

# Циклоспорин А в хирургическом лечении глаукомы: перспективы и возможности

**Германова В.Н.**, клинический ординатор<sup>1</sup>;  
**Волжанин А.В.**, ординатор<sup>2</sup>;  
**Золотарев А.В.**, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой<sup>1</sup>;  
**Карлова Е.В.**, к.м.н., заведующая отделением<sup>3</sup>;  
**Петров С.Ю.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра офтальмологии, 443068, Российская Федерация, Самара, ул. Ново-Садовая, 158;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», 119021, Российская Федерация, Москва, ул. Россолимо, 11А;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Самарская областная клиническая офтальмологическая больница им. Т.И. Ерошевского», глаукомное отделение, 443068, Российская Федерация, Самара, ул. Ново-Садовая, 158.

Авторы не получали финансирование при проведении исследования и написании статьи. Конфликт интересов: отсутствует.

## Резюме

Основной причиной неэффективности хирургического лечения глаукомы является послеоперационное рубцевание. Для его профилактики в разное время было предложено использование различных дренажей и имплантов, интра- или послеоперационное использование лекарственных веществ. Наибольшее распространение получило применение Митомидина-С и 5-фторурацила. Данные вещества значительно повышают эффективность хирургических вмешательств при глаукоме, однако их использование во время гипотензивных вмешательств зачастую приводит к осложнениям. В настоящее время проводятся исследования по поиску более безопасной, но в то же время достаточно эффективной замены вышеназванным препаратам в хирургическом лечении глаукомы для профилактики послеоперационного рубцевания. Рядом зарубежных авторов

в качестве альтернативы было предложено использование циклоспорина А. Данный препарат избирательно действует на Т-лимфоциты, ингибируя синтез интерлейкина-2 – одного из ключевых медиаторов воспаления, запускающих каскад реакций, приводящих в итоге к избыточной пролиферации фибробластов. В обзоре представлены патофизиологические аспекты рубцевания после гипотензивных вмешательств и методы борьбы с ним. Рассмотрен механизм действия циклоспорина А, представлены результаты исследований эффективности данного препарата, а также безопасности его применения при хирургическом лечении глаукомы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хирургия глаукомы, циклоспорин А, рубцевание, цитокины, фибробласты, интерлейкин-2, Т-лимфоциты, воспаление.

## ENGLISH

# Cyclosporine A in glaucoma surgery: perspectives and opportunities

**GERMANOVA V.N.**, Resident<sup>1</sup>;  
**VOLZHANIN A.V.**, Resident<sup>2</sup>;  
**ZOLOTAREV A.V.**, Med.Sc.D., Head of Department<sup>1</sup>;  
**KARLOVA E.V.**, Ph.D., Head of Department<sup>3</sup>;  
**PETROV S.YU.**, Ph.D., Leading Research Associate<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Samara State Medical University, Ophthalmology Department, 158 Novo-Sadovaya str., Samara, Russian Federation, 443068;

<sup>2</sup>Scientific Research Institute of Eye Diseases, 11A Rossolimo st., Moscow, Russian Federation, 119021;

<sup>3</sup>Eroshevskiy Eye Hospital, Glaucoma Department, 158 Novo-Sadovaya str., Samara, Russian Federation, 443068.

Conflicts of Interest and Source of Funding: none declared.

## Для контактов:

**Карлова Елена Владимировна**, e-mail: [karlova@inbox.ru](mailto:karlova@inbox.ru)

Поступила в печать: 11.12.2016

Received for publication: December 11, 2016

## Abstract

Postoperative scarring is one of the main reasons of glaucoma surgery failure. At different times it has been proposed to use various drainage implants, intra- or postoperative medications in order to prevent scarring. Mitomycin-C and 5-fluorouracil are widely used today for this purpose. These medications are effective in glaucoma surgery but often lead to severe complications. Nowadays investigations are being carried out in order to find a safer but not less effective substitution to them. Some foreign authors have proposed to use Cyclosporine-A (CsA)

as an alternative. CsA selectively affects T-cells causing Interleukin-2 (IL-2) synthesis inhibition. IL-2 is one of the key inflammatory mediators triggering inflammatory cascade leading to fibroblast proliferation. The review deals with pathological bases of scarring after glaucoma surgery as well as possible methods of its modulation, provides results of investigations of CsA effectiveness and safety in glaucoma surgery.

**KEYWORDS:** glaucoma surgery, Cyclosporine-A, scarring, cytokines, fibroblasts, Interleukin-2, T-cells, inflammation.

## Актуальность

Глаукома, по данным Всемирной Организации Здравоохранения, занимает второе место в мире среди причин необратимой слепоты и третье место среди причин слабовидения [1]. В настоящее время признано, что снижение внутриглазного давления (ВГД) — основной метод лечения данного заболевания [2, 3, 5]. Сегодня существует большое разнообразие медикаментозных и лазерных методов его снижения. При их неэффективности или невозможности применения ведущую роль приобретают хирургические методы, призванные создать новые пути оттока внутриглазной жидкости [3-5]. Однако независимо от типа хирургического вмешательства эффект от операции зачастую оказывается нестойким. В ранние сроки (до 6 мес. после вмешательства) неэффективными оказываются от 0,4 до 10% операций, в поздние сроки — от 1,7 до 53%. Нуждаемость в повторных операциях составляет 30% [6, 7]. Основной причиной неэффективности хирургического лечения глаукомы являются процессы избыточного рубцевания тканей глаза в зоне вмешательства (между конъюнктивой, теноновой капсулой и эписклерой, а также в зоне иссеченной трабекулы и шлеммова канала) [7-9, 16].

## Патогенез послеоперационного рубцевания

Воспаление и последующее рубцевание особенно интенсивны в раннем послеоперационном периоде. На исход хирургического вмешательства влияют факторы риска со стороны пациента (молодой возраст), анамнез (воспалительные заболевания глаза, предшествующие оперативные вмешательства, длительное местное применение гипотензивных препаратов), особенности течения заболевания (псевдоэкзофалиативный синдром, высокое исходное ВГД, IV стадия глаукомы), течение самой операции и послеоперационного периода (технические погрешности, большая операционная травма, кровотечение, послеоперационные осложнения — гифема и др.) [5, 8, 9].

