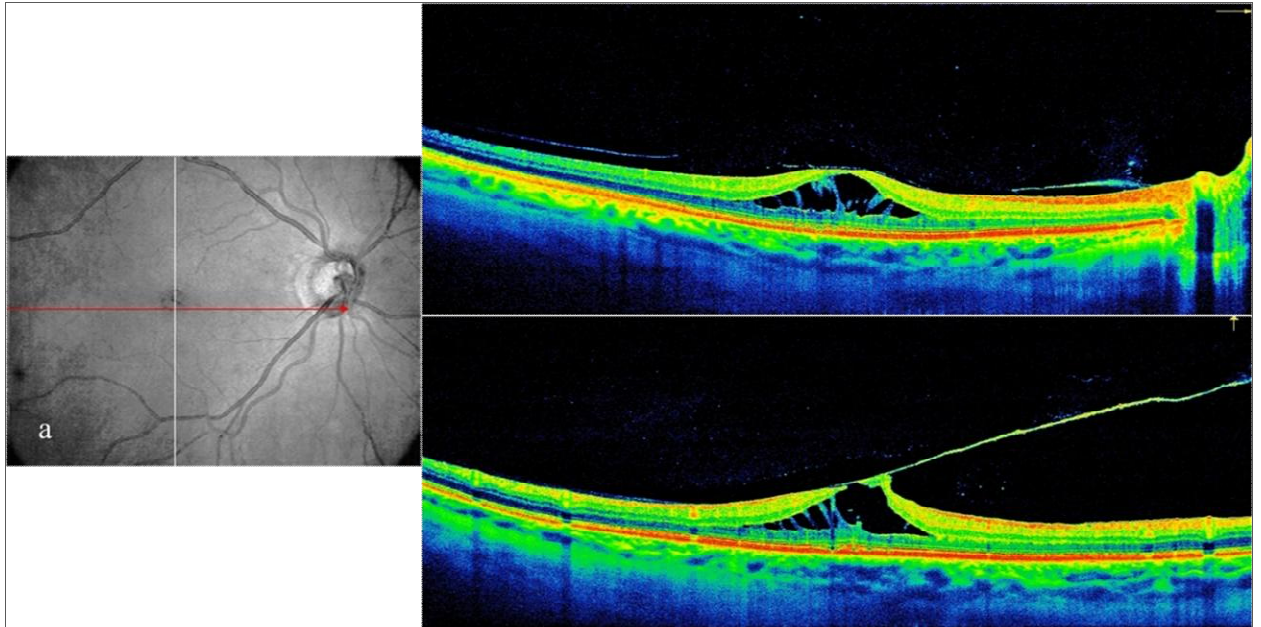


Рисунок 5.20 – ОКТ-сканограмма сетчатки пациентки М. до лечения

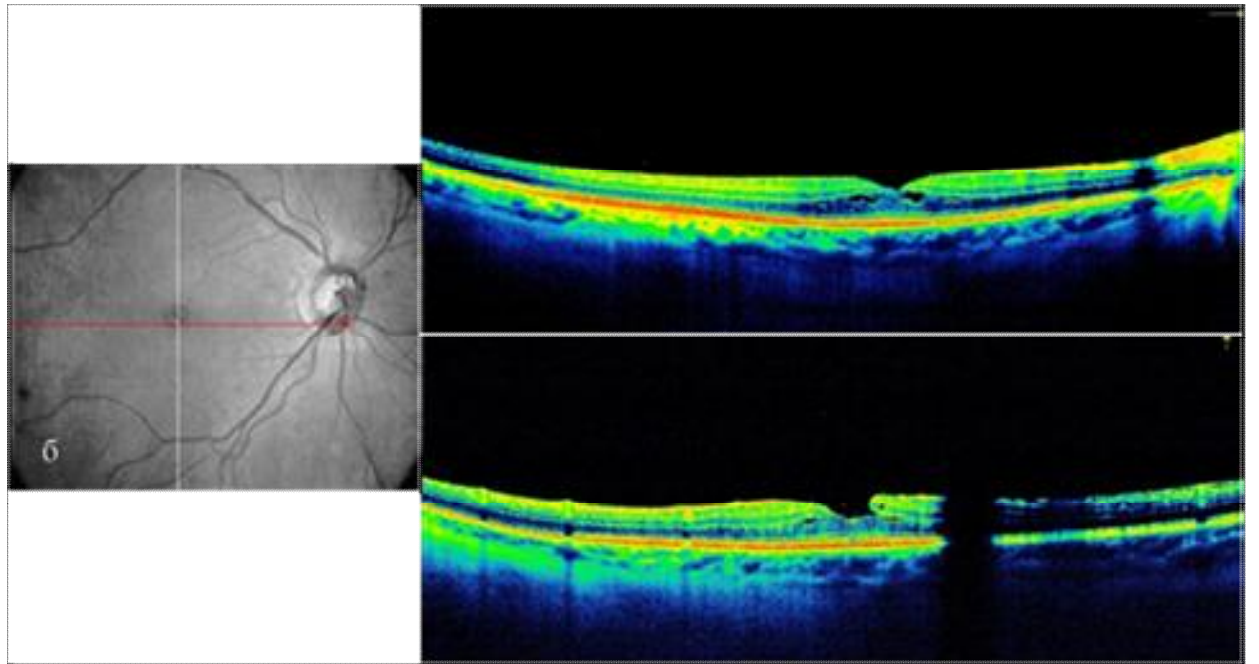
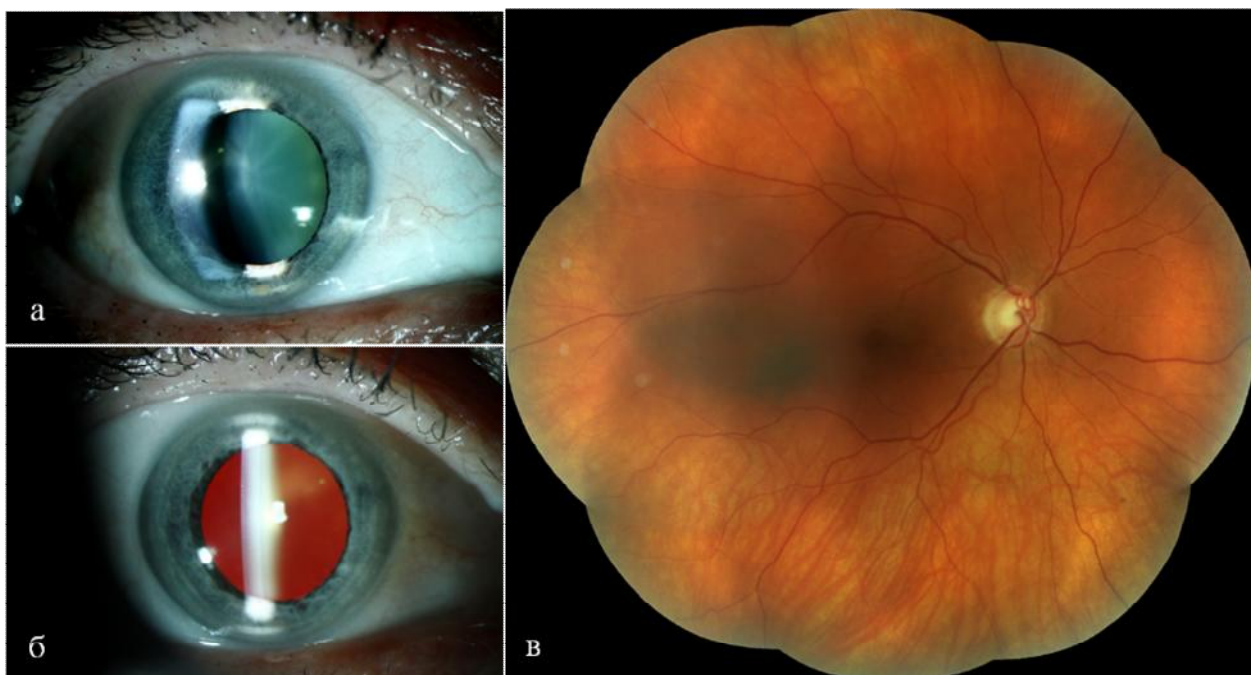


Рисунок 5.21 – ОКТ-сканограмма той же пациентки
через 1,5 месяца после лечения



а – фотография переднего отдела глаза до лечения;

б – через 1,5 месяца после лечения;

в – фундус-фото через 1,5 месяца после лечения

Рисунок 5.22 – Фотографии переднего отдела глаза пациентки М.

и фундус-фото

Разработана новая технология микроинвазивного лечения ВМТ с применением интравитреального введения высоко специфического коллагенолитического фермента коллагеназы отечественного производства.

Эффективность разработанной технологии лечения ВМТ в аспекте ее устранения, с учетом случаев устранения ВМТ и не закрытия МО, составила 77,4% от общего числа пролеченных пациентов.

Полного излечения (устранение ВМТ и закрытие МО, в случаях его наличия) удалось достичь в 59,7% случаев от общего числа пролеченных пациентов. Анализ зависимости результата лечения от протяженности ВМТ показал, что протяженность ВМТ не влияла на эффективность разработанной технологии.

Результативность лечения пациентов с изолированной ВМТ до 3100 мкм составила 66,7%.

Использование предложенной методики показало 50% эффективность излечения ВМТ, сочетанной с МО размером до 545 мкм (происходило устранение ВМТ и закрытие МО). При этом не выявлено зависимости между положительным результатом и размером МО.

В лечении ВМТ до 2370 мкм, сочетанной с ЭРФ, предложенная технология показала 66,7% эффективность.

В российской практике не применяются иные методики нехирургического лечения ВМТ. В мировой практике используется единственная методика нехирургического лечения ВМТ с применением интравитреального введения протеолитического фермента окриплазмина (препарат Jetrea). Применение Jetrea в России для лечения ВМТ невозможно из-за отсутствия регистрации препарата. Сравнение с зарубежной аналогичной технологией проведено на основании опубликованных данных.

По данным различных исследователей эффективность лечения ВМТ с применением окриплазмина колеблется от 26,5% [256] до 71% [187]. Моноцентровые исследования, проведенные в США [247], показали разрешение ВМТ в 50% случаев, макулярное отверстие закрылось в 27%. Исследование эффективности методики при ВМТ, не превышающей протяженности 700 мкм, показали, что результативность лечения составила 43% устранения ВМТ и 17% эффективности закрытия макулярных отверстий, сочетанных с ВМТ [275]. Мультицентровые исследования эффективности применения окриплазмина для лечения изолированной ВМТ с протяженностью адгезии, не превышающей 2739 мкм, проведенные в Европе в 2018 году, показали 47,3% эффективность методики [209].

Анализ эффективности применения окриплазмина, произведенный по различным методикам показал следующую эффективность: анализ по методике MIVI-TRUST демонстрирует 26,5% результативности, OASIS – 41,7%, ORBIT – 45,8%, OVID-I – 47,4%. [167]. Средняя величина эффективности применения окриплазмина, с учетом использованных методик анализа, составляет 45%.

По результатам регистрационного испытания окриплазмина производителем предложены рекомендации к отбору пациентов для лечения. Не рекомендовано проводить лечение пациентам с протяженностью ВМТ более 1500 мкм и пациентам с сопутствующими эпиретинальными мембранами из-за низкой эффективности лечения [95, 142, 161].

Сравнение разработанной технологии лечения ВМТ с зарубежным аналогом показывает ряд преимуществ предлагаемой технологии. Бактериальная коллагеназа отечественного производства выпускается в форме лиофилизата, хранится при температуре от +4 до +8 °С и длительное время не теряет своих свойств при нормальной температуре. Раствор для интравитреального применения приготавливается непосредственно перед инъекцией. Общая эффективность применяемой технологии превосходит зарубежный аналог, как по устранению ВМТ, так и по закрытию макулярных отверстий. В отличие от зарубежного аналога разработанная технология позволяет излечивать пациентов с ВМТ, сочетанной с ЭРФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В мировой практике, наряду с хирургическим лечением ВМТ, активно применяется технология ее нехирургического лечения, заключающаяся в интравитреальном инъекционном введении протеолитического фермента окриплазмина [149, 186, 252, 256]. По мнению производителей, окриплазмин разрушает белки (ламинин и фибронектин), обеспечивающие связь стекловидного тела с поверхностью сетчатки [149]. Теория лечебного воздействия окриплазмина основана на утверждении, что ВРА обусловлена белками ламинином и фибронектином. До настоящего времени не приведено объективных аргументов в подтверждение этого тезиса, и описание механизма лечебного эффекта носит теоретический характер.

В отечественной практике для лечения ВМТ используется только витреоретинальное хирургическое вмешательство. Хирургическое лечение ВМТ наравне с быстрым результатом сопряжено с риском развития осложнений. Анализ осложнений, связанных с проведением витрэктомии, свидетельствует о стабильной частоте их возникновения. Суммарный процент тяжелых осложнений (эндофталмит, супрахориоидальное кровоизлияние, отслойка сетчатки) составляет 5,0-5,5%. Суммарный процент менее тяжелых осложнений (отслойка хориоидеи, кровоизлияние в витреальную полость, отек сетчатки, глаукома, разрывы сетчатки, гипотония, отек роговицы и ее повреждение) колеблется в пределах от 17,3 до 20% [260].

Мультицентровые исследования осложнений после витрэктомии, выполненной только по поводу ВМТ, также указывают на стабильный процент их возникновения. Из интраоперационных осложнений зарегистрировано 5,6% интравитреальных петехиальных геморрагий, в 1,6% случаев – возникновение периферических разрывов сетчатки. В послеоперационном периоде зарегистрировано развитие катаракты в 34,7% случаев, развитие эпиретинальной мембраны в макулярной области происходит в 5,71%, отслойка сетчатки в 4,85%, рецидив эпиретинальной

мембраны в 1,44%, кистовидный макулярный отек в 1,72%, синдром Ирвина-Гасса в 1,44%, развитие сквозного макулярного отверстия в 1,44%, изменения в ретинальном пигментном эпителии в 1,15%, формирование ламеллярного ретинального дефекта в 0,86%, развитие пролиферативной витреоретинопатии в 0,57%, периферический разрыв сетчатки в 0,57%, экссудативная макулярная дегенерация 0,29%, персистирующий кистовидный перимакулярный отек 0,29%. Суммарный процент послеоперационных осложнений, за исключением развития катаракты, составляет 20,9%, из них около 5% – это отслойка сетчатки [162].

Приводимый анализ послеоперационных осложнений показывает, что частота и разнообразие осложнений, возникающих после витрэктомии, вызывают настороженность и подвигают к поиску и использованию менее инвазивных методов лечения ВМТ, особенно если у пациента исходно высокая острота зрения.

В отечественной практике длительное время используется отечественный препарат «Коллализин» – высокоспецифичная бактериальная коллагеназа. Фермент обладает узкой протеолитической специфичностью по отношению к коллагену [190]. Применение клостридиальной коллагеназы в офтальмологической практике в России – уникальное явление. Бактериальная коллагеназа не используется в зарубежной офтальмологической практике. Для лечения глазных заболеваний бактериальная коллагеназа стала применяться с 1973 года [13]. Для применения в клинике в 1983 году утвержден препарат клостридиальной коллагеназы «Коллализин» [32]. В лечении витреоретинальной патологии бактериальная коллагеназа используется с 1996 года [10]. Применяется в хирургическом лечении отслоек сетчатки с 2001 года [22, 24, 30], с 2006 года стала использоваться в хирургическом лечении пациентов с сахарным диабетом [15, 16]. В 2010 году показана возможность применения бактериальной коллагеназы в хирургическом лечении макулярных отверстий [38]. Клостридиальная коллагеназа разрешена для

применения в офтальмологической практике, в том числе, и для внутриглазного применения.

Накопленный исследовательский и клинический опыт применения бактериальной коллагеназы в отечественной офтальмологической практике указывает на потенциально высокую перспективность исследований в направлении микроинвазивного лечения ВМТ с использованием данного ферментного препарата.

