

УДК: 616-092

doi:

Противовоспалительная терапия в острые сроки при хроническом ишемическом повреждении сетчатки глаза у крыс

Клочихина Е.М., Гаврилова С.А.

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Факультет Фундаментальной Медицины.
119991, Ленинские горы, д. 1

Ишемия сетчатки возникает вследствие окклюзии сосудов сетчатки или как осложнение при таких заболеваниях, как диабет, глаукома, и при других патологиях. Ишемическое повреждение связано с развитием воспалительного ответа и активацией каскада арахидоновой кислоты. Цель настоящей работы состояла в изучении влияния блокады каскада арахидоновой кислоты на развитие ишемического повреждения сетчатки глаза крысы. **Методы.** Ишемию сетчатки моделировали путем двусторонней окклюзии внутренних сонных артерий (ВСА) у крыс-самцов линии Вистар. Через 15 минут после окклюзии ВСА вводили интравитреально (по 2 мкл) лорноксикам (неселективный блокатор циклооксигеназы), триамцинолон (блокатор фосфолипазы А2) и физиологический раствор. Кроме того, через 24 и 48 ч после окклюзии ВСА лорноксикам вводили внутривнутрибрюшинно (230 мкг/кг) и внутримышечно триамцинолон (571 мкг/кг). Офтальмоскопию для оценки состояния глазного дна проводили до операции, через 7, 14, 28, 56 и 180 суток после окклюзии артерий. В аналогичные сроки осуществляли энуклеацию глаз для гистологического исследования. **Результаты** исследования показали, что лорноксикам обладает пролонгированным протекторным эффектом на ишемизированную сетчатку, в частности, замедляет истончение сетчатки и ограничивает увеличение площади неперфузируемых капиллярных зон. В то же время эффекты триамцинолона были неоднозначными, кратковременными и развивались на фоне ухудшения общего самочувствия животных. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о возможности применения блокаторов синтеза простагландинов для терапии ишемических заболеваний сетчатки глаза.

Ключевые слова: ишемия глаза, сетчатка, циклооксигеназа, глюкокортикоид, лорноксикам, триамцинолон, арахидоновая кислота

Для цитирования: Клочихина Е.М., Гаврилова С.А. Противовоспалительная терапия в острые сроки при хроническом ишемическом повреждении сетчатки глаза у крыс. Патогенез. 2017; 15(3): 51–57.

Для корреспонденции: Клочихина Екатерина Михайловна, аспирант, e-mail: klochikhinaem@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.02.2017

Anti-inflammatory therapy in acute periods of chronic ischemic retinal injury in rats

Klochikhina E.M., Gavrilova S.A.

Moscow State University named after M.V. Lomonosov, Department of Basic Medicine, Leninskie Gory 1, Moscow 119991, Russia

Background. Retinal ischemia results from retinal vascular occlusion or develops as a complication of diabetes mellitus, glaucoma, and various neovascular diseases. Ischemic injury is definitely related with an inflammatory response and activation of the arachidonic acid cascade. For this reason, the aim of this study was to examine the course of changes in ischemic injury of rat retina and the effect of blocking the arachidonic acid cascade at early stages. **Methods.** Retinal ischemia was simulated by bilateral occlusion of internal carotid arteries (ICA) in Wistar male rats. Lornoxicam (non-selective cyclooxygenase inhibitor), triamcinolone (phospholipase A2 inhibitor), and saline were injected intravitreally at 15 min following ICA bilateral occlusion and intraperitoneally at 24 h and 48 h. The fundus was examined using ophthalmoscopy before the operation and at 7, 14, 28, 56, and 180 days following the occlusion. Enucleation was conducted for histological analysis on the same days. **Results.** Lornoxicam administered at early stages exerted a long-term protective effect on the ischemic retina. Effects of triamcinolone were controversial, brief, and associated with impaired general state of animals. Therefore, prostaglandin synthesis inhibitors might be used as a therapy for retinal ischemic disease.

Key words: eye ischemia, retina, NSAID, glucocorticoids, lornoxicam, triamcinolone, arachidonic acid.

For citation: Klochikhina E.M., Gavrilova S.A. Anti-inflammatory therapy in acute periods of chronic ischemic injury of the retina in rats. Pathogenesis. 2017; 15(3): 51–57 (In Russian).

