

Белый Ю.А., Терещенко А.В., Федотова М.В., *Шацких А.В.

Калужский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологии»

*ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологии», г. Москва

ИНТРАКАПСУЛЯРНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Разработана методика интраоперационной интракапсулярной фотодинамической терапии, и проведена оценка ее эффективности в профилактике развития помутнения задней капсулы хрусталика после факоэмульсификации в эксперименте.

Актуальность

Помутнение задней капсулы (фиброз, вторичная катаракта) является актуальной проблемой в офтальмологии, частота ее развития колеблется от 10% до 70,7% случаев [10,11,17]. Закономерно чаще помутнение задней капсулы встречается у пациентов с сопутствующей патологией глаза, а также с системными и синдромными заболеваниями [5,15].

Развитие помутнения задней капсулы обусловлено послеоперационной пролиферацией и распространением по поверхности задней капсулы сохранившегося субкапсулярного эпителия, занесенных клеток крови, пигмента и клеточного инфильтрата [6,7,21]. Даже при максимальной механической очистке капсульной сумки полностью удалить эпителий никогда не удастся и приходится прибегать к повторным вмешательствам [10,13].

На решение проблемы профилактики помутнения задней капсулы направлен целый ряд мероприятий. В литературе, посвященной данной проблеме, рассматривается влияние метода экстракции катаракты, тщательности выполнения каждого узлового этапа операции, дизайна и материала интраокулярной линзы (ИОЛ), имплантация интракапсулярных колец и др. [2,3,10,18]. Однако эти способы направлены только на устранение адгезии или миграции сохранившихся клеток.

Цитотоксическим эффектом обладают различные фармакологические средства. В литературе широко описаны различные способы их применения для профилактики вторичной катаракты в эксперименте. Так, для дегенерации клеток хрусталикового

эпителия разрабатывалось применение лидокаина [20], гепарина [21], протеолитических ферментов [16], а также цитостатиков и ингибиторов факторов роста [16]. Однако сложность дозирования, наличие высокой токсичности и других побочных эффектов сдерживают применение данных методик в клинике.

До настоящего времени YAG-лазерная хирургия остается методом выбора в лечении вторичной катаракты [8]. Однако даже проведение дозированной лазерной капсулотомии в осложненных случаях не позволяет исключить риск таких осложнений, как макулярный отек и отслойка сетчатки, реактивный подъем внутриглазного давления, эпителиально-эндотелиальная дистрофия, повреждение ИОЛ [8,9].

В отдельных публикациях отмечается перспективность применения фотодинамической терапии (ФДТ) для профилактики вторичной катаракты в эксперименте [14,16,18]. Основные экспериментальные работы касаются изучения влияния различных фотосенсибилизаторов (ФС) на клеточные культуры *in vitro*, некоторые посвящены исследованиям на глазах экспериментальных животных. Однако до настоящего времени остаются неизученными вопросы выбора ФС и оптимальных способов его введения, необходимой дозы лазерного излучения, влияния ФДТ на окружающие ткани глаза, а также ФС.

В связи с этим целью исследования являлась разработка методики интраоперационной интракапсулярной ФДТ и оценка ее эффективности в профилактике развития помутнения задней капсулы хрусталика после факоэмульсификации в эксперименте.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводились на 12 кроликах породы Шиншилла (24 глаза). Нами была разработана методика проведения интраоперационной интракапсулярной ФДТ (Способ профилактики вторичной катаракты / Белый Ю.А., Терещенко А.В., Володин П.Л., Фабрикантов О.Л., Федотова М.В. Решение о выдаче патента РФ на изобретение по заявке №2005135481, приоритет от 16.11.2005), которая включала в себя следующие этапы: проведение стандартной факоэмульсификации (ФЭ) через склеророговичный доступ с помощью факоэмульсификатора Legacy («Алкон», США), введение в переднюю камеру вискоэластика высокой вязкости Provisc («Алкон», США) для поддержания ее постоянного объема, затем под визуальным контролем до полного расправления в капсульный мешок вводили гель-пенетратор светового излучения «Фотодитазин» (ООО «Вета Гранд»), содержащий одноименный ФС хлоринового ряда, разработанный ООО «НЭП «Микрохирургия глаза» (регистрационное удостоверение №ФС 012а2006/4192-06 от 27.12.06). В проведенных ранее экспериментах на клеточной культуре хрусталика кролика нами были установлены дозы ФС и лазерного излучения, достаточные для достижения цитотоксического эффекта [1]. Через 1 минуту после введения геля через парцентез вводили изогнутый световод \varnothing 0,6 мм с диффузором на конце (ООО «Полироник», Москва) и проводили облучение экваториальной зоны капсулы хрусталика лазером «Ламеда» (ООО «ЭММИ», Москва) с длиной волны 662 нм. Доза лазерного излучения составляла 15 Дж/см². После этого проводили аспирацию сначала содержимого капсульного мешка, затем вымывали вискоэластик из передней камеры. Операция заканчивалась субконъюнктивальным введением антибиотика и дексона. В послеоперационном периоде все животные получали медикаментозную терапию (левомицетин, дексаметазон, цикломед). Методы обследования включали офтальмоскопию, микроскопию с фоторегистрацией,