Процессы рубцевания стимулируются и поддерживаются серией событий, происходящих до, во время и после оперативного вмешательства.

В частности, длительное применение антиглаукоматозных препаратов, содержащих в качестве консерванта бензалкония хлорид, является причиной субклинического воспалительного процесса в конъюнктиве, при котором наблюдается гиперэкспрессия антигенов системы HLA на эпителиальных клетках, что в свою очередь приводит к гиперактивации лейкоцитов [9, 10]. Операционная травма, кровотечение, приводящее к проникновению плазменных белков и форменных элементов крови в соединительную ткань, а также последующее тромбообразование являются мощными стимулами к выработке провоспалительных цитокинов. Вышеперечисленные события приводят к миграции полиморфно-ядерных нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов к зоне хирургического вмешательства. Высвобожденные данными клетками цитокины запускают активацию и пролиферацию фибробластов. Фибробласты, в свою очередь, продуцируют соединительную ткань, блокирующую вновь созданные во время операции пути оттока внутриглазной жидкости, вследствие чего значительно снижается эффективность гипотензивной операции [15-18].

Данный каскад событий был бы невозможен без участия провоспалительных цитокинов и хемокинов, вырабатываемых лейкоцитами. Многими авторами установлено, что трансформирующий фактор роста  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), продуцируемый активированными макрофагами, Т-лимфоцитами, тромбоцитами, эндотелиоцитами, играет ведущую роль в стимуляции пролиферации фибробластов, а также их миграции и трансформации в миофибробласты. В результате их деятельности происходит ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани, формируется рубец, т. к. в присутствии лейкоцитов и медиаторов воспаления коллаген, протеогликаны и гликозаминогликаны не могут составить правильную упорядоченную структуру. Процесс ремоделирования неизбежно сопровождается неоваскуляризацией и повышением сосудистой проницаемости. Среди других цитокинов у пациентов, подвергшихся хирургическому лечению глаукомы, обнаруживали повышенные уровень фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора некроза опухоли (ФНО) [4, 10]. Другие

## Стимулирующие рубцевание факторы и пути их коррекции

Факторы	Возможная коррекция
Субклиническое воспаление конъюнктивы вследствие длительной гипотензивной терапии	Отмена медикаментозной терапии перед операцией, применение глюкокортикостероидов (ГКС)
Операционная травма	Использование наименее инвазивных хирургических техник
Кровотечение	Гемостаз
Активация тромбообразования	Применение антикоагулянтов, тромболитическая терапия
Высвобождение провоспалительных цитокинов	Ингибиторы факторов роста (анти-TGF- $\beta$ 2 и др.), антагонисты рецепторов интерлейкинов
Миграция, пролиферация и активация нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, фибробластов	Противовоспалительные препараты (ГКС), антиметаболиты (5-фторурацил (5-FU), Митомицин-С (ММС), фотодинамическая терапия
Синтез фибробластами тропоколлагена, гликозаминогликанов и фибронектина	Интерферон- $\alpha$ , ингибиторы матриксных металлопротеиназ, фибростатин-с, протеолитическая терапия
Неоваскуляризация	Ингибиторы ангиогенеза

медиаторы воспаления — интерлейкины (ИЛ), в частности, ИЛ-1 и ИЛ-2, также влияют на клеточную пролиферацию, созревание, миграцию фибробластов, а также на их дифференцировку и активацию. Именно они являются мишенью большинства разрабатываемых в настоящее время препаратов, направленных на профилактику рубцевания. В то же время некоторые интерлейкины, напротив, оказывают антипролиферативное действие, в частности, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-22 [19-26, 33].

### Методы борьбы с рубцеванием

Если практически при всех хирургических вмешательствах заживление раны является желательным результатом, то в хирургическом лечении глаукомы ситуация обратная. В настоящее время для борьбы с избыточным рубцеванием предложены следующие мероприятия: 1) модернизация техники выполнения вмешательства с целью сведения к минимуму операционной травмы, а также уменьшения кровотечения [9, 27]; 2) пред-, интра- и послеоперационная коррекция процессов избыточного рубцевания медикаментозными препаратами; 3) применение специально разработанных дренажей для предупреждения зарастания путей оттока внутриглазной жидкости соединительной тканью [4, 9]. Каскад событий, приводящий к рубцеванию вновь созданных путей оттока, и возможные пути его регуляции представлены в *табл. 1*.

В последние годы особое внимание уделяется применению антиметаболитов и цитостатиков. Чаще всего с целью профилактики рубцевания используют два препарата — 5-фторурацил (5-FU) и Митомицин-С (ММС). Разработаны методики применения данных веществ как интраоперационно

(апликации в зоне вмешательства), так и послеоперационно (субконъюнктивальные инъекции) [4, 28].

5-FU — противоопухолевый препарат из группы антиметаболитов. Механизм его действия основан на антагонизме пиримидинового метаболизма, а именно на угнетении синтеза тимидиновых нуклеотидов, без которых становится невозможным синтез ДНК, что ведет к гибели клетки [28, 29]. Впервые успешно применил 5-фторурацил в клинической практике в 1984 г. Parrish. Khaw et al. показали, что 5-FU является эффективным ингибитором роста и пролиферации фибробластов. Пятиминутная экспозиция данного препарата во время гипотензивной операции привела к приостановке роста фибробластов, при этом эффект оказался достаточно стойким [29]. Однако данный антиметаболит воздействует только на клетки, находящиеся в момент его применения в S-фазе клеточного цикла, когда происходит активный синтез ДНК. Фибробласты, находящиеся в других фазах клеточного цикла, могут пролиферировать сразу по окончании воздействия лекарственного вещества [30, 35].

