



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 617.735-007.281

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИНИПЛАЗМИНА С ЦЕЛЬЮ ИНДУКЦИИ ЗАДНЕЙ ОТСЛОЙКИ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА

**Х.П. ТАХЧИДИ<sup>1</sup>, Д.О. ШКВОРЧЕНКО<sup>1</sup>,  
И.Х. ШАРАФЕТДИНОВ<sup>1</sup>, С.В. НОВИКОВ<sup>1</sup>  
А.В. ШАЦКИХ<sup>1</sup>, К.С. НОРМАН<sup>1</sup>,  
Р.Ш. БИБИЛАШВИЛИ<sup>2</sup>, Н.А. СКРЫПИНА<sup>2</sup>,  
Л.В. ДИДЕНКО<sup>3</sup>, Н.В. ШЕВЛЯГИНА<sup>4</sup>,  
Е.Н. КРИКУН<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ФГУ «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова Росмедтехнологии», г. Москва

<sup>2</sup> ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>3</sup> НИИЭ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалея РАМН, г. Москва

<sup>4</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: krikun@bsu.edu.r

Проанализирована роль задних гиалоидных слоёв стекловидного тела при патологии заднего отрезка глаза. Рассмотрены способы индукции задних гиалоидных слоёв стекловидного тела. Показано действие миниплазмина на витреоретинальный интерфейс с помощью сканирующей электронной микроскопии.

Ключевые слова: задняя отслойка стекловидного тела, методы индукции задней отслойки стекловидного тела, миниплазмин.

**Введение.** Известно, что задние гиалоидные слои стекловидного тела, в норме плотно прилежащие к внутренней пограничной мембране сетчатки, являются существенным звеном в патогенезе витреоретинальных заболеваний, как например, пролиферативная диабетическая ретинопатия, идиопатические макулярные разрывы и предразрывы, витреомакулярный синдром, синдром Ирвина-Гасса, пролиферативная витреоретинопатия [2, 3, 11]. Принято считать, место контакта задних гиалоидных слоёв стекловидного тела (ЗГС СТ) и внутреннюю пограничную мембрану сетчатки (ВПМ), витреоретинальным соединением [1].

ВПМ образует десятый слой сетчатки и располагается на границе со стекловидным телом. ВПМ является единственной истинной мембраной сетчатки. В образовании ВПМ участвует как сетчатка, так и стекловидное тело. Состоит мембрана из четырех элементов: 1) коллагеновые волокна; 2) протео-гликаны (главным образом, гиалуроновая кислота) стекловидного тела; 3) базальная мембрана; 4) плазматическая мембрана мюллеровских клеток, возможно, и других глиальных клеток сетчатки [8]. Электронномикроскопически установлено, что коллагеновые волокна стекловидного тела, погруженные в протеогликаны, влетают в базальную мембрану глиальных клеток. В работе Foos R. по электронномикроскопическому изучению витреоретинального со-

единения на трупных глазах было показано, что ВПМ включает в себя истинную базальную мембрану ("lamina densa"), которая имеет толщину около 600 ангстрем. Пластина отделяется от клеточных мембран однородным электронночувствительным пространством ("lamina rara") толщиной около 400 ангстрем. Витреальная поверхность ВПМ гладкая, в то время как ретиная неровная, согласно неправильному профилю Мюллеровских клеток [6].

Стекловидное тело (СТ) представляет собой прозрачный бесцветный гель, выполняющий стекловидную камеру (camera vitrea). Витреальный гель состоит из переплетающейся сети молекул гиалуроновой кислоты и коллагена II, IX, XI типов [4]. Исследования Worst с соавт. (1977г.), Махачевой З.А. (1994г.) показали, что стекловидное тело имеет определенную структуру, включающую два канала (оптико-цилиарный и лентикомаккулярный) и три ряда цистерн.

