

*На правах рукописи*

**Роот Анна Олеговна**

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
АНТИФИБРОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ  
ЭНДОНАЗАЛЬНОЙ ДАКРИОЦИСТОРИНОСТОМИИ**

14.01.07 – глазные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней».

**Научный руководитель:**

кандидат медицинских наук

**Атькова Евгения Львовна**

**Официальные оппоненты:**

**Бржеский Владимир Всеволодович**, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой офтальмологии

**Филатова Ирина Анатольевна**, доктор медицинских наук, ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, руководитель отдела пластической хирургии и глазного протезирования

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное учреждение «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ

Защита состоится «27» ноября 2017 г. в 14-00 на заседании диссертационного совета Д 001.040.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней» по адресу: 119021, Москва, ул. Россолимо, 11, корп. А, Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте [www.niigb.ru](http://www.niigb.ru) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней».

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

**Иванов М.Н.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы и степень ее разработанности

Общеизвестно, что наиболее результативным способом лечения облитерации слезоотводящих путей (СОП) является дакриоцисториностомия (ДЦР) (В.Г.Белоглазов с соавт., 1997; Б.Ф.Черкунов, 2001; Ю.В.Порицкий с соавт., 2006; S.Leong с соавт., 2010, M.Ali с соавт.,2015). Однако несмотря на использование оптической техники, усовершенствование технологий хирургических вмешательств и применение современных интубационных материалов положительный результат, по данным различных авторов, составляет от 82 до 91%, независимо от доступа: наружного или эндоназального (P.Dolman 2003; S.Leong с соавт., 2010). Основной причиной неудачных исходов после ДЦР является избыточное рубцевание в области дакриостомы (В.А.Ободов, 2011; S.Hull с соавт., 2013; M. J. Ali с соавт, 2015; J.Ваек с соавт., 2016).

Известно, что раневой процесс представляет собой ряд последовательно сменяемых стадий. Определяющую роль в процессах репарации играют особенности морфологического строения и тканевого гомеостаза, местная реакция клеток воспаления и иммунитета, тип их взаимодействия с системным иммунитетом.

Разработка методов предотвращения зарращения искусственного соустья после ДЦР является приоритетной задачей современной дакриологии. Для снижения степени фибротизации тканей в области дакриостомы осуществляют пластику искусственного соустья, применяют лакримальные имплантаты и медикаментозные антифибротические агенты. Наиболее изученным лекарственным препаратом, используемым для данной цели, является противоопухолевый антибиотик Митомицин-С (ММС), полученный из штамма актиномицетов *Streptomyces caespitosus*. Выраженная антипролиферативная активность ММС позволила применять его как

антифибротическое средство во многих областях медицины (Y.H. Yoon с соавт, 2011; N. Colak с соавт, 2013; N.Y. Li с соавт., 2014).

Препарат действует на пролиферативную фазу процесса репарации, посредством подавления дифференцировки и деления фибробластов (Y. Shiraha с соавт, 1959; A. Ayıldiz с соавт., 2004; Y. Yoon с соавт., 2011; N. Li с соавт., 2014).

Впервые в дакриологии препарат применили S. Ugurbas с соавт. в 1997 г. В 2000 г. D. Hu с соавт. в эксперименте изучили влияние ММС на культуру клеток фибробластов слизистой оболочки полости носа человека и доказали, что при концентрации ММС 0,4 мг\мл и времени экспозиции 5 мин, доля ингибируемых фибробластов составила 31,3%, в то же время фрагментация ДНК фибробластов имела место еще в течение 24 часов. В 2013г. M. Ali с соавт. в серии экспериментов *in vitro* определили, что препарат в концентрации 0,2–0,3 мг\мл и временем воздействия не более 3 минут предотвращает избыточную пролиферацию фибробластов, а в концентрации от 0,5 мг\мл и выше при экспозиции более 5 минут вызывает апоптоз.

В дакриохирургии большинство исследователей применяли препарат в виде аппликаций в область дакриостомы в концентрации от 0,2 до 0,5 мг\мл и временем экспозиции от 2 до 10 минут (L. Liao с соавт., 2000; A. DeKa с соавт., 2006; S. Ghosh с соавт., 2006; A. Dolmetsch, 2010; T. Prasannaraj с соавт., 2010; T. Aruhan с соавт., 2011; M. Ozkiriş с соавт., 2012; M. Qadir с соавт., 2014). Часть исследователей доказала эффективность препарата (В.Г. Белоглазов с соавт., 1999; Y. Selig с соавт., 2000; A. Dolmetsch, 2010; T. Aruhan с соавт., 2011; S. Tirakunwichcha с соавт., 2011). Однако некоторые исследователи считают, что применение ММС с целью снижения фибротизации в области дакриостомы в виде аппликаций при эндоскопической эндоназальной ДЦР неэффективно (G. Zilelioğlu с соавт., 1998; M. Roozitalab с соавт., 2004; S. Ghosh с соавт., 2006; C. Yildirim с соавт., 2007; A. Rahimi с соавт., 2008; T. Prasannaraj с соавт., 2010; S. Ragab с соавт., 2012).