Митомицин-С — противоопухолевый антибиотик с антипролиферативными свойствами. ММС уменьшает активность алкилирующего агента, участвующего в поперечной сшивке ДНК. Данный препарат подавляет синтез ДНК, митоз, а также синтез белка, т. к. активен в отношении всех клеток независимо от фазы клеточного цикла [29, 33]. Применение ММС значительно повышает эффективность гипотензивных операций за счет ингибирования пролиферации фибробластов и клеток эндотелия. Первым в ходе гипотензивной операции ММС применил Chen в 1981 г. Khaw et al. доказали, что его разовое интраоперационное применение эффективнее,

чем разовое применение 5-FU. Использование ММС основано на подавлении всего цикла пролиферации фибробластов и синтеза коллагена [30]. Однако в 2004 г. данными авторами было отмечено, что подавление пролиферации фибробластов в зоне интраоперационной аппликации ММС не препятствует, а, наоборот, способствует активации и пролиферации фибробластов, находящихся непосредственно вокруг зоны воздействия. В результате вокруг фильтрационной подушки формируется своеобразное фиброзное кольцо (т. н. «ring of steel»), ведущее к образованию кистозной фильтрационной подушки [9]. Кроме того, использование антиметаболитов может приводить к таким тяжелым осложнениям, как повреждение склеры и кератопатия (1-64%), повреждения увеального тракта (1-5%), супрахориоидальные кровоизлияния (2-13%), развитие гипотонии и симптоматической макулопатии (0-4,4%), поздний эндофтальмит (2-4%), прогрессирование катаракты (10,3%) [5, 9, 34].

### Циклоспорин А как альтернатива антиметаболитам и цитостатикам

С конца 1990-х годов проводились попытки применения циклоспорина А (CsA) в хирургическом лечении глаукомы. Данное направление научного поиска обусловлено тем, что распространенное применение антиметаболитов для профилактики послеоперационного рубцевания связано с высоким риском развития осложнений, в то время как циклоспорин, будучи противовоспалительным, иммуномодулирующим, антипролиферативным средством, мог бы оказывать подобное антиметаболитам действие с наименьшим количеством побочных эффектов.

Циклоспорин — липофильный циклический полипептид, состоящий из 11 аминокислот, с уникальными иммуносупрессивными свойствами. Впервые выделен из грибов *Tolypocladium inflatum*, обнаруженных в 1969 г. в образцах почвы с горного плато Hardangervidda, Норвегия. Иммуносупрессивное действие циклоспорина было обнаружено в январе 1972 г. работниками фармацевтической компании «Sandoz» в Швейцарии (Базил) [37]. В офтальмологии CsA впервые был применен в начале 1980-х местно в масляном растворе для предупреждения отторжения аллотрансплантата роговицы. Проведенные исследования показали, что циклоспорин позволяет успешно бороться с воспалительными заболеваниями поверхности глаза, при этом не обладая побочными эффектами, характерными для применявшихся ранее кортикостероидов (изменения хрусталика, повышение внутриглазного давления (ВГД), подавление фагоцитарного звена иммунной системы) [36]. Долгое время лицензированная форма циклоспорина (0,2% мазь, Оптиммун) была доступна лишь

в ветеринарии для лечения кератоконъюнктивита у собак. Введение аналогичной формы для человека (0,05% глазные капли, Рестасис, «Аллерган») с целью лечения синдрома «сухого глаза» произошло в апреле 2003 г. В настоящее время в офтальмологии циклоспорин А применяется для лечения увеитов (преимущественно эндогенных), синдрома «сухого глаза», весеннего катара, симпатической офтальмии, язвы Мооген, гранулематозной оптической нейропатии, синдрома Гольдмана – Фавре, некротизирующего склерита и некоторых других заболеваний [37, 38].

Циклоспорин А оказывает избирательное действие на Т-лимфоциты, препятствуя кальцийзависимой активации. Будучи липофильным, препарат обладает способностью к диффузии через клеточную мембрану в цитоплазму Т-лимфоцитов. В цитоплазме циклоспорин А связывается со специфическими белками, обладающими высоким сродством к циклоспорину — циклофилинами А, в большом количестве представленными в Т-лимфоцитах [37, 40]. Данные белки обладают пептидил-пролил-цистрас-изомеразной (ППИ) активностью, способствующей фолдингу других белков. Однако угнетение циклоспорином А ППИ-активности является «побочным эффектом» действия данного препарата и не представляет интереса с точки зрения иммуносупрессивной активности CsA. Ингибирование же активности Т-лимфоцитов происходит следующим образом: вновь образованный комплекс циклоспорин А/циклофилин А (CsA-СурА) изменяет свою пространственную структуру, в результате чего его гидрофобные и несущие заряд поверхности приобретают большую конгруэнтность по отношению к активным центрам кальцинейрина [40, 42]. Кальцинейрин является серин/треонин фосфатазой, имеющей 2 активные субъединицы — каталитическую (кальцинейрин А) и регуляторную (кальцинейрин В). Каталитическую активность данная фосфатаза приобретает только после взаимодействия с кальмодулином, который активируется только в присутствии достаточного количества кальция внутри клетки. Ионные каналы для кальция открываются при воздействии на рецепторы Т-клеток. При его участии происходит дефосфорилирование ядерного фактора активированных Т-клеток (Nuclear Factor of Activated T-cells, NFAT). В неактивированных клетках NFAT подвергается фосфорилированию и находится в цитоплазме. При возникновении стимула к активации, дефосфорилированные молекулы NFAT проникают в ядро, где способствуют транскрипции генов цитокинов, в частности интерлейкина-2 (ИЛ-2). Комплекс CsA-СурА блокирует и каталитическую, и регуляторную субъединицы кальцинейрина, что лишает его фосфатазной активности [37, 39-43]. Следовательно, NFAT не подвергается дефосфорилированию и не может проникнуть в ядро. В результате блокируется