Необходимо подчеркнуть следующее обстоятельство: подавляющее большинство проведенных исследований по применению бактериальной коллагеназы отечественного производства, как клинических, так и экспериментальных, имеют прикладное значение. Работа ведется в направлении расширения показаний к применению препарата и совершенствованию технологии его применения. Несмотря на более чем двадцатилетнюю историю применения коллагеназы в отечественной офтальмологической практике, до настоящего времени не производилось исследований по воздействию бактериальной коллагеназы на стекловидное тело, сетчатку и другие анатомические структуры глаза. Недостаточно информации касательно токсикологических исследований бактериальной коллагеназы, позволяющих получить представление о спектре безопасных, с токсикологической точки зрения, дозировок препарата. Возможно, это связано с тем обстоятельством, что бактериальная коллагеназа разрешена для клинического применения, в том числе и для внутриглазного введения, в связи с чем вектор исследований сместился в клиническом направлении.

Кроме этого, недостаточно исходных данных о микроструктуре витреоретинального контакта и механизме ВРА. Анализ литературы указывает на целый ряд несоответствий и противоречий в теоретических предпосылках, касающихся микроструктуры витреоретинального контакта и механизмов витреоретинальной адгезии. Очевидный недостаток исходных данных потребовал их восполнения.

В связи с изложенным, целью настоящей работы явилась разработка методики микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции, не требующей проведения витрэктомии, с использованием ферментного препарата российского производства.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи: на основании электронно-микроскопических исследований уточнить микроструктуру витреоретинального интерфейса и механизма витреоретинальной адгезии центральной зоны сетчатки глаза человека в аспекте применения бактериальной коллагеназы; на основании экспериментальных исследований с использованием сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии изучить воздействие бактериальной коллагеназы на различные структуры стекловидного тела и сетчатки глаза человека, определить начальную пороговую дозу и экспозицию бактериальной коллагеназы; в эксперименте *in vitro*, на культуре фибробластов с использованием клеточной модели доза-эффект зависимости исследовать цитотоксичность препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин» в расширенном диапазоне дозы и экспозиции, определить безопасную в аспекте цитотоксичности дозу препарата; разработать технологию атравматичного микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции с применением препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства; изучить клинические, анатомические и функциональные результаты лечения витреомакулярной тракции по разработанной технологии, доказать ее эффективность и безопасность; выявить побочные эффекты и осложнения, развивающиеся после лечения витреомакулярной тракции по разработанной технологии. Определить показания и противопоказания к ее применению; сравнить анатомическую и функциональную эффективность разработанной технологии с традиционно применяемым хирургическим лечением витреомакулярной тракции; разработать новый алгоритм лечения витреомакулярной тракции, позволяющий повысить зрительные функции у излеченных пациентов.

Для получения недостающих данных о микроструктуре области витреоретинального контакта – потенциальной области приложения воздействия бактериальной коллагеназы – было необходимо изучение микроструктуры ВПМ, микроструктуры взаимоотношений между сетчаткой и стекловидным телом, особенностей клеточной микроструктуры в зоне витреоретинального контакта, уточнение механизма витреоретинальной адгезии глаза человека. Исследования проведены на сорока четырех донорских глазах с использованием сканирующей электронной микроскопии (сканирующий электронный микроскопом «Camscan-S2»), которая наряду с чрезвычайно высоким разрешением позволяет получать объемное изображение исследуемой поверхности с высокой глубиной резкости.

В результате исследований уточнена микроструктура ВПМ в центральных отделах сетчатки. Получены исходные сравнительные данные о ее микроструктуре в макулярной области, необходимые для дальнейших исследований.

По результатам проведенных исследований выявлено, что толщина ВПМ в макулярной области самая тонкая – 0,25 мкм. В макулярной области ВПМ моноструктурна, без признаков пор.

Полученные данные о толщине ВПМ согласуются с данными Yamada E. (1969) [277]: по его данным толщина ВПМ в фовеолярной области чрезвычайно мала и составляет 10-20 нм (0,1-0,2 мкм), и противоречат данным других исследователей о том, что ВПМ имеет наибольшую толщину в центральной области сетчатки [137, 146]. Следует подчеркнуть, что исследования, показавшие наибольшую толщину ВПМ в центральной области сетчатки, были выполнены на изолированной сетчатке глаза человека, предварительно отделенной от пигментного листка. После выделения сетчатки из оболочек глаза возможно изменение ее размеров и толщины сообразно ее тканевым биофизическим свойствам. При последующей фиксации могли сохраниться не истинные, а изменившиеся после выделения изолированной сетчатки, анатомические характеристики и соответственно

характеристики ВПМ. Настоящие исследования были выполнены с предварительной фиксацией материала, исключающей деформацию ВПМ при приготовлении препарата, что дает основание к аргументированному подтверждению полученных данных.

При исследовании микроструктуры витреоретинального контакта центральной области сетчатки впервые на ее поверхности выявлен тонкий слой эпиретинального СТ толщиной около 5 мкм, обладающий существенно более прочной адгезией к сетчатке, нежели к кортикальному СТ, и потому остающийся на поверхности сетчатки после отделения кортикального СТ.

Полученные данные не подтверждают общепринятую теоретическую концепцию витреоретинального интерфейса и механизма витреоретинальной адгезии, которая предполагает наличие трех компонентов: кортикальное СТ, преретинальная граница которого образована плотно организованными волокнами СТ; экстрацеллюлярный матрикс (ламинин и фибронектин), обеспечивающий адгезию СТ к поверхности ВПМ, которая и является непосредственной поверхностной границей сетчатки [241, 242, 244]. Согласно этой концепции, отделение СТ от сетчатки должно происходить по границе ВПМ.

Вместе с этим результаты настоящих исследований подтверждаются практикой. В многочисленных публикациях описываются интраоперационные наблюдения, обнаруживаемого на поверхности сетчатки тонкого слоя СТ, остающегося на ней после интраоперационного отделения кортикального СТ от поверхности сетчатки, либо остающегося после уже произошедшей полной ЗОСТ [97, 111, 255, 279].

Результаты проведенных исследований указывают на целесообразность внесения в концепцию витреоретинального интерфейса дополнительного четвертого компонента – «эпиретинального» СТ, имеющего слоистую структуру, неоднородную толщину и плотность упаковки волокон СТ, толщина которых в поверхностном слое максимальна и уменьшается по мере приближения к ВПМ с одновременным увеличением плотности их

организации и имеющего более прочную связь с поверхностью сетчатки, нежели с кортикальным СТ.

В результате изучения клеточной микроструктуры и механизма витреоретинальной адгезии глаза человека впервые выявлено, что на поверхности эпиретинального СТ находятся полиморфные клетки, плотность клеток в центральных отделах эпиретинального СТ неоднородна и колеблется от 166 до 24468 клеток на 1 мм². Размеры и форма клеток неоднородны: размеры меняются от 3 до 90 мкм, форма – от шаровидной до звездчатой, а также множество переходных форм. Наиболее плотно на поверхности эпиретинального СТ расположены шарообразные клетки, наименее плотное расположение имеют звездчатые клетки максимального размера. По мере увеличения степени «звездчатости» клеток уменьшается их плотность на единицу площади поверхности. Клеткам наибольших размеров сопутствуют более толстые и менее плотно переплетенные волокна СТ, располагающиеся на поверхности из тонких и более плотно организованных волокон эпиретинального СТ. Вокруг шарообразных клеток наименьшего размера аналогичные коллагеновые волокна практически отсутствовали. По мере увеличения размера клеток и числа их отростков, увеличивалось количество сопутствующих им более толстых и длинных волокон СТ, располагающихся на поверхности гораздо более тонких и плотно организованных волокон эпиретинального СТ.

Впервые показана возможность прижизненного синтеза новообразованных коллагеновых волокон в СТ взрослого человека. Новообразованные коллагеновые волокна производятся звездчатыми клетками эпиретинального СТ.

Обнаружены объективные признаки синтеза новообразованных волокон клетками эпиретинального СТ. Это позволило выдвинуть аргументированное утверждение о том, что часть пула гиалоцитов эпиретинального СТ может быть отнесена к фибробластам.

Полученные результаты подтверждают ряд выдвинутых ранее теоретических предположений о том, что синтез новообразованного коллагена в СТ взрослого человека возможен [212, 213, 274].

Частью исследователей выдвигалось предположение, что клетки СТ относятся к макрофагальной [35, 153] или моноцитарно-макрофагальной линии [181, 230], что не предполагает их участия в синтезе межклеточного матрикса и находится в противоречии с полученными результатами исследований. Ряд публикаций хотя и косвенно, но подтверждает полученные результаты. В них высказано предположение, что гиалоциты могут принимать участие в мембранообразовании [226, 227, 237] и пролиферативных процессах [174], то есть имеют отношение к синтезу межклеточного матрикса, в частности коллагена.

При исследовании микроструктуры витреоретинальной адгезии впервые выявлено, что соединение между эпиретинальным и кортикальным СТ обеспечивается взаимным переплетением новообразованных волокон СТ, синтезируемых гиалоцитами эпиретинального СТ с одной стороны и гиалоцитами кортикального СТ – с другой.

Полученные данные о механизме ВРА не противоречат современным исследованиям, в которых показано, что «концентрация ламинина и фибронектина более высокая в молодых глазах и низкая в старых» [177]. В распространенной теории формирования ЗОСТ причиной ее возникновения указывается снижение концентрации ламинина и фибронектина, обеспечивающих ВРА в зоне витреоретинального контакта, в результате старения СТ и снижения концентрации протеогликанов в области витреоретинального контакта, приводящая к ЗОСТ [115, 235, 236, 243].

Ламинин и фибронектин свойственны активно делящимся и функционирующим клеткам. Фибронектин был обнаружен во многих клеточных культурах *in vitro* – в культурах делящихся клеток человека – кожи, легкого, почек, печени, миокарда [197]. Фибронектин является основным белком, свойственным делящимся фибробластам [260]. В

частности, он обнаруживается в фибриллярных структурах, образуемых делящимися фибробластами в культуре [180]. Ламинин и фибронектин производятся делящимися клетками и обнаруживаются в их культуре [145, 206].

С учетом выявленной микроструктуры механизма ВРА снижение концентрации ламинина и фибронектина может быть обусловлено возрастным апоптозом гиалоцитов, синтезирующих новообразованные коллагеновые волокна СТ и обеспечивающих ВРА. Апоптоз клеток приводит к прогрессирующему снижению синтеза новообразованных коллагеновых волокон СТ, обеспечивающих ВРА, и, в конечном итоге, к формированию ЗОСТ, а снижение концентрации ламинина и фибронектина – это вторичное проявление апоптоза гиалоцитов СТ.

Результаты исследования механизма ВРА позволили высказать аргументированное утверждение о том, что витреоретинальная адгезия обеспечивается взаимным переплетением коллагеновых фибрилл эпиретинального и кортикального СТ, что в свою очередь указывает на возможность и целесообразность применения узкоспецифического коллагенолитического фермента бактериальной коллагеназы для устранения ВМТ.

Полученные результаты указывали на необходимость изучения воздействия бактериальной коллагеназы на различные структуры стекловидного тела и сетчатки глаза человека, определения начальной пороговой дозы и экспозицию препарата в аспекте ее практического применения. Экспериментальные исследования были проведены на пятидесяти шести донорских глазах с использованием сканирующей (микроскоп «Camscan-S2») и трансмиссионной (микроскоп «JEOL JEM-1011») электронной микроскопии, что позволило получить корректное сравнение с уже имеющимися результатами исследования.

В результате исследования воздействия бактериальной коллагеназы на различные структуры стекловидного тела и сетчатки глаза человека показано,

что бактериальная коллагеназа приводит к деградации коллагеновых фибрилл до их фрагментов – олигопептидов. Указанное подтвердило ранее приведенные данные, полученные на основании косвенных лабораторных исследований биохимических компонентов, образуемых в результате воздействия коллагеназы на различные типы коллагена [105, 209].

Впервые исследовано воздействие бактериальной коллагеназы на отдельные фибриллы СТ человека на их микроструктурном уровне (отдельные фибриллы СТ). Зарегистрирован эффект раскручивания тройной спирали коллагеновой фибриллы СТ. Выявлено, что дезорганизация коллагеновых фибрилл СТ происходит не последовательно (раскручивание спирали коллагеновой фибриллы и затем фрагментация), а параллельно, то есть раскручивание фибрилл может происходить одновременно с их дезорганизацией в соседних локусах. Обнаружен эффект каплевидной агрегации фрагментов разрушенных фибрилл СТ. Выявлено, что коллагеназа оказывает эффект «разрезания» фибрилл СТ в результате локального воздействия.

Впервые выявлено, что воздействие бактериальной коллагеназы может приводить к неполному растворению эпиретинального СТ, вызывая его полную микроструктурную дезорганизацию и обнажение поверхности ВПМ. При исследовании воздействия бактериальной коллагеназы на интравитреальные структуры не выявлено признаков повреждения микроархитектуры фоторецепторного слоя сетчатки и слоя ретинального пигментного эпителия. Различия не выявлены как на отдельном клеточном уровне, так и на уровне тканевой микроструктурной организации исследуемых объектов. Результаты экспериментального исследования подтвердили заявленную узкую специфическую протеолитическую направленность по отношению к коллагену и отсутствие в препарате возможных сопутствующих балластных протеолитических ферментов, способных вызывать повреждение внутренних слоев сетчатки и ретинального пигментного эпителия.

Экспериментальные исследования показали, что бактериальная коллагеназа способна растворять коллагеновые фибриллы СТ человека, эпиретинальное СТ и может быть использована в лечении витреоретинальной патологии, где требуется нехирургическое растворение волокон СТ, либо как дополнение к витрэктомии для растворения СТ, не удаленного в процессе хирургического вмешательства.

При определении начальной пороговой дозы и экспозиции бактериальной коллагеназы в эксперименте выявлено, что экспозиция ферментного воздействия на эпиретинальное СТ в дозе 1 КЕ на 1 мл с экспозицией в 20 минут вызывает минимальные видимые изменения в эпиретинальном СТ, проявляющееся в формировании единичных каплевидных структур на фибриллах СТ. Проявления воздействия в виде умеренного уплотнения волокон эпиретинального СТ и образования каплевидных структур на волокнах СТ выявляются при концентрации фермента в 10 КЕ на 1 мл и экспозиции 20 минут. Дальнейшее увеличение экспозиции воздействия и концентрации фермента приводят к прогрессирующей деградации эпиретинального СТ вплоть до его полной дезорганизации. Начальная пороговая доза воздействия препарата бактериальной коллагеназы на эпиретинальное СТ при кратковременном воздействии начинается при концентрации в 1 КЕ на 1 мл.

Следующим этапом было исследование цитотоксичности бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции, определение безопасной в аспекте цитотоксичности дозы препарата.

Исследования цитотоксичности бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции проведены на культуре фибробластов мышцы линии NIH 3T3 с использованием фармакокинетической клеточной модели доза-эффект зависимости в аспекте ее интравитреального применения. Полученные результаты показали полное отсутствие цитотоксичности при дозировке препарата 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл), нарастание цитотоксической реакции до незначительной при дозировке в 30

КЕ/100 мкл (300 КЕ/ 1 мл), увеличение реакции до нерезкой при увеличении дозировки от 40 до 120 КЕ/100 мкл (от 400 до 1200 КЕ/ 1 мл) и отсутствие дальнейшего нарастания ответной клеточной реакции несмотря на увеличение дозы. Доза в 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ/ 1 мл) может оказать незначительное токсическое воздействие на окружающие ткани при условии максимальной экспозиции. Основываясь на результатах токсикологических исследований, можно заключить, что применение препарата в клинике при условии максимальной экспозиции не несет в себе риска токсического воздействия при его дозировке 15 КЕ/100 мкл.