ЗГС СТ или задний отдел СТ, представляет собой широкую полосу уплотнения коллагеновых волокон расположенных параллельно ВПМ. В области основания СТ коллагеновые волокна расположены перпендикулярно к сетчатке [9].

Различные заболевания заднего отрезка глаза, как например, отечно-гемморрагическая форма диабетической ретинопатии, персистирующее витреоретинальное прилежание, приводят к патологическим изменениям в ЗГС СТ.

В настоящий момент существует множество методик интраоперационного отделения ЗГС СТ с помощью эндовитреальных инструментов [11, 12]. Альтернативным методом отделения заднего гиалоида, как показал ряд экспериментальных исследований, является биохимическое отделение задней отслойки СТ или «фармакологический витреолизис» (Sebag J. 1998 г.). Данный термин используется в отношении различных ферментативных агентов изменяющих организацию молекул СТ [14]. Одними из самых перспективных ферментов являются модифицированные формы плазминогена и его фрагменты (рис. 1). За рубежом клинические испытания (с целью индукции ЗОСТ) проходит модифицированная форма плазмина под названием – микроплазмин (Arnd Gandorfer 2004, Marc D. de Smet 2009), (рис.2) [5, 7, 13].

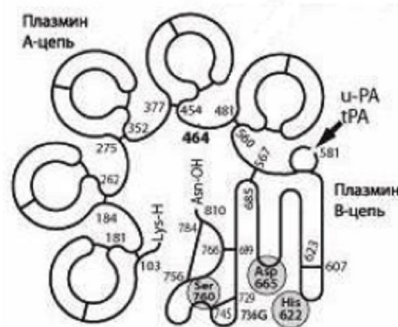


Рис. 1. Схема строения молекулы плазмина

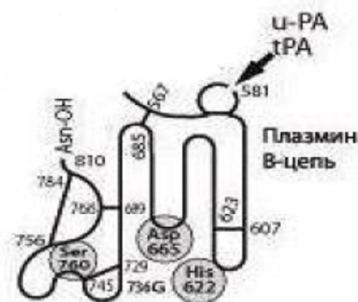


Рис. 2. Схема строения молекулы микроплазмина

Российскими учеными в ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росмедтехнологий была получена новая оригинальная патентозащищенная рекомбинатная форма модифицированного плазмина которая была названа миниплазмином (рис.3).

**Целью работы** явилось изучение влияния миниплазмина на витреоретинальное соединение глаз экспериментальных животных.

**Методы.** В данном исследовании использовали свежие энуклеированные свиные глаза (всего 10 глазных яблок), которые были поделены на 2 группы: контроль и опыт (по 5 глазных яблок соответственно). В глаза, которые входили в опытную группу, вводили эндовитреально по 0,1мл миниплазмина в концентрации 175 мкг/мл. В контрольные глаза вводили эндовитреально по 0,1мл физиологического раствора. Затем все препараты, входившие в эксперимент, инкубировали при комнатной температуре 120 мин., после чего они были зафиксированы по оригинальной методике с сохранением всех внутриглазных структур без применения растворов формальдегида, и

без высушивания в спиртах восходящей концентрации. Далее выполняли сканирующую электронную микроскопию поверхности сетчатки.

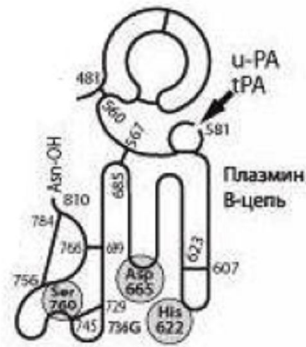


Рис. 3. Схема строения молекулы миниплазмина

**Результаты.** Данные сканирующей электронной микроскопии показали, что в контрольной группе исследований во всех препаратах глазных яблок на поверхности сетчатки обнаруживались коллагеновые волокна стекловидного тела, что свидетельствует о тесном прилегании его задних гиалоидных слоев к сетчатке (рис.4).