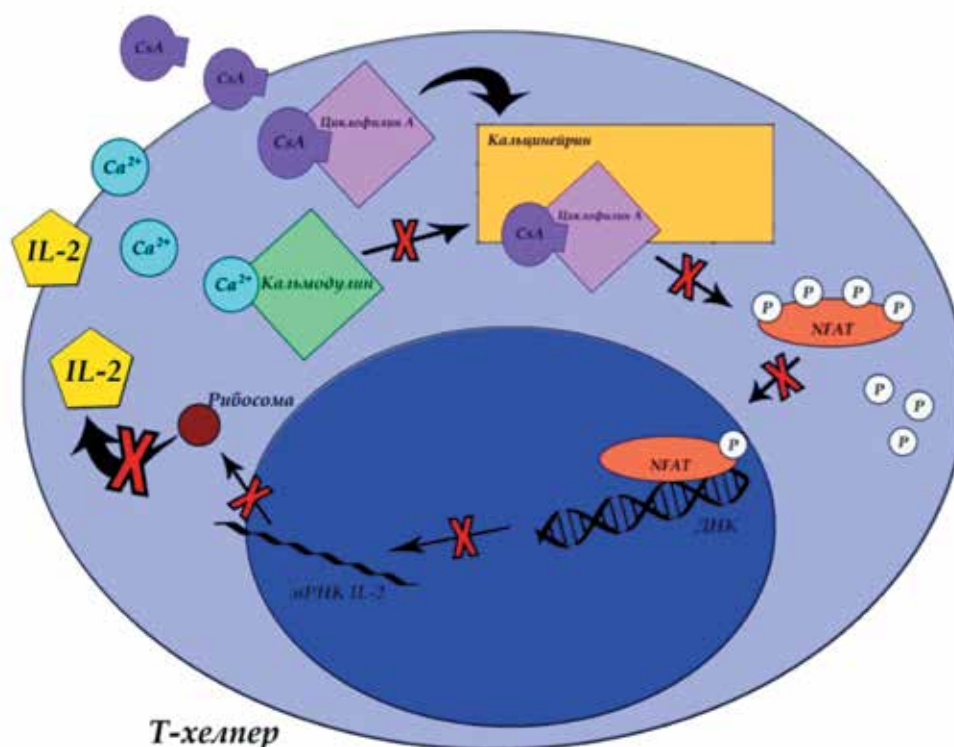


Рис. 1. Механизм действия циклоспорина А

синтез интерлейкина-2 Т-лимфоцитами (рис. 1). В свою очередь, ИЛ-2 является начальным звеном в развитии иммунного ответа. Данный цитокин необходим для созревания и активации Т-хелперов, Т-цитотоксических клеток, В-лимфоцитов, макрофагов. Таким образом, ингибирование синтеза ИЛ-2 циклоспорином А ведет к снижению синтеза широкого спектра цитокинов, продуцируемых другими клетками-участниками иммунного ответа, в том числе медиаторов воспаления, ответственных за процессы пролиферации фибробластов и рубцевания (рис. 2) [37, 12-14]. Итогом является снижение интенсивности воспалительной реакции.

В течение последних двух десятилетий учеными из разных уголков мира проводятся исследования по интра- и постоперационному применению циклоспорина в хирургическом лечении глаукомы.

Группа ученых из Турции (Turaçlı M.E. et al.) в 1996 г. рассмотрела возможность применения циклоспорина А в качестве антиметаболита в хирургическом лечении глаукомы. 12 пациентам была проведена трабекулэктомия с последующим местным применением CsA, а другим 12 пациентам — без применения данного препарата. В группе пациентов, получивших циклоспорин после операции, было замечено снижение ВГД по сравнению со второй группой, а также уменьшение количества необходимых медикаментов в послеоперационном периоде. В обеих группах не наблюдалось осложнений. Микроскопическое изучение иссеченной

трабекулярной ткани склеры показало, что циклоспорин вызвал угнетение активности фибробластов, что привело к нарушению коллагеновой организации на уровне хирургического разреза. Средние склеральные слои затронуты не были. Данное исследование позволило авторам статьи сделать вывод, что циклоспорин безопасен и эффективен в качестве антиметаболита при проведении трабекулэктомии.

Однако были необходимы дальнейшие исследования для подтверждения роли циклоспорина в фильтрующих вмешательствах при глаукоме [47].

Ученые из Кореи (Park K.H. et al.) в том же номере журнала опубликовали результаты аналогичного исследования на кроликах. С целью определения эффективности влияния циклоспорина на функционирование фильтрационных подушек и пролиферацию фибробластов после проведения трабекулэктомии с имплантацией дренажей, был поставлен эксперимент на кроликах. 11 особям (группа В) в течение 2 недель после выполнения данной операции закапывали в глаз 2% эмульсию циклоспорина дважды в день. 12 особей контрольной группы (группа А) лечения циклоспорином не получали. Было замечено значительное снижение ВГД у особей группы В на 1, 2, 4 и 8 неделях после операции ( $n=12$ ,  $p<0,05$ ). Плотность фибробластов отличалась незначительно у особей обеих групп. Результаты данного исследования позволили предположить, что 2% эмульсия циклоспорина может быть эффективной при дренажной хирургии глаукомы [46].