Полученные результаты свидетельствуют о низкой цитотоксичности исследованного препарата «Коллализин». При пересчете на содержание коллагеназы в 1 мл цитотоксичность полностью отсутствует при дозировке 150 КЕ на 1 мл при условии максимальной экспозиции. Экстраполяция модели из условий *in vitro* в условия *in vivo* позволяет прийти к заключению, что дозировка препарата до 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ на 1 мл) не несет в себе потенциальной опасности токсического воздействия на биологические ткани при максимальной экспозиции.

Основываясь на проведенных анатомических, экспериментальных и токсикологических исследованиях разработана технология атравматичного микроинвазивного лечения ВМТ с применением препарата бактериальной коллагеназы отечественного производства. Технология заключается во введении в фовеолярную область высокоспецифического коллагенолитического препарата отечественного производства, разрешенного для интравитреального применения.

После медикаментозного мидриаза, местной капельной анестезии и стандартной обработки операционного поля с наложением стерильной салфетки и блефаростата на веки, производится интравитреальное введение в фовеолярную область 0,2 мл раствора, содержащего 1 КЕ отечественного препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин».

Введение препарата выполняется через порт калибра 27 G, установленный в верхненааружном сегменте, с использованием канюли с силиконовым кончиком длиной 40 мм, установка порта производится по сложной траектории. Проводится смещение конъюнктивы над местом установки порта, выполняется прокол склеры под острым углом на глубину стилета (3 мм), после чего производится разворот порта перпендикулярно поверхности склеры в направлении геометрического центра глаза с последующим введением порта, установленного на трокар на всю длину, введением канюли через установленный порт и позиционированием ее кончика в фовеолярной области на расстоянии 0,3-0,5 мм. Затем осуществляется медленное введение раствора препарата, обеспечивающее его ламинарное истечение в фовеолярную область.

Извлечение канюли и порта производится перпендикулярно склере с одновременным зажимыванием и придавливанием к склере в месте инъекции бранш конъюнктивального пинцета на 1 минуту. После проведенной лечебной процедуры пациенту на несколько дней назначаются капельные инстилляциии антибактериальных препаратов.

Введенный препарат оказывает коллагенолитическое воздействие на коллагеновые формации в области патологической витреоретинальной фиксации, в результате чего происходит устранение ВМТ. Лечебный эффект оценивается через 1 месяц с применением метода ОКТ.

Разработанная технология минимально инвазивна, т.к. травмирующий компонент ограничивается проколом склеры трокаром калибра 27 G, может быть выполнена подготовленным витреоретинальным хирургом, требует минимального оснащения операционной и позволяет исключить проведение дорогостоящего высокотехнологического хирургического вмешательства, исключая при этом риск развития осложнений, свойственный витреоретинальным вмешательствам с применением витрэктомии.

Дальнейшее исследование заключалось в изучении клинических, анатомических и функциональных результатов использования разработанной

технологии, определении побочных эффектов и осложнений, показаний и противопоказаний к применению разработанной технологии.

Изучены клинические, анатомические и функциональные результаты лечения ВМТ по разработанной технологии. В основную исследуемую группу вошли 65 пациентов (65 случаев), из них 63 женщины, 2 мужчин. Возраст пациентов колебался от 44 до 83 лет. Преобладали пациенты возраста от 55 до 70 лет. Протяженность ВМТ варьировала от 50 до 3100 мкм. В 26 случаях (40%) ВМТ сочеталась с МО, в 12 случаях (18,5%) – с ЭРФ. Из 65 случаев, вошедших в исследование, изолированная ВМТ была в 27 случаях.

При подтвержденном диагнозе ВМТ с анамнезом менее трех месяцев проводили динамическое наблюдение за пациентом в течение трех месяцев в расчете на возможное самопроизвольное разрешение ВМТ. При сочетании МО с ВМТ, либо угрозе его развития, динамическое наблюдение не проводили. Результат лечения оценивали через 1 месяц на основании данных ОКТ. Оценивали эффект устранения ВМТ и закрытия макулярного отверстия при его наличии. Статистическую обработку полученных данных проводили методами параметрической и непараметрической статистики. Оценивали среднее значение показателей и их стандартное отклонение. При нормальном распределении значений достоверность различий рассчитывали с использованием t-критерия Стьюдента. При распределении значений отличном от нормального использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Был проведен корреляционный анализ с вычислением рангового коэффициента корреляции Спирмена (r) и регрессионный анализ.

Устранение ВМТ достигнуто в 48 случаях (77,4%) от общего числа пролеченных случаев, в 14 случаях (22,6%) ВМТ устранить не удалось. Этим пациентам в дальнейшем было проведено хирургическое лечение. В 3 случаях от общего числа (4,6%) при предварительном динамическом наблюдении в течение трех месяцев после установления диагноза было выявлено самопроизвольное устранение ВМТ.

В половине из 26 случаев ВМТ с МО удалось добиться устранения ВМТ и закрытия МО. В 11 случаях (42,3%) ВМТ была устранена без закрытия МО. И только в двух случаях (7,7%) не было достигнуто устранение тракции и закрытия макулярного отверстия.

В 12 случаях (19,4%) витреомакулярная тракция сочеталась с ЭРФ. В 8 случаях (66,7%) удалось добиться разрешения ВМТ и ЭРФ с улучшением остроты зрения. При этом пациенты не предъявляли жалоб на метаморфопсии либо зрительный дискомфорт. При динамическом наблюдении было отмечено отсутствие прогрессирования ЭРФ, а также исчезновение тракционного компонента. В виду этого хирургия по поводу ЭРФ данным пациентам не потребовалась. В 4 случаях (33,3%) не удалось добиться разрешения ВМТ и ЭРФ.

При оценке функционального состояния после лечения было отмечено достоверное повышение остроты зрения во всех случаях, где удалось достичь устранения ВМТ ($p < 0,001$). Средняя МКОЗ до лечения среди всех случаев составляла $0,46 \pm 0,21$. Средняя МКОЗ после лечения составила $0,66 \pm 0,26$ ($p < 0,001$). Прибавка МКОЗ в среднем составила $0,20 \pm 0,21$ ($p < 0,001$).

В контрольной группе с применением традиционной хирургии также были изучены клинические, анатомические и функциональные результаты лечения ВМТ. В контрольную группу вошли 65 пациентов (65 случаев), из них 61 женщина, 4 мужчин. Возраст пациентов колебался от 50 до 80 лет, преобладали пациенты 60 до 70 лет. Протяженность ВМТ варьировала от 100 до 2100 мкм. В 26 случаях (44,0%) ВМТ сочеталась со сквозным макулярным отверстием, 12 (18,5%) случаях – с ЭРФ. Острота зрения колебалась от 0,1 до 0,7. Пациенты были распределены на 3 подгруппы, аналогично с основной группой: 1) изолированная ВМТ, 2) ВМТ, сочетанная с макулярным отверстием, 3) ВМТ, сочетанная с эпиретинальным фиброзом. Из 65 случаев, вошедших в исследование, изолированная ВМТ была в 27 случаях.

При подтвержденном диагнозе ВМТ проводили плановое хирургическое лечение: факоэмульсификацию хрусталика с имплантацией ИОЛ (в случаях

факичных глаз), трехпортовую субтотальную витрэктомию инструментами калибра 25 G, удаление эпиретинальных мембран, удаление ВПМ в макулярной области, тампонаду витреальной полости воздухом или газозооной смесью. Оценивали эффект устранения ВМТ, ЭРФ и закрытия макулярного отверстия при его наличии. Статистическую обработку полученных данных проводили аналогично основной группе.

Устранение ВМТ в контрольной группе в целом достигнуто во всех 65 случаях (100%). Из 26 случаев ВМТ, сочетанной с МО, устранение ВМТ и закрытие МО произошло в 25 случаях (96,2%) с последующим улучшением остроты зрения. В 1 случае закрытия МО не произошло, что потребовало повторного хирургического вмешательства. В 12 случаях витреомакулярной тракции, сочетанной с ЭРФ, излечение достигнуто во всех случаях (100%) с улучшением остроты зрения. При оценке функционального состояния после лечения было отмечено достоверное повышение остроты зрения во всех излеченных случаях ($p < 0,001$). Средняя МКОЗ до лечения среди всех случаев варьировала от 0,1 до 0,7 и в среднем составила $0,36 \pm 0,14$. После лечения средняя МКОЗ варьировала от 0,2 до 0,9 и в среднем составила $0,53 \pm 0,19$, прибавка МКОЗ в среднем $0,16 \pm 0,08$.

Сравнение анатомических и функциональных результатов лечения ВМТ в основной и контрольной группах проводилось по полученному результату устранения ВМТ, достижению полного излечения после проведенного лечения и изменению остроты зрения в группах в целом. В основной группе удалось достичь устранения ВМТ в 77,4% случаев (в число случаев устранения ВМТ вошли случаи ВМТ с МО, в которых была устранена ВМТ, но не произошло закрытие МО). Полного излечения удалось достичь в 59,7% случаев. Исходная острота зрения составила $0,66 \pm 0,26$, прибавка МКОЗ в исследуемой группе – $0,20 \pm 0,21$. В контрольной группе результат устранения ВМТ был достигнут в 100% случаев, полное излечение достигнуто в 98,5% (в одном случае не произошло закрытие МО после первого хирургического вмешательства). Исходная острота зрения составила $0,58 \pm 0,19$, прибавка

МКОЗ в контрольной группе – $0,19 \pm 0,09$. При сравнении изменения функциональных результатов прибавки МКОЗ в основной и контрольной группах не выявлено достоверных различий. Острота зрения в сравниваемых группах увеличилась практически одинаково.

Сравнение изменения остроты зрения в случаях излечения в основной и контрольной группах и, соответственно, в сформированных по особенностям патологического процесса подгруппах, проводилось по параметрам МКОЗ и ее прибавки после проведенного лечения.

В основной группе у излеченных пациентов МКОЗ составила $0,80 \pm 0,18$, ее прибавка – $0,31 \pm 0,19$. В контрольной группе МКОЗ составила $0,59 \pm 0,18$, ее прибавка – $0,20 \pm 0,08$. При сравнении выявлено достоверное увеличение МКОЗ и ее прибавки в основной группе пациентов по отношению к контрольной ($p < 0,05$).

В подгруппе излеченных пациентов с изолированной ВМТ основной группы после лечения МКОЗ составила $0,76 \pm 0,17$, прибавка МКОЗ – $0,30 \pm 0,15$. В аналогичной подгруппе контрольной группы МКОЗ составила $0,60 \pm 0,21$, ее прибавка – $0,20 \pm 0,07$. При сравнении выявлена статистически значимая более высокая МКОЗ и ее прибавка в основной исследуемой подгруппе ($p < 0,05$).

В подгруппе излеченных пациентов с ВМТ, сочетанной с МО, основной группы МКОЗ после лечения составила $0,86 \pm 0,16$, ее прибавка – $0,36 \pm 0,23$. В аналогичной подгруппе контрольной группы, МКОЗ составила $0,55 \pm 0,17$, прибавка – $0,19 \pm 0,09$. При сравнении также выявлена статистически значимая более высокая МКОЗ и ее прибавка в основной подгруппе пациентов ($p < 0,05$).

В подгруппе излеченных пациентов с ВМТ, сочетанной с ЭРФ, основной группы после лечения МКОЗ составила $0,78 \pm 0,20$, прибавка – $0,23 \pm 0,12$. В аналогичной подгруппе контрольной группы МКОЗ составила $0,61 \pm 0,13$, ее прибавка – $0,18 \pm 0,05$. При сравнении выявлена статистически значимая более высокая острота зрения и ее прибавка в результате лечения у пациентов в основной подгруппе ($p < 0,05$).

При сравнении остроты зрения излечившихся случаев в основной и контрольной группах было обнаружено достоверно более высокое увеличение МКОЗ после лечения как основной группы в целом, так и в ее подгруппах по сравнению с контрольной группой пациентов ($p < 0,05$).

Определены побочные эффекты и осложнения, развивающиеся после лечения ВМТ по разработанной технологии.

К побочным эффектам были отнесены проявления, сопутствующие проводимому лечению, не потребовавшие дополнительного лечения и разрешившиеся самостоятельно: кровоизлияние в области инъекции (10,7%), боль (15,4%), светобоязнь (4,6%), слезотечение (7,7%), ощущение инородного тела в глазу (7,7%), помутнение СТ (27,7%), кратковременное снижение исходной остроты зрения (27,7%), петехиальные кровоизлияния на сетчатке (15,4%). Повышение ВГД не выявлено ни в раннем, ни в отдаленном периоде наблюдения, не зарегистрировано развитие или прогрессирование помутнения хрусталика и ЭРФ ни в одном случае. Так же не зафиксировано случаев разрывов сетчатки.

К осложнениям отнесены проявления, потребовавшие дополнительного лечения: в 4,6% случаев зарегистрировано формирование иридохрусталиковой спайки, которое было купировано назначением инстилляций мидриатиков и нестероидных противовоспалительных препаратов в течение 2 дней. Причина развития побочных эффектов и осложнений наиболее вероятно может быть связана с основным коллагенолитическим воздействием препарата. Наравне с растворением волокон СТ коллагеназа может приводить и к частичному растворению стенки сосудов сетчатки, что может приводить к развитию петехиальных кровоизлияний и возможно кратковременному помутнению СТ. Кроме того, повышение проницаемости сосудов может быть некоторым провокативным фактором стимуляции сопутствующего скрытого и не диагностированного вялотекущего воспалительного состояния, провоцируемого проводимым лечением.

Основываясь на полученных клинических результатах, определены показания и противопоказания к применению разработанной технологии, предложен новый алгоритм подхода к лечению ВМТ, с учетом полученных результатов, для применения в клинической практике.

Показанием к лечению с применением разработанной технологии является подтвержденный методом ОКТ диагноз ВМТ, жалобы пациента на метаморфопсии, либо сочетание ВМТ с МО. Учитывая эффективность разработанной технологии, проведение лечения показано при изолированной ВМТ протяженностью фиксации до 3100 мкм, в том числе при ВМТ с многофокусной фиксацией и сопутствующим МО диаметром до 545 мкм, и у пациентов с ВМТ, сочетанной с ЭРФ. Проводимое лечение не приводит к прогрессированию начальной катаракты, поэтому первым этапом, при условии прозрачности хрусталика, не затрудняющего проведение ОКТ, рекомендуется устранить ВМТ, после чего провести плановое хирургическое лечение катаракты. Протяженная фиксация ВМТ, диаметр МО более 400 мкм и сопутствующий эпиретинальный фиброз не являются противопоказаниями к проведению лечения, т. к. не выявлено статистически значимой зависимости результативности лечения от протяженности фиксации ВМТ, диаметра МО и сопутствующего ЭРФ.

Противопоказанием к лечению является отсутствие жалоб пациента на метаморфопсии. В таких случаях рекомендуется регулярное динамическое наблюдение с контролем динамики на основании данных ОКТ и визометрии. Проведение лечения по разработанной технологии противопоказано в случаях невозможности выполнения ОКТ пациенту, низкой комплаентности пациента, т. к. лечение предполагает обязательное регулярное динамическое наблюдение. Сопутствующая тяжелая психосоматическая патология, сахарный диабет, хронический увеит, прочие заболевания, требующие проведения витреоретинального хирургического вмешательства. В связи с возможным повышением проницаемости сосудов сетчатки лечение противопоказано при нарушении свертываемости крови, либо при приеме

пациентом антикоагулянтов и иных средств, влияющих на свертываемость крови.

Относительным противопоказанием является наличие псевдоэксфолиативного синдрома. При лечении пациентов с указанным синдромом у врача должна иметься возможность безотлагательного проведения хирургического вмешательства в случае необходимости, т. к. у таких пациентов существует повышенный риск полной ЗОСТ со смещением иридохрусталиковой диафрагмы кпереди и развитием вторичной гипертензии.