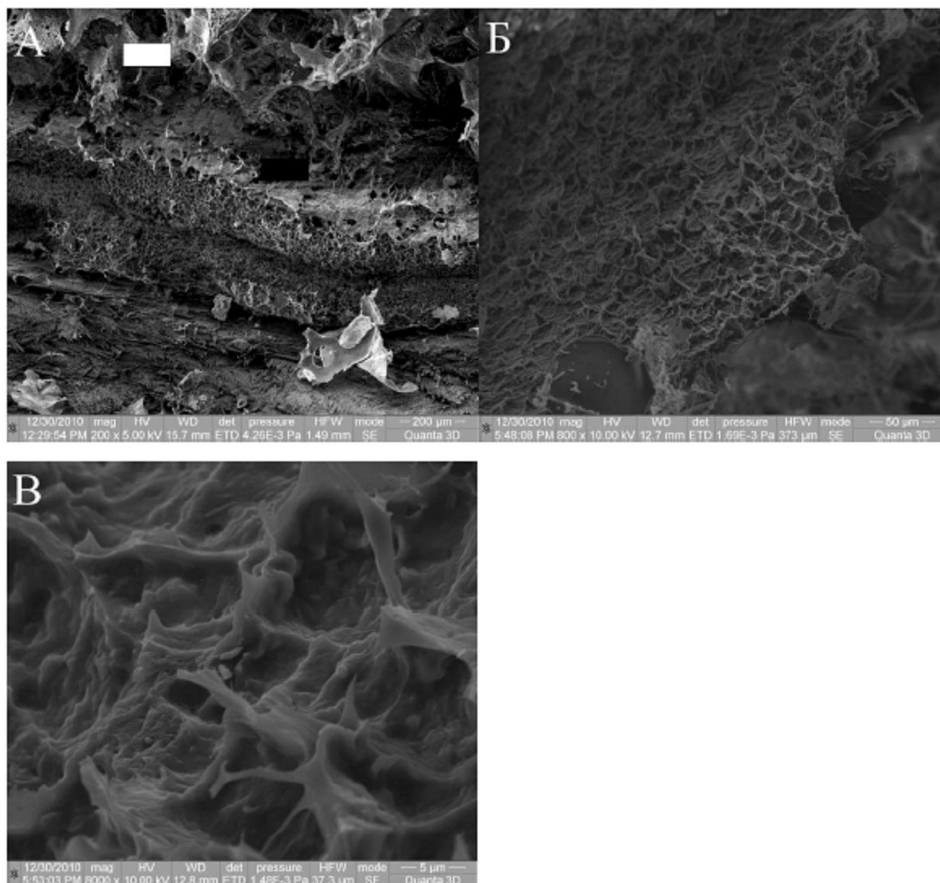
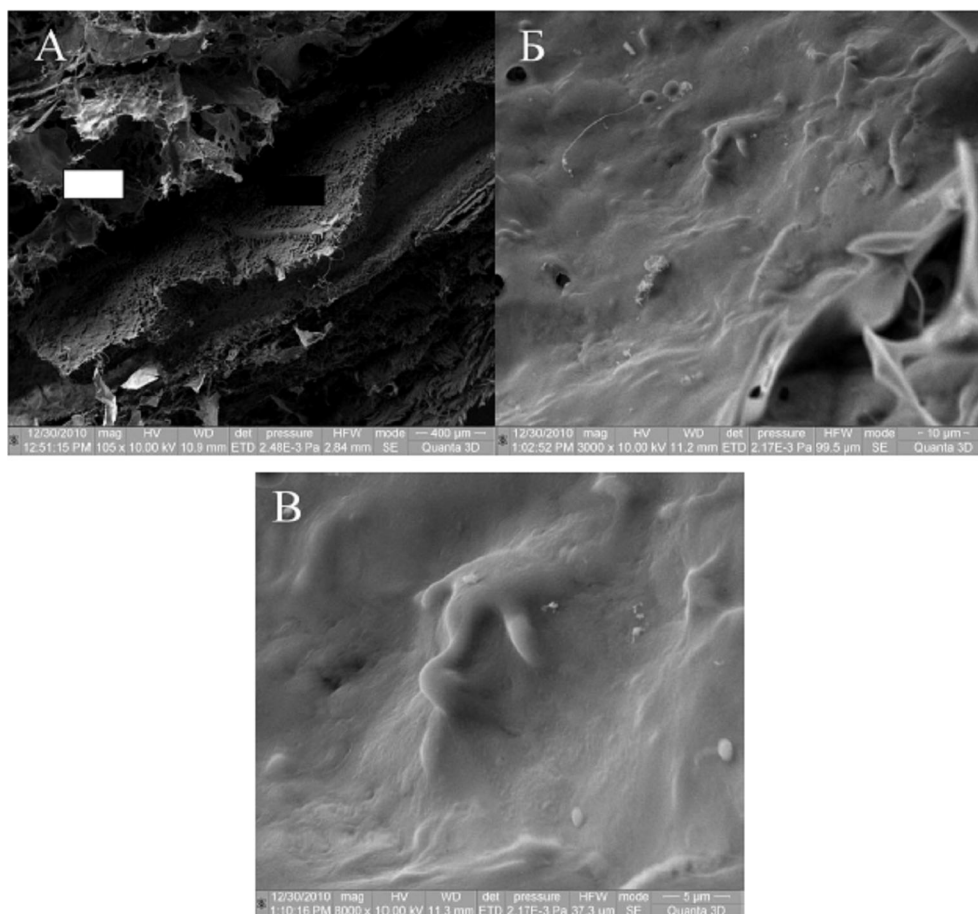


Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия витреоретинального соединения после введения физиологического раствора

А. стекловидное тело, - сетчатка (увеличение  $\times 200$ )  
 Б. Поверхность сетчатки (увеличение  $\times 800$ ), В. Поверхность сетчатки (увеличение  $\times 800$ )



**Рис. 5.** Сканирующая электронная микроскопия витреоретинального соединения после введения миниплазмينا

- А.  – стекловидное тело,  - сетчатка (увеличение × 105)  
 Б. Поверхность сетчатки (увеличение × 3000)  
 В. Поверхность сетчатки (увеличение × 8000)

В опытной группе исследований поверхность сетчатки, а именно её первый слой (ВПМ), становилась «гладкая» в четырех из пяти глазных яблок, то есть на ее поверхности отсутствовали коллагеновые волокна стекловидного тела (рис.5). В одном из пяти опытных глазных яблок эффект не был достигнут вследствие технической ошибки эксперимента.

**Выводы.** Миниплазмин при эндовитреальном введении в концентрации 175 мкг/мкл и экспозицией 120 мин., по данным сканирующей электронной микроскопии, вызывает индукцию задней отслойки стекловидного тела в препаратах глазных яблок экспериментальных животных. Полученные предварительные данные свидетельствуют об эффективности введения миниплазмينا, что позволит избежать применения многих оперативных вмешательств, значительно сократить риск послеоперационных осложнений, а также повысить качество лечения пациентов тяжёлыми формами витреоретинальных заболеваний.

#### Список литературы

1. Махачева, З.А. Анатомо-функциональное обоснование хирургических вмешательств на стекловидном теле при витреальной деструкции: дис. ... д-ра мед. наук/ З.А. Махачева – М., 1994. – С. 39-55, 67-71, 190-198.
2. Сдобникова, С.В. Роль удаления задней гиалюидной мембраны в трансовитреальной хирургии пролиферативной диабетической ретинопатии: дис.... канд. мед. наук/С.В. Сдобникова. – М., 1997.- 67-68 с.