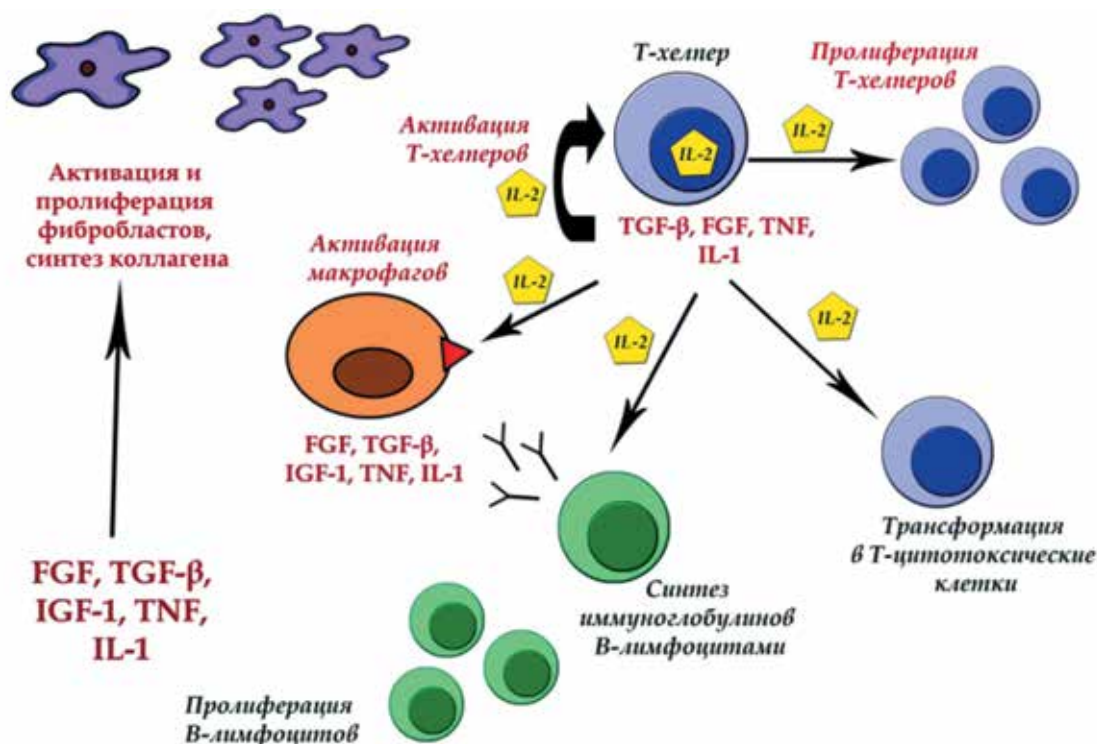


Рис. 2. Влияние интерлейкина-2 (IL-2) на процессы рубцевания: TGF-β – трансформирующий фактор роста β; FGF – фактор роста фибробластов; TNF – фактор некроза опухоли; IL-1 – интерлейкин-1; IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1

Исследователи F.A. Lattanzio et al. провели эксперимент на белых новозеландских кроликах, которым была выполнена фильтрующая операция по поводу глаукомы с установкой дренажных трубок. Эксперимент предполагал разделение всех подопытных кроликов на три группы. Контрольная группа подверглась хирургическому лечению глаукомы без интраоперационного применения каких-либо лекарственных препаратов. Второй группе во время операции выполняли аппликацию ММС в концентрации 0,4 мг/мл в зоне вмешательства в течение 5 минут. Третьей группе во время операции выполняли субконъюнктивальную инъекцию 0,1 мл циклоспорина А в концентрации 50 мг/мл. Во всех трех группах не было значимой разницы в исходных значениях ВГД. В контрольной группе ВГД снизилось до  $15,4 \pm 1,3$  мм рт.ст. В группе, оперированной с ММС — до  $13,3 \pm 1,5$  мм рт.ст. В третьей группе, подвергшейся субконъюнктивальному введению циклоспорина А — до  $16,8 \pm 1,6$  мм рт.ст. Через 28 дней ВГД в группе, получавшей ММС, было достоверно ниже, чем в остальных двух группах. Что касается фильтрационных подушек, то в контрольной группе возвышающаяся фильтрационная подушка просуществовала  $15,1 \pm 3,2$  дня; в группе, получавшей циклоспорин, —  $12,2 \pm 2,1$  дня; в группе, получавшей митомицин С, —  $27,5 \pm 1,7$  дня. В том случае, когда местное лечение циклоспорином следовало за интраоперационным применением митомицина С,

фильтрационная подушка сохранялась в течение  $19 \pm 4,6$  дня. Снижение ВГД в группе с митомицином С сохранилось в течение значительно более длительного времени, чем в остальных двух группах [11]. Таким образом, в данном исследовании эффективность CsA в хирургическом лечении глаукомы не подтверждена, что может быть связано с недостаточной длительностью нахождения препарата в зоне вмешательства при субконъюнктивальном введении [45].

Одними из последних провели исследования на данную тему ученые из Филадельфии (Ghasem Fakhraie et al.). Чтобы определить, оказывает ли постоперационное применение 0,5% эмульсии циклоспорина положительный эффект на результаты трабекулэктомии, были исследованы 44 пациента, нуждавшихся в хирургическом лечении глаукомы. После операции 19 пациентам опытной группы закапывали в прооперированный глаз 0,5% эмульсию циклоспорина (Рестасис) один раз в день, а 20 пациентам из контрольной группы — искусственную слезу. Результаты оценивали на 1 и на 6-й месяцы после операции. Исходное ВГД у пациентов первой группы составило  $23,8 \pm 12,6$  мм рт.ст., у пациентов второй группы —  $25,9 \pm 10,6$  мм рт.ст. Спустя 6 месяцев после операции ВГД у пациентов опытной группы составило  $14,88 \pm 6,2$  мм рт.ст., а у пациентов контрольной группы —  $14,62 \pm 5,46$  мм рт.ст. Не было достоверной разницы между острой

зрения, показателями пробы Ширмера и степенью гиперемии конъюнктивы у пациентов обеих групп. Однако среди пациентов опытной группы значительно реже встречались заболевания поверхности глаза в течение 6 месяцев после операции, что выразалось в меньшей интенсивности синдрома «сухого глаза» и значительном уменьшении болей в глазу. По результатам данного исследования был сделан вывод, что местное применение 0,5% эмульсии циклоспорина после трабекулэктомии способствовало уменьшению интенсивности послеоперационного раздражения и уровня дискомфорта, но не оказало значительного влияния на функционирование фильтрационной подушки и на уровень ВГД ввиду низкой концентрации препарата и неадекватного его проникновения через конъюнктиву и роговицу [44].

Таким образом, литературные данные о местном применении циклоспорина в хирургическом лечении глаукомы весьма противоречивы. Однако следует отметить, что большинство исследователей рассматривали лишь послеоперационное применение данного препарата. В изученной литературе не было встречено данных о целенаправленном интраоперационном применении циклоспорина в виде аппликации в зоне гипотензивного вмешательства. Описанный выше механизм действия данного препарата позволяет предположить, что его применение непосредственно в области хирургического вмешательства может привести к снижению интенсивности послеоперационного рубцевания. Для развития достаточного эффекта необходимо поддержание его терапевтической концентрации в зоне вмешательства в течение первых дней после операции. Данная цель может быть достигнута путем предварительного насыщения коллагенового дренажа, не подвергающегося биодеструкции, раствором лекарственного препарата. Его пористая структура позволяет депонировать, а затем равномерно высвобождать препарат. В литературе описана методика насыщения коллагенового имплантата раствором цитокинов, при этом экспериментально доказано, что постепенное распределение компонентов препарата в окружающую среду происходит в течение первых двух дней после вмешательства [48-50]. Однако возможность насыщения коллагенового дренажа раствором циклоспорина А все же нуждается в экспериментальных доказательствах.

