

Эксплантодренаж с наноструктурированной поверхностью для хирургии рефрактерной глаукомы

Рязанцева Т.В.¹, Кравец Л.И.²

Explantodrainage with nanostructured surface for refractory glaucoma surgery

Ryazantseva T.V., Kravets L.I.

¹ Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, г. Саратов

² Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна

© Рязанцева Т.В., Кравец Л.И.

Представлены результаты исследований по применению полимерных трековых мембран с наноструктурированной поверхностью в качестве эксплантодренажа для хирургического лечения рефрактерной глаукомы. Для наноструктурирования поверхностного слоя мембран применена обработка в кислородсодержащей плазме. В эксперименте *in vivo* изучена тканевая реакция глаз кроликов на имплантацию дренажа. Результаты гистологического исследования продемонстрировали минимальную воспалительную клеточную реакцию на дренаж. После антиглаукоматозных операций определялись плоские разлитые фильтрационные подушечки и во всех случаях была достигнута стойкая стабилизация внутриглазного давления.

Ключевые слова: полимерные трековые мембраны, обработка в плазме, наноструктурированная поверхность, рефрактерная глаукома.

This article presents the results of experimental research of nanostructured track membranes implantation as drainage for refractory glaucoma surgery. For nanostructuring of the membrane surface was applied a treatment by air plasma. Tissues reaction of rabbit's eyes to drainage implantation was studied in the experiment *in vivo*. The histological research data demonstrate that the reaction of the inflammatory cells to drainage was minimal. After antiglaucomatous operation filtering blebs were split and plane and in all the cases resulted in a stable hypotensive effect.

Key words: polymer track membranes, plasma treatment, nanostructured surface, refractory glaucoma.

УДК 617.7-007.681-089.844

Введение

Глаукома является одним из самых тяжелых глазных заболеваний, протекающих хронически и приводящих к значительному снижению зрительных функций вплоть до полной и необратимой слепоты даже при соответствующем лечении. По различным данным, глаукомой страдает около 1,5—2,5% населения в возрасте старше 40 лет. В последнее время в литературе стали выделять особую форму глаукомы под общим названием «рефрактерная глаукома» (РГ), которая объединяет множество самых разнообразных клинических видов. Для РГ, являющейся наиболее трудноизлечимой нозологической формой глаукомы, характерно особое упорство течения болезни и час-

тое отсутствие успеха от традиционного хирургического и медикаментозного лечения. Основная причина отсутствия стойкого гипотензивного эффекта при лечении РГ заключается в рубцевании вновь созданных путей оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ). В связи с резистентностью РГ к традиционному лечению длительная сохранность гипотензивного эффекта обеспечивается имплантацией различного типа дренажей [9].

В практике отечественной и зарубежной офтальмологии сделаны многочисленные попытки имплантации дренажей для предупреждения блокады сформированных путей оттока ВГЖ. По конструкции дренажи можно разделить на два типа: простые в виде лент или трубочек (бесклапанные) и сложные (как

правило, имеющие клапан), состоящие из трубочки, соединенной с платой (дренажи Molteno, Baerveldt, Ahmed). По типу используемого материала дренажи разделяются на биологические и небиологические. К настоящему времени известны различные типы биологических материалов, применяемых в качестве дренажного материала. Это в первую очередь хорошо известные дренажи из тканей пациента (аутодренажи) и дренажи из тканей донора (аллодренажи). Имплантация дренажей данных типов позволяет достичь более длительной сохранности хирургически сформированных путей оттока ВГЖ. Однако они достаточно скоро подвергаются организации с образованием грубой соединительно-тканной капсулы, не проницаемой для ВГЖ [2, 7, 8, 10]. Не менее известные дренажи из тканей животных (ксенодренажи) вызывают выраженную местную реакцию окружающих тканей глаза, обусловленную иммуноаллергизирующим действием чужеродной ткани [1, 6]. К небиологическим дренажам относят дренажи из полимерных материалов медицинского класса чистоты — эксплантодренажи [5, 11]. Именно их подавляющее большинство офтальмологов считают наиболее перспективными при лечении РГ. Основной задачей на пути создания высокоэффективных эксплантодренажей при этом является поиск биосовместимых материалов, которые благодаря своей форме и структуре могли бы препятствовать раннему рубцеванию и сохранить пути оттока ВГЖ.