For correspondence: Ekaterina Mikhailovna Klochikhina, Post-graduate student. E-mail: klochikhinaem@gmail.com

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 16.02.2017

Сетчатка является одной из самых метаболически активных тканей организма и обладает уникальной системой кровоснабжения. Ишемия сетчатки возникает при окклюзии сосудов сетчатки, диабете, глаукоме или неоваскулярных заболеваниях глаз и вызывает метаболические нарушения и развитие воспалительной реакции, которые приводят к некрозу и апоптозу клеток сетчатки и потере зрения.

Активация каскада арахидоновой кислоты (АК) как часть воспалительного ответа происходит в первые часы ишемии. Фосфолипаза А₂ (ФЛ А₂) высвобождает (АК) из мембранных фосфолипидов. Циклооксигеназы (ЦОГ) метаболизируют АК до простагландина H₂ на внутренних мембранах клеток, далее спектр секретлируемых простагландинов определяется профилем простагландин-синтаз, экспрессирующихся в клетке. Существуют две основные изоформы ЦОГ: конститутивная ЦОГ-1 и индуцибельная ЦОГ-2. Считается, что ЦОГ-2 является провоспалительным ферментом, его экспрессия увеличивается при патологии. ФЛ А₂ и оба типа ЦОГ обнаружены как в сетчатке здорового глаза так и при заболеваниях, сопровождающихся ишемией. Настоящее исследование сосредоточено на изучении роли простагландинов в развитии ишемического повреждения сетчатки.

Роль каскада АК в ишемическом повреждении сетчатки не изучена. Основываясь на том, что глаз является частью центральной нервной системы, можно предположить наличие сходной динамики воспалительного ответа в сетчатке и в головном мозге при ишемии. Dignagl с коллегами в 1999 году показали наличие двух пиков активности ЦОГ-2 — через 2 и 48 часов от начала ишемии мозга [1]. В 2012 году Тихонович М.В. с соавторами показали, что у крыс с ишемическим инсультом блокирование ЦОГ приводит к уменьшению размера поражения, к снижению глиоза и увеличению выживаемости нейронов [2]. Показано, что в мозге, ткани близкой по своей структуре к сетчатке, ишемия вызывает два пика воспалительного ответа, а введение таких препаратов через 15 минут, 24 и 48 часов после начала воспаления блокирует оба пика воспалительного ответа [13].

Эти результаты позволяют предположить, что ингибиторы образования простагландинов могут ограничивать ишемические повреждения сетчатки. В данной работе для ингибирования каскада АК использовали триамцинолон — глюкокортикоид, применяемый в офтальмологической практике для интравитреального введения (то есть в глазное яблоко). Циклооксигеназный путь метаболизма АК ингибировали лорноксикамом, нестероидным противовоспалительным препаратом. Лорноксикам нетоксичен [3], обладает сильным противовоспалительным действием, улучшает микроциркуляцию [4] и оказывает нейропротекторное действие [2]. Важно отметить, что триамцинолон блокирует весь каскад АК, в то время как лорноксикам — только биосинтез простагландинов, оставляя сохранным биосинтез лейкотриенов и других метаболитов АК.

Таким образом, цель настоящего исследования состояла в изучении динамики ремоделирования сетчатки и изменений сосудистого русла глазного дна и хориоидеи у крыс с глобальной ишемией глаза, а также в изучении влияния триамцинолона и лорноксикама на эти процессы.

Моделирование ишемии сетчатки. При работе с лабораторными животными соблюдали регламент, определенный Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. N 708н г. Москва «Об утверждении Правил лабораторной практики»), эксперименты разрешены комиссией по биоэтике факультета фундаментальной медицины МГУ.

Исследования проводили на самцах крыс популяции Вистар (n = 185), с начальной массой 374 ± 55 г. Животных содержали в условиях вивария со световым режимом 12 часов — день, 12 часов — ночь и свободным доступом к еде и воде.

У наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг) крыс глобальную ишемию глаз моделировали путем последовательной перевязки двух внутренних сонных артерий (ВСА) хлопковой лигатурой с интервалом в 30 минут. В глаза закапывали: для анестезии — Алкаин (0,5%, от Alcon-Couvreur N.V. S.A., Бельгия), для расширения зрачка и контроля внутриглазного введения иглы — Мидриацил (0,5%, от Alcon-Couvreur N.V. S.A., Бельгия), для дезинфекции — Витабакт (0,05%, от Novartis Pharma, Швейцария, до и после инъекций). Через 15 минут после двусторонней окклюзии ВСА интравитреально стерильно в правый глаз вводили (иглы «Meso-Relle» 30G 0,3 x 12) лорноксикам (8 мг/мл, Ксефокам® от NycomedAustria, Австрия) или триамцинолон (40 мг/мл, Кеналог® от Bristol-Myers SquibbS.r.L., Италия); контрольным крысам физиологический раствор (0,9% NaCl) эквивалентно. Объем введения составил 2 мкл в глаз во всех группах. Через 24 и 48 часов после операции выполняли инъекции: лорноксикам — 230 мкг/кг (в/бр), триамцинолон — 571 мкг/кг (в/м), физиологический раствор — 0,5 мл/кг (в/бр). Дозы препаратов рассчитаны на основе рекомендаций для людей.

Было 4 экспериментальные группы: 1-я группа (n = 16) — интактный контроль (ИК); 2-я группа (n = 59) — окклюзия ВСА и введение 0,9%-ного раствора NaCl (Ок+Физ.); 3-я группа (n = 58) — введение лорноксикама в глаз через 15 мин после окклюзии ВСА (Ок+Лорн), а затем через 24 и 48 час (в/бр) после операции; 4-я группа (n = 52) — введение триамцинолона в глаз через 15 мин после окклюзии ВСА (Ок+Триам), а затем через 24 и 48 часов (в/м) после операции.

Общее состояние крыс оценивали визуально, массу и летальность определяли в течение всего эксперимента. Визуально фиксировали развитие катаракты и гемофтальмов. Офтальмоскопию и забор гистологического материала осуществляли до операции, через 7, 14, 28, 56 и 180 суток после окклюзии ВСА.

Офтальмоскопия. Состояние глазного дна оценивали методом непрямой бинокулярной офтальмоскопии. Отмечали частоту проявления признаков ишемии сетчатки: извитость и отечность вен, микрокровоизлияния, отечность сетчатки вокруг диска зрительного нерва, стаз отдельных сосудов. Для оценки степени дистрофии диска зрительного нерва, а также образования неперфузируемых капиллярных зон делили глазное дно на восемь условных визуализированных секторов (0—8 баллов), где 0 баллов — отсутствие микроциркуляторных нарушений, а 8 баллов — наличие неперфузируемых капиллярных зон во всех секторах (рис. 1а).

Морфологические исследования. В группах с введением препаратов энуклеировали правый глаз, в группе Ок+Физ — оба глаза. Глаза фиксировали в оригинальном фиксаторе Дэвидсона [5] 20 часов. Гистологический материал обезживали в спиртах с возрастающей концентрацией и заключали в парафиновые блоки стандартно. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ осуществляли в программе AxioVision.

На гистологических срезах определяли частоту возникновения волнистых (ундулирующих) структур, их протяженность определяли как процент от общей длины сетчатки. Измеряли толщину всей сетчатки, толщину внутренних слоев сетчатки, а также каждого слоя в отдельности в трех зонах сетчатки — центральной, экваториальной и периферической (рис. 1).

Статистический анализ. Данные обрабатывали в пакете программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 6.0. Результаты представлены как медиана, ± 5 и 95 процентиль. Статистическую значимость межгрупповых различий динамики изменения толщины сетчатки и отдельных ее слоев оценивали критериями Манн—Уитни и ANOVA. Межгрупповые различия частот возникновения признаков ишемии, катаракт и гемофтальмов проводили точным критерием Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Общее состояние животных и смертность. Двусторонняя окклюзия ВСА нарушая кровоснабжение мозга, вызывает ухудшение общего состояния животных, уменьшение их массы и приводит к смерти. Общая смертность крыс за 6 месяцев эксперимента в группе Ок+Физ составила 38%, а в группах Ок+Лорн и Ок+Триам уменьшалась на 10%. Интересно, что триамцинолон вызывал потерю массы максимально на 17% на 14 сутки эксперимента ($p < 0,05$), по сравнению со всеми группами. В то же время лорноксикам не влиял на массу крыс после ОК ВСА.