### Вопросы безопасности интраоперационного применения циклоспорина А

Любой препарат, используемый во время хирургического лечения глаукомы, оказывает влияние на ткани в зоне его непосредственного применения, а также может диффундировать в переднюю камеру и оказывать воздействие на задний эпителий роговицы [52]. Показания к применению

циклоспорина А не включают интраоперационное использование. Поэтому возникает вопрос о безопасности его местного применения в зоне хирургического вмешательства, в частности, о его воздействии на окружающие ткани, в том числе на склеру и роговицу [51, 54-58].

В 2003 г. Tang-Liu D.D., Acheanpong A. было проведено исследование безопасности применения циклоспорина А *in vitro* и *in vivo* при синдроме «сухого глаза». Эксперимент был выполнен на культуре клеток заднего эпителия роговицы человека от 9-месячного донора. До исследования данные клетки демонстрировали все признаки пролиферации, роста и митоза, имели нормальные ядра, в их цитоплазме отсутствовали вакуоли. После воздействия на данные клетки циклоспорином А в концентрации 1000 мкг/л (1 мкг/мл) в течение 7 дней снова была изучена их морфология. В цитоплазме не появились дегенеративные вакуоли. Клетки поддерживали нормальную морфологическую структуру и имели ту же митотическую активность, что и контрольная культура клеток, не подвергавшаяся воздействию лекарственного вещества. Также не было отмечено отрицательных эффектов растворов циклоспорина А в концентрациях 100 мкг/мл и 250 мкг/мл на культуры стромальных клеток роговицы. Однако синтез ДНК культурой эпителиальных клеток снизился на 10-15% после воздействия данных концентраций циклоспорина А [58].

В 2006 г. было опубликовано исследование J.G. Garweg et al. о воздействии иммуносупрессантов (даунорубицина, митомицина С, азатиоприна и циклоспорина А) на ткани глаза, а именно: пигментный эпителий сетчатки, задний эпителий роговицы, клетки эпителия конъюнктивы (клетки Ченга). Для оценки токсичности были использованы концентрации препаратов от 0,01 до 50 мкг/мл. Для достижения концентрации 100 мкг/мл циклоспорин А («Fluka», Buchs, Швейцария) был последовательно растворен в 99%, 50% и 2,5% растворах этанола в соответствии с инструкциями производителя. Острый токсический эффект антиметаболитов был исследован только на культуре клеток Ченга, т. к. концентрации исследуемых лекарственных веществ, проникающие во внутренние структуры глаза, недостаточны для возникновения острого токсического эффекта. Острая токсичность оценивалась по накоплению нежизнеспособными клетками пропидиум йодида, что количественно измерялось с помощью цитофлуорометрии. Циклоспорин А привел к повышению уровня клеточной гибели при экспозиции в течение 90 минут в концентрациях больше 50 мкг/мл. Меньшие концентрации циклоспорина не оказывали цитотоксического эффекта. Другие исследуемые антиметаболиты не проявили острой цитотоксичности в любых концентрациях. Хроническая токсичность изучалась по снижению эстеразной активности и подавлению

клеточного роста после 7-дневной непрерывной экспозиции исследуемых препаратов. Именно данный период является наиболее критичным в отношении процессов послеоперационного рубцевания. Все три клеточные культуры отвечали одинаково на экспозицию циклоспорина. Его концентрации меньше 5 мкг/мл не приводили ни к значительному подавлению клеточного роста, ни к снижению эстеразной активности. Циклоспорин А в концентрации 50 мкг/мл приводил к подавлению клеточного роста на 80%. В то же время хроническая цитотоксичность митомидина С в наибольшей степени сказалась на культуре клеток заднего эпителия роговицы. При концентрации ММС 0,01 мкг/мл плотность клеток снизилась на 61%, однако эстеразная активность все еще сохранялась на уровне выше 80%. При повышении концентрации ММС до 0,1 мкг/мл плотность клеток стремилась к нулю, а эстеразная активность была на уровне 12% [56].

### Заключение

Таким образом, детальный разбор механизма действия циклоспорина А на молекулярном уровне выявляет его непосредственное влияние на каскад воспалительного процесса, запускающего в итоге нежелательную избыточную пролиферацию фибробластов в зоне операции. Данный препарат перспективен в отношении повышения эффективности гипотензивных вмешательств при глаукоме. Необходимо проведение исследований для установления безопасной концентрации и разработки методики применения циклоспорина А интраоперационно. В случае положительного результата циклоспорин А может стать достойной альтернативой применяемым в настоящее время «off label» антимиетаболитам и цитостатикам.

