

М. Р. Нариманова // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – № 3. – С. 53–54.

8. Photodynamic therapy of vulvar lichen sclerosus et atrophicus in a woman with hypothyreosis-case report / B. J. Osiecka, P. Nockowski, K. Jurczyszyn, P. Ziolkowski // Photodiagnos. Photodynam. Ther. – 2012. – Vol. 9. № 2. – P. 186–8.

9. Proactive maintenance therapy with a topical corticosteroid for vulvar lichen sclerosus: preliminary results of a randomized

study / A. Virgili, S. Minghetti, A. Borghi, M. Corazza // Brit. j. dermatol. – 2013. – Vol. 168. № 6. – P. 1316–24.

10. Prospective clinical and epidemiologic study of vulvar lichen sclerosus: analysis of prevalence and severity of clinical features, together with historical and demographic associations / A. Virgili, A. Borghi, G. Toni [et al.] // Dermatology. – 2014. – Vol. 228. № 2. – P. 145–51.

Поступила

**А. Н. СТЕБЛЮК¹, Н. В. КОЛЕСНИКОВА², В. Э. ГЮНТЕР³, А. А. ЦЕРКОВНАЯ³,
С. В. ГЮНТЕР³, О. В. КОКОРЕВ³, С. Г. АНИКЕЕВ³**

УРОВЕНЬ ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В УСЛОВИЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ШОВНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА ПРИ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ОПЕРАЦИЯХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Краснодарский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения России
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Красных партизан, 6;

²ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4;

³НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы СФТИ при ТГУ,
г. Томск, ул. 19 Гвардейской дивизии, 17

В работе дана сравнительная оценка состояния цитокинового профиля влаги передней камеры глаз экспериментальных кроликов при использовании монолитной нити из никелида титана и традиционного шовного материала при гипотензивных операциях.

В эксперименте на 10 взрослых кроликах исследовалась влага передней камеры (ВПК) глаза, взятая на 3, 7 и 30-е сутки и через 3 месяца после гипотензивного вмешательства с использованием в качестве шовного материала монолитной нити из никелида титана ТН-10. Контрольную группу составили 5 кроликов, которым было произведено гипотензивное вмешательство с использованием традиционного шовного материала, а также 6 интактных кроликов (фоновый уровень). В исследуемой биологической жидкости (ВПК) животных оценивали содержание цитокинов (И-1 β , ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-10) методом иммуноферментного анализа.

Установлен противоположный характер изменения баланса цитокинов и соотношения его про- и противовоспалительного звена в динамике после интраокулярной имплантации шовной нити ТН-10, что свидетельствует о позитивном противовоспалительном влиянии шовной нити из никелида титана и выражается в значительном снижении провоспалительного компонента баланса цитокинов, максимально проявляющемся в наиболее отдаленные сроки мониторинга, а также клинически ареактивном течении послеоперационного периода у животных опытной группы относительно группы сравнения.

Ключевые слова: цитокины, никелид титана, гипотензивные глазные операции, кролики.

**A. N. STEBLYUK¹, N. V. KOLESNIKOVA², V. E. GUNTER³, A. A. TSERKOVNAYA²
S. V. GUNTER³, O. V. KOKOREV³, S. G. ANIKEEV³**

**LEVEL OF LOCAL CYTOKINE PRODUCTION IN THE EVENT OF NICKELID TITANIUM SUTURE
MATERIAL USE IN EXPERIMENTAL SURGICAL HYPOTENSION EYE OPERATION**

¹S. N. Fyodorov eye Microsurgery complex, Krasnodar branch of the Ministry
of Health of the Russian Federation
Russia, 350000, Krasnodar, 6, Krasnykh Partizan str.;

²Kuban state medical university, state budget-financed institution of higher professional education of the Ministry of health of the Russian Federation, Russia, Krasnodar, 4, Sedin str.;

³Research institute of shape memory material under Siberian physico-technical institute and Tomsk state university Tomsk 17, 19th Gvardeyskaya divizia str.

Comparative assessment of cytokine moisture in aqueous chamber with experimental rabbits while use of nickelid titanium suture and in case of traditional suture material in hypotension operations.