Состояние глазного дна. Визуальная оценка и офтальмоскопические исследования показали, что частота развития катаракты была одинакова во всех экспериментальных группах, получавших внутриглазные инъекции, и составила 12%. В то же время помутнение хрусталика в группе Ок+Физ развивалось через 28 суток от начала эксперимента, а в группе Ок+Триам — через 7 суток, то есть значительно раньше. Лорноксикам предупреждал помутнение хрусталика.

Офтальмоскопическое исследование глазного дна крыс выявило побледнение диска зрительного нерва, начиная с 7-х суток после окклюзии ВСА, и медленную его деградацию в течение всего эксперимента (рис. 2 б, в). Введение физиологического раствора (рис. 2 г, ж) или лорноксикама (рис. 2 д, з) не повлияло на динамику деградации диска зрительного нерва. Ингибирование ФЛ А2 с помощью триацинолола вызывало резкое статистически достоверное ухудшение трофики зрительного диска на 14 сутки после ишемии ($p = 0,013$ по сравнению с группой Ок+Физ), на более поздних сроках различий не выявлено (рис. 2 е, и). Во всех группах через 7 суток после окклюзии ВСА выявили отек сетчатки вокруг зрительного диска.

Ишемия сетчатки, начиная с 7 суток, приводит к окклюзии мелких сосудов в 5 из 8 секторов сетчатки, а к 28

суткам эксперимента капиллярное русло сетчатки полностью запустевает. Интравитреальная инъекция физиологического раствора в ишемизированный глаз не повлияла на состояние сосудов глазного дна. Применение лорноксикама тормозило опустошение капилляров сетчатки, и к 28 суткам эксперимента наблюдали неполное запускание микрососудистого русла (7 баллов). В группе Ок+Триам через 7 суток после окклюзии ВСА капилляры в меньшей степени страдали от ишемии, чем в других

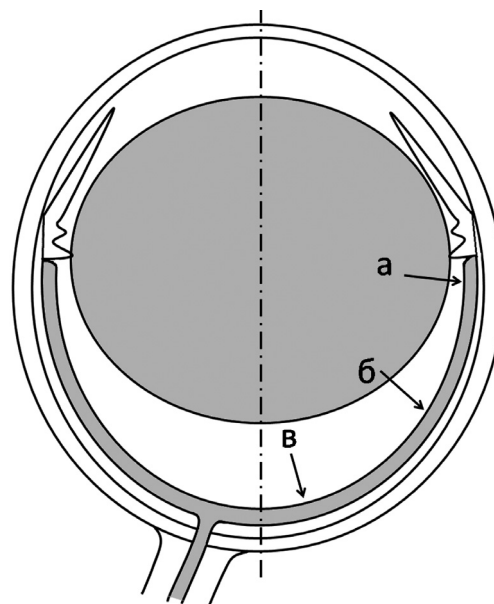


Рис. 1. Условное деление сетчатки глаза на зоны для ее гистологического анализа. Общая толщина сетчатки и толщина отдельных слоев была измерена в трех зонах — периферической (а), экваториальной (б) и центральной (в).