В 2014г. S. Kamal с соавт. применили ММС в виде инъекций в слизистую оболочку полости носа вокруг сформированной дакриостомы при ДЦР с наружным и внутриносовым доступом. На заключительном этапе операции авторы вводили по 0,1 мл препарата в концентрации 0,2 мг\мл в четыре точки слизистой оболочки полости носа вокруг сформированной дакриостомы: переднюю, заднюю, верхнюю и нижнюю. Операцию заканчивали интубацией области дакриостомы лакримальным имплантатом. Авторы отмечали высокую результативность операции при отсутствии местных и системных осложнений. Других работ по изучению эффективности инъекционного введения ММС при ДЦР проведено не было.

Известны единичные морфологические исследования, направленные на изучение изменений, протекающих в слизистой оболочке полости носа при различных способах применения ММС (S.Ugurbas с соавт., 1997; В.Г.Белоглазов с соавт., 2004; M.Ali с соавт., 2015). Морфологических исследований на протяжении длительного периода наблюдения за пациентами после хирургического вмешательства проведено не было, в связи с чем нет данных о хронологической характеристике процесса репарации после ДЦР: как при применении ММС, так и без него.

**Цель исследования** – клинико-морфологическое обоснование эффективности применения Митомицина-С для профилактики избыточного рубцевания области дакриостомы после эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии.

**Задачи исследования:**

1. Изучить процессы регенерации в слизистой оболочке полости носа и тканях слезного мешка в области дакриостомы при эндоскопической эндоназальной ДЦР без применения медикаментозных методов профилактики зарращения дакриостомы в динамике.
2. Определить концентрацию Митомицина-С и изучить процессы регенерации в слизистой оболочке полости носа и слезного мешка в области

дакриостомы при аппликационном применении Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной ДЦР в динамике.

3. Разработать альтернативный способ введения Митомицина-С в область дакриостомы при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

4. Определить концентрацию Митомицина-С и изучить процессы регенерации в слизистой оболочке полости носа и слезного мешка в области дакриостомы при инъекционном применении Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

5. Изучить фармакокинетику Митомицина-С при аппликационном и инъекционном способах применения Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

6. Провести сравнительный анализ клинической эффективности эндоскопической эндоназальной ДЦР без применения медикаментозных методов профилактики зарращения дакриостомы и с применением Митомицина-С аппликационным и инъекционным способами введения.

#### **Научная новизна:**

1. Впервые разработана методика инъекционного способа применения Митомицина-С в слизистую оболочку полости носа и ткани слезного мешка при эндоскопической эндоназальной ДЦР (патент на изобретение *RU 2610557* от 13.01.2016 г.).

2. Впервые определена концентрация Митомицина-С в слизистой оболочке полости носа и тканях слезного мешка при аппликационном и инъекционном способах введения препарата при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

3. Проанализированы причины недостаточной эффективности аппликационного применения Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

4. Впервые изучена фармакокинетика Митомицина-С при аппликационном и инъекционном способах применения при эндоскопической эндоназальной ДЦР.

5. Впервые проведено морфологическое исследование в динамике, в ходе которого на гистологическом уровне выявлены изменения, протекающие в слизистой оболочке полости носа и слезного мешка после эндоскопической эндоназальной ДЦР без использования антифибротических средств и при аппликационном и инъекционном способах применения Митомицина-С

#### **Теоретическая и практическая значимость работы:**

1. Результаты проведенного в динамике многократного морфологического исследования слизистой оболочки полости носа и тканей слезного мешка после эндоскопической эндоназальной ДЦР позволяют судить о репаративных процессах, происходящих в области дакриостомы и указывают направление в разработке адекватного метода антифибротической терапии.

2. Доказанная на основании проведенного морфологического исследования слизистой оболочки полости носа и слезного мешка невысокая эффективность аппликационного способа применения Митомицина-С и выявленное низкое накопление препарата в тканях дакриостомы дают основание не рекомендовать вышеуказанный способ в клинической практике.

3. Теоретически обоснованный, разработанный и апробированный инъекционный способ введения Митомицина-С предоставляет возможность использовать его в качестве эффективного способа профилактики зарастания дакриостомы.