электроретинографические исследования (ЭРГ) («Tomey EP1000», Япония-Германия). Гистологические исследования тонкостенных срезов, окрашенных гематоксилин-эозином, проводили под микроскопом фирмы Leica DM LB2. Сроки наблюдения составили 1, 7, 14 суток и 1 месяц. Контролем служили парные афакичные глаза без проведения ФДТ после ФЭ (12 глаз).

Результаты

В первые сутки после операции у всех кроликов на обоих глазах биомикроскопически отмечались инъекция глазного яблока, преимущественно в зоне операционного разреза, незначительный отек роговицы в центральной зоне и области тоннеля, в передней камере слабый феномен Гиндаля, в единичных случаях выпадение нитей фибринозного экссудата в плоскости зрачка. Диафрагмальная функция радужки была резко снижена, задняя капсула хрусталика визуализировалась в виде гладкой и прозрачной пленки, рефлекс оставался розовым. По данным ЭРГ отмечалось незначительное снижение амплитудных характеристик волн «а» и «в».

При изучении гистологических препаратов в опытных глазах (ФЭ с проведением ФДТ) отмечены: дефект передней капсулы (передний капсулорексис), дубликатура листков передней и задней капсул с сохранением герминативной зоны. Задняя капсула представляла собой бесклеточную мембрану с шероховатой (чешуйчатой) поверхностью, в радужке – явления незначительного стаза в сосудах, цилиарное тело и отростки не изменены, в месте операционного разреза клеточная инфильтрация, в целом роговица не изменена, сетчатка и стекловидное тело без изменений. В контрольных глазах (ФЭ без ФДТ) также выявляли дубликатуру капсулы хрусталика с сохранением герминативной зоны и незначительного количества хрусталиковых волокон на периферии.

На седьмые сутки глаза были практически спокойными, экссудативных реакций не отмечалось: прозрачность передней камеры восстанавливалась, фибринозный экссудат полностью рассосался, диафрагмальная функция радужки восстанавливалась, изме-

нений со стороны задней капсулы в опытных глазах не отмечалось, в контрольных появилась легкая складчатость. Амплитудные характеристики волн «а» и «в» ЭРГ постепенно восстанавливались до нормы. При гистологических исследованиях в опытных глазах сохранялась дубликатура капсулы, клеточные элементы в ней сохраняли свою структурность, явлений пролиферации и фибротизации не выявлено. Отмечались признаки незначительного стаза в сосудах радужки, цилирное тело и его отростки оставались неизменными.

В контрольных глазах в области сохраненного участка хрусталиковых волокон отмечались начальные явления пролиферации, в остальных участках гистологических препаратов отличий от опытных глаз не выявлено.

Через 14 дней биомикроскопически глаза выглядели спокойными, роговица сохраняла прозрачность во всех отделах, передняя камера сохраняла свою прозрачность и глубину, в опытных глазах задняя капсула оставалась прозрачной, в контрольных складчатость увеличилась, отмечались единичные клетки Адамюка-Эльшнига. Амплитудные характеристики волн «а» и «в» ЭРГ постепенно восстанавливались до нормы.

При изучении гистологических препаратов в опытных глазах задняя капсула на всем протяжении сохраняла свою структуру, без явлений фибротизации и пролиферации в герминативной зоне, единичные расширения дубликатуры можно объяснить отсутствием натяжения капсулы и остатков кортикальных масс. Сосуды радужки имели нормальный диаметр, окружающие ткани – обычную структуру.

В контрольных глазах местами выявлялась выраженная складчатость задней капсулы с развитием субэпителиальной пролиферации, а также явления фибротизации в области переднего капсулорексиса.

Через 1 месяц опытные глаза оставались спокойными, роговица прозрачной, передняя камера чистой, нормальной глубины, незначительная складчатость задней капсулы. В контрольных глазах у всех кроликов выявлялся фиброз задней капсулы

1 степени, неравномерное напластование хрусталиковых волокон по периферии. Амплитудные характеристики волн «а» и «в» ЭРГ достигали дооперационных значений. При гистологических исследованиях в опытных глазах фибротизация задней капсулы на всем протяжении практически отсутствовала (рис. 1), лишь в зоне переднего капсулорексиса отмечали нежную волокнистую структуру (рис. 2). Эпителиальные клетки в дубликатуре капсулы оставались неизменными, вакуолей не встречалось, ядра оставались палочковидными, без набухания, что свидетельствовало о цитостатическом эффекте фотодинамического воздействия.