Применение разработанной методики микроинвазивного лечения позволяет добиться излечения пациентов с ВМТ в 66,7% случаев, при ВМТ, сочетанной с МО – в 50% случаев. При сравнении функциональных результатов у полностью излечившихся пациентов выявлено, что методика микроинвазивного лечения ВМТ позволяет получать более высокие функциональные результаты, как в общих сравниваемых группах, так и в отдельных подгруппах, нежели применение хирургического вмешательства. Более высокая функциональная эффективность разработанной методики микроинвазивного лечения ВМТ показывает целесообразность возможного изменения существующей тактики лечения таких пациентов. При лечении пациентов с ВМТ первым этапом может быть произведено микроинвазивное лечение по разработанной технологии. В случае отсутствия положительного результата вторым этапом может быть выполнено хирургическое вмешательство.

Полученные результаты позволили предложить новый подход к лечению ВМТ для применения в клинической практике. Основываясь на сравнении анатомической и функциональной эффективности разработанной технологии с традиционно применяемым хирургическим лечением ВМТ, разработан алгоритм лечения ВМТ для применения в клинической практике.

Новый алгоритм подхода предполагает наличие возможности излечения ВМТ без объемного хирургического вмешательства, поэтому первым этапом пациенту рекомендуется проводить лечение по разработанной технологии.

Определяются сроки лечения. Плановое лечение с предварительным наблюдением в течение 3 месяцев в расчете на саморазрешение ВМТ проводится пациентам без сопутствующего МО и признаков угрозы его возникновения. Лечение без предварительного динамического наблюдения проводится в случаях с сопутствующим МО и высоким риском его развития.

Оценка результата лечения производится через 1 месяц после проведения лечения по данным ОКТ и визометрии. К излечившимся следует относить пациентов, у которых произошло разрешение тракции с восстановлением макулярного профиля и закрытием макулярного отверстия в случаях наличия такового. Следует обратить внимание на то, что устранение ВМТ не всегда дает немедленное улучшение зрения. В случаях ВМТ с выраженным тракционным компонентом, при котором характерно наличие множественных интравитреальных кист либо скопление жидкости в субретинальном пространстве, до полного восстановления микроструктуры макулярной сетчатки и улучшения зрения может пройти 6 месяцев. При наличии сопутствующей катаракты, ее лечение проводят в плановом порядке.

К неизлеченным следует отнести случаи, в которых не произошло разрешения ВМТ, и случаи ВМТ, сочетанной с МО, в которых произошло устранение ВМТ, но не закрылось МО. При отсутствии положительного результата пациенту предлагается проведение витреоретинального хирургического вмешательства.

При планировании хирургического вмешательства пациентам, у которых не удалось достичь положительного результата, следует учитывать среднестатистическую результативность разработанной технологии микроинвазивного лечения ВМТ.

Таким образом, в настоящей работе представлены новые данные о микроструктуре ВПМ и витреоретинального контакта. Представлена новая концепция механизма ВРА и механизма формирования ЗОСТ. Выявлена возможность прижизненного синтеза новообразованных коллагеновых волокон в СТ взрослого человека. Обнаружены признаки, позволившие

отнести часть пула гиалоцитов кортикального СТ к фибробластам. Обнаружен дополнительный компонент механизма витреоретинальной адгезии – «эпиретинальное СТ». Выявлено, что ВРА обеспечивается взаимным переплетением новообразованных коллагеновых волокон эпиретинального и кортикального СТ. Показано, что формирование ЗОСТ происходит по границе эпиретинального СТ, которое остается на поверхности сетчатки после формирования ЗОСТ.

Микроструктурные исследования позволили обосновать возможность применения бактериальной коллагеназы отечественного производства для лечения ВМТ. Исследовано воздействие бактериальной коллагеназы на отдельные коллагеновые волокна СТ, область витреоретинального контакта, ВПМ, интравитреальные структуры. Выявлены эффекты протеолитического воздействия бактериальной коллагеназы на отдельные фибриллы СТ, эпиретинальное СТ, ВПМ. Показано, что бактериальная коллагеназа не оказывает деструктивного воздействия на интравитреальные структуры и пигментный эпителий. Определена начальная пороговая доза бактериальной коллагеназы в аспекте интравитреального применения. В эксперименте *in vitro* на культуре фибробластов с использованием клеточной модели доза-эффект зависимости исследована цитотоксичность бактериальной коллагеназы в расширенном диапазоне дозы и экспозиции, определена безопасная в аспекте цитотоксичности дозировка препарата. Основываясь на проведенных исследованиях, разработана оригинальная технология лечения ВМТ, изучены клинические, анатомические и функциональные результаты лечения по разработанной технологии, определены побочные эффекты и осложнения, развивающиеся после лечения. Определены показания и противопоказания к применению разработанной технологии. Предложен алгоритм подхода к лечению ВМТ с учетом результатов, полученных при микроинвазивном лечении ВМТ для применения в клинической практике. Показано, что предлагаемая технология может быть методом выбора, либо методикой первого этапа в лечении пациентов с изолированной ВМТ, ВМТ,

сочетанной с МО и ЭРФ. Проведенные исследования показали возможность применения разработанной технологии микроинвазивного лечения ВМТ в клинической практике.

ВЫВОДЫ

1. Уточнена микроструктурная организация витреоретинального интерфейса центральной зоны сетчатки: внутренняя пограничная мембрана, на поверхности которой находится эпиретинальный слой стекловидного тела толщиной 5 мкм, гиалоциты, расположенные на поверхности эпиретинального слоя стекловидного тела, синтезирующие новообразованные коллагеновые фибриллы стекловидного тела и гликопротеины экстрацеллюлярного матрикса (ламинин, фибронектин), образующие каркасное соединение с кортикальным стекловидным телом. В механизме формирования витреоретинальной адгезии ведущая роль принадлежит постоянно синтезируемой гиалоцитами каркасной сети новообразованных коллагеновых фибрилл, расположенной между эпиретинальным и кортикальным стекловидным телом.

2. Бактериальная коллагеназа способна растворять отдельные фибриллы стекловидного тела, эпиретинальное стекловидное тело и не оказывает деструктивного воздействия на интравитреальные структуры и клетки ретинального пигментного эпителия. Начальная пороговая коллагенолитическая доза бактериальной коллагеназы в эксперименте составляет 1 КЕ/1 мл с экспозицией в 20 минут.

3. При исследовании цитотоксичности препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин» в расширенном диапазоне дозы и экспозиции в эксперименте *in vitro* на культуре фибробластов показано полное отсутствие цитотоксичности при дозировке препарата 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл), нарастание цитотоксической реакции до незначительной при дозировке в 30 КЕ/100 мкл (300 КЕ/1 мл), увеличение реакции до нерезкой при увеличении дозировки от 40 до 120 КЕ/100 мкл (от 400 до 1200 КЕ/1 мл) и отсутствие дальнейшего нарастания ответной клеточной реакции, несмотря на увеличение дозы. Максимальная безопасная, в аспекте цитотоксичности, доза препарата бактериальной коллагеназы составляет 15 КЕ/100 мкл (150 КЕ/1 мл) при условии длительной экспозиции в 24 часа.

4. Разработанная технология микроинвазивного лечения витреомакулярной тракции заключается в интравитреальном введении раствора 1 КЕ препарата бактериальной коллагеназы «Коллализин» в 0,2 мл сбалансированного солевого раствора; введение производится через склеральный порт калибра 27 G, установленный в проекции плоской части цилиарного тела, канюлей с силиконовым кончиком, позиционируемой в фовеолярной области на расстоянии 0,3-0,5 мм от фовеолы под визуальным контролем; препарат медленно вводится в фовеолярную область с последующим извлечением канюли и порта с одновременным зашиванием и придавливанием склеры в месте прокола браншами конъюнктивального пинцета на 1 минуту.

5. Разработанная технология позволяет излечивать пациентов с изолированной витреомакулярной тракцией протяженностью до 3100 мкм с эффективностью 66,7% с прибавкой максимально скорректированной остроты зрения $0,21 \pm 0,19$; витреомакулярной тракцией с макулярным отверстием диаметром до 545 мкм с эффективностью 50% и прибавкой МКОЗ $0,18 \pm 0,27$; витреомакулярной тракцией, сочетанной с эпиретинальным фиброзом, с эффективностью 66,7% и прибавкой максимально скорректированной остроты зрения $0,16 \pm 0,21$.

6. Применяемой технологии свойственны неспецифические и специфические побочные эффекты. Неспецифические побочные эффекты обусловлены манипуляцией: кровоизлияния под конъюнктиву, преходящие болевые ощущения, плавающие включения в стекловидном теле в течение первых суток, кратковременное повышение внутриглазного давления. Специфические побочные эффекты связаны с коллагенолитическим воздействием препарата, приводящим к повышению проницаемости сосудов сетчатки, развитию петехиальных кровоизлияний на поверхности сетчатки и временному помутнению стекловидного тела. К осложнениям отнесены проявления, требующие дополнительного лечения: развитие иридохрусталиковой спайки (4,6%), купируемое инстилляцией мидриатиков.

Показанием к лечению с применением разработанной технологии является витреомакулярная тракция, сопровождающаяся метаморфопсией. Противопоказанием – невозможность проведения оптической когерентной томографии, некомплаентность пациента, тяжелая сопутствующая психосоматическая патология, острые воспалительные заболевания, сахарный диабет, хронический увеит, прочие заболевания, требующие проведения витреоретинального хирургического вмешательства, нарушения свертываемости крови.

7. Сравнение эффективности разработанной технологии с традиционной хирургией показало меньшую (77,4%) эффективность устранения ВМТ, чем в контрольной группе (100%) и меньшую эффективность излечения (59,7%) по сравнению с эффективностью традиционной хирургии (98,5%). При сравнении функциональных результатов выявлено, что максимально скорректированная острота зрения и ее прирост достоверно не различаются ($p > 0,05$) при анализе всех (излечившихся и не излечившихся) случаев основной и контрольной групп, и достоверно выше ($p < 0,05$) в основной группе при сравнении излечившихся случаев. Эффективность разработанной технологии показывает меньшую анатомическую, но более высокую функциональную эффективность в излеченных случаях в сравнении с применяемым в настоящее время хирургическим методом.

8. Новый алгоритм лечения витреомакулярной тракции заключается в применении разработанной технологии первым этапом лечения, при этом производится определение тактики и сроков лечения в зависимости от исходных клинических особенностей пациента, с оптимизацией тактики и сроков последующего хирургического лечения для случаев, в которых не удалось добиться положительного результата после проведения лечения по разработанной технологии. Применение алгоритма позволяет повысить зрительные функции у излеченных пациентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная технология микроинвазивного лечения ВМТ может быть рекомендована к практическому применению в офтальмологических лечебных учреждениях, располагающих офтальмологической операционной с наличием возможностями проведения однопортового интравитреального введения препаратов в витреальную полость. Процедура может производиться квалифицированным витреоретинальным хирургом. Офтальмологический мониторинг проводится путем осмотра передних отделов глаза с использованием щелевой лампы, глазного дна – методом непрямой бинокулярной офтальмоскопии с использованием конденсорной линзы, результат лечения оценивается с применением ОКТ. Эффект от лечения оценивается через 1 месяц после введения препарата. В случае отсутствия эффекта от лечения предлагается проведение витреоретинального вмешательства. Тактический подход к лечению осуществляется в соответствии с разработанным алгоритмом лечения.

2. Методика микроинвазивного лечения ВМТ может быть использована в клинической практике в случаях ВМТ с протяженностью фиксации до 3000 мкм, в том числе при сопутствующем МО диаметром до 500 мкм и сопутствующем ЭРФ. Методика может применяться как первый этап лечения ВМТ.

3. Ввиду специфической особенности бактериальной коллагеназы повышать проницаемость сосудов сетчатки необходимо исключить дополнительный риск кровотечения из ретинальных сосудов и исключить применение антикоагулянтов, антиагрегантов, либо иных препаратов, увеличивающих риск кровотечения, в течение двух недель с момента начала лечения. Пациенты, использующие антикоагулянты и антиагреганты, требуют повышенного внимания в раннем периоде после начала лечения.

4. Противопоказаниями к использованию технологии являются сахарный диабет, нарушение свертываемости крови, сопутствующие

воспалительные заболевания и общее соматическое состояния, не позволяющие пациенту своевременно и регулярно проходить обследование после начала лечения.

5. Планирование хирургического вмешательства при отсутствии результата от применения разработанной технологии необходимо проводить с учетом среднестатистической результативности технологии микроинвазивного лечения ВМТ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВГД – внутриглазное давление

ВМ – внеклеточный матрикс

ВМА – витреомакулярная адгезия

ВМТ – витреомакулярная тракция

ВРА – витреоретинальная адгезия

ВПМ – внутренняя пограничная мембрана

ЗОСТ – задняя отслойка стекловидного тела

ИОЛ – интраокулярная линза

КЕ – коллагенная единица

МКОЗ – максимально корригируемая острота зрения

МО – макулярное отверстие

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПЗО – передне-задняя ось (глаза)

СТ – стекловидное тело

ЭРМ – эпиретинальная мембрана

ЭРФ – эпиретинальный фиброз

мин – минута

мг – миллиграмм

мл – миллилитр

мкм – микрометр

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтынбаев, У.Р. Оценка уровня гликопротеинов в стекловидном теле при дегенеративных заболеваниях сетчатки / У.Р. Алтынбаев // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 3. – С. 359.
2. Алтынбаев, У.Р. Иммуноморфологические особенности идиопатической эпиретинальной мембраны, осложненной ламеллярным макулярным разрывом / У.Р. Алтынбаев, А.И. Лебедева // Офтальмология – 2017. – Т. 14, № 3. – С. 247-250.
3. Антелава, Д.Н. Первичная отслойка сетчатки / Д.Н. Антелава, Н.Н. Пивоваров, А.А. Сафоян. – Тбилиси: Сабчота Сакартвело, 1986. – 160 с.
4. Балашевич, Л.И. Динамика развития патологических процессов в витреомакулярном интерфейсе по данным оптической когерентной томографии / Л.И. Балашевич, Р.Р. Валеева // Офтальмохирургия. – 2008. – № 2. – С. 55-59.
5. Барабаш, Н.С. Оценка результатов витрэктомии в непролиферативной и ранней пролиферативной стадиях диабетической ретинопатии по данным флюоресцентной ангиографии / Н.С. Барабаш, Л.М. Футорян, В.Я. Кишкина // Актуальные проблемы хирургии хрусталика, стекловидного тела и сетчатки: Сб. науч. тр. – М., 1986. – С. 115-118.
6. Галимова, А.Б. Эволюция подходов к хирургическому лечению регматогенной отслойки сетчатки / А.Б. Галимова // Офтальмол. ведомости. – 2011. – Т. 4, №3. – С. 70-77.
7. Глинчук Я.И. Роль витрэктомии в лечении заболеваний глаз травматической, дегенеративной и воспалительной этиологии: дис. ... д-ра мед. наук / Глинчук Ярослав Иосифович. – М., 1987. – 378 с.
8. Даниличев В.Ф. Обоснование и эффективность применения протеолитических ферментов при патологии глаза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Даниличев Владимир Федорович. – Л., 1983. – 21 с.