4. Внедрение инъекционного способа применения Митомицина-С в клиническую практику позволяет повысить эффективность эндоскопической эндоназальной ДЦР и, как следствие, предотвратить рецидив заболевания.

## **Методология и методы диссертационного исследования**

Методологической основой диссертационной работы явилось применение комплекса методов научного познания. Работа выполнена в дизайне проспективного открытого моноцентрового исследования с использованием клинических, инструментальных, аналитических и статистических методов.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. На основании анализа данных динамического гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки полости носа и тканей слезного мешка выявлены закономерности заживления дакриостомы после эндоскопической эндоназальной ДЦР, что явилось образцом для сравнения при выборе способа применения Митомицина-С.
2. Проведенный анализ количественного содержания Митомицина-С в тканях области дакриостомы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии и результаты динамического морфологического исследования тканей области дакриостомы позволили определить основные причины низкой эффективности аппликационного способа введения Митомицина-С.
3. Изучение количественного содержания Митомицина-С в тканях области дакриостомы и изучение системной абсорбции Митомицина-С методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии, результаты динамического морфологического исследования тканей области дакриостомы позволили доказать эффективность и безопасность разработанного инъекционного способа доставки Митомицина-С.
4. Определена клиническая значимость предложенного инъекционного метода введения Митомицина-С, позволяющая обеспечить повышение результативности эндоскопической эндоназальной ДЦР и снижение



количества рецидивов заболевания, что обосновывает целесообразность его применения в хирургическом лечении патологии слезоотводящих путей.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется количеством клинических наблюдений с использованием современных высокоточных объективных методов исследования и подтверждена в процессе статистической обработки материала. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации строго аргументированы и логически вытекают из системного анализа результатов клинических и инструментальных исследований.

Результаты диссертационной работы освещены и доложены на V Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2016г.), на XII Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии – 2017» (Москва, 2017г.), на Юбилейном конгрессе Российского общества ринологов (Ярославль, 2017г.), на заседании XII Конгресса Международного общества дакриологии и сухого глаза (Афины, Греция, 2017г.).

### **Личный вклад автора**

Автором определены цели и задачи исследования, проведено обследование пациентов, ассистенция на операциях, а также послеоперационный мониторинг результатов лечения пациентов. Самостоятельно проанализированы и обобщены результаты исследования, проведена статистическая обработка полученных данных. Автором осуществлена подготовка публикаций и докладов по теме настоящей работы.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 4 работы в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты на соискание ученой степени кандидата наук, 1 – в зарубежной печати. Получен патент на изобретение *RU 2610557* от 13.01.2016 «Способ профилактики избыточного рубцевания дакриостомы после дакриоцистиномии».

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 14 отечественных и 116 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 1 таблицей и 42 рисунками.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы исследования**

В исследование вошли 130 пациентов (148 случаев) с облитерацией СОП на уровне шейки слезного мешка, из них 108 женщин и 22 мужчины, в возрасте от 28 до 75 лет включительно (в среднем  $63 \pm 9$  лет). В исследование не вошли пациенты с острым и посттравматическим дакриоциститом, пациенты, которым ранее было проведено хирургическое вмешательство по поводу нарушения проходимости СОП, пациенты с сопутствующей патологией полости носа, требующей лечения. Исследование было разрешено к проведению локальным этическим комитетом.

Всем пациентам было выполнено стандартное офтальмологическое обследование. Исследование слезного аппарата включало в себя пробу *Норна* и тест *Ширмера*, тесты «с исчезновением красителя», диагностическое промывание СОП, выполненные по общепринятым методикам. Переднюю

риноскопию и эндоскопию полости носа проводили при помощи ригидных эндоскопов диаметром 2,7 мм с углами обзора 0° и 30° (*Karl Storz Endoskope*, Германия). При необходимости осуществляли эндоназальную фоторегистрацию, используя портативную эндоскопическую систему PES-2 (*Otopront*, Германия). Выраженность эпифоры оценивали по пятибалльной шкале, предложенной P.L.Munk. Глубину слезного мениска определяли на оптическом когерентном томографе RTVue-100-2 (*Optovue*, США), она условно соответствовала отрезку, проведенному от точки соприкосновения роговицы и края века к середине интерфейса «слеза-воздух». Компьютерную томографию осуществляли на томографе GE Optima CT 660 (*General Electric*, США). Всем пациентам была выполнена эндоскопическая эндоназальная ДЦР (148 операций). Для проведения операций применяли ригидные эндоскопы (*Karl Storz Endoskope*, Германия), диаметром 4,0 мм и углами обзора 0° и 30°, совмещенные с HD-видеокамерой H3-Z (*Karl Storz Endoskope*, Германия) и источником света, с выводением изображения на экран LCD монитора (*Panasonic*, Япония). Был использован стандартный набор эндоскопического инструментария фирмы *Karl Storz Endoskope*. Для резекции костной стенки применяли выкусыватель по *Kerrison* и интраназальную дрель с комплексом алмазных и режущих боров диаметром 3–4 мм (*Karl Storz Endoskope*, Германия). Хирургическое вмешательство проводили под внутривенной анестезией в комбинации с местным обезболиванием. Операции были выполнены по модифицированной методике *P.J.Wormald*. Пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на 3 группы. Распределение пациентов по группам носило случайный характер, группы пациентов были сопоставимы по возрасту и гендерному составу.