В контроле на некоторых участках отмечалось появление фибротизации задней капсулы и субэпителиальной пролиферации в виде нежной волокнистой ткани, местами более интенсивное разрастание пролиферативной ткани (рис. 3). В дубликатуре между листками капсулы эпителиальные клетки вакуолизированы, с просветленной цитоплазмой и набухшим ядром (рис. 4).

Обсуждение

ФДТ широко используется в различных областях медицины. Свойство ФС избирательно накапливаться в активно пролиферирующих клетках и локально активизироваться низкими дозами лазерного излучения соответствующей длины волны позволило обратиться к этому методу для профилактики помутнения задней капсулы.

Основные работы, посвященные указанной тематике, направлены на изучение фотодинамического воздействия различных ФС на клеточные культуры хрусталика. Так, Melendez R.F. с соавт. [14] при исследовании фотодинамической активности индоцианина зеленого на культуре эпителиальных клеток хрусталика человека выявили дозозависимый фотодинамический эффект, а также снижение жизнеспособности клеток. Однако с повышением концентрации ФС авторы отметили возрастание цитотоксического эффекта препарата на окружающие ткани глаза.

В других исследованиях [18] на клеточных культурах хрусталика была выявлена

фотодинамическая активность соединений фталоцианинов, однако, их применение в офтальмологической практике ограничивается вследствие наличия длительного периода накопления и высокой фототоксичности.

Van Tenten Y. и Schuitmaker H.J. [19] проводили исследования фотодинамического эффекта для профилактики вторичной катаракты у кроликов после ФЭ. В качестве ФС использовался бактериохлорин А. После проведения опытов авторы отмечали, что образовавшееся кольцо Зоммеренга было неполным и намного меньше, чем в контрольной группе. Однако в связи с использованием водного раствора ФС отмечался выраженный токсический эффект на окружающие ткани глаза.

Анализируя литературу по данному вопросу, становится очевидно, что ФДТ является эффективным методом для профилактики помутнения задней капсулы. Однако на сегодняшний день не разработана методика проведения ФДТ, а также остаются нерешенными вопросы выбора ФС и способов его интракапсулярного введения, что позволит избежать побочных эффектов.

Выбор ФС хлоринового ряда «Фотодитазин» связан с тем, что препараты этой группы обладают стремительной фармакодинамикой, высокой фотохимической активностью при малых дозах, высоким квантовым выходом синглетного кислорода, низкой тенновой цитотоксичностью. На наш взгляд, применение гелевой формы позволит избежать контакта ФС с окружающими тканями, а также равномерно распределить его внутри капсульного мешка. Кроме того, использование геля и вискоэластика в ходе операции и последовательная их аспирация из глаза также изолируют воздействие ФС на окружающие ткани глаза.

Еще одним техническим решением для достижения поставленной цели является разработка световода для подведения лазерного излучения к экваториальной зоне хрусталика. Применение световода с диффузором для проведения интраоперационной интракапсулярной ФДТ в среде геля позволяет свободно манипулировать в передней камере и равномерно облучать капсульный мешок.

Выявленные воспалительные явления в послеоперационном периоде как в опытных, так и в контрольных глазах, не связаны с воздействием лазерного излучения и ФС и говорят о реакции глаза на операционную травму в целом.

Полученные данные ЭРГ свидетельствуют об отсутствии повреждающего воздействия на окружающие ткани глаза лазерного излучения и гелевой формы ФС, использованных в процессе ФДТ.

Гистологические исследования опытных глаз экспериментальных животных показали отсутствие пролиферативной активности сохранившихся эпителиальных клеток и фиброза задней капсулы хрусталика. Полученные данные позволяют предположить дальнейшую остановку разрастания эпителиальных клеток хрусталика, а также подтверждают цитотоксическое действие «Фотодитазина», что в свою очередь свидетельствует о высокой эффективности ФДТ для профилактики помутнения задней капсулы в ходе фактоэмульсификации катаракты.

Таким образом, интраоперационная интракапсулярная ФДТ является патогенетически обоснованным способом профилактики помутнения задней капсулы. Полученные результаты позволяют перейти к изучению данного способа в клинической практике.