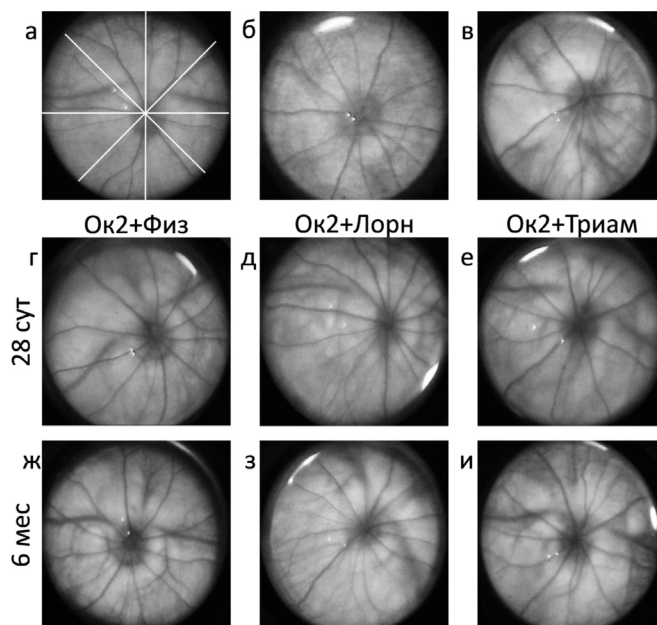


Рис. 2. Влияние ишемии глаза и противовоспалительной терапии на состояние глазного дна. (а) — изображение глазного дна крысы группы ИК. Обозначены 8 секторов для оценки зон капиллярного запускания: (б-в) — изображения глазного дна через 7 суток (б) и 6 месяцев (в) после окклюзии ВСА. (г-и) — изображения глазного дна в экспериментальных группах: (г-е) — через 28 суток; (ж-и) — 6 месяцев после окклюзии ВСА и интравитреальной инъекции.

группах, но к 28 суткам эксперимента в сетчатке этих крыс, аналогично группе Ок+Физ, капилляры не обнаруживались.

Морфологический анализ состояния сетчатки. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, ишемизированная сетчатка сохраняла упорядочен-

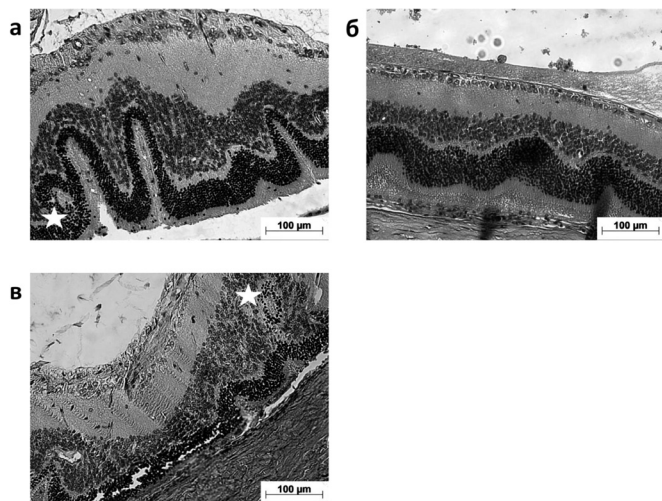


Рис. 3. Развитие ундулирующих изменений сетчатки глаза вследствие дополнительного травмирования ишемизированного глаза интравитреальной инъекцией: (а) — волнообразные и розеточные (белая звездочка) изменения на 56 сутки после окклюзии ВСА и интравитреальной инъекции физиологического раствора; (б) — волнообразные изменения на 14 сутки после окклюзии ВСА и инъекции триамцинолона; (в) — волнообразные и розеточные (белая звездочка) изменения через 6 месяцев после окклюзии ВСА и интравитреальной инъекции лорноксикама.

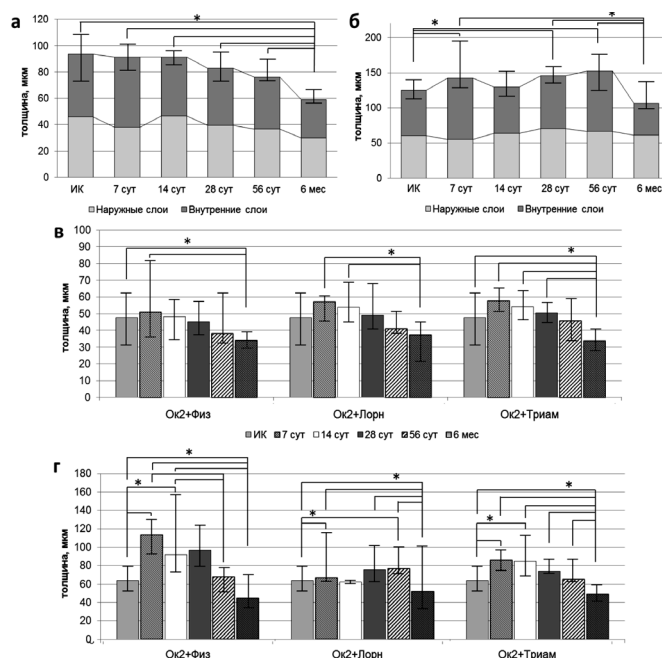


Рис. 4. Влияние двусторонней окклюзии ВСА (Ok2) и противовоспалительной терапии на толщину сетчатки и отдельных ее слоев: (а—б) — толщина наружных и внутренних слоев сетчатки в (а) периферической и (б) центральной зонах после окклюзии ВСА; (в) — динамика толщины внутренних слоев сетчатки в периферической зоне; (г) — динамика толщины внутренних слоев сетчатки в центральной зоне. По оси ординат — толщина сетчатки в мкм.