3. Федоров, С. Н. Влияние закрытой витректоми на функциональное состояние глаз и течение пролиферативной диабетической ретинопатии / С.Н. Федоров, З.М. Махачева, Я. И. Глинчук // Вест. Офтальмологии. – 1985. - №4. – С. 29-33.
4. Balazs, E.A. Structure of the vitreous gel / E.A. Balazs // Acta XVII Concilium Ophthalmologicum.- Toronto: University of Toronto Press, 1955.- Vol.II.- P.1019-1024.
5. de Smet, M.D. Microplasmin: ex vivo characterization of its activity in porcine vitreous / M.D. de Smet, C. Valmaggia, J. Zarranz-Ventura// Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2009. – Vol. 50. – P.814-819.
6. Foos, R.Y. Vitreoretinal juncture; topographical variations./ R.Y. Foos // Investigative Ophthalmology.- 1972.- Vol.11.- P.801-808.
7. Gandorfer, A Posterior vitreous detachment induced by microplasmin / A. Gandorfer, M. Rohleder, C. Sethi // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2004. – Vol. 45. – P.641-647.
8. Heegaard, S. Structure of the human vitreoretinal border region / S. Heegaard // Ophthalmologica. – 1994. – Vol. 208. – P. 82–91.
9. Hogan, M.J. The normal vitreous and its ultrastructure / M.J. Hogan // Advances in vitreous surgery /Ed.by Irvine A.R., O Malley C.- Illinois, 1976.
10. Visual field loss following vitreous surgery. / J.B. Kerrison [et al.]// Arch. Ophthalmol. – 1996. – Vol. 114. – P. 564-569.
11. Machemer, R. A new concept for vitreous surgery. 1. Instrumentation / R. Machemer, J-M. Parel, H. Buetter // Am. J. Ophthalmol. – 1972. – Vol. 73. – P. 1-7.
12. Macular Hole Surgery with Internal-limiting Membrane Peeling and Intravitreal Air./ D.Park [et al.]// Ophthalmol.- 1999.- Vol.106.- P.1392-1398.
13. Sakuma, T. Safety of in vivo pharmacologic vitreolysis with recombinant microplasmin in rabbit eyes. / T. Sakuma, M. Tanaka, A. Mizota. // Invest Ophthalmol Vis Sci. –2005. – Vol. 46. Vol. – P.3295-3299.
14. Sebag, J. The emerging role of pharmacologic vitreolysis / J. Sebag // Retinal Physician. - 2010. - March – P. 50-56.

## EXPERIMENTAL VALIDATION OF MINIPLAZMIN USING FOR POSTERIOR VITREOUS DETACHMENT

**KH.P. TAKHCHIDI<sup>1</sup>, D.O.SHKVORCHENKO<sup>1</sup>  
I.H. SHARAFETDINOV<sup>1</sup>, S.V.NOVIKOV<sup>1</sup>  
A.V. SHATSKIH<sup>1</sup>, K.S. NORMAN<sup>1</sup>  
R. SH. BEABEALASHVILI<sup>2</sup>, N.A.SKRYPINA<sup>2</sup>  
L.V. DIDENKO<sup>3</sup>, N.V. SHEVLYAGINA<sup>3</sup>  
E.N. KRIKUN<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>*The S. Fyodorov Eye Microsurgery  
Federal State Institution, Moscow*

<sup>2</sup>*Russian Cardiology Research-Industrial  
Center, Moscow*

<sup>3</sup>*Research Institute of epidemiology  
and microbiology named N.F. Gamalei,  
Moscow*

<sup>4</sup>*Belgorod National Research University,  
Belgorod*

*e-mail:krikun@bsu.edu.ru*

We have analyzed possible role of posterior vitreous in pathogenesis of the pathology of posterior segment of the eye. Different methods of posterior vitreous induction were reviewed. It is shown action of miniplasmin on vitreoretinal interface with the help of scanning electronic microscopy.

Key words: posterior vitreous detachment, methods of posterior vitreous detachment induction, miniplasmin.