Наибольший интерес вызывает использование в качестве эксплантодренажа небиологического типа пористых мембран на основе полимеров различной природы. Так, российскими офтальмологами в качестве эксплантодренажа были использованы трековые мембраны из полиэтилентерефталата [4], а американским офтальмологом — мембраны из поликарбоната фирмы Nucleopore [12]. Технология изготовления этих мембран такова, что позволяет получать в исходных полимерных пленках поры цилиндрической формы строго калиброванного диаметра [12, 14], что является основным их достоинством. Кроме того, мембраны данного типа не подвергаются биодеструкции и могут находиться в интрасклеральной полости в течение нескольких лет. Однако они имеют следующие недостатки: 1) на их поверхности адсорбируется белок, элементы крови, экссудата, которые рано или поздно приводят к закупориванию пор в дренаже; 2) вокруг дренажа образуется соединительно-тканная капсула,

состоящая из плотных коллагеновых волокон; 3) в отдаленном периоде блокируется просвет между дренажом и фиброзно измененной капсулой, окружающей его, что приводит к повышению внутриглазного давления (ВГД) и необходимости выполнения повторного хирургического вмешательства. В этой связи работы по поиску новых форм эксплантодренажа для хирургического лечения рефрактерной глаукомы является весьма актуальной задачей.

С целью создания биологически инертного дренажа (уменьшения адсорбции белков и элементов крови) J.D. Brown предложил покрывать поверхность полимерных мембран биоинертным материалом, в качестве которого были применены полиэтиленоксид или фосфорил холина [15]. Однако использование данных материалов сопряжено с рядом трудностей их получения, а также техникой нанесения покрытия на поверхность мембран. Кроме того, возможность отслаивания покрытия (ввиду слабой адгезии) может привести к нежелательному загрязнению интрасклеральной камеры глаз пациентов. По мнению авторов статьи, более перспективным направлением в создании биосовместимого эксплантодренажа для антиглаукоматозных операций является модификация поверхности пористых полимерных материалов. Для этого могут быть использованы различные методы на основе физико-химического воздействия [3]. Наибольшее распространение для этой цели получил метод обработки мембран в низкотемпературной плазме [13], важным преимуществом которого является возможность модификации свойств тонкого поверхностного слоя — адсорбционных, транспортных и селективных.

Цель работы — изучить реакции тканей глаз экспериментальных животных на имплантацию полиэтилентерефталатной (ПЭТФ) трековой мембраны с модифицированной (наноструктурированной) поверхностью и эффективности ее в качестве эксплантодренажа для хирургического лечения рефрактерной глаукомы.

Материал и методы

В экспериментах использовали трековые мембраны с диаметром пор 0,4 мкм (плотность пор $5 \cdot 10^7 \text{ см}^{-2}$), которые были получены облучением ПЭТФ-пленок толщиной 10,0 мкм ускоренными на циклотроне У-300 ионами криптона с энергией приблизительно 1 МэВ/нуклон

с последующей физико-химической обработкой. Поры данных мембран представляют собой цилиндрические каналы, поперечное сечение которых не изменяется по глубине. Обработку мембран в кислородсодержащей плазме проводили на плазмохимической установке с использованием ВЧ-разряда переменного тока с частотой 13,56 МГц.

В результате обработки увеличивается содержание карбоксильных групп в поверхностном слое мембран, что вызывает повышение отрицательного заряда пор в растворе, а также развитие шероховатости поверхности и приводит к положительному результату — уменьшению адсорбции белков и других составляющих внутриглазной жидкости (их диаметр около 0,2 мкм), а также клеток крови. Данный результат обусловлен отталкиванием молекул белков, имеющих также отрицательный заряд. Для примера укажем следующее. Если величина заряда поверхности пор исходной полиэтилентерефталатной трековой мембраны с диаметром пор 0,4 мкм составляет $1,17 \cdot 10^{-2}$ Кл/м², то для модифицированной в плазме воздуха (при давлении газа в вакуумной камере 13,5 Па и мощности разряда 300 Вт) мембраны эта величина составляет $1,62 \cdot 10^{-2}$ Кл/м².

В эксперименте на животных проводилось определение токсического действия эксплантодренажа на окружающие ткани. Наличие белков во влаге передней камеры моделирует реакцию тканей в организме, а прозрачность тканей позволяет оценивать контакт белков с поверхностью имплантата. Интрасклеральная имплантация позволяет оценить степень воспалительной реакции и биодеградации имплантата.