ную структуру слоев на всем протяжении. Прокол глазного яблока с введением физиологического раствора или препаратов приводил к появлению волнистых и розеточных изменений сетчатки, которые затрагивали всегда только наружные слои сетчатки и располагались преимущественно в центральной зоне (рис. 3). Частота развития ундулирующих изменений была самой высокой в группе Ок+Физ (11 крыс из 43), данные изменения появлялись через 14 суток после окклюзии ВСА и занимали до 8% от всей длины сетчатки, а через 56 суток — около 30%. Триамцинолон уже на 7 сутки после ишемии у 2 крыс из 7 вызвал нарушения структуры наружных слоев сетчатки, занимающих 15% ее длины. В группе Ок+Лорн был выявлен только один случай развития волнистых изменений сетчатки и только через 6 месяцев после окклюзии ВСА.

Ишемия приводила к постепенному уменьшению общей толщины сетчатки, в основном, за счет истончения внутренних слоев. Наружные слои сетчатки устойчивы к ишемическому повреждению, и только к 6 месяцам эксперимента толщина наружного ядерного слоя (НЯС) уменьшалась (рис. 4 а, б). Изменение толщины сетчатки было неравномерным, наблюдался градиент деградации сетчатки от периферии к центру во всех группах. В экваториальной и центральной зонах толщина внутренних слоев сетчатки сначала увеличивалась, а затем медленно уменьшалась (рис. 4в). Наибольшее уменьшение было в группах Ок и Ок+Физ. Под действием лорноксикама и триамцинолона наблюдалась тенденция к торможению истончения сетчатки. Наибольшее увеличение общей толщины сетчатки на (19,7%) выявлено на фоне применения триамцинолона на 14 сутки после окклюзии ВСА в центральной зоне (рис. 4г). В группе Ок+Лорн толщина сетчатки на 7—56 сутки была сопоставима с группой ИК.

Через 6 месяцев после моделирования ишемии толщины слоя ганглионарных клеток (СГК) в центральной зоне в группе Ок+Физ по сравнению с ИК уменьшалась на 16,0% ($p < 0,04$). На фоне противовоспалительной терапии статистически значимых различий в толщине СГК при сравнении с группой ИК выявлено не было ($p > 0,05$). Толщина НЯС в периферической и экваториальной зонах во всех группах, за исключением группы с интравитреальным введением лорноксикама, к 6 месяцам эксперимента значимо уменьшалась.

Обсуждение дизайна исследования. Двухсторонняя перерезка ВСА сопровождается тотальной ишемией сетчатки, которая на нашей модели менее выражена, чем на моделях с более проксимальным лигированием сонных артерий. Поэтому мы ожидали уменьшения осложнений со стороны нервной системы. Для уменьшения смертности крыс между лигированием правой и левой ВСА соблюдали временной промежуток 30 мин. Важно отметить, что существующие модели ишемии сетчатки путем окклюзии глазной артерии [6] сопровождаются повреждением глазных артерий, вены и нерва, так как при этом нервно-сосудистый пучок перевязывают целиком. Такая операция сопровождается подъемом глаза над глазной орбитой, приближена к глазу и не подходит для достижения нашей цели, так как может исказить результат исследования. Моделирование ишемии сетчатки с повышением внутриглазного давления физически ее травмирует, увеличивает скорость ее деградации [7]. Наша модель позволяет длительно, в течение 6 месяцев, наблюдать за развитием

ишемического повреждения глаза, что соответствует клиническим наблюдениям по угасанию зрения у людей с ишемией сетчатки.