9. Даниличев, В.Ф. Офтальмология: энзимотерапия и экстракорпоральная гемокоррекция / В.Ф. Даниличев. – 2-е изд., доп. – СПб., 2002. – 310 с.
10. Даниличев, В.Ф. Патология глаз, ферменты и ингибиторы / В.Ф. Даниличев. – СПб.: Стройпечать, 1996. – 235 с.
11. Даниличев, В.Ф. Протеолитическая энзимотерапия при патологии глаз: Метод. рекомендации / В.Ф. Даниличев, Г.Ю. Кнорринг. – СПб., 2005. – 32 с.
12. Даниличев, В.Ф. Протеолитические ферменты в терапии повреждений и заболеваний глаз / В.Ф. Даниличев. – Л., 1980. – 210 с.
13. Даниличев, В.Ф. Профилактика и лечение послеожогового симблефарона: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Даниличев Владимир Федорович. – Л., 1973. – 18 с.
14. Даниличев, В.Ф. Травмы и заболевания глаз: Применение ферментов и пептидных регуляторов / В.Ф. Даниличев, И.Б. Максимов. – Минск: Наука и техника, 1994. – 223 с.
15. Запускалов, И.В. Патент РФ № 2303457. Способ проведения энзимотерапии / Заявитель и патентообладатель Запускалов И.В., Назаренко К.А.; Заявл.: 15.02.2006; публикация патента: 27.07.2007 // Бюлл. – 2007. – № 21. – С. 8.
16. Запускалов, И.В. Наш опыт лечения пролиферативной диабетической ретинопатии с применением коллализина (клинические случаи) / И.В. Запускалов, К.А. Назаренко, А.А. Березовская // Офтальмохирургия. – 2006. – № 2. – С. 37-40.
17. Захаров, В.Д. Витреоретинальная хирургия / В.Д. Захаров. – М., 2003. – 180 с., ил.
18. Захарова, М.А. Оптическая когерентная томография: технология, ставшая реальностью / М.А. Захарова, А.В. Куроедов // РМЖ. Клиническая Офтальмология. – 2015. – № 4. – С. 204-211.

19. Канюков, В.Н. Оптическая когерентная томография в диагностике патологических состояний глазного дна / В.Н. Канюков, И.В. Пономарева, М.С. Королькова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2010. – № 12-2 (118). – С. 59-61.

20. Куглеев, А.А. Лечение больных с кровоизлиянием в стекловидное тело и их последствиями электрофорезом с коллализином / А.А. Куглеев // Всероссийский съезд офтальмологов, 4-й: Тез докл. – Л., 1981. – Т. 1. – С. 15-16.

21. Логай, И.М. Факторы риска развития пролиферативной витреоретинопатии у больных при склеропластическом лечении регматогенной отслойки сетчатки / И.М. Логай, И.П. Метелицына, Г.В. Левицкая // Офтальмол. журн. – 1999. – № 3. – С.129-134.

22. Ларина, Е.А., Изменение функциональных параметров центрального отдела сетчатки при использовании различных методик блокирования незакрывшегося макулярного разрыва / Е.А. Ларина, Р.Р. Файзрахманов, О.А. Павловский // Современные технологии в офтальмологии. – 2022. – № 1. – С. 81-86.

23. Левицкая, Г.В. Аминокислотный спектр в стекловидном теле и витреальном содержимом у больных регматогенной отслойкой сетчатки / Г.В. Левицкая // Российская детская офтальмология. – 2014. – № 1. – С. 16-20.

24. Левицкая Г.В. Персистирующая субретинальная жидкость после успешной хирургии регматогенной отслойки сетчатки: варианты существования, прогнозирование степени выраженности (часть 1) / Г.В. Левицкая // Офтальмология. Восточная Европа. – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 458-470.

25. Масгутов, Р.Ф «Инъекции коллализина, как альтернатива хирургическому лечению контрактуры Дюпюитрена» / Р.Ф. Масгутов, В.Л. Филлипов, А.А. Богов // Практическая медицина. – 2015. – Т. 1, № 4. – С. 112.

26. Морозов, В.И. Первый опыт использования коллагеназы при заболеваниях роговицы / В.И. Морозов, Б.С. Красавина, С.Н. Золотов, И.А. Зеленская // Вестн. офтальмол. – 1972. – № 1. – С. 47-50.

27. Морозова, К.Н. Электронная микроскопия в цитологических исследованиях: Методическое пособие / К.Н. Морозова. – Новосибирск, 2013. – 85 с.

28. Норман, К.С. Экспериментальное обоснование использования миниплазмينا для индукции задней отслойки стекловидного тела на кроличьих глазах *in vivo* / К.С. Норман, И.Х. Шарафетдинов, С.В. Новиков [и др.] // Практическая медицина. – 2012. – №4 (59) 2012. – С.146-148.

29. Норман, К.С. Первый опыт использования миниплазмينا с целью индукции задней отслойки стекловидного тела на глазах экспериментальных животных / К.С. Норман, Х.П. Тахчиди, Д.О. Шкворченко [и др.] // Актуальные проблемы офтальмологии. – М., 2011.

30. Письменская, В.А. Интраоперационное применение коллализина в хирургическом лечении витреоретинальной патологии / В.А. Письменская // Итоговая межвузовская научная конференция молодых ученых и межфакультетская тематическая конференция по проблеме «Новые технологии в медицине», 12-я: Сб. тезисов. – М., 2001. – С. 69-70.

31. Полуни, Г.С. Показания и способы ферментотерапии в офтальмологической практике: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1990. – 15 с.

32. Приказ Минздрава СССР от 04.08.1983 № 914 «О разрешении к медицинскому применению новых лекарственных средств и стандартов, применяемых при анализе лекарственных средств». – М., 1983. – 33 с.

33. Сдобникова, С.В. О роли заднегиалоидной мембраны в патогенезе и хирургии пролиферативной диабетической ретинопатии / С.В. Сдобникова, Г.Е. Столяренко // Вестник офтальмологии. – 1996. – № 4. – С. 5-7.

34. Сдобникова, С.В. Роль задней гиалоидной мембраны в патогенезе и трансклиарной хирургии пролиферативной диабетической ретинопатии /

С.В. Сдобникова, Г.Е. Столяренко // Вестник офтальмологии. – 1999. – № 1. – С. 11-13.

35. Суетов, А.А. Гиалциты стекловидного тела и их значение в глазной патологии / А.А. Суетов, Э.В. Бойко // Вестник офтальмологии. – 2018. – Т. 134, № 6. – С. 94-101.

36. Тахчиди, Х.П. Применение рекомбинантного фибринолитического фермента проурокиназы для стимуляции задней отслойки стекловидного тела на глазах с отслойкой сетчатки / Х.П. Тахчиди, В.Д. Захаров, Л.Э. Айрапетова [и др.] // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. тезисов. – М., 2002. – С. 260-268.

37. Тахчиди, Х.П. Ферментная витрэктомия в лечении идиопатических макулярных разрывов / Х.П. Тахчиди, П.В. Лыскин, О.Л. Лозинская [и др.] // Офтальмохирургия. – 2010. – № 1. – С. 19-24.

38. Тахчиди, Х.П. Способ индукции задней отслойки стекловидного тела с помощью миниплазмينا / Х.П. Тахчиди, Д.О. Шкворченко, И.Х. Шарафетдинов // Новое в офтальмологии. – 2014. – № 1. – С. 54.

39. Тахчиди, Х.П. Экспериментальное обоснование использования миниплазмينا с целью индукции задней отслойки стекловидного тела (предварительное сообщение) / Х.П. Тахчиди, Д.О. Шкворченко, И.Х. Шарафетдинов [и др.] // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии. – М., 2011.

40. Терещенко, А.В. Оптическая когерентная томография у детей с ранними стадиями активной ретинопатии недоношенных / А.В. Терещенко, Ю.А. Белый, И.Г. Трифаненкова [и др.] // Офтальмохирургия. – 2005. – №4. – С. 48-51.

41. Тихонович, М.В. Экспрессия ростовых, трофических и провоспалительных факторов в эпиретинальных мембранах пациентов с тяжелой формой пролиферативной витреоретинопатии / М.В. Тихонович, П.В. Лыскин, Е.Э. Иойлева [и др.] // Офтальмохирургия. – 2015. – № 4. – С. 36-42.

42. Тустановский, А.А. Проблема взаимоотношения проколлагена и компонентов коллагена в фибрилlogenезе / А.А. Тустановский // Архив патологии. – 1960. – № 3. – С. 3-12.

43. Тустановский, А.А. Противоречия современного этапа изучения развития коллагеновых белков и коллагеновых структур / А.А. Тустановский // Механизмы склеротических процессов и рубцевание. – Новосибирск, 1964. – С. 13-32.

44. Тустановский, А.А. Соединительная ткань в норме и патологии / А.А. Тустановский, Ю.Г. Целлариус. – Новосибирск, 1968. – 415 с.

45. Федоров, С.Н. Вопросы витреальной хирургии / С.Н. Федоров // Всесоюзный съезд офтальмологов, 6-й: Тез. докладов. – М., 1985. – Т. 6. – С. 139-147.

46. Чупров, А.Д. Особенности структуры заднего сегмента глаза и морфологии ЗОСТ в зависимости от характера патологического процесса по данным ультразвукового В-сканирования / А.Д. Чупров, Ю.А. Замыров, К.В. Плотникова, К.В. Дмитриев // Вестник офтальмологии. – 2001. – № 2. – С. 18-21.

47. Шаимова, В.А. Оптическая когерентная томография в диагностике периферических витреоретинальных дистрофий / В.А. Шаимова, О.Г. Поздеева, Т.Б. Шаимов [и др.] // Офтальмология. – 2013. – Т. 10, № 4. – С. 32-38

48. Шарафетдинов, И.Х., Результаты клинического использования «Витреосинеретика» с целью индукции задней отслойки стекловидного тела при проведении субтотальной витрэктомии / И.Х. Шарафетдинов, Д.О. Шкворченко // Офтальмохирургия. – 2002. – № 4. – С. 17-21.

49. Шарафетдинов, И.Х. Экспериментальное обоснование использования миниплазмينا с целью индукции задней отслойки стекловидного тела / И.Х. Шарафетдинов, Д.О. Шкворченко, А.В. Шацких [и др.] // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии. – М., 2012. – С. 202.

50. Шишкин, М.М. Клиника и морфологические изменения интраокулярных структур при интравитреальном введении коллализина в эксперименте / М.М. Шишкин, Н.М. Юлдашева, С.В. Антонюк // Российский офтальмологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 54-59

51. Шишкин, М.М. Клинико-морфологические аспекты безопасности интравитреальных инъекций различных доз коллализина в эксперименте / М.М. Шишкин, Н.М. Юлдашева, С.В. Антонюк // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 1. – С. 194-199.

52. Шкворченко, Д.О. Новый способ индукции задней отслойки стекловидного тела. Первые результаты / Д.О. Шкворченко, Е.В. Ларионов, Д.Г. Узунян, И.Х. Шарафетдинов // Новые направления в лечении витреоретинальной патологии: Сб. научных статей. – М., 2000. – С. 113-117.

53. Шкворченко, Д.О. Лечение макулярных разрывов / Д.О. Шкворченко, И.А. Маклакова, М.И. Штильман, И.Х. Шарафетдинов // Новые направления в лечении витреоретинальной патологии: Сб. научных статей. – М., 2000. – С. 109-11.

54. Шкворченко, Д.О. Роль витреоретинального соединения в патологии заднего отрезка глаза и способы отделения задних гиалоидных слоев стекловидного тела / Д.О. Шкворченко, Х.П. Тахчиди, И.Х. Шарафетдинов, К.С. Норман // Офтальмохирургия. – 2011. – № 3. – С. 84.

55. Шкворченко, Д.О. Новый способ лечения макулярных разрывов / Д.О. Шкворченко, В.Л. Тимохов, М.И. Штильман, И.Х. Шарафетдинов // Съезд офтальмологов России, 7-й: Тезисы докладов. – М., 2000. – Т. 2. – С. 508.

56. Шкворченко, Д.О. Индукция задней отслойки стекловидного тела путем интраоперационного витроесинерезиса при введении водорастворимых полимеров / Д.О. Шкворченко, И.П. Хорошилова-Маслова, И.А. Маклакова, И.Х. Шарафетдинов // Вестник офтальмологии. – 2001. – № 3. – С. 16-20.

57. Шкворченко, Д.О. Использование водорастворимых полимеров для индукции задней отслойки стекловидного тела при хирургическом лечении

диабетической ретинопатии / Д.О. Шкворченко, И.П. Хорошилова-Маслова, И.Х. Шарафетдинов // Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии: Сб. статей. – Екатеринбург, 2001. – Часть 1. – С. 157.

58. Шкворченко, Д.О. Результаты клинического использования «Витреосинеретика» с целью индукции задней отслойки стекловидного тела при проведении с/т витрэктомии / Д.О. Шкворченко, И.Х. Шарафетдинов // Офтальмохирургия. – 2002. – № 4.

59. Шкворченко, Д.О. Экспериментальное обоснование использования миниплазмينا с целью индукции задней отслойки стекловидного тела на кроличьих глазах *in vivo* / Д.О. Шкворченко, И.Х. Шарафетдинов, А.В. Шацких [и др.] // Федоровские чтения – 2012: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, 10-я: Тез. докладов. – М., 2012. – С. 152.

60. Шпак, А.А. Спектральная оптическая когерентная томография высокого разрешения: Атлас / А.А. Шпак. – М., 2014. – 170 с.

61. Шпак, А.А. Трехмерная оптическая когерентная томография высокого разрешения / А.А. Шпак, С.П. Огородникова // Офтальмохирургия. – 2007. – № 3. – С. 61-65.

62. Шпак, А.А. Роль спектральной оптической когерентной томографии в выявлении эпиретинальных мембран при односторонних идиопатических разрывах / А.А. Шпак, С.Н. Огородникова // Вестник офтальмологии. – 2009. Т. 125, № 4. – С. 18-20

63. Шпак, А.А. Функциональные результаты хирургического лечения идиопатических макулярных разрывов / А.А. Шпак, Д.О. Шкворченко, И.Х. Шарафетдинов, О.А. Юханова // Вестник офтальмологии. – 2016. – № 2. – С. 14-20.

64. Щуко, А.Г. Оптическая когерентная томография в диагностике глазных болезней / А.Г. Щуко, В.В. Малышев. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2010. – 128 с.

65. Abigail, T.F. Acute panretinal structural and functional abnormalities after intravitreal ocriplasmin injection / T.F. Abigail, N.W. Khan // *JAMA Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 132. – № 4. – P. 484-486.

66. Akiba, J. Molecular mechanisms of posterior vitreous detachment / J. Akiba, N. Ueno, B. Chakrabarti // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 231. – P. 408-412.

67. Allen, W. Isolation and characterization of the sulfated glycosaminoglycans of the vitreous body / W. Allen, S.C. Otterbein, A.H. Wardi // *Biochem Biophys Acta.* – 1977. – Vol. 498. – P. 167-175.

68. Angi, M. Proteomic analyses of the vitreous humour / M. Angi, H. Kalirai, S.E. Coupland [et al.] // *Mediators Infl Imm.* – 2012. – ePub: 148039.

69. Aretz, S. In-depth mass spectrometric mapping of the human vitreous proteome / S. Aretz, T.U. Krohne, K. Kammerer [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2013. – Vol. 11. – P. 22.

70. Balazs, E.A. Aging changes in the vitreous / E.A. Balazs, J.L. Denlinger // *Aging and human visual function.* – New York: Alan R Liss, 1982. – P. 45-57.

71. Balazs, E.A. Fine structure of the developing vitreous / E.A. Balazs // *Int Ophthalmol Clin.* – 1975. – Vol. 15. – № 1. – P. 53.

72. Balazs, E.A. Functional anatomy of the vitreous / E.A. Balazs // *Ocular anatomy, embryology and teratology* / Ed. by F. Jacobiec. – New York: Harper and Row, 1982. – P. 425-440.

73. Balazs, E.A. Molecular morphology of the vitreous body / E.A. Balazs // *Structure of the eye* / Ed. by G.K. Smelser. – New York: Academic Press, 1961. – P. 293–310.

74. Balazs, E.A. Physiology of the vitreous body / E.A. Balazs // *Importance of the vitreous body in retinal surgery with special emphasis on re-operation* / Ed. by C.L. Schepens. – St. Louis: C.V. Mosby Co, 1960. – P. 29-57.

75. Balazs, E.A. Structure of vitreous gel / E.A. Balazs // *Acta XVII Concilium Ophthalmologicum.* – 1954. – Vol. 11. – P. 1019-1024.