### Литература/References

1. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* 2014; 121(11):2081-2090. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
2. Астахов Ю.С., Егоров Е.А., Астахов С.Ю., Брезель Ю.А. Хирургическое лечение «рефрактерной» глаукомы. *Клиническая офтальмология* 2006; 7(1):25-27. [Astakhov Yu.S., Egorov E.A., Astakhov S.Yu., Brezel' Yu.A. Surgical treatment of refractory glaucoma. *Clinical ophthalmology* 2006; 7(1):25-27. (In Russ.)].
3. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 4th ed. Italy, 2014; European Glaucoma Society.
4. Svenkel B., Kopitar A.N., Ihan A. Inflammatory molecules in aqueous humour and on ocular surface and glaucoma surgery outcome. *Mediators of inflammation* 2010; 939602. doi:10.1155/2010/939602.
5. Глаукома. Национальное руководство. Под ред. Е.А. Егорова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2014: 824 с. [Glaucoma. *Natsional'noe rukovodstvo* [Glaucoma. National guidance]. Ed. by Egorov E.A. M.: GEOTAR-media; 2013; 824 p. (In Russ.)].
6. Бабушкин А.Э. Повторные антиглаукоматозные фистулизирующие операции (обзор литературы). *Вестник офтальмологии* 1990; 2:74-78. [Babushkin A.E. Repeated anti-glaucoma filtering surgery (literature review). *Vestn Oftalmol* 1990; 2:74-78. (In Russ.)].
7. Шмырева В.Ф., Петров С.Ю., Макарова А.С. Причины снижения отдаленной гипотензивной эффективности антиглаукоматозных операций и возможности ее повышения. *Глаукома* 2010; 9(2):43-49. [Shmyreva V.F., Petrov S.Yu., Makarova A.S. Causes of glaucoma surgery efficacy decrease in the late post-operative period and the methods of its enhancement. *Glaukoma* 2010; 2(9):43-49. (In Russ.)].
8. Лебедев О.И., Яворский А.Е., Столяров Г.М., Молчанова Е.В., Ковалевский В.В. Профилактика избыточного рубцевания при непроникающей глубокой склерэктомии. *Национальный журнал глаукома* 2011; 10(1):32-36. [Lebedev O.I., Yavorskiy A.V., Stolyarov G.M., Molchanova E.V., Kovalevskiy V.V. Prevention of excessive scarring in non-penetrating deep sclerectomy. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma* 2011; 10(1):32-36. (In Russ.)].
9. Peng T. Khaw, Jones E., Mireskandari K., Dahlmann A., Cambrey A. Modulating wound healing after glaucoma surgery. *Glaucoma today* July/August 2004; 12-19.
10. Yamanaka O., Kitano-Izutani A., Tomoyose K., Reinach P. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmology* 2015; 15 (suppl. 1): 19-27.
11. Van Bergen T., Van de Velde S., Van de Walle E., Moons L., Stalmans I. Improving patient outcomes following glaucoma surgery: state of the art and future perspectives. *Clinical Ophthalmology* 2014; 8:857-867.
12. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патопфизиология. Том 1. Общая патопфизиология с основами иммунопатологии. СПб: ЭЛБИ-СПб., 2008; 656 с. [Zaichik A.Sh., Churilov L.P. *Patofiziologiya*. Tom 1. Obshchaya patofiziologiya s osnovami immunopatologii [Pathophysiology. Vol. 1. General pathophysiology with the course of immunopathology]. St. Petersburg: ELBI-SpB Publ., 2008; 656 p. (In Russ.)].
13. Молекулярные механизмы воспаления: учебное пособие. Под ред. В.А. Черешнева. Екатеринбург: УрО РАН, 2010; 262 с. [Molekulyarnye mekhanizmy vospaleniya: uchebnoe posobie [The molecular mechanisms of inflammation: A Textbook]. Edited by V.A. Chereshevnev. Yekaterinburg: Ural Branch of RAS, 2010; 261 p. (In Russ.)].
14. Kumar V., Abbas K. Abbas, Fausto N., Aster J. Robbins and Cotran *Pathologic Basis of Disease*, 9th Edition. 2014. Elsevier Saunders, Italy; 1408 p.
15. Khaw P.T., Occeleston N.L., Schultz G., Grierson I., Sherwood M.B., Larkin G. Activation and suppression of fibroblast function. *Eye (Lond)* 1994; 8(Pt 2):188-195.
16. Lei D., Dong C., Wu W.K., Dong A., Li T., Chan M.T., Zhou X., Yuan H. Lentiviral delivery of small hairpin RNA targeting connective tissue growth factor blocks profibrotic signaling in tenon's capsule fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(13): 5171-5180. doi: 10.1167/iops.16-19480.
17. Liu Y., Liu Y., Xu D., Li J. Latanoprost-induced cytokine and chemokine release from human tenon's capsule fibroblasts: role of MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *J Glaucoma* 2015; 24(9):635-641. doi: 10.1097/IJG.0000000000000140.
18. Cunliffe I.A., Richardson P.S., Rees R.C., Rennie I.G. Effect of TNF, IL-1, and IL-6 on the proliferation of human Tenon's capsule fibroblasts in tissue culture. *Br J Ophthalmol* 1995; 79(6):590-595.
19. Daniels J.T., Schultz G.S., Blalock T.D., Garrett Q., Grotendorst G.R., Dean N.M., Khaw P.T. Mediation of transforming growth factor-beta(1)-stimulated matrix contraction by fibroblasts: a role for connective tissue growth factor in contractile scarring. *Am J Pathol* 2003; 163(5):2043-2052.
20. Occeleston N.L., Alexander R.A., Mazure A., Larkin G., Khaw P.T. Effects of single exposures to antiproliferative agents on ocular fibroblast-mediated collagen contraction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35(10):3681-3690.
21. Chang L., Crowston J.G., Cordeiro M.F., Akbar A.N., Khaw P.T. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol* 2000; 45(1):49-68.
22. Masoumpour M.B., Nowroozadeh M.H., Razeghinejad M.R. Current and future techniques in wound healing modulation after glaucoma filtering surgeries. *Open Ophthalmol J* 2016; (10): 68-85. doi: 10.2174/1874364101610010068.
23. Vijaya L., Manish P., Ronnie G., Shantha B. Management of complications in glaucoma surgery. *Indian J Ophthalmol* 2011; 59(Suppl1): S131-S140. doi: 10.4103/0301-4738.73689.