Через роговичный разрез «на 12 ч» дренаж размером 1 × 2 мм имплантировали в переднюю камеру 10 глаз кроликов породы «шиншилла» и в интрасклеральный карман, сформированный в 3 мм от лимба, с последующим наложением швов на края раны. Сроки наблюдения за животными составили от 1 до 30 сут. Воспалительную реакцию глаза оценивали по шкале Л.С. Чабровой:

0-я степень — ареактивное течение. Конъюнктивальная инъекция отсутствует, роговица, влага передней камеры прозрачны, хорошо выражен рисунок радужки, имплантат интактен;

1-я степень — слабо выраженная реакция. Отек роговицы в зоне вмешательства, симптом Тиндаля во влаге передней камеры, наличие фибрина или преци-

питатов на имплантате, отек и гиперемия зрачкового края радужки;

2-я степень — реакция средней степени. Характерен отек половины роговицы, единичные складки десцеметовой оболочки, фибрин в передней камере глаза, экссудат на поверхности имплантата, расширение сосудов радужки;

3-я степень — резко выраженная реакция. Отек роговицы, утолщение стромы, выраженный десцеметит, экссудат (гипопион), гифема, рубеоз радужки, выраженная экссудация на имплантате с формированием синехий.

Исследование цитотоксичности дренажей проводили на клеточной культуре фибробластов мышей линии 3ТЗ клона SC-1. В качестве экстрагирующих сред использовали стерильные раствор натрия хлорида и среду Игла с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки фибробластов высевали в чашки Петри в концентрации 40 тыс. на 1 мл, инкубировали в течение 1 сут при температуре 37 °С. Затем каждый экстракт вносили на монослой фибробластов. Спустя 24 ч оценивали лизис клеток, их морфологию и количество.

Выполнялось морфологическое исследование тканей глаз, полученных в эксперименте на 30 кроликах (51 глаз). Вторичную глаукому моделировали введением 1%-го раствора Януса зеленого в переднюю камеру глаза. Глаукома развивалась в течение 1 мес. Средний уровень внутриглазного давления до операции составлял (35 ± 3) мм рт. ст. Антиглаукоматозное вмешательство выполняли с имплантацией дренажа у 30 кроликов (51 глаз). В опытной группе (30 глаз) имплантировали дренаж с наноструктурированной поверхностью, в контрольной группе (21 глаз) — ПЭТФ ТМ с немодифицированной поверхностью.

Методика проведения операции. Накладывали блефаростат, шов-держалку на верхнюю прямую мышцу. Отступив от лимба 6 мм, выкраивали лоскут конъюнктивы. Микрохирургическим ножом производили надрез склеры в виде равнобедренного треугольника (основание и высота 4 мм) на 320 мкм. Отсепаровывали склеральный лоскут. Удаляли полосу трабеул 1 × 3 мм. Далее выполняли базальную иридэктомию. На дно операционной раны помещали дренаж в виде прямоугольника 1,5 × 4 мм. Один конец дренажа имплантировали в переднюю камеру, другой фиксировали одним швом к склере. Скле-

ральный лоскут возвращали на прежнее место, покрывая дренаж, и фиксировали его вершину узловым швом. На боковые стороны накладывали по одному шву. Операцию заканчивали непрерывным швом на конъюнктиву и субконъюнктивальной инъекцией раствора гентамицина.

Энуклеированные глаза фиксировали в 12%-м растворе нейтрального формалина. Для обезвоживания ткани глаза проводили через батарею спиртов восходящей крепости, после чего заливали в целлоидин. При последующем гистологическом исследовании серийные срезы глаз окрашивали гематоксилином и эозином и по ван Гизону.

Результаты и обсуждение

При определении токсического действия эксплантодренажа с наноструктурированной поверхностью на окружающие ткани после имплантации его в переднюю камеру 10 глаз кроликов срок наблюдения составил 30 сут. Воспалительная реакция у экспериментальных животных соответствовала 0-й степени в 7 глазах и 1-й степени (слабо выраженная реакция) — в 3 случаях и полностью купировалась на 7-е сут после стандартного противовоспалительного лечения. В результате исследования цитотоксичности дренажей при нанесении на монослой фибробластов экстракта дренажа не выявлено гибели клеток и их морфологических изменений. Токсичность соответствовала 0-й степени (по 5-балльной шкале).