During the experiment, moisture in aqueous chamber has been studied with 10 adult rabbits, the samples were taken on 3rd, 7th and 30th days and in 3 months after hypotension surgery administered with nickelid titanium suture used as a retention suture. Control group consisted of 5 rabbits, for whom hypotension surgery has been performed with traditional suture material and of 6 intact rabbits. Amount of cytokines in biological fluid (aqueous chamber moisture – ACM) of the animals has been investigated in with enzyme immunodetection method to identify content of cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-2, IL-10).

The adverse nature of cytokines balance change and quotient of its pro – and anti-inflammatory components in the dynamics after intraocular implantation with TH-10 suture, that indicates positive anti-inflammatory influence of retention suture of nickelid titanium and becomes evident in significant reduction of anti-inflammatory component in cytokine balance, that develops in the farthest monitoring terms, as well as in clinically unresponsive post-operative course with animals of test group compared to comparison group.

Key words: cytokines, nickelid titanium, hypotensive eye surgery, rabbits.

Введение

Сочетание таких патологических процессов, как глаукома, катаракта, дефекты цинновых связок, радужной оболочки и сетчатой оболочки на одном глазу, – ситуация нередкая, сложная для реконструкции и требующая практического решения. Микроинвазивные вмешательства в офтальмологии позволяют решать сложные задачи фиксации тканей без применения шовного материала, например, стандартная хирургия малого разреза в лечении катаракты, витреоретинальная хирургия, рефракционная хирургия. Но этого не всегда достаточно для надёжной герметизации и сохранения нормального анатомического положения тканей глазного яблока. Одним из основных направлений в разрешении проблем хирургических вмешательств в офтальмологии является раздел, включающий вопросы заживления посттравматических и операционных ран. Основным методом лечения повреждений является хирургическое наложение швов, которое способствует сопоставлению краёв раны с последующим рубцеванием. Известные хирургические шовные материалы – кетгут, шёлк, нейлон, полимеры – обладают существенными недостатками, снижающими надёжность шва: низкая временная прочность на разрыв нити и в узле, изменение характеристик во влажном состоянии, стимуляция фибробластоза и хронического воспаления в зоне соединения тканей и другие. Эти недостатки практически устранены в хирургических шовных материалах из сплава на основе никелида титана [1, 3]. Данные шовные материалы проявляют

высокую степень биосовместимости и коррозионной стойкости в динамических условиях, что позволяет их использование при гипотензивных вмешательствах. В хирургии глаукомы, несмотря на приоритет минимизации операционной травмы, период активного рубцевания продолжается до 3–6 месяцев в силу особенностей послеоперационного течения данного заболевания [5], в том числе из-за несовершенства шва и традиционного шовного материала. Для профилактики повторных операций целесообразно уменьшить риск избыточного рубцевания в гипотензивной хирургии, в основе которого лежит повышенная активность пролиферативных воспалительных процессов. Исходя из известного преобладания роли местного иммунитета над системным при травмировании иммунологически привилегированного глаза [6, 7], целью исследования явилось изучение локального уровня содержания про- и противовоспалительных цитокинов у экспериментальных животных в динамике при гипотензивных вмешательствах с фиксацией краёв раны хирургическим шовным материалом из никелида титана в сравнении с традиционным шовным материалом.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования явилась влага передней камеры (ВПК) глаза экспериментальных животных – 10 кроликов породы шиншилла обоего пола в возрасте до 2 лет, взятая на 3, 7 и 30-е сутки и через 3 месяца после гипотензивного вмешательства с использованием в качестве шовного материала монолитной нити из