В **группу 1** вошли 42 пациента (48 случаев) которым до иссечения медиальной стенки слезного мешка по периметру костного «окна» в его стенку с помощью шприца с загнутой иглой вводили препарат в

концентрации 0,2 мг\мл по 0,1 мл в 4 точки по окружности слезного мешка. Далее резецировали его медиальную стенку и в слизистую оболочку полости носа в 6 точек вокруг сформированной дакриостомы вводили по 0,1 мл 0,2 мг\мл препарата. После этого СОП промывали 2 мл физиологического раствора. Операцию завершали установкой марлевой турунды в нижний носовой ход.

В **группу 2** вошли 43 пациента (49 случаев), которым на завершающем этапе операции в область дакриостомы вводили ММС (*Kyowa Hakko Kogyo*, Япония) на турунде, обработанной 2 мл препарата в концентрации 0,2 мг\мл на 3 минуты. Операцию заканчивали промыванием СОП 2 мл физиологического раствора и установкой марлевой турунды в нижний носовой ход.

В **группу 3** вошли 45 пациентов (51 случай), которым в конце операции СОП промывали физиологическим раствором. Операцию завершали установкой марлевой турунды в нижний носовой ход.

Для изучения процессов репарации проводили гистологическое исследование слизистой оболочки полости носа и тканей слезного мешка у пациентов групп 1 (16 случаев), 2 (15 случаев) и 3 (18 случаев) в динамике. У пациентов групп 1 и 2 биопсию осуществляли на 2, 5, 7, 14, 21, 28 и 60-е сутки после операции, у пациентов группы 3 – на 2, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 60-е сутки. Биопсию проводили эндоназально под контролем 30° оптики диаметром 2,7 мм (*Karl Storz Endoskope*, Германия) после анемизации полости носа лидокаином и эпинефрином и местной анестезии раствором артикаина с эпинефрином 1:100000 – 1,7 мл (Ульттракаин Д-С форте, *Sanofi Aventis*, Франция). При помощи миниатюрных щипчиков (*Karl Storz Endoskope*, Германия) брали фрагмент ткани из области дакриостомы, каждый раз из различных ее областей. Полученные гистологические препараты исследовали на фотомикроскопе Leica DM-2500 (*Leica*, Германия). Фоторегистрацию изображений осуществляли на цифровой фотокамере Leica

DFC320 (*Leica*, Германия) с последующим анализом изображений с помощью программного обеспечения ImageScope Color (*Aperio Technologies*, США). Подготовку и исследование гистологических препаратов проводили в лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ Глазных болезней».

У пациентов группы 1 (32 случая) и 2 (34 случая) измеряли концентрацию ММС в тканях в месте введения препарата. С этой целью осуществляли биопсию слизистой оболочки носа и тканей слезного мешка в области сформированной дакриостомы. У каждого пациента проводили по 5 биопсий. Первую биопсию осуществляли до введения препарата (контрольный образец), вторую – через 30 минут после воздействия препарата, последующие – на 1, 2 и 3 сутки после операции. Биопсию проводили эндоназально под контролем 30° оптики диаметром 2,7 мм (*Karl Storz Endoskope*, Германия). Определение препарата проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС). Эксперименты выполняли на жидкостном хроматографе Agilent 1260 (*Agilent Technologies*, США) с масс-спектрометрическим детектором Maxis Impact (*Bruker*, Германия) с электрораспылительной ионизацией, квадрупольным и времяпролетным масс-анализаторами. Исследование проводили в ФГБНУ Институте физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук.