После антиглаукоматозных операций в обеих группах при биомикроскопии определялись плоские разлитые фильтрационные подушечки. Слизистая оболочка над фильтрационной подушкой была хорошо васкуляризирована. Избыточного рубцевания и формирования псевдокистозных полостей не наблюдалось. Спустя 2 нед уровень внутриглазного давле-

ния в опытной группе составил $(17,6 \pm 2,6)$ мм рт. ст. Эта тенденция сохранялась в течение 12 мес.

В то же время в контрольной группе животных уровень ВГД составил $(19,1 \pm 2,3)$ мм рт. ст., что на 8,5% выше по сравнению с опытной группой животных. Через 8 мес на 7 глазах отмечалось повышение ВГД до $(31,0 \pm 2,3)$ мм рт. ст. После назначения инстилляций бетоптика 0,5% удалось добиться нормализации ВГД в 3 случаях.

В ходе морфологических исследований глаз животных опытной группы было установлено, что в тканях, окружающих имплантат, отсутствовали выраженные реактивные воспалительные изменения. Через 2 нед определялась умеренная клеточная реакция (рис. 4). Вокруг дренажа сформировались тончайшие волокна с единичными фибробластами и фиброцитами. Через 4 нед визуализировалось свободное пространство между дренажом и склерой; слабовыраженная инфильтрация гистиоцитами и единичными фибробластами. Через 2 мес определялись лишь единичные участки нежной волокнистой соединительной ткани и свободное пространство на всем протяжении. Через 1 год после имплантации признаков биодеструкции не обнаружено. Дренаж сохранял свои функциональные свойства.

В контрольной группе животных через 2 нед в перифокальной зоне вокруг дренажа наблюдалось образование волокнистых структур, инфильтрированных единичными сегментоядерными лейкоцитами и значительным числом фибробластов. Кое-где появились щелевидные пространства между имплантатом и волокнистыми структурами. Через 4 нед сформировалась соединительно-тканная капсула, состоящая из волокнистых структур, инфильтрированных единичными лимфоидными клетками, макрофагами и фибробластами (рис. 5).

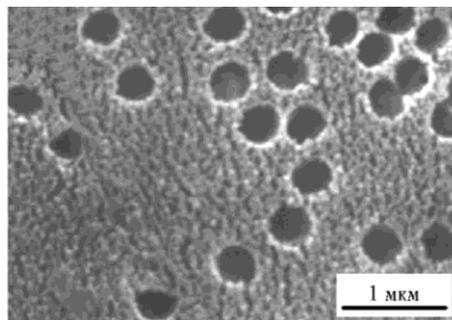
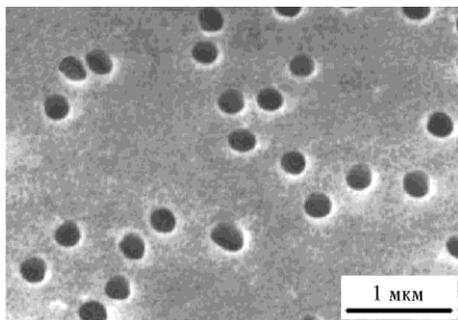


Рис. 1. Электронные микрофотографии поверхностей исходной ПЭТФ ТМ с эффективным диаметром пор 0,2 мкм (а) и обработанной в плазме воздуха мембраны (б); параметры разряда: давление газа в вакуумной камере 0,25 Па, мощность разряда 100 Вт, длительность воздействия 10 мин