никелида титана (МНТ) ТН-10 (1-я группа). Контрольную группу составили 5 кроликов, которым было произведено гипотензивное вмешательство с использованием традиционного шовного материала (2-я группа, группа сравнения), а также 6 интактных кроликов (3-я группа, фоновый контроль). Содержание животных и экспериментальные работы осуществлялись согласно требованиям Приказа Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и «Правил проведения работ с использованием лабораторных животных» (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Данное научное исследование (№ 8.1.42.2015) выполнено при поддержке программы «Научный фонд им. Д. И. Менделеева Томского государственного университета» в 2014–2015 гг. Операции проводились под общим обезболиванием (внутримышечное введение 0,4 мл раствора золетила 100 (VIRBAC, Франция) на 1 кг массы животного, в инстилляциях – инокаин 0,4%). Использовался медицинский бинокулярный стереоскопический (МБС) микроскоп «Ломо» (Россия), оборудованный под операции на животных. Животное фиксировали на подставке к бинокулярному операционному микроскопу. Устанавливали векорасширитель. Конъюнктивальную полость промывали раствором левомицетина 0,25%. Выполнялся разрез конъюнктивы на протяжении 5–6 мм, от лимба 6–7 мм, с рассечением теноновой капсулы. Отсепаровка конъюнктивы в сторону лимба с последующим гемостазом. Из поверхностных слоев склеры на глубину 150–200 мкм выкраивался прямоугольный лоскут размером 4 x 4 мм основанием к лимбу. Из глубоких слоев склеры формировали ложе. Дно ложа формировалось с минимальной рельефностью над цилиарным телом. Производилось вскрытие передней камеры по ширине лезвия. Возвращали склеральный козырёк в исходное положение. Накладывали на склеру, затем на конъюнктиву непрерывный шов из монолитной нити на основе никелида титана (МНТ) сечением 45 мкм (группа 1). В контрольной группе животных (2-я группа, группа сравнения) произведено аналогичное перфорирующее гипотензивное вмешательство с использованием традиционного шовного материала (нейлон 8/0). Накладывали два узловых шва на склеральный козырёк и непрерывный шов на конъюнктиву. Шов с конъюнктивы удалялся на 7-е сутки в группах наблюдения после гипотензивного вмешательства.

В исследуемой биологической жидкости (ВПК) животных опытной (группа 1) и контрольной (группы 2 и 3) групп оценивали содержание цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-10) методом

иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) на анализаторе «ASCENT» (Финляндия). Методика статистического анализа включала расчет медианы (Me), верхнего (p75) и нижнего (p25) квартилей распределения. Данные представлены в виде Me (p25; p75). Достоверность различий между группами определяли при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни (попарные сравнения независимых совокупностей показателей) с определением уровня значимости (p) при использовании компьютерной программы «Statistica 6.15 for Windows» (США «StatSoft Inc»). Достоверными считались различия при уровне значимости $p \leq 0,05$, уровень значимости различий между группами обозначены подстрочными индексами – p_{I-II} , p_{I-III} и p_{II-III} соответственно.

Результаты и обсуждение

Исследованиями показано, что в послеоперационный период у животных основной группы и группы сравнения имеют место отличительные особенности динамики изменения концентрации про- и противовоспалительных цитокинов ВПК, зависящие от сроков мониторинга (таблица). В частности, проведение операции в области глаза у экспериментальных кроликов вызывало достоверное увеличение продукции провоспалительного цитокина ИЛ-1 β во все сроки мониторинга, однако при использовании МНТ имело место среднее для всех сроков исследования увеличение данного показателя в 1,65 раза, а при использовании традиционного шовного материала – в 2 раза относительно фоновых значений. Кроме того, в основной опытной группе в наиболее отдаленные сроки (через 3 месяца) концентрация ИЛ-1 β во влаге передней камеры глаза составила $3,80 \pm 0,29$ против $2,40 \pm 0,21$ в фоновом контроле, а в группе сравнения – $5,56 \pm 0,61$ против $2,40 \pm 0,21$ в фоновом контроле, что свидетельствует о более низкой воспалительной реакции в послеоперационный период у оперированных животных с интраокулярной имплантацией монолитного никелида титана (таблица).

Локальная продукция провоспалительного ФНО α в основной опытной группе и в группе сравнения была в течение первого месяца мониторинга (3, 7 и 30 суток) на уровне фонового контроля, однако к 3-му месяцу наблюдения данный показатель в 3,3 раза был ниже такового в фоновом контроле лишь при использовании в качестве шовного материала МНТ, тогда как при использовании традиционного шовного материала концентрация ФНО- α во влаге передней камеры глаза превышала не только фоновый уровень, но и среднее ее

Изменение цитокинов влаги передней камеры глаза кроликов в динамике наблюдения во всех исследуемых группах животных ($M \pm m$, p)