С целью изучения системной абсорбции ММС пациентам группы 1 (10 случаев) и группы 2 (10 случаев) осуществляли забор 3 мл крови при помощи вакуумной пробирки с этилдиаминтетрауксусной кислотой EDTA (*МК РУСТЕК*, Россия) из периферической вены. У каждого пациента отбирали по 5 проб крови. Первый забор проводили до инъекции ММС (контрольный образец); второй – сразу после инъекции препарата; третий – через 30 минут после инъекции; четвертый – через 1 час после инъекции; пятый – через 2 часа после инъекции препарата. Количество ММС в крови

определяли методом ВЭЖХ-МС на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1260 (*Agilent Technologies*, США), оснащённом градиентным насосом, дегазатором, автосамплером, фотодиодноматричным детектором и tandemным масс-селективным детектором Agilent 6460 (*Agilent Technologies*, США). Полученные данные обрабатывали при помощи программного обеспечения Agilent MassHunter (ver. B.06.00, *Agilent Technologies*, США). Исследование проводили на базе кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

У всех пациентов через 3 месяца и 1 год после операции определяли размеры сформированной дакриостомы. Под эндоскопическим контролем осуществляли измерение максимального вертикального размера при помощи отрезка фильтровальной бумаги шириной 5 мм, градуированного в миллиметрах.

Критерии оценки проведенного хирургического лечения были следующие:

*«Выздоровление»:*

1. выраженность эпифоры по шкале Munk 0 баллов
2. отсутствие гнойного отделяемого;
3. снижение глубины слёзного мениска;
4. положительный носовой тест с исчезновением красителя;
5. свободная проходимость СОП при промывании;
6. наличие сформированной дакриостомы при эндоскопии полости носа.

*«Улучшение»:*

1. выраженность эпифоры по шкале Munk 0 – 2 балла;
2. отсутствие гнойного отделяемого;
3. сохранение прежней или уменьшение глубины слезного мениска.

4. положительные или замедленные носовые тесты с исчезновением красителя.
5. прохождение жидкости в носовую полость при давлении на поршень шприца или прохождение ее тонкой струйкой.
6. наличие сформированной дакриостомы при эндоскопии полости носа.

*«Рецидив»:*

1. выраженность эпифоры по шкале Munk 3 — 4 балла;
2. гнойное отделяемое из СОП;
3. сохранение прежней или увеличение значения глубины слезного мениска;
4. отрицательная носовая проба с исчезновением красителя;
5. непроходимость СОП при промывании;
6. рубцовая деформация сформированной дакриостомы при эндоскопии полости носа.

Положительными результатами считали «выздоровление» и «улучшение», отрицательными – «рецидив» заболевания.

Период наблюдения за пациентами составил 12 месяцев после операции.

Статистическую обработку осуществляли при помощи комплекта программ Microsoft Office 2013, программ IBM SPSS Statistics 22 и SOFA Statistics 1.4.4. Для оценки достоверности различий значения порядковых признаков применяли методы непараметрической статистики. Для оценки однородности распределения у пациентов различных групп до операции использовали *H*-критерий *Kruskal-Wallis*, для анализа изменений после операции использовали критерий *Wilcoxon*, для сравнения результатов лечения у пациентов различных групп применяли *U*-критерий *Mann-Whitney*. Для оценки достоверности различий значений количественных признаков определяли характер распределения переменных и использовали методы

параметрической статистики. Для оценки однородности распределения применяли дисперсионный анализ *ANOVA*, для анализа изменений после операции использовали *t*-статистику для парных выборок, для сравнения результатов лечения у пациентов различных групп применяли *t*-статистику для независимых выборок.

Различия считали достоверными при вероятности ошибки менее 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### **Результаты измерения Митомицина-С в тканях области дакриостомы и крови**

При определении концентрации ММС в исходных образцах ткани области дакриостомы было выявлено, что непосредственно после инъекции концентрация препарата у пациентов группы 1 составляла  $385 \pm 10$  мкг\г; через 30 минут концентрация препарата снижалась до  $123 \pm 19$  мкг\г; через сутки после операции в образцах ткани препарата обнаружено не было. У пациентов группы 2 сразу после аппликации концентрация препарата составляла  $0,626 \pm 0,176$  мкг\г, через 30 минут концентрация препарата снижалась до  $0,23 \pm 0,06$  мкг\г. Через сутки после операции в образцах ткани препарата обнаружено не было.

При определении концентрации ММС в крови было установлено, что ни в одном из образцов препарат обнаружен не был (при чувствительности методики 0,1 нг\мл).

### **Результаты гистологического исследования**

При гистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки полости носа и тканей слезного мешка у 18 пациентов группы 3 были получены следующие результаты.