На модели необратимой двусторонней окклюзии ВСА развивается медленная, неравномерная деградация сетчатки от периферии к центральной зоне за счет уменьшения толщины внутренних слоев. Только через 6 месяцев после моделирования ишемии наружный ядерный слой значительно истончается. Медленная деградация сетчатки связана с особенностями кровоснабжения глаза и способом моделирования ишемии. Тотальная ишемия глаза развивается только при окклюзии глазной артерии [6], в то время как перевязка общих сонных артерий приводит к неполной глобальной ишемии сетчатки. В последнем случае за 12 недель развиваются тонкие повреждения слоя ганглионарных клеток и хроническое повреждение оптического диска [8—11]. Считается, что сохраненный кровоток по позвоночным артериям частично компенсирует нарушенное кровоснабжение глаза. Анатомически это возможно через обратный ток крови в глазную артерию из виллизиева круга. На нашей модели сосуды хориоидеи страдают меньше, чем сосуды глазного дна, и наружные слои сетчатки остаются сохранными более длительное время. Только к 6 месяцу эксперимента сосуды глазного дна сужаются, что приводит к ухудшению кровоснабжения зрительного нерва.

Обсуждение

В данных экспериментах ишемия вызывала деградацию, истончение слоя ганглионарных клеток и внутренних слоев сетчатки. Подобные нарушения описаны при глаукоме, передней ишемической нейропатии зрительного нерва, окклюзии сосудов сетчатки и хориоидальных сосудов и других ишемических ретинопатиях. Учитывая экспериментальные исследования на ишемических моделях [15—18], можно считать, что деградация слоя ганглионарных клеток является устойчивым признаком ишемического повреждения сетчатки, а сохранение его структуры и функции — признаком успешной терапии.

Аналогично, толщина НЯС, в состав которого входят тела и наружные сегменты фоторецепторов, отражает степень нейродегенеративных процессов и коррелирует с ее функциональной состоятельностью [19]. В нашем исследовании статистически значимое уменьшение толщины НЯС было выявлено во всех экспериментальных группах за исключением группы с применением лорноксикама.

По данным литературы интравитреальная инъекция, прокол глазного яблока, может приводить к таким осложнениям, как эндофтальмит, кровоизлияние в стекловидное тело и отслойка сетчатки [20]. Наиболее частыми осложнениями интравитреального введения триамцинолона считают увеличение внутриглазного давления, катарактогенез, эндофтальмит, тракционную отслойку сетчатки, которая развивается в 0,08% случаев [21]. В данном исследовании интравитреальная инъекция на фоне ишемии глаза увеличивала риск развития волнообразных структур наружных слоев сетчатки, а на более поздних сроках способствовала развитию розеточных структур. Формирование розеток часто встречается на моделях отслойки сетчатки [22] и в практике как постоперационное осложнение после витректомики с целью устранения отслойки сетчатки [23]. В нашем эксперименте ундулирую-

щие изменения наружных слоев сетчатки появлялись через 56 суток ишемического повреждения. Вероятно, прокол глазного яблока, микронарушение гематофтальмического барьера являются причиной развития воспаления и, возможно, отслойки сетчатки.

Влияние препаратов на динамику ишемического повреждения сетчатки. Ишемия глаза сопровождается болью. Лорноксикам, в дополнение к противовоспалительному действию, обладает высоким анальгетическим эффектом, что показано в исследованиях *in vivo* при ишемии головного мозга [14], а, значит, он может улучшать общее состояние животных при окклюзии ВСА. Триамцинолон в настоящее время используют в офтальмологической практике, хотя известны его такие побочные эффекты как повышение внутриглазного давления и катарактогенез. Ввиду того, что данный препарат является глюкокортикоидом, он может вызывать гипергликемию и иммуносупрессию, что объясняет значительную потерю массы у крыс, правда, в литературе этот факт не описан. Несмотря на кажущийся отрицательный эффект, триамцинолон не увеличивал смертность крыс в эксперименте.