Группа основная	С использованием хирургической шовной монолитной нити из никелида титана (группа 1, $n=10$)			
	ИЛ-1 β , пкг/мл	ФНО- α , пкг/мл	ИЛ-2, пкг/мл	ИЛ-10, пкг/мл
3-и сут.	3,76 \pm 0,43 $P \leq 0,149$	4,61 \pm 0,51 $P \leq 0,019$	7,72 \pm 0,85 $P \leq 0,221$	5,26 \pm 0,49 $P \leq 0,028$
7-е сут.	4,36 \pm 0,53 $P \leq 0,062$	5,57 \pm 0,65 $P \leq 0,014$	8,98 \pm 0,96 $P \leq 0,014$	8,03 \pm 0,94 $P \leq 0,808$
30-е сут.	3,84 \pm 0,39 $P \leq 0,347$	5,49 \pm 0,61 $P \leq 0,025$	8,49 \pm 1,06 $P \leq 0,014$	7,33 \pm 0,88 $P \leq 0,347$
3 мес.	3,80 \pm 0,29 $P \leq 0,48$	1,81 \pm 0,19 $P \leq 0,596$	13,71 \pm 1,18 $P \leq 1$	10,50 \pm 1,12 $P \leq 0,0497$
Контроль, интактные кролики (группа 3, $n=6$)				
Фоновый контроль	2,40 \pm 0,21	5,91 \pm 0,63	6,83 \pm 0,86	7,80 \pm 2,20
Группа сравнения	Оперированные кролики с использованием традиционного шовного материала (группа 2, $n=5$)			
3-и сут.	4,44 \pm 0,53	5,93 \pm 0,70	7,94 \pm 0,92	12,10 \pm 1,29
7-е сут.	4,65 \pm 0,58	5,79 \pm 0,68	7,69 \pm 0,97	8,58 \pm 0,97
30-е сут.	4,13 \pm 0,70	5,45 \pm 0,63	9,02 \pm 0,85	8,73 \pm 0,79
3 мес.	5,56 \pm 0,61	7,11 \pm 0,82	7,98 \pm 0,80	8,35 \pm 0,79

Примечание: * – достоверность отличий от фонового контроля ($p < 0,05$); P – достоверность отличий от группы сравнения

значение, рассчитанное спустя 3, 7 и 30 суток от начала эксперимента (таблица). При оценке локального содержания регуляторного ИЛ-2 у животных с интраокулярной имплантацией МНТ было отмечено прогрессирующее его увеличение во все сроки наблюдения, наиболее выраженное через 3 месяца от начала эксперимента (13,71 \pm 1,18 против 6,83 \pm 0,86 в фоновом контроле), тогда как у животных группы сравнения достоверное увеличение содержания данного цитокина отмечено лишь через 30 дней, а спустя 3 дня, 7 дней и 3 месяца от начала эксперимента содержание ВПК глаза у животных не выходило за пределы значений у фоновых животных (таблица). Исследование содержания противовоспалительного ИЛ-10 на местном уровне (ВПК глаза) показало противоположный характер изменений в сравниваемых группах. Так, если в группе с использованием шовного материала из МНТ в ранние сроки (3 дня) наблюдения выявлено снижение его концентрации (в 1,5 раза), то в группе сравнения – возрастание уровня содержания ИЛ-10 в 1,6 раза. Через 7 и 30 суток наблюдения уровень содержания ИЛ-10 находился в пределах фонового контроля в обеих сравни-

ваемых группах, однако в самые отдаленные сроки мониторинга (через 3 месяца) увеличение содержания ИЛ-10 имело место лишь при использовании МНТ (таблица). Наиболее наглядно изменение баланса про- и противовоспалительных цитокинов во влаге передней камеры глаза в проводимом эксперименте демонстрирует величина провоспалительного индекса (ПВИ) как отношение суммы концентрации провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β и ФНО- α к концентрации противовоспалительного ИЛ-10, рассчитанная в отдаленные сроки мониторинга (через 3 месяца) (рисунок).

Согласно величине ПВИ в отдаленные сроки после гипотензивного вмешательства и использования в качестве шовного материала нити из МНТ провоспалительный потенциал влаги передней камеры глаза достоверно снижен не только относительно группы сравнения (традиционный шовный материал), но и в сравнении с таковым у фоновых животных.