На 2-е сутки после операции во всех препаратах наблюдали обильную лейкоцитарную инфильтрацию, дилатированные сосуды с краевым стоянием лейкоцитов. В 15 препаратах (83,3% случаев), были определены нейтральные полиморфонуклеары, мигрирующие в окружающее пространство. В



17 препаратах (92% случаев) – выраженная экссудативная стадия воспаления, которая была обусловлена наличием колоний и\или диффузного скопления кокковой флоры. Эпителиальную выстилку в этот период наблюдали на значительном протяжении, и она носила прерывистый характер в 11 препаратах (61,6% случаев). В 7 препаратах (38,9% случаев) эпителиальную выстилку не определяли. На 5-е сутки после операции в 16 препаратах (88,9% случаев) визуализировали снижение интенсивности воспалительной реакции (уменьшение количества скоплений кокковой флоры). На 7-е сутки после операции во всех препаратах наблюдали тромбоз функционирующих сосудов, восстановление эпителиальной выстилки, уменьшение количества мигрировавших воспалительных клеток и увеличение количества мононуклеарных макрофагов, которые способствуют «очищению» раневой поверхности от продуктов тканевого и клеточного распада. На 10-е сутки после операции, в 13 препаратах (72,2% случаев), отмечали преобладание макрофагов и лимфоцитов. Во всех препаратах веретеновидные фибробласты становились более различимы. В 14 препаратах (77,8% случаев) функционирующие тонкостенные сосуды, располагающиеся в собственной пластинке слизистой оболочки, приобрели обычный диаметр, но сохраняли локальную повышенную проницаемость по отношению к эритроцитам. В 7 препаратах (38,9 % случаев) наблюдали восстановление многослойного цилиндрического эпителия. В 10 препаратах (55,6% случаев) бокаловидные клетки были гипертрофированы до формирования криптоподобных структур. На 14-е сутки после операции во всех препаратах воспалительный инфильтрат становился умеренно выраженным, состоящим из мононуклеарных макрофагов, нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, а также активированных фибробластов. Такая клеточная картина свидетельствовала о завершении экссудативной стадии воспаления, «очищении» раны и начала пролиферативной фазы, направленной на восстановление поврежденной ткани. Во всех биоптатах,

полученных на 21-е и 28-е сутки после операции, преобладали веретенновидные фибробласты, ориентированные параллельно эпителиальной поверхности. В собственной пластинке наблюдали неравномерно рассеянные малочисленные лимфоциты и единичные плазматические клетки. Кроме того, во всех биоптатах взятых на 28-е сутки после операции обнаруживали пролиферирующие фибробласты и синтезируемые ими параллельно расположенные слегка извитые коллагеновые волокна. Наибольшая плотность фибробластов отмечена в непосредственной близости от функционирующих сосудов, что позволяет рассматривать их как источник доставки фибробластов (предшественников пластического материала) в зону регенераторного процесса. На 60-е сутки после операции во всех препаратах отмечали созревание молодой соединительной ткани в виде преобладания фибриллярных компонентов над клеточными и их компактизацию. Наличие извитых, а также прерывистых коллагеновых фибрилл свидетельствовало о растяжимости ткани и о начинающихся процессах ее склерозирования.

При изучении биоптатов слизистой оболочки полости носа и тканей слезного мешка у 16 пациентов группы 1 и 15 пациентов группы 2 были получены следующие результаты. На 2-е сутки после операции в слизистой оболочке полости носа и слезного мешка наблюдали выраженную воспалительную реакцию. Во всех препаратах обнаруживали фибринозную экссудацию и лейкоцитарную инфильтрацию. Преобладающими клеточными элементами во всех препаратах являлись нейтральные полиморфонуклеары. На 5-е сутки после операции во всех препаратах отмечали стихание воспалительной реакции. В препаратах, полученных у пациентов 2-й группы отмечали появление активированных фибробластов в 81,2% случаев. В препаратах, полученных у пациентов 1-й группы отмечали восстановление эпителиальной выстилки в 87,5% случаев. На 7-е сутки после операции во всех образцах ткани отмечали стихание воспалительной реакции, в биоптатах, полученных у пациентов 2-й группы, наблюдали увеличение

активности фибробластов. На 14-е сутки после операции у пациентов группы 1 наблюдали незавершенные митозы в клетках, у пациентов группы 2 выявляли сохранные участки умеренной воспалительной реакции и увеличение в размерах зон фиброплазии. На 21-е сутки после операции, у пациентов группы 1 наблюдали окончательное восстановление слизистой оболочки, у пациентов группы 2 отмечали появление экстрацеллюлярного клеточного матрикса. На 28-е сутки после операции, у пациентов группы 1 сохранялись единичные клеточные элементы, представленные фибробластами. У пациентов группы 2 отмечали определяли трансформацию экстрацеллюлярного коллагенового матрикса во вновь образованную рыхлую соединительную ткань. На 60-е сутки после операции во всех препаратах было выявлено образование и созревание гладкой соединительной ткани, наличие эпителиальной выстилки, а также функционирующих желез.