76. Balazs, E.A. Aging changes in the vitreous / E.A. Balazs, J.L. Denlinger // Aging and human visual function / Ed. by R. Sekuler, D. Kline, K. Desmukes. – New York: Alan R. Liss, Inc., 1982. – P. 45-57.
77. Balazs, E.A. The vitreous / E.A. Balazs, J.L. Denlinger //, editor. Vegetative physiology and biochemistry / Ed. by H. Davson. – New York: Academic, 1984. – Vol. IA. – P. 533-589.
78. Balazs, E.A. Age related changes in the physical and chemical structure of human vitreous / E.A. Balazs, M.T. Flood // Third International Congress of Eye Research. – Osaka, 1978.
79. Balazs, E.A. In vitro formation of hyaluronic acid by cells in the vitreous body and by lamb tissue / E.A. Balazs, L. Sundblad, L.Z.J. Toth // Abstr Fed Proc. – 1958. – Vol. 17. – P. 184.
80. Balazs, E.A. Studies on structure of vitreous body: absorption of ultraviolet light / E.A. Balazs // Am J Ophthalmol. – 1954. – Vol. 38. – P. 21.
81. Berman, E.R. Studies on the incorporation of U-14 C-glucose into vitreous polymers in vitro and in vivo / E.R. Berman, G.M. Gambos // Invest Ophthalmol. – 1969. – Vol. 18. – P. 521.
82. Bhutto, I.A. Localization of collagen XVIII and the endostatin portion of collagen XVIII in aged human control eyes and eyes with age-related macular degeneration / I.A. Bhutto, S.Y. Kim, D.S. McLeod [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2004. – Vol. 45. – P. 1544-1552.
83. Bishop, P.N. Extraction and characterization of the tissue forms of collagen types II and IX from bovine vitreous / P.N. Bishop, M.V. Crossman, D. McLeod, S. Ayad // Biochem J. – 1994. – Vol. 299. – P. 497-505.
84. Bishop, P.N. Age- related changes on the surface of vitreous collagen fibrils / P.N. Bishop, D.F. Holmes, K.E. Kadler [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2004. – Vol. 45. – P. 1041-1046.
85. Bishop, P.N. The role of the posterior ciliary body in the biosynthesis of vitreous humour / P.N. Bishop, M. Takanosu, M. Le Goff, R. Mayne // Eye. – 2002. – Vol. 16. – P. 454-460.

86. Bishop, P. Type VI collagen is present in human and bovine vitreous / P. Bishop, S. Ayad, A. Reardon [et al.] // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1996. – Vol. 234. – P. 710-713.

87. Boniuk, M. Cystic macular edema secondary to vitreoretinal traction / M. Boniuk // *Surv Ophthalmol.* – 1969. – Vol. 13. – P. 118-121.

88. Bos, K.J. Collagen fibril organisation in mammalian vitreous by freeze etch/rotary shadowing electron microscopy / K.J. Bos, D.F. Holmes, R.S. Meadows [et al.] // *Micron.* – 2001. – Vol. 32. – P. 301-306.

89. Breen, M. A galactosamine-containing proteoglycan in human vitreous / M. Breen, J.W. Bizzell, M.G. Weinstein // *Exp Eye Res.* – 1977. – Vol. 24. – P. 409-412.

90. Burrill, P.H. Effect of serum, fibronectin, and laminin on adhesion of rabbit intestinal epithelial cells in culture / P.H. Burrill, I. Bernardini, H.K. Kleinman, N. Kretchmer // *J Supramol Struct Cell Biochem.* – 1981. – Vol. 16. – № 4. – P. 385-392.

91. Byer, N.E. What happens to untreated asymptomatic retinal breaks, and are they affected by posterior vitreous detachment? / N.E. Byer // *Ophthalmology.* – 1998. – Vol. 105. – P. 1045-1049.

92. Cassaroli, M.R. The role of fibronectin, laminin, vitronectin and their receptors on cellular adhesion in proliferative vitreoretinopathy / M.R. Cassaroli, S. Vilaro // *Invest Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 35. – P. 2791-2803.

93. Chang, H. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblast / H. Chang, J.-T. Chi, S. Dudoit [et al.] // *PNAS.* – 2002. – Vol. 99. – № 20. – P. 12877-12882.

94. Chang, L.K. Ultrastructural correlation of spectral-domain coherence tomographic findings in vitreomacular traction syndrome / L.K. Chang, H.F. Fine, R.F. Spaide [et al.] // *Am J Ophthalmol.* – 2008. – Vol. 146. – P. 121-127.

95. Chatziralli, I. Ocriplasmin use for vitreomacular traction and macular hole: a meta-analysis and comprehensive review on predictive factors for vitreous release and potential complications / I. Chatziralli, G. Theodosiadis, P.

Xanthopoulou [et al.] // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2016. – Vol. 254, №7. – P. 1247-1256.

96. Chen, W. Enzymatic vitreolysis with recombinant microplasminogen and tissue plasminogen activator / W. Chen, X. Huang, X.W. Ma // Eye. – 2008. – Vol. 22. – P. 300-307.

97. Cho, E.H. Residual vitreous cortex at the fovea during vitrectomy for primary rhegmatogenous RD repair / E.H. Cho, H.C. Ku, W. Il, E.K. Lee // Retina. – 2018. – Vol. 38. – № 8. – P. 1549-1555.

98. Chung, S.E. Retinal breaks associated with the induction of posterior vitreous detachment / S.E. Chung, K.H. Kim, S.W. Kang // Am J Ophthalmol. – 2009. – Vol. 147. – P. 1012-1016.

99. Couchman, J.R. Adhesion, growth, and matrix production by fibroblasts on laminin substrates / J.R. Couchman, M. Höök, D.A. Rees, R. Timpl // J Cell Biol. – 1983. – Vol. 96. – № 1. – P.177-183.

100. Czajka, M. Use of enzyme in vitreoretinal surgery / M. Czajka, K. Pecold // Klin. Oczna. – 2002. – Vol. 104. – P. 59-62.

101. De Croos, F.C. Characterization of vitreoretinal interface disorders using OCT in the interventional phase 3 trials of ocriplasmin / F.C. De Croos, C.A. Toth, F.A. Folgar [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2012. – Vol. 53. – № 10. – P. 6504-6511.

102. De Smetm, M.D. Microplasmin intravitreal administration in patients with vitreomacular traction scheduled for vitrectomy: the MIVI I trial / M.D. De Smet, A. Gandorfer, P. Stalmans [et al.] // Ophthalmology. – 2009. – Vol. 116. – № 7. – P. 1349-1355.

103. De Smet, M.D. Microplasmin: ex vivo characterization of its activity in porcine vitreous / M.D. De Smet, C. Valmaggia, J. Ventura // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2009. – Vol. 50. – P. 814-819.

104. Doi, N. Vitreomacular adhesion and the defect in posterior vitreouscortex visualized by triamcinolone-assisted vitrectomy / N. Doi, A. Uemura, K. Nakao, T. Sakamoto // Retina. – 2005. –Vol. 25. – № 6. – P. 742-745.

105. Duker, J.S. The International Vitreomacular Traction Study Group classification of vitreomacular adhesion, traction, and macular hole / J.S. Duker, P.K. Kaiser, S. Binder [et al.] // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120. – № 12. – P. 2611-2619.

106. Eckhard, U. Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen / U. Eckhard, P.F. Huesgen, H. Brandstetter, C.M. Overall // *J Proteomics*. – 2014. – Vol. 100. – P. 102-114

107. Eisner, G. Posterior vitreous detachment / G. Eisner // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* – 1989. – Vol. 194. – P. 389-392.

108. Eisner, G. Zur Anatomie des glaskörpers / G. Eisner // *Albrecht v Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* – 1975. – Vol. 193. – P. 33-56.

109. Engvall, E. Affinity of fibronectin to collagens of different genetic types and to fibrinogen / E. Engvall, E. Ruoslahti, E.J. Miller // *J Exp Med.* – 1978. – Vol. 147. – P. 1584-1595.

110. Fahim, A.T. Acute panretinal structural and functional abnormalities after intravitreal ocriplasmin injection / A.T. Fahim, N.W. Khan, M.W. Johnson // *JAMA Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 132. – № 4. – P. 484-486.

111. Fincham, G.S. Posterior Vitreous Detachment and the Posterior Hyaloid Membrane / G.S. Fincham, C. Spickett, M. Hollingshead // *Ophthalmology*. – 2018. – Vol. 125. – № 2. – P. 227-236.

112. Foidart, J.M. Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin, a noncollagenous basement membrane glycoprotein / J.M. Foidart, E.W. Jr. Bere, M. Yaar [et al.] // *Lab Invest.* – 1980. – Vol. 42. – P. 336-342.

113. Foos, R.Y. Vitreoretinal juncture; topographical variations / R.Y. Foos // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1972. – Vol. 11. – № 10. – P. 801-808.

114. Foos, R.Y. Vitreoretinal juncture; simple epiretinal membranes / R.Y. Foos // *Albrecht v Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* – 1974. – Vol. 189. – P. 231-250.

115. Foos, R.Y. Vitreoretinal juncture. Synchysis senilis and posterior vitreous detachment / R.Y. Foos, N. Wheeler // *Ophthalmology*. – 1982. – Vol. 89. – № 12. – P. 1502-1512.

116. Foulds, W.S. Is your vitreous really necessary? The role of the vitreous in the eye with particular reference to retinal attachment, detachment and the mode of action of vitreous substitutes / W.S. Foulds // *Eye*. – 1987. – Vol. 1. – P. 641-664.

117. Fox, J.W. Recombinant nidogen consists of three globular domains and mediates binding of laminin to collagen type IV / J.W. Fox, U. Mayer, R. Nischt [et al.] // *EMBO J*. – 1991. – Vol. 10. – P. 3137-3146. PMID: 1717261.

118. Gad Elkareem, A.M. Characterization of a stabilized form of Microplasmin for the induction of posterior vitreous detachment / A.M. Gad Elkareem, B. Willekens, M. Vanhove [et al.] // *Curr Eye Res*. – 2010. – Vol. 35. – P. 909-915.

119. Gandorfer, A. Enzymatic vitreous disruption / A. Gandorfer // *Eye (Lond)*. – 2008. – Vol. 22. – № 10. – P. 1273-1277.

120. Gandorfer, A. Experimental evaluation of microplasmin – an alternative to vital dyes / Gandorfer A. // *Dev Ophthalmol*. – 2008. – Vol. 42. – P. 153-159.

121. Gandorfer, A. Microplasmin-assisted vitrectomy / A. Gandorfer // *Dev Ophthalmol*. – 2009. – Vol. 44. – P. 26-30.

122. Gandorfer, A. Objective of pharmacologic vitreolysis / A. Gandorfer // *Dev Ophthalmol*. – 2009. – Vol. 44. – P. 1-6.

123. Gandorfer, A. Pharmacological vitreolysis / A. Gandorfer // *Klin Monbl Augenheilkd*. – 2011. – Vol. 228. – P. 201-207.

124. Gandorfer, A. Epiretinal pathology of vitreomacular traction syndrome / A. Gandorfer, M. Rohleder, A. Kampik // *Br J Ophthalmol*. – 2002. – Vol. 86. – P. 902-909.

125. Gandorfer, A. Microplasmin-Induced Posterior Vitreous Detachment / A. Gandorfer, M. Rohleder, C. Sethi [et al.] // *Invest Ophthalmology Vis Sci*. – 2004. – Vol. 46. – P. 641-647.

126. Gandorfer, A. Posterior vitreous detachment induced by microplasmin / A. Gandorfer, M. Rohleder, C. Sethi [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2004. – Vol. 45. – P. 641-647.
127. Gartner, J. Vitreous electron microscopic studies on the fine structure of the normal and pathologically changed vitreoretinal limiting membrane / J. Gartner // *Surv Ophthalmol.* – 1964. – Vol. 9. – P. 291-294.
128. Gass, J.D. Cystoid macular edema and papilledema following cataract extraction. A fluorescein fundoscopic and angiographic study / J.D. Gass, E.W. Norton // *Arch Ophthalmol.* – 1966. – Vol. 76. – № 5. – P. 646-661.
129. Gaudric, A. Macular hole formation: new data provided by optical coherence tomography / A. Gaudric, B. Haouchine, P. Massin [et al.] // *Arch Ophthalmol.* – 1999. – Vol. 117. – P. 744-751.
130. Girach, A. Vitreomacular interface diseases: pathophysiology, diagnosis and future treatment options / A. Girach, S. Pakola // *Exp Rev Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 7. – № 4. – P. 311-323.
131. Girard, P. Clinical risk factors for proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery / P. Girard, G. Minoum, I. Kaprouzas, G. Montefiore // *Retina.* – 1994. – Vol. 14. – № 5. – P.417-424.
132. Goldenberg, D.T. Posterior vitreous detachment with Microplasmin alters the retinal penetration of intravitreal bevacizumab (Avastin) in rabbit eyes / D.T. Goldenberg, F.J. Giblin, M. Cheng [et al.] // *Retina.* – 2011. – Vol. 31. – P. 393-400.
133. Goldenberg, D.T. Pharmacologic vitreodynamics and molecular flux / D.T. Goldenberg, M.T. Trese // *Dev Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 31-36.
134. Goldman, V.H. Senseszenz des Glaskörpers / V.H. Goldman // *Ophthalmology.* – 1962. – Vol. 143. – P. 253-279.
135. Gómez-Ulla, F. Acute loss of vision after an intravitreal injection ocriplasmin: a functional evolutionary study for 1-year follow-up / F. Gómez-Ulla, M.F. Bande, M. Abraldes // *Doc Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 131. – № 3. – P. 231-235.

136. Grabner, G. Macrophage-like properties of human hyalocytes / G. Grabner, G. Boltz, O. Forster // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1980. – Vol. 19. – № 4. – P. 333-340.
137. Green, W.R. Vitreoretinal interface / W.R. Green, J. Sebag // *Retina* / Ed. by S.J. Ryan. – Elsevier: Mosby, 2006. – Vol. 3. – P. 1921-1991.
138. Gregor, Z. Complete and core vitrectomies in the treatment of experimental posterior penetrating eye injury in the rhesus monkey: I. Clinical features / Z. Gregor, S.J. Ryan // *Arch Ophthalmol.* – 1983. – Vol. 101. – P. 441-445.
139. Hager, A. Does ocriplasmin affect the RPE-photoreceptor adhesion in macular holes? / A. Hager, I. Seibel, A. Riechardt [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 99. – № 5. – P. 635-638.
140. Halfter, W. Origin and turnover of ECM proteins from the inner limiting membrane and vitreous body / W. Halfter, S. Dong, A. Dong [et al.] // *Eye (Lond).* – 2008. – Vol. 22, № 10. – P. 1207-1213.
141. Halfter, W. Embryonic synthesis of the inner limiting membrane and vitreous body / W. Halfter, S. Dong, B. Schurer [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2005. – Vol. 46. – P. 2202-2209.
142. Haller, J.A. Efficacy of intravitreal ocriplasmin for treatment of vitreomacular adhesion on behalf of the MIVI-TRUST Study Group / J.A. Haller, P. Stalmans, M.S. Benz [et al.] // *Ophthalmology.* – 2015. – Vol. 7122. – P. 117-122.
143. Hannover, A. Muller's Arch. 1840, cited in: Hamburg A: Some investigations on the cells on the vitreous body / A. Hannover // *Ophthalmologica.* – 1959. – Vol. 138. – P. 81-107.
144. HAS – Medical, Economic and Public Health Assessment Division, Transparency Committee. Opinion 4. – 2013. – P. 3.
145. Hayman, E.G. Concomitant loss of cell surface fibronectin and laminin from transformed rat kidney cells / E.G. Hayman, E. Engvall, E. Ruoslahti // *J Cell Biol.* – 1981. – Vol. 88. – № 2. – P. 352-357.