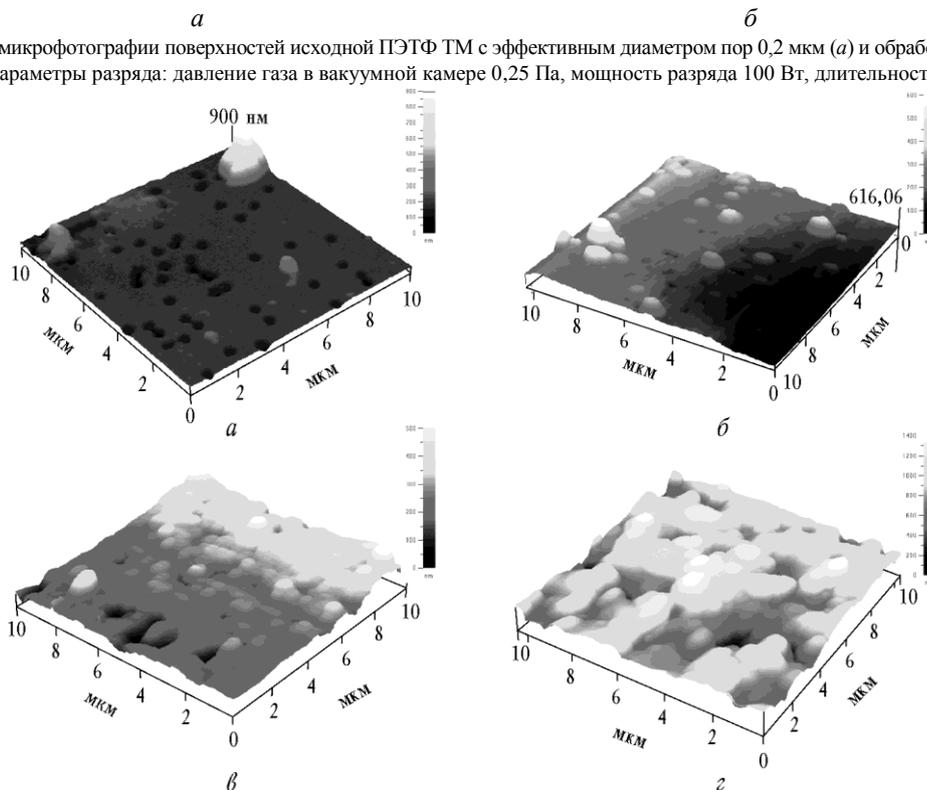


Рис. 2. Микрофотографии поверхности исходной ПЭТФ ТМ с диаметром пор 0,4 мкм (а) и обработанных в плазме воздуха мембран в течение 1 (б), 5 (в) и 10 мин (г). Параметры разряда: давление газа в вакуумной камере 53,5 Па, мощность разряда 60 Вт

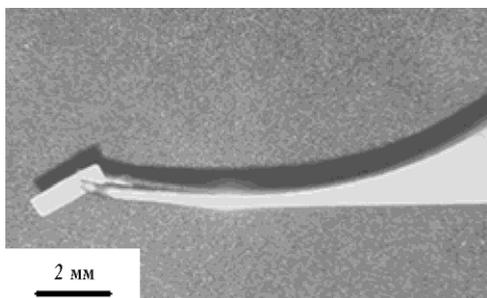


Рис. 3. Внешний вид дренажа из ПЭТФ ТМ, используемого при антиглаукоматозных операциях

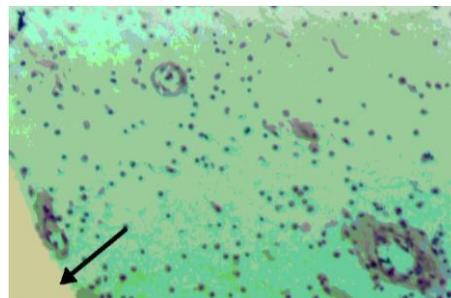


Рис. 4. Через 2 нед после операции — умеренная клеточная реакция в ткани, окружающей дренаж. Окраска гематоксилином и эозином



Рис. 5. Через 4 нед — свободное пространство



Рис. 6. Через 2 мес — признаки воспаления

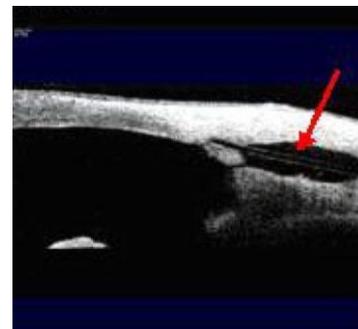


Рис. 7. Данные оптической когерентной томографии

между дренажом и склерой, слабовыраженная инфильтрация гистиоцитами и единичными фибробластами. Окраска гематоксилином и эозином

отсутствуют. Сохраняется свободное пространство между дренажом и склерой на всем протяжении. Окраска гематоксилином и эозином

графии — вид зоны антиглаукоматозной операции с имплантацией наноструктурированного дренажа (указан стрелкой) глаза через

Через 2 мес после имплантации дренажа хорошо визуализировалась сформировавшаяся соединительно-тканная капсула, состоящая из коллагеновых волокон с умеренным числом фибробластов и фиброцитов (рис. 6). Между мембраной и соединительно-тканной капсулой наблюдались множественные щелевидные пустоты. К 4-му мес на поверхности капсулы имелись единичные фибробласты и фиброциты. Между мембраной и капсулой образовалось свободное пространство на всем протяжении. Через год в 7 (33,3%) случаях капсула плотно прилегала к дренажу (рис. 7).