24. Lockwood A., Brocchini S., Khaw P.T. New developments in the pharmacological modulation of wound healing after glaucoma filtration surgery. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13(1):65-71. doi: 10.1016/j.coph.2012.10.008.
25. Fan Gaskin J.C., Nguyen D.Q., Soon Ang G., O'Connor J., Crowston J.G. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery — conventional practices and new perspectives: the role of antifibrotic agents (Part I). *J Curr Glaucoma Pract* 2014; 8(2):37-45. doi: 10.5005/jp-journals-10008-1159.
26. Fan Gaskin J.C., Nguyen D.Q., Soon Ang G., O'Connor J., Crowston J.G. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery — conventional practices and new perspectives: antivasular endothelial growth factor and novel agents (Part II). *J Curr Glaucoma Pract* 2014; 8(2):46-53. doi: 10.5005/jp-journals-10008-1160. Epub 2014 Jun 12.
27. Khaw P.T. Advances in glaucoma surgery: evolution of antimetabolite adjunctive therapy. *J Glaucoma* 2001; 10(5 Suppl 1):S81-4.
28. Khaw P.T. Antiproliferative agents and the prevention of scarring after surgery: friend or foe? *Br J Ophthalmol* 1995; 79(7):627.
29. Daniels J.T., Ocleston N.L., Crowston J.G., Khaw P.T. Effects of antimetabolite induced cellular growth arrest on fibroblast-fibroblast interactions. *Exp Eye Res* 1999; 69(1):117-127.
30. Khaw P.T., Sherwood M.B., MacKay S.L., Rossi M.J., Schultz G. Five-minute treatments with fluoruracil, floxuridine, and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch Ophthalmol* 1992; 110(8): 1150-1154.
31. Van Bergen T., Jonckx B., Moons L., Feyen J.H., Stalmans I. The Combination of PIGF inhibition and MMC as a novel anti-scarring strategy for glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(10):4347-55. doi: 10.1167/iovs.16-19725.
32. Cheng J.W., Cheng S.W., Wei R.L., Lu G.C. Anti-vascular endothelial growth factor for control of wound healing in glaucoma surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; (1):CD009782. doi: 10.1002/14651858.CD009782.pub2.
33. Cordeiro M.F. Beyond Mitomycin: TGF-beta and wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2002; 21(1):75-89.
34. Amoozgar B., Lin S.C., Han Y., Kuo J. A role for antimetabolites in glaucoma tube surgery: current evidence and future directions. *Curr Opin Ophthalmol* 2016; 27(2):164-169. doi: 10.1097/ICU.0000000000000244.
35. Cabourne E., Clarke J.C., Schlottmann P.G., Evans J.R. Mitomycin C versus 5-Fluorouracil for wound healing in glaucoma surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; (11):CD006259. doi: 10.1002/14651858.CD006259.pub2.
36. Tatlipinar S., Akpek E.K. Topical cyclosporine in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2005; 89(10):1363-1367.
37. Faulds D., Goa K.L., Benfield P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993; 45(6):953-1040.
38. Tatlipinar S., Akpek E.K. Topical cyclosporin in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2005; 89:1363-1367. doi:10.1136/bjo.2005.070888.
39. Crabtree G.R. Calcium, calcineurin, and the control of transcription. *J Biol Chem* 2001; 276(4):2313-2316. Epub 2000 Nov 28.
40. Matsuda S., Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology* 2000; 47(2-3):119-125.
41. Hogan P.G., Chen L., Nardone J., Rao A. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev* 2003; 17(18): 2205-2232.
42. Wang Ping, Heitman J. The cyclophilins. *Genome Biol* 2005; 6(7):226.
43. Rusnak F., Mertz P. Calcineurin: form and function. *Physiol Rev* 2000; 80(4):1483-1521.
44. Fakhraie G., Lopes J.F., Spaeth G.L., Almodin J., Ichhpujani P., Mosler M.R. Effects of postoperative cyclosporine ophthalmic emulsion 0.05% (Restasis) following glaucoma surgery. *Clin Exper Ophthalmol* 12/2009; 37(9):842-848.
45. Lattanzio F.A. Jr., Crouch E.R. Jr., Mitrev P.V., Williams P.B., Allen R.C. Cyclosporin as an adjunct to glaucoma filtration surgery. *J Glaucoma* 2005; 14(6).
46. Park K.H., Kim D.M., Youn D.H. Topical cyclosporine and glaucoma drainage implant surgery in rabbits. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996; 27(6):452-458.
47. Turaçlı M.E., Gündüz K., Aktan G., Sencer H. Topical cyclosporine as a possible new antimetabolite in trabeculectomy. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996; 27(6):438-444.
48. Hondur A., Onol M. Nonpenetrating glaucoma surgery: Meta-analysis of Recent Results. *J Glaucoma* 2008; 17(2):139-146.
49. Анисимова С.Ю., Анисимов С.И., Рогачева И.В., Панасюк А.Ф., Ларионов Е.В. Новый нерассасываемый коллагеновый дренаж для повышения эффективности непроникающей глубокой склерлимбэктомии. *Глаукома* 2003; 1:19-24. [Anisimova S.Yu., Anisimov S.I., Rogachyova I.V., Panasuk A.F., Laryonov E.V. New non-absorbed collagen implant increases the efficacy of the non-penetrating deep sclerlimbectomy. *Glaucoma* 2003; 1:19-24. (In Russ.)].
50. Анисимова С.Ю., Анисимов С.И., Рогачева И.В. Отдаленные результаты хирургического лечения рефрактерной глаукомы с использованием стойкого к биодеструкции коллагенового дренажа. *Глаукома* 2011; (2):28-33. [Anisimova S.Yu., Anisimov S.I., Rogacheva I.V. Long-term results of surgical treatment of refractory glaucoma with biodestruction resistant collagen anti-glaucomatous drainage. *Glaucoma* 2011; 2:28-33. (In Russ.)].
51. Thomson A.W., Whiting P.H., Simpson J.G. Cyclosporine: immunology, toxicity and pharmacology in experimental animals. *Agents Actions* 1984; 15(3-4):306-327.
52. Vernillet L., Lundh R.L., Acezat-Mispelter F., Goizel C., Humbert H., Pouliquen Y. Ocular distribution of cyclosporin A (Sandimmun) following systemic and topical administration to rabbits. *Eur J Drug Metab Pharmacokin* 1991; 3:150-158.
53. Kuwano M., Ibuki H., Morikawa N., Ota A., Kawashima Y. Cyclosporine A formulation affects its ocular distribution in rabbits. *Pharm Res* 2002; 19(1):108-111.
54. Theng J., Zhou L., Tan D., La K.W. Distribution of cyclosporin A in the cornea after topical or oral administration. *J Ocul Pharmacol Ther* 2002; 18(1):83-88.
55. Pérez-Rico C., Germain F., Castro-Rebollo M., Moreno-Salgueiro A., Teus M.Á. Effect of topical 0.05% cyclosporine A on corneal endothelium in patients with dry eye disease. *Int J Ophthalmol* 2013; 6(4):471-474. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2013.04.12.
56. Garweg J.G., Wegmann-Burns M., Goldblum D. Effects of dauno-rubicin, mitomycin C, azathioprine and cyclosporin A on human retinal pigmented epithelial, corneal endothelial and conjunctival cell lines. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244(3): 382-389. Epub 2005 Aug 10.
57. Ben Ezra D., Maftzir G., de Courten C., Timonen P. Ocular penetration of cyclosporin A. III: The human eye. *Br J Ophthalmol* 1990; 74(6):350-352.
58. Tang-Liu D.D., Acheampong A. Ocular pharmacokinetics and safety of cyclosporin, a novel topical treatment for dry eye. *Clin Pharmacokin* 2005; 44(3):247-261.

Поступила 11.12.2016