146. Heegaard, S. Structure of the human vitreoretinal border region / S. Heegaard // *Ophthalmologica*. – 1994. – Vol. 208. – P. 82-91.
147. Henrich, P.B. Nanoscale topographic and biomechanical studies of the human internal limiting membrane / P.B. Henrich, C.A. Monnier, W. Halfter [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2012. – Vol. 53. – P. 2561-2570. PMID: 22410559.
148. Hermel, M. Efficacy of plasmin enzymes and chondroitinase ABC in creating posterior vitreous separation in the pig: a masked, placebo-controlled in vivo study / M. Hermel, N.F. Schrage // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. – 2007. – Vol. 245. – № 3. – P. 399-406. Epub 2006 Aug 10.
149. Highlights of Prescribing Information – FDA Электронный ресурс. – Режим доступа: <http://jetrea.com/JETREAPrescribingInformation.pdf>, p. 9.
150. Hikichi, T. Posterior vitreous detachment as a risk factor for retinal detachment / T. Hikichi, C.L. Trempe, C.L. Schepens // *Ophthalmology*. – 1995. – Vol. 102. – P. 527-528.
151. Hogan, M.J. The normal vitreous and its ultrastructure / M.J. Hogan // *Advances in Vitreous Surgery* / Ed. by A.R. Irvine, C.O. Malley. – Illinois, 1976.
152. Hogan, M.J. The vitreous, its structure and relation to the ciliary body and retina / M.J. Hogan // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 1963. – Vol. 2. – P. 418-445.
153. Hogan, M.J. Histology of the human eye / M.J. Hogan, J.A. Alvarado, J.E. Weddell. – Philadelphia: W.B. Saunders company, 1976. – 613 p.
154. Huang, D. Optical coherence tomography / D. Huang, E.A. Swanson, C.P. Lin [et al.] // *Science*. – 1991. – Vol. 254. – № 5035. – P. 1178-1181.
155. Hultsch, E. Transport and regeneration of hyaluronic acid in extracellular ocular compartments / E. Hultsch, M.I. Freeman, E.A. Balazs // Sarasota: Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 1974. – P. 97.
156. Hurst, L.C. Injectable collagenase clostridium histolyticum for Dupuytren's contracture / L.C. Hurst, M.A. Badalamente, V.R. Hentz [et al.] // *Engl J Med*. – 2009. – Vol. 361. – № 10. – P. 968-979.

157. Irvine, A.R. A newly defined vitreous syndrome following cataract surgery: interpreted according to recent concepts of the structure of the vitreous / A.R. Irvine // *Am J Ophthalmol.* – 1953. – Vol. 36. – № 5. – P. 599-619.

158. Iwanoff, A. Beitrage zur normalen und pathologischen Anatomie Des Auges / A. Iwanoff // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1865. – Vol. 11. – P. 135-170.

159. Jackson, T.L. Pars plana vitrectomy for vitreomacular traction syndrome: A systematic review and metaanalysis of safety and efficacy / T.L. Jackson, E. Nicod, A. Angelis [et al.] // *Retina.* – 2013. – Vol. 33. – № 10. – P. 2012-2017.

160. Jackson, T.L. Vitreous attachment in age-related macular degeneration, diabetic macular edema, and retinal vein occlusion: a systematic review and metaanalysis / T.L. Jackson, E. Nicod, A. Angelis [et al.] // *Retina.* – 2013. – Vol. 33. – P. 1099-1108.

161. Jackson, T.L. Baseline predictors of vitreomacular adhesion/traction resolution following an intravitreal injection of ocriplasmin / T.L. Jackson, C.D. Regillo, A. Girach [et al.] // *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* – 2016. – Vol. 47. – № 8. – P. 716-723.

162. Jacobson, B. Degradation of glycosaminoglycans by extracts of calf vitreous hyalocytes / B. Jacobson // *Exp Eye Res.* – 1984. – Vol. 39. – № 3. – P. 373-385.

163. Jaffe, N.S. Vitreous traction at the posterior pole of the fundus due to alterations in the vitreous posterior / N.S. Jaffe // *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* – 1967. – Vol. 71. – № 4. – P. 642-652.

164. Johansson, S. Substrate adhesion of rat hepatocytes: a comparison of laminin and fibronectin as attachment proteins / S. Johansson, L. Kjellén, M. Höök, R. Timpl // *J Cell Biol.* – 1981. – Vol. 90. – № 1. – P. 260-264.

165. Johnson, M.W. Perifoveal vitreous detachment and its macular complications / M.W. Johnson // *Trans Am Ophthalmol Soc.* – 2005. – Vol. 103. – № 4. – P. 537-567.

166. Johnson, M.W. Posterior vitreous detachment: evolution and complications of its early stages / M.W. Johnson // *Am J Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 149. – № 3. – P. 371-382.

167. Joondeph, B.C. The Jetrea Landscape at 6 years. A cost-effective treatment option with good outcomes in select patient populations / B.C. Joondeph // *Retinal Physician.* – 2018. – Vol. 15. – P. 50-52, 54-58.

168. Jorge, R. Intravitreal injection of dispase causes retinal hemorrhages in rabbit and human eyes / R. Jorge, E.K. Oyamaguchi, J.A. Cardillo [et al.] // *Curr Eye Res.* – 2003. – Vol. 26. – № 2. – P. 107-112.

169. Kakehashi, A. Variations of posterior vitreous detachment / A. Kakehashi, M. Kado, J. Akiba [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 1997. – Vol. 81. – P. 527-532.

170. Kamei, A. Isolation and characterization of minor glycosaminoglycans in the rabbit vitreous body / A. Kamei, A. Totani // *Biochem Biophys Res Comm.* – 1982. – Vol. 109. – № 3. – P. 881-887.

171. Kampik, A. Pathology of epiretinal membrane, idiopathic macular hole, and vitreomacular traction syndrome / A. Kampik // *Retina.* – 2012. – Vol. 32. – P. S194-S199.

172. Kang, S.W. Induction of vitreolysis and vitreous detachment with hyaluronidase and perfluoropropane gas / S.W. Kang, S.M. Hyung, M.Y. Choi, J. Lee // *Korean J Ophthalmol.* – 1995. – Vol. 9. – № 2. – P. 69-78.

173. Kishi, S. Vitreous cortex remnants at the fovea after spontaneous vitreous detachment / S. Kishi, C. Demaria, K. Shimizu // *Int Ophthalmol.* – 1986. – Vol. 9. – P. 253-260.

174. Kita, T. Role of TGF- β in proliferative vitreoretinal diseases and ROCK as a therapeutic target / T. Kita, Y. Hata, R. Arita [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2008. – Vol. 105. – P. 17504-17509.

175. Kleinman, H.K. Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells / H.K. Kleinman, R.J. Klebe, G.R. Martin // *J Cell Biol.* – 1981. – Vol. 88. – P. 473.

176. Kohno, T. Alterations in the distribution of fibronectin and laminin in the diabetic human eye / T. Kohno, N. Sorgente, R. Goodnight [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1987. – Vol. 28. – P. 515-521.

177. Kohno, T. Immunofluorescent studies of the fibronectin and laminin in the human eye / T. Kohno, N. Sorgente, T. Ishibashi // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1987. – Vol. 28. – P. 506-514.

178. Koizumi, H. Three-dimensional evaluation of vitreomacular traction and epiretinal membrane using spectral-domain optical coherence tomography / H. Koizumi, R.F. Spaide, Y.L. Fisher [et al.] // *Am J Ophthalmol.* – 2008. – Vol. 145. – № 3. – P. 509-517.

179. Koleva-Georgieva, D.N. Types of diabetic macular edema assessed by optical coherence tomography / D.N. Koleva-Georgieva, N.P. Sivkova // *Folia Med.* – 2008. – Vol. 50. – P. 30-38.

180. Kurkinen, M. Fibronectin matrix: antibody-induced reorganization in human fibroblast cultures / M. Kurkinen, A. Vaheri // *Cell Biol Int Rep.* – 1977. – Vol. 1. – № 5. – P. 469-475.

181. Lazarus, H.S. In situ characterization of the human hyalocyte / H.S. Lazarus, G.S. Hageman // *Arch Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 112. – № 10. – P. 1356-1362.

182. Lee, D. The effects of epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts on the formation of cutaneous basement membrane in threedimensional culture systems / D. Lee, K. Cho // *Arch Dermatol Res.* – 2005. – Vol. 296. – P. 296-302.

183. Li, X. Posterior vitreous detachment with plasmin in the isolated human eye / X. Li, X. Shi, J. Fan // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 2002. – Vol. 240. – P. 56-62.

184. Libby, R.T. Laminin expression in adult and developing retinae / R.T. Libby, M.F. Champlaud, T. Claudepierre [et al.] // *J Neurosci.* – 2000. – Vol. 20. – № 17. – P. 6517-6528.

185. Linsenmayer, T.F. Extracellular matrices of the developing chick retina and cornea. Localization of mRNAs for collagen types II and IX by in situ

hybridization / T.F. Linsenmayer, E. Gibney, M.K. Gordon // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1990. – Vol. 31. – P. 1271-1276.

186. Macarak, E.J. Adhesion of endothelial cells to extracellular matrix proteins / E.J. Macarak, P.S. Howard // *J Cell Physiol.* – 1983. – Vol. 116. – № 1. – P. 76-86.

187. Maier, M. Ocriplasmin as a treatment option for symptomatic vitreomacular traction with and without macular hole. First clinical experiences / M. Maier, S. Abraham, C. Frank [et al.] // *Ophthalmologe.* – 2015. – Vol. 112. – № 12. – P. 990-994.

188. Mańkowska, A. Efficacy of intravitreal triamcinolone acetonide in the visualization of the vitreous during pars plana vitrectomy / A. Mańkowska, R. Rejdak, K. Nowomiejska, Z. Zagórski // *Klin Oczna.* – 2006. – Vol. 108. – № 1-3. – P. 24-27.

189. Margo, J.A. Persistent retinal changes after intravitreal ocriplasmin / J.A. Margo, L.S. Schocket, K. Klima, M.A. Johnson // *Retin Cases Brief Rep.* – 2016. – Vol. 10. – № 1. – P. 48-51.

190. Matsumoto, B. Topographic variations in the rabbit and primate internal limiting membrane / B. Matsumoto, J.C. Blanks, S.J. Ryan // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1984. – Vol. 25. – № 1. – P. 71-82.

191. McLeod, D. Age-related cellular proliferation at the vitreoretinal juncture / D. McLeod, P.S. Hiscott, I. Grierson // *Eye.* – 1987. – Vol. 1. – P. 263-281.

192. Mec-Słomska, A.E. Intravitreal ocriplasmin: A breakthrough in the treatment of vitreomacular traction? / A.E. Mec-Słomska, J. Adamiec-Mroczek, E. Kuźmierz, M Misiuk-Hojło // *Adv Clin Exp Med.* – 2017. – Vol. 26. – № 3. – P. 527-531

193. Mester, U. The role of the vitreous in retinal detachment surgery with external buckling / U. Mester, N. Anterist, P. Kroll [et al.] // *Ophthalmologica.* – 2002. – Vol. 216. – P.242-245.

194. Michael, D.T. Vision loss after intravitreal ocriplasmin correlation of spectral-domain optical coherence tomography and electroretinography / Michael D.T., E. Reichel, A.J. Witkin // *JAMA Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 132. – № 4. – P. 487-490.
195. Michels, R.G. Proliferative diabetic retinopathy: Pathophysiology of extraretinal complication and principles of vitreous surgery / R.G. Michels // *Retina.* – 1981. – Vol. 1. – P.1-17.
196. Morita, H. A clinical study of the development of posterior vitreous detachment in high myopia / H. Morita, M. Funata, T. Tokoro // *Retina.* – 1995. – Vol. 15. – P. 117-124.
197. Mosher, D.F. Distribution of a major surface-associated glycoprotein, fibronectin, in cultures of adherent cells / D.F. Mosher, O. Saksela, J. Keski-Oja, A. Vaheri // *J Supramol Struct.* – 1977. – Vol. 6. – № 14. – P. 551-557.
198. Noda, Y. Functional properties of hyalocytes under PDGF-rich conditions / Y. Noda, Y. Hata, T. Hisatomi [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2004. – Vol. 45. – № 7. – P. 2107-2114.
199. O'Neill, R. The effects of bacterial collagenase in rabbit vitreous / R. O'Neill, M. Shea // *Can. J. Ophthalmol.* – 1973. – Vol. 8. – № 2. – P. 366-370.
200. Oksala, A. Ultrasonic findings in the vitreous body at various ages / A. Oksala // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1978. – Vol. 207. – P. 275-283.
201. Oliveira, L.B. Dispase facilitates posterior vitreous detachment during vitrectomy in young pigs / L.B. Oliveira, M. Tatebayashi, T.H. Mahmoud // *Retina.* – 2001. – Vol. 21. – № 4. – P. 324-331.
202. Ophir, A. Extrafoveal vitreous traction associated with diffuse diabetic macular oedema / A. Ophir, A. Trevino, S. Fatum // *Eye.* – 2010. – Vol. 24. – P. 347-353.
203. Osterlin, S.E. The synthesis of hyaluronic acid in the vitreous: IV. Regeneration in the owl monkey / S.E. Osterlin // *Exp Eye Res.* – 1969. – Vol. 8. – P. 27.

204. Osterlin, S.E. The synthesis of hyaluronic acid invitreous. I. Soluble and particulate transferases in hyalocytes / S.E. Osterlin, B. Jacobson // *Exp Eye Res.* – 1968. – Vol. 7. – P. 497-510.

205. Pang, C.E. Comparing functional and morphologic characteristics of lamellar macular holes with and without lamellar hole-associated epiretinal proliferation / C.E. Pang, R.F. Spaide, K.B. Freund // *Retina.* – 2015. – Vol. 35. – P. 720-726.

206. Panneerselvam, M. Modulation of type-IV procollagen and laminin production in A431 human squamous epidermoid carcinoma cells by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) and epidermal growth factor (EGF) / M. Panneerselvam, A. Sahai, D.S. Salomon // *Archives of Dermatological Research.* – 1985. – Vol. 277. – Issue 5. – P. 377-383.

207. Papp, B. Conditions of formation of the heparin-fibronectin-collagen complex and the effect of plasmin / B. Papp, T. Kovacs, I. Lerant [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 1987. – Vol. 925. – P. 241-247.

208. Parolini, B. Lamellar macular hole: a clinicopathologic correlation of surgically excised epiretinal membranes / B. Parolini, R.G. Schumann, M.G. Cereda, C. Haritoglou // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2011. – Vol. 52. – P. 9074-9083.

209. Paul, C. Calculating the individual probability of successful ocriplasmin treatment in eyes with VMT syndrome: a multivariable prediction model from the EXPORT study / C. Paul, C. Heun, H. Müller [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 108. – № 8. – P. 1092-1097.

210. Philominathan, S.T.L. Ca²⁺ induced linker transformation leads to compact and rigid collagen binding domain of *Clostridium histolyticum* collagenase / S.T.L. Philominathan, O. Matsushita, R. Gensure, J. Sakon // *FEBS Journal.* – 2009. – Vol. 276. – № 13. – P. 3589-3601.

211. Pischel, D.K. The scleral resection operation for retinal detachment / D.K. Pischel, P.C. Kronfeld // *Am J Ophthalmol.* – 1953. – Vol. 36. – № 5. – P. 629-640.

212. Ponsioen, T.L. Remodelling of the human vitreous and vitreoretinal interface-a dynamic process / T.L. Ponsioen, J.M. Hooymans, L.I. Los // *Prog Retin Eye Res.* – 2010. – Vol. 29. – P. 580-595.

213. Ponsioen, T.L. Packages of vitreous collagen (type II) in the human retina: an indication of postnatal collagen turnover? / T.L. Ponsioen, R.J. van der Worp, M.J. van Luyn [et al.] // *Exp Eye Res.* – 2005. – Vol. 80. – P. 643-650.