Оценивая общее клиническое состояние кроликов, используемых в эксперименте, необходимо констатировать, что у большинства послеоперационный период клинически протекал ареактивно. В обеих группах прооперированных животных в

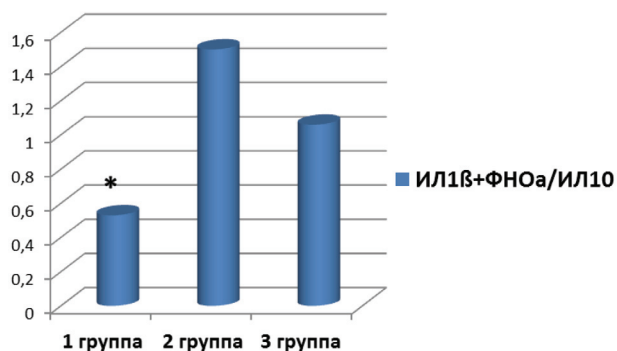


Рис. 1. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов во влаге передней камеры глаза экспериментальных кроликов через 3 месяца после гипотензивного вмешательства с использованием нити из МНТ (группа 1) и традиционного шовного материала (группа 2) относительно фонового контроля (группа 3)

Примечание: * – достоверность отличий от контроля и группы сравнения.

течение первых трёх суток после вмешательства имели место единичные случаи появления нитей фибрина в передней камере глаза, которые рассасывались к концу первой недели эксперимента. Образование рубца всегда проходит стадию воспаления, при этом объём тканей, соединённых нитью, увеличивается. За счёт свойств высокой биосовместимости, атравматичности, эластичности нового шовного материала состояние послеоперационного рубца было значительно лучше на глазах животных с использованием монолитной нити из никелида титана.

Таким образом, результатами эксперимента показано, что в послеоперационный период совершенно закономерным является увеличение продукции провоспалительных цитокинов во влаге передней камеры глаза, что в целом согласуется с известными данными об усиленной продукции провоспалительных цитокинов как на системном, так и на локальном уровне при травмировании глаза различной этиологии (раны, ожоги, операции), коррелирующей с тяжестью течения посттравматического периода [2, 4]. Между тем использование в качестве фиксирующего и шовного материала монолитной нити из никелида титана позволяет несколько нивелировать локальную воспалительную активность послеоперационного периода, о чем свидетельствуют отсутствие возрастания во все сроки исследования мощного провоспалительного моно-

кина – ИЛ-1β, а также достоверное превышение в отдаленные сроки мониторинга (через 3 месяца) уровня содержания противовоспалительного ИЛ-10 в ВПК глаза относительно не только фоновых животных, но и животных группы сравнения. Наряду с этим существенно, что спустя 3 месяца от начала эксперимента локальная концентрация провоспалительного ФНО-α в основной экспериментальной группе была ниже фоновой, а в группе сравнения достоверно выше таковой, что также свидетельствует о смещении провоспалительного компонента цитокинового баланса в сторону противовоспалительного при использовании в качестве шовного материала нити из МНТ. Анализ полученных данных в целом обосновывает целесообразность и предпочтение использования шовного материала на основе никелида титана при гипотензивных вмешательствах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ивченко О. А., Гюнтер В. Э., Дамбаев Г. Ц. и соавт.* Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. Том 10. Имплантаты с памятью формы в сосудистой хирургии. – Томск, 2012. – 176 с.
2. *Керимов К. Т., Джафаров А. И., Гахраманов Ф. С.* Ожоги глаз: патогенез и лечение, М.: РАМН, 2005. – 462 с.
3. *Стеблюк А. Н., Колесникова Н. В., Гюнтер В. Э.* Мониторинг цитокинового профиля влаги передней камеры глаза при хирургической обработке экспериментальных проникающих ран роговицы шовным материалом из никелида титана // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 4. (146) С. 110–115.
4. *Шилов Ю. И., Гаврилова Т. В., Черешнева М. В., Шилов С. Ю., Усова В. В., Медведева С. Ю., Блинкова Н. Б.* Механизмы изменений функций иммунной системы и иммунокорректирующего действия миелоида и полиоксидония при проникающем ранении глаза // Росс. иммунол. журнал. – 2013. – том 7(16). – № 2–3. – С. 211.
5. *Юрьева Т. Н., Волкова Н. В., Щуко А. Г., Малышев В. В.* Алгоритм реабилитационных мероприятий на этапах формирования путей оттока после непроникающей глубокой склерэктомии // Офтальмохирургия. – 2007. – № 4. – С. 67–71.
6. *Mondal S. K.* Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in conjunctiva // Indian j. pathol. microbiol. – 2008. – Vol. 51. № 3. – P. 407–408.
7. *Nichols J. E., Niles G. A., Roberts N. G.* Human lymphocytes apoptosis after exposure to influenza A virus // J. virol. – 2001. – Vol. 75. № 13. – P. 5921–5929.

Поступила