### **Сравнительный анализ клинических результатов эндоскопической эндоназальной ДЦР**

Результаты клинических исследований пациентов групп 1, 2 и 3 до и после эндоскопической эндоназальной ДЦР представлены в таблице 1.

У пациентов группы 1, которым на заключительном этапе эндоскопической эндоназальной ДЦР проводили инъекции ММС в слизистую оболочку полости носа и слезного мешка вокруг сформированной дакриостомы, положительные результаты определены в 45 случаях (93,8%), отрицательные («рецидив») – в 3 случаях (6,2%).

У пациентов группы 2, которым на заключительном этапе операции проводили аппликацию ММС в области сформированной дакриостомы, положительные результаты наблюдали в 43 случаях (87,8%), отрицательные («рецидив») – в 6 случаях (12,2%).

Таблица 1

## Результаты клинических исследований у пациентов групп 1, 2 и 3

Признаки		1 группа		2 группа		3 группа	
		до операции	после операции	до операции	после операции	до операции	после операции
Выраженность слезотечения по шкале Munk (баллы)		2—4 медиана 4	0—4 медиана 0	2—4 медиана 4	0—4 медиана 1	2—4 медиана 4	0—4 медиана 1
Гнойное отделяемое случаи (%)	наличие	48 (100%)	3 (6,3%)	49 (100%)	6 (12,3%)	51 (100%)	9 (17,6%)
	отсутствие	—	45 (93,7%)	—	43 (87,7%)	—	42 (82,4%)
Глубина слезного мениска (мкм)		413±18 2	169±102	390±18 0	268±135	425±17 2	263±130
Тест с исчезновением красителя случаи (%)	положительный	—	45 (93,7%)	—	43 (87,7%)	—	42 (82,4%)
	отрицательный	48 (100%)	3 (6,3%)	49 (100%)	6 (12,3%)	51 (100%)	9 (17,6%)
Промывание СОП случаи (%)	свободное	—	40 (83,3%)	—	25 (51,0%)	—	24 (47,1%)
	тонкой струей	—	5 (10,4%)	—	18 (36,7%)	—	18 (35,3%)
	непроходимы	48 (100%)	3 (6,3%)	49 (100%)	6 (12,3%)	51 (100%)	9 (17,6%)
Эндориноскопия дакриостомы случаи (%)	эпителиальная выстилка	—	45 (93,7%)	—	43 (87,7%)		42 (82,4%)
	рубцовая деформация	—	3 (6,3%)	—	6 (12,3%)		9 (17,6%)
Среднее значение переднезаднего размера дакриостомы, (мм)		3 месяца	1 год	3 месяца	1 год	3 месяца	1 год
		6,4±2,6	5,5±1,9	5,1±2,5	4,3±2,2	4,7±2,4	3,9±2,4

У пациентов группы 3, которым была выполнена эндоскопическая эндоназальная ДЦР без применения ММС, положительные результаты наблюдали в 42 случаях (82,4%), отрицательные («рецидив») – в 9 случаях (17,6%). При послеоперационном мониторинге результатов лечения пациентов отмечали следующие осложнения: грануляции в области дакриостомы у пациентов группы 1 – в 5 случаях (10,4%), у пациентов группы 2 – в 9 случаях (18,4%), у пациентов группы 3 – в 13 случаях (25,5%); синехии между передним концом средней носовой раковины и боковой стенкой полости носа в области дакриостомы у пациентов группы 1 – в 2 случаях (4,2%), у пациентов группы 2 – в 4 случаях (8,2%), у пациентов группы 3 – в 7 случаях (13,7%).

## **ВЫВОДЫ**

1. Впервые на основе комплексного (клинического, морфологического и физико-химического) исследования 130 пациентов (148 случаев) с облитерацией слезоотводящих путей на уровне шейки слезного мешка доказана высокая эффективность разработанного концептуально нового способа доставки в область дакриостомы антифибротического препарата Митомицин-С при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии.
2. Впервые проведено гистологическое исследование тканей области дакриостомы после эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии (без применения антифибротической терапии), что позволило на принципиально новом уровне изучить процессы заживления дакриостомы в динамике.
3. Основной причиной невысокой клинической эффективности аппликационного способа введения Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии и операции без применения антифибротической терапии (87,8% и 82,4% положительных результатов соответственно) является низкая концентрация препарата в тканях области

дакриостомы, которая составляет  $0,626 \pm 0,176$  мг\г (по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии), что ниже известной эффективной концентрации. При сравнительном гистологическом анализе в обеих группах пациентов выявлено отсутствие угнетения коллагеногенеза в области дакриостомы.