Заключение

Увеличение содержания карбоксильных групп в поверхностном слое мембран, вызывающее повышение отрицательного заряда пор в растворе, а также развитие шероховатости поверхности приводят к уменьшению адсорбции белков и других составляющих внутриглазной жидкости, а также клеток крови. Повышение пористости модифицированных мембран приводит к улучшению их фильтрационных характеристик. Таким образом, имплантация полимерного наноструктурированного эксплантодренажа позволяет добиться стойкой нормализации внутриглазного давления и сохранения сформированных путей оттока внутриглазной жидкости. Полученные результаты показывают, что полимерные трековые мембраны с наноструктурированной поверхностью могут быть успешно применены в качестве дренажа при хирургическом лечении рефрактерной глаукомы.

Литература

1. Анисимова С.Ю., Анисимов С.И., Рогачева И.В. Результаты применения нового коллагенового дренажа при непроникающей глубокой склерелимбэктомии у больных пигментной глаукомой // Глаукома: проблемы и решения: сб. науч. статей. М., 2004. С. 252—255.
2. Гальперин И.М. Дренаж камер глаза венозным ауто-

3. Кравец Л.И., Дмитриев С.Н., Гильман А.Б. Модификация свойств полимерных мембран под воздействием низкотемпературной плазмы // Химия высоких энергий. 2009. Т. 43, № 3. С. 227—234.
4. Пат. РФ, RU 2089149 С1. Способ лечения вторичной глаукомы / П.И. Сапрыкин, Т.В. Рязанцева. Оpubл. 10.09.97.
5. Пахтаев Н.П., Горбунова Н.Ю. Отдаленные результаты применения сетчатого дренажа из дигеля в хирургическом лечении рефрактерных глауком // Офтальмохирургия. 2006. № 2. С. 11—15.
6. Посажеников А.П. Способ дренажа передней камеры яичной пленкой при тяжелых формах глауком // Актуальные проблемы офтальмологии: тез. докл. науч.-практич. конф. Киров, 1996. С. 59—61.
7. Смирнов В.П., Зайкова М.В. Модифицированная глубокая склерэктомия с аллодренированием при открытоугольной глаукомой // Офтальмохирургия. 1995. № 1. С. 22—24.
8. Соколовский Г.А., Костин А.И. Антиглаукоматозная операция с интрасклеральной имплантацией радужки (ирисимплантация) // Тез. докл. 6-го Всесоюз. съезда офтальмологов. М., 1985. Т. 2. С. 204—205.
9. Тахчиди Х.П., Чеглаков В.Ю. Дренажи в хирургии рефрактерной хирургии // Рефракц. хирургия и офтальмология. 2009. Т. 9, № 3. С. 11—15.
10. Фёдоров С.Н., Денисов И.О., Мороз З.И. Эксплантаты в хирургии неоваскулярной глаукомы (отдаленные результаты) // Актуальные проблемы хирургического лечения глаукомы: Сб. науч. статей МНТК «Микрохирургия глаза». М., 1989. С. 47—50.
11. Чеглаков Ю.А. Эффективность глубокой склерэктомии с эксплантодренированием в лечении поствоспалительной и посттравматической глаукомы // Офтальмохирургия. 1989. № 3—4. С. 34—38.
12. Ballew H.W. Basics of Filtration and Separation. Nucleopore Co., Pleasanton, CA. 1978.
13. Dmitriev S.N., Kravets L.I., Sleptsov V.V. Modification of track membrane structure by plasma etching // Nucl. Instr. and Meth. B, 1998. V. 142, № 1—2. P. 43—49.
14. Garbassi F., Morra M., Ochiello E. Polymer surface: from physics to technology. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994. 594 p.
15. Pat. US 6,595,945 Glaucoma treatment device and method / J.D. Brown. Publ. 22.07.2003.

Поступила в редакцию 01.12.2011 г.

Утверждена к печати 22.12.2011 г.

Сведения об авторах

Т.В. Рязанцева — канд. мед. наук, доцент кафедры офтальмологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского (г. Саратов).

Экспериментальные и клинические исследования

Л.И. Кравец — канд. техн. наук, старший научный сотрудник лаборатории ядерных реакций им. Г.Н. Флерова, Объединенный институт ядерных исследований (г. Дубна).

Для корреспонденции

Рязанцева Татьяна Владимировна, тел. 8-917-210-5875, e-mail: tvroko@gmail.com