214. Ponsioen, T.L. Collagen distribution in the human vitreoretinal interface / T.L. Ponsioen, M.J. van Luyn, R.J. van der Worp [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2008. – Vol. 49. – P. 4089-4095.

215. Ponsioen, T.L. Packages of vitreous collagen (type II) in the human retina: an indication of postnatal collagen turnover? / T.L. Ponsioen, R.J. van der Worp, M.J. van Luyn [et al.] // *Exp Eye Res.* – 2005. – Vol. 80. – № 5. – P. 643-650.

216. Qiao, H. The characterisation of hyalocytes: the origin, phenotype, and turnover / H. Qiao, T. Hisatomi, K.H. Sonoda [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 89. – № 4. – P. 513-517.

217. Quiram, P.A. Microplasmin-induced posterior vitreous detachment affects vitreous oxygen levels / P.A. Quiram, V.R. Leverenz, R.M. Baker [et al.] // *Retina.* – 2007. – Vol. 27. – P. 1090-1096.

218. Rachal, W.F. Changing concepts of failures after retinal detachment surgery / W.F. Rachal, T.C. Burton // *Arch Ophthalmol.* – 1979. – Vol. 97. – P. 480-483.

219. Rahman, R. Verification of posterior hyaloid status during pars plana vitrectomy, after preoperative evaluation on optical coherence tomography / R. Rahman, R. Chaudhary, N. Anand // *Retina.* – 2012. – Vol. 32. – P. 706-710.

220. Reardon, A. The large chondroitin sulphate proteoglycan versican in mammalian vitreous / A. Reardon, D. Heinegård, D. McLeod [et al.] // *Matrix Biol.* – 1998. – Vol. 17. – № 5. – P. 325-333.

221. Reese, A.B. Macular changes secondary to vitreous traction / A.B. Reese, I.S. Jones, W.C. Cooper // *Am J Ophthalmol.* – 1967. – Vol. 64. – № 3. – P. 544-549.
222. Reese, A.B. Vitreomacular traction syndrome confirmed histologically / A.B. Reese, I.S. Jones, W.C. Cooper // *Am J Ophthalmol.* – 1970. – Vol. 69. – № 6. – P. 975-977.
223. Rittig, M. Hyaluronan synthase immunoreactivity in the anterior segment of the primate eye / M. Rittig // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 231. – P. 313-317.
224. Russell, S.R. What we know (and do not know) about vitreoretinal adhesion / S.R. Russell // *Retina.* – 2012. – Vol. 32. – № 8. – P. 181-186.
225. Russell, S.R. Distribution of glycoconjugates in the human retinal internal limiting membrane / S.R. Russell, J.D. Shepherd, G.S. Hageman // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1991. – Vol. 32. – № 7. – P. 1986-1995.
226. Sakamoto, T. Hyalocytes: essential cells of the vitreous cavity in vitreoretinal pathophysiology / T. Sakamoto, T. Ishibashi // *Retina.* – 2011. – Vol. 31. – P. 222-228.
227. Sakamoto, T. Cell biology of hyalocytes / T. Sakamoto // *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* – 2003. – 107. – № 12. – P. 866-882; discussion 83.
228. Saksela, O. Basal lamina components in experimentally induced skin blisters / O. Saksela, K. Alitalo, U. Kiistala, A. Vaheri // *J Invest Dermatol.* – 1981. – Vol. 77. – № 3. – P. 283-286.
229. Sakuma, T. Safety of in vivo pharmacologic vitreolysis with recombinant microplasmin in rabbit eyes / T. Sakuma, M. Tanaka, A. Mizota [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2005. – Vol. 46. – № 9. – P. 3295-3299.
230. Salu, P. Light and electron microscopic studies of the rat hyalocyte after perfusion fixation / P. Salu, W. Claeskens, A. DeWilde [et al.] // *Ophthalmic Res.* – 1985. – Vol. 17. – P. 125-130.

231. Salzmann P. Histology of the human eye: an atlas and textbook / As cited by M.J. Hogan, J.A. Alvarado, J.E. Weddel. – Philadelphia: WB Saunders, 1971. – 488 p.

232. Sang, D.N. Embryology of the vitreous. Congenital and developmental abnormalities / D.N. Sang // Bull Soc Belge Ophtalmol. – 1987. – Vol. 223. – Pt 1. – P. 11-35.

233. Scheiffarth, O.F. Proteins of the extracellular matrix in vitreoretinal membranes / O.F. Scheiffarth, A. Kampik, H. Günther, K. von der Mark // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 1988. – Vol. 226. – P. 357-361.

234. Schonfeld, C.L. Hyalocytes inhibit retinal pigment epithelium cell proliferation in vitro / C.L. Schonfeld // Ger J Ophthalmol. – 1996. – Vol. 5. – № 4. – P. 224-228.

235. Sebag, J. Age related changes in human vitreous structure / J. Sebag // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 1987. – Vol. 225. – P. 89-93.

236. Sebag, J. Anatomy and pathology of the vitreo-retinal interface / J. Sebag // Eye. – 1992. – Vol. 6. – P. 541-542.

237. Sebag, J. Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease / J. Sebag // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2004. – Vol. 242. – № 8. – P. 690-698.

238. Sebag, J. Classifying posterior vitreous detachment: a new way to look at the invisible [guest editorial] / J. Sebag // Br J Ophthalmol. – 1997. – Vol. 81. – P. 521-522.

239. Sebag, J. Pharmacologic vitreolysis [guest editorial] / J. Sebag // Retina. – 1998. – Vol. 18. – P. 1-3.

240. Sebag, J. The emerging role of pharmacologic vitreolysis / J. Sebag // Retinal Physician. – 2010. – March. – P. 50-56.

241. Sebag, J. The vitreous: structure, function, and pathobiology / J. Sebag. – New York: Springer-Verlag, 1989. – 173 p.

242. Sebag, J. Vitreous – from biochemistry to clinical relevance / J. Sebag // Duane's foundations of clinical ophthalmology. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. – P. 1-34.

243. Sebag, J. Vitreous anatomy, aging, and anomalous posterior vitreous detachment / J. Sebag // editors. Encyclopedia of the eye / Eds. by D.A. Dartt, J.C. Besharse, R. Dana. – Oxford: Elsevier; 2010. – Vol. 4. – P. 307-315.

244. Sebag, J. Vitreous: In Health and Disease / J. Sebag – New York: Springer, 2014. – P. 4-7; 134-142.

245. Sebag, J. Human vitreous fibers and vitreoretinal disease / J. Sebag, E.A. Balazs // Trans Ophthalmol Soc UK. – 1985. – Vol. 104. – P. 123-128.

246. Sebag, J. Morphology and Ultrastructure of human vitreous fibers / J. Sebag, E.A. Balazs // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 1989. – Vol. 30. – P. 1867-1871.

247. Sharma, P. Efficacy of intravitreal ocriplasmin on vitreomacular traction and full-thickness macular holes / P. Sharma, A. Juhn, S.K. Houston [et al.] // Am J Ophthalmol. – 2015. – Vol. 159. – № 5. – P. 861-867.

248. Simpson, A.R.H. Vitreomacular adhesion and neovascular age-related macular degeneration / A.R.H. Simpson, R. Petrarca, T.L. Jackson // Surv Ophthalmol. – 2012. – Vol. 57. – P. 498-509.

249. Smiddy, W.E. Patient selection for Ocriplasmin treatment of patients with VMT. The honeymoon is over, but the marriage is stable / W.E. Smiddy // Retinal Physician. – 2015. – Vol. 12. – P. 19, 20, 22.

250. Snead, D.R. Pathological changes in the vitreoretinal junction: epiretinal membrane formation / D.R. Snead, S. James, M.P. Snead // Eye. – 2008. – Vol. 22. – P. 1310-1317.

251. Snead, M.P. Clinicopathological changes at the vitreoretinal junction: posterior vitreous detachment / M.P. Snead, D.R. Snead, S. James, A.J. Richards // Eye. – 2008. – Vol. 22. – P. 1257-1262.

252. Snead, M.P. Vitreous detachment and the posterior hyaloid membrane: a Clinicopathological study / M.P. Snead, D.R. Snead, A.S. Mahmood, J.D. Scott // Eye. – 1994. – Vol. 8. (Pt. 2). – P. 204-209.

253. Snead, M.P. Clinical, histological and ultrastructural studies of the posterior hyaloid membrane / M.P. Snead, D.R. Snead, A.J. Richards // *Eye*. – 2002. – Vol. 16. – P. 447-453.

254. Snirivasan, V.J. High definition and 3-dimensional imaging of macular pathologies with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography / V.J. Snirivasan, M. Wojtkowski, A.J. Witkin [et al.] // *Ophthalmology*. – 2006. – Vol. 113. – № 11. – P. 2054-2065.

255. Sonoda, K. Residual vitreous cortex after surgical posterior vitreous separation visualized by intravitreal triamcinolone acetonide / K. Sonoda, T. Sakamoto, H. Enaida [et al.] // *Ophthalmology*. – 2004. – Vol. 111. – № 2. – P. 226-230.

256. Stalmans, P. and MIVI-TRUST Study Group. Enzymatic vitreolysis with ocriplasmin for vitreomacular traction and macular holes / P. Stalmans, M.S. Benz, A. Gandorfer // *N Engl J Med*. – 2012. – Vol. 367. – № 7. – P. 606-615.

257. Steel, D.H. Ocriplasmin – variable efficacy? Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology / D.H. Steel, D. Wong // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. – 2016. – Vol. 254. – № 7. – P. 1245-1246.

258. Stein, J.D. Adverse events after pars plana vitrectomy among medicare beneficiaries / J.D. Stein, D.N. Zacks, D. Grossman, [et al.] // *Arch Ophthalmol*. – 2009. – Vol. 127. – № 12. – P. 1656-1663.

259. Stenman, S. Changes in the distribution of a major fibroblast protein, fibronectin, during mitosis and interphase / S. Stenman, J. Wartiovaara, A. Vaheri // *J Cell Biol*. – 1977. – Vol. 74. – № 2. – P. 453-467.

260. Stenman, S. Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues / S. Stenman, A. Vaheri // *J Exp Med*. – 1978. – Vol. 147. – P. 1054-1064.

261. Sweeney, D.B. Fate of collagen and hyaluronic acid gels in solutions injected into the vitreous of the owl monkey / D.B. Sweeney, E.A. Balazs // *Invest Ophthalmol*. – 1964. – Vol. 3. – P. 473.

262. Tagawa, H. Role of the vitreous in diabetic retinopathy: II. Active and inactive vitreous changes / H. Tagawa, J.W. McMeel, C.L. Trempe // *Ophthalmology*. – 1986. – Vol. 93. – P. 1188-1192.

263. Tanaka, M. Pharmacological vitrectomy: Review / M. Tanaka, H. Qui // *Semin Ophthalmol*. – 2000. – Vol. 15. – № 1. – P. 51-61.

264. Tanner, V. Acute posterior vitreous detachment: the predictive value of vitreous pigment and symptomatology / V. Tanner, D. Harle, J. Tan [et al.] // *Br J Ophthalmol*. – 2000. – Vol. 84. – P. 1264-1268.

265. Terranova, V.P. Role of laminin in the attachment of PAM 212 (epithelial) cells to basement membrane collagen / V.P. Terranova, D.H. Rohrbach, G.R. Martin // *Cell*. – 1980. – Vol. 22. – № 3. – P. 719-726.

266. Tezel, T.H. Posterior vitreous detachment with dispase / T.H. Tezel, L.V. Del Priore, H.J. Kaplan // *Retina*. – 1998. – Vol. 18. – P. 7-15.

267. Theocharis, D.A. Hyaluronan and chondroitin sulfate proteoglycans in the supramolecular organization of the mammalian vitreous body / D.A. Theocharis, S.S. Skandalis, A.V. Noulas [et al.] // *Connect Tissue Res*. – 2008. – Vol. 49. – № 3. – P. 124-128.

268. Tibbetts, M.D. Vision loss after intravitreal ocriplasmin: Correlation of spectral-domain optical coherence tomography and electroretinography / M.D. Tibbetts, E. Reichel, A.J. Witkin // *JAMA Ophthalmol*. – 2014. – Vol. 132. – № 4. – P. 487-490. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.8258.

269. Tikhonovich, M. Expression of growth, trophic and inflammation factors in epiretinal membranes in patients with severe proliferative vitreoretinopathy / M. Tikhonovich, P. Lyskin, E. Ioyleva, S. Gavrilova // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. – 2016. – Vol. 254. – P. 2277-2279.

270. Trese, M.T. Enzymatic vitreous surgery / M.T. Trese // *Semin Ophthalmol*. – 2000. – Vol. 15. – P. 116-121.

271. Uchino, E. Initial stages of posterior vitreous detachment in healthy eyes of older persons evaluated by optical coherence tomography / E. Uchino, A. Uemura, N. Ohba // *Arch Ophthalmol*. – 2001. – Vol. 119. – P. 1475-1479.

272. Van Deemter, M. Trypsin-mediated enzymatic degradation of type II collagen in the human vitreous / M. Van Deemter, R. Kuijer, Pas H. Harm [et al.] // *Mol Vis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 1591-1599.

273. Vlodaysky, I. Respective roles of laminin and fibronectin in adhesion of human carcinoma and sarcoma cells / I. Vlodaysky, D. Gospodarowicz // *Nature.* – 1981. – Vol. 22. – № 289 (5795). – P. 304-306.

274. Wang, J. Age-dependent changes in the basal retinovitreal adhesion / J. Wang, D. McLeod, D.B. Henson, P.N. Bishop // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2003. – Vol. 44. – P. 793-800.

275. Warrow, D.J. Treatment outcomes and spectral-domain optical coherence tomography findings of eyes with symptomatic vitreomacular adhesion treated with intravitreal ocriplasmin / D.J. Warrow, M. Lai Michael, Auvni Patel // *Am J Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 159. – № 1. – P. 20-30.

276. Worst, J.G. Comparative anatomy of the vitreous body in rhesus monkeys and man / J.G. Worst, L.I. Los // *Doc Ophthalmol.* – 1992. – Vol. 82. – № 1-2. – P. 169-178.

277. Yamada, E. Some structural features of the foveal centralis in the human retina / E. Yamada // *Arch Ophthalmol.* – 1969. – Vol. 82. – P. 151-159.

278. Yamada, N. Tomographic features and surgical outcomes of vitreomacular traction syndrome / N. Yamada, S. Kishi // *Am J Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 139. – P. 112-117.

279. Yamamoto, N. Triamcinolone acetonide facilitates removal of the epiretinal membrane and separation of the residual vitreous cortex in highly myopic eyes with retinal detachment due to a macular hole / N. Yamamoto, N. Ozaki, K. Murakami // *Ophthalmologica.* – 2004. – Vol. 218. – № 4. – P. 248-256.

280. Yuji, I. Assessment of retinal alterations following intravitreal ocriplasmin with SD-OCT / I. Yuji, P.K. Kaiser, R.P. Singh[et al.] // *Ophthalmology.* – 2014. – Vol. 121. – № 12. – P. 2506-2507.

281. Yurchenco, P.D. Developmental and pathogenic mechanisms of basement membrane assembly / P.D. Yurchenco, B.L. Patton // *Curr Pharm Des.* – 2009. – Vol. 15. – P. 1277-1294.

282. Zhu, D. Effects of intravitreal dispase on vitreoretinal interface in rabbits / D. Zhu, H. Chen, X. Xu // *Curr Eye Res.* – 2006. – Vol. 31. – № 11. – P. 935-946.

283. Zhu, M. The human hyaloid system: cellular phenotypes and inter-relationships / M. Zhu, J.M. Provis, P.L. Penfold / *Exp Eye Res.* – 1999. – Vol. 68. – № 5. – P. 553.

284. Zouboulis, C. Human skin stem cells and the ageing process / C. Zouboulis, J. Adjaye, H. Akamatsu [et al.] // *Exp Gerontol.* – 2008. – Vol. 43. – P. 986-997.