4. Разработан и апробирован в клинике новый инъекционный способ введения антифибротического препарата Митомицин-С в область дакриостомы при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии. Концентрация препарата в тканях дакриостомы по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии составляет  $386 \pm 10$  мг\г, что в 600 раз выше, чем при традиционном аппликационном способе введения препарата. Гистологическим исследованием подтверждено, что выраженное антифибротическое действие препарата проявляется в торможении клеточного митоза и образования экстрацеллюлярного коллагенового матрикса.

5. Безопасность применения предложенного инъекционного способа введения Митомицина-С по разработанному протоколу доказана результатами высокоэффективной жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии, по данным которой выявлено отсутствие препарата в крови (при чувствительности методики  $0,1$  нг\мл).

6. Клиническая эффективность предложенного метода введения Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии подтверждена современными методами исследования. Разработанный метод позволил повысить эффективность хирургического вмешательства и получить положительный результат в 93,8% случаев и уменьшить количество рецидивов после операции в 2 раза (6,2% отрицательных результатов при инъекционном способе введения препарата и 12,2% - при аппликационном).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обоснована возможность применения Митомицина-С с целью предотвращения зарращения дакриостомы при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии.
2. Незначительное повышение результативности эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии при традиционном аппликационном способе введения Митомицина-С в область дакриостомы по сравнению с результативностью эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии, проведенной без применения антифибротической терапии, указывает на нецелесообразность использования данного способа введения препарата при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии с целью профилактики рецидива заболевания.
3. Высокая эффективность эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии с применением предложенного инъекционного способа введения Митомицина-С в область дакриостомы позволяет рекомендовать данный метод в клиническую практику.
4. Инъекционное введение Митомицина-С рекомендовано проводить по следующему протоколу: до иссечения медиальной стенки слезного мешка по периметру костного «окна» в его стенку с помощью шприца с загнутой иглой вводят препарат в концентрации 0,2 мг\мл по 0,1 мл в 4 точки по окружности слезного мешка. Далее резецируют медиальную стенку и в слизистую оболочку полости носа в 6 точек вокруг сформированной дакриостомы вводят по 0,1 мл 0,2 мг\мл препарата.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Атькова Е.Л., Роот А.О. Медикаментозные методы профилактики зарращения соустья после эндоназальной дакриоцисториностомии // **Вестник офтальмологии.** – 2015; Т. 131 – № 5. – С.68-73
2. Атькова Е.Л., Роот А.О., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д. Применение Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии // Точка Зрения. Восток – Запад. – 2016. №2.–С.168-171
3. Атькова Е.Л., Федоров А.А., Роот А.О., Краховецкий Н.Н., Рейн Д.А., Ярцев В.Д. Значение морфологического исследования области дакриостомы после эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии // Материалы V Петербургского форума оториноларингологов России. – 2016.–С.246-247.
4. Атькова Е.Л., Федоров А.А., Роот А.О., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Рейн Д.А., Резникова Л.В. Морфологический анализ процессов репарации в области дакриостомы после эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии // **Вестник офтальмологии.** – 2016; Т.–132 .– № 6. – С.87-92
5. Атькова Е.Л., Роот А.О., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Ярцев С.Д. Изучение насыщения тканей дакриостомы Митомицином-С // **Офтальмологические ведомости.** – 2017. № 1.–С.17-22
6. Роот А.О., Атькова Е.Л. Модифицированный способ профилактики рубцевания дакриостомы после эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии // Современные технологии в офтальмологии. – 2017.№4.–С.173-177
7. Atkova E.L., Fedorov A.A., Root A.O., Iartsev S.D., Krakhovetsky N.N., Yartsev V.D. Causes of unsatisfactory results of the use of mitomycin-C in endoscopic endonasal dacryocystorhinostomy // Saudi Journal of Ophthalmology. – 2017. № 31(3). - P.150-155.
8. Атькова Е.Л., Раменская Г.В., Роот А.О., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Ярцев С.Д., Петухов А.Е., Шохин И.Е. Новый способ применения Митомицина-С при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии // **Вестник офтальмологии.** – 2017; Т. 133 .– № 5. – С.17-25.

### Список сокращений

ВЭЖХ-МС	высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия
ДЦР	Дакриоцисториностомия
ММС	Митомицин-С
МСКТ	Мультиспиральная компьютерная томография
СОП	слезоотводящие пути