Список использованной литературы:

1. Белый Ю.А. Терещенко А.В., Федотова М.В. и др. Изучение влияния фотодинамического действия на культуру клеток хрусталика кролика *in vitro* // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2006. – Т. 6. – №4. – С.17-21.
2. Егорова Э.В., Иошин И.А., Толчинская А.И. и др. Новый внутриглазной имплантат в профилактике вторичных помутнений капсулы хрусталика // Современные проблемы офтальмологии: Сб. науч.-практич. конф. – Иркутск, 1998. – С. 178-179.
3. Егорова Э.В., Иошин И.Э., Касимова Д.П. Новые технологии в профилактике помутнения задней капсулы при экстракции осложненной катаракты с имплантацией ИОЛ. // Современные технологии хирургии катаракты: Сборник статей по материалам науч.-практич. конф. – М.: 2002. – С. 84-89.
4. Зубарева Л.Н. Интраокулярная коррекция в хирургии катаракты у детей: Автореф. дисс.... д.м.н. – М.: 1993. – С.50.
5. Иошин И.Э., Егорова Э.В., Толчинская А.И. и др. Внутрикапсульное кольцо в профилактике осложненной хирургии катаракты // Вопросы офтальмологии: Сб. науч.-практич. конф. – Красноярск, 2001. – С. 111.

6. Малюгин Б.Э. Медико-технологическая система хирургической реабилитации пациентов с катарактой на основе ультразвуковой факэмульсификации и имплантации интраокулярной линзы. Автореф. дисс... д.м.н. – М.: 2002. – С.48.
7. Многоотомное руководство по глазным болезням. Т. 1. Кн. 1. История офтальмологии, анатомия и физиология органа зрения, оптическая система глаза и рефракция / Ред. А.И. Богословский и др. – М.: 1962. – С. 174.
8. Тахчиди Х.П., Егорова Э.В., Толчинская А.И. Интраокулярная коррекция в хирургии осложненной катаракты. – М.: 2004. – С. 143.
9. Федоров С.Н., Егорова Э.В. Ошибки и осложнения при имплантации искусственного хрусталика. – М.: «Медицина», 1992. – С.243.
10. Boyce J.F., Bhermi G.S., Spalton D. // J. Cataract Refract Surg. – 2002. – Vol. 28. – №10. – P.1853-1859.
11. Finoll O, Buehl W, Menapace R, Georgopoulos M, Rainer G, Siegl H, Kaider A, Pinz A. Comparison of 4 methods for quantifying posterior capsule opacification // J Cataract Refract Surg. – 2003. – Vol. 29. – №1. – P. 106-111.
12. Kang SW, Kang SJ, Kim HO, Nam ES, Lee JH, Koh HJ. Photodynamic therapy using verteporfin-induced minimal change nephrotic syndrome // Am J Ophthalmol. – 2002. – Vol. 134. – №6. – P. 907-908.
13. Koppelhof JP, Vresen CF. The pathology of after cataract // Acta Ophthalmol. – 1992. – Suppl. – P. 13-24.
14. Melendez RF, Kumar N, Maswadi SM, Zaslow K, Glickmank RD. Photodynamic actions of indocyanine green and trypan blue on human lens epithelial cells in vitro // Am J Ophthalmol. – 2005. – Vol. 140. – №1. – P. 132-134.
15. Nishi O, Nishi K, Mano C. Et al. The inhibition of lens epithelial cell migration by a discontinuous capsula bend created by a band-shaped circular loop or a capsula-banding ring // Ophthalmic Surg Lazerz. – 1998. – Vol. 29. – P. 119-125.
16. Ruiz JM, Medrano M, Alio JL. Inhibition of posterior capsule opacification by 5-fluorouracil in rabbits // Ophthalmic Res. – 1990. – Vol. 22. – №4. – P. 201-208.
17. Van Tenten Y, Schuitmaker HJ, De Groot V, Willekens B, Vresen GFJM, Tassignon M-J. A Preliminary Study on the Prevention of Posterior Capsule Opacification by Photodynamic Therapy with Bacteriochlorin A in Rabbits // Ophthalmic Res. – 2002. – Vol. 34. – P. 113-118.
18. Vargas LG, Escobar-Gomez M, Apple DJ, Hoddinott DS, Schmidbauer JM. Pharmacologic prevention of posterior capsule opacification: in vitro effects of preservative-free lidocaine 1% on lens epithelial cells // J Cataract Refract Surg. – 2003. – Vol. 29. – №8. – P. 1585-92.
19. Von Salmann L. The lens epithelium in the pathogenesis of cataract; the XIII Edward Jackson Memorial lecture // Am J Ophthalmol. – 1957. – Vol. 44. – №2. – P. 59-70.
20. Weide G., Kugelberg M., Zetterstrom C. Posterior capsular opacification // J. Cataract Refract Surg. – 2003. – Vol.29. – №8 – 1556-1559.
21. Xie L, Sun J, Yao Z. Heparin drug delivery system for prevention of posterior capsular opacification in rabbit eyes // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2003. – Vol. 241. – №4. – P. 309-13.

Иллюстрации на стр. 190