Триамцинолон обладает прямым сосудосуживающим эффектом и уменьшает сосудистую проницаемость [24]. Однако в наших опытах были обнаружены признаки отека центральной зоны сетчатки после однократной интравитреальной инъекции триамцинолона. При лечении отеков возникает необходимость поддерживающих введений препарата. В крупном рандомизированном исследовании в рамках проекта DRCR.net [25] у больных диабетической ретинопатией показано, что интравитреальное введение 4 мг триамцинолона эффективнее, чем лазерная коагуляция в макулярной области. Однако с 4-го месяца применения триамцинолона протективный эффект уменьшался, а вероятность возникновения побочных эффектов увеличивалась с каждым последующим интравитреальным введением [25]. Мы наблюдали аналогичную картину, а именно, кратковременное протекторное действие сменялось осложнениями. Следует отметить, что триамцинолон может оказывать прямое токсическое действие на сетчатку, вызывая гибель клеток, преимущественно клеток пигментного эпителия и клеток Мюллера, по каспаза-независимому механизму путем параптоза [26].

Несмотря на неоднозначные эффекты, наши результаты показывают, что триамцинолон сдерживает тотальную окклюзию капилляров сетчатки, риск развития ундулирующих изменений, возможно и риск отслойки сетчатки.

В офтальмологической практике для лечения цистозидного макулярного постоперационного отека и воспаления в постоперационном периоде применяют нестероидные противовоспалительные средства (индометацин, кеторолак, непафенак, [27]). В данной работе впервые для подавления ремоделирования ишемизированной сетчатки использовали лорноксикам — неселективный ингибитор ЦОГ, который, как показано на кроликах, не оказывает токсичное действие при введении в стекловидное тело глаза [3]. Лорноксикам не ухудшал общего состояния крыс в течение всего эксперимента. Известно, что на модели травматического повреждения мозга крыс препарат уменьшает отек, но не влияет на проницаемость ГЭБ [28]. В наших экспериментах лорноксикам также уменьшал отечность сетчатки в центральной зоне, тормозил истончение внутренних слоев сетчатки на периферии и препят-

тствовал истончению НЯС на всем протяжении сетчатки даже к 6 месяцам эксперимента. В данной группе был выявлен только один случай развития ундулирующих изменений. Важно, что данный препарат значительно предотвращал тотальную окклюзию капилляров сетчатки, максимально уменьшал риск развития отслойки сетчатки.

Заключение

Результаты данного исследования показали, что лорноксикам, примененный в острый период ишемии, обладает длительным защитным действием на ишемизированную сетчатку. В то же время эффекты триамцинолона были неоднозначными, кратковременными и развивались на фоне ухудшения общего самочувствия животных. Кроме того триамцинолон токсичен для сетчатки и сдвигает обменные процессы в организме в целом. Причиной такого разного действия испытывавшихся препаратов может быть тот факт, что как уже указывалось, триамцинолон блокирует весь каскад АК, в то время как лорноксикам — только биосинтез простагландинов, оставляя сохранным биосинтез лейкотриенов и других метаболитов АК. Полученные результаты позволяют надеяться, что ингибирование биосинтеза простагландинов может быть использовано для терапии ишемии сетчатки.

Список литературы

1. Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M.A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* 1999; 22(9): 391-7.
2. Тихонович М.В., Гаврилова С.А., Таратин Д.В., Леоненко И.В., Парнес Е.Я. Ингибирование циклооксигеназы уменьшает размер некроза и гибель нейронов в коре головного мозга крыс с ишемическим инсультом и инсультом, осложненным реперфузией сонных артерий. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2012;. 4(4): 83-90.
3. Diakonis V.F., Tsourdou A., Tzatzarakis M.N., Tsika C., Charisis S., Naoumidi I., Plainis S., Tsilimbaris M.K. Evaluation of vitreous clearance and potential retinal toxicity of intravitreal lornoxicam (xefo). *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2013; 29(7): 627-32.
4. Berg J., Christoph T., Widerna M., Bodenteich A. Isoenzyme-specific cyclooxygenase inhibitors: a whole cell assay system using the human erythroleukemic cell line HEL and the human monocytic cell line Mac 6. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 1997; 37(4): 179-86.
5. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4): 524-33.
6. Osborne N.N., Chidlow G., Layton C.J., Wood J.P., Casson R.J., Melena J. Optic nerve and neuroprotection strategies. *Eye (Lond).* 2004; 18(11): 1075-84.
7. Gehlbach P.L., Purple R.L. A paired comparison of two models of experimental retinal ischemia. *Curr. Eye Res.* 1994; 13(8): 597-602.
8. Spertus A.D., Slakter J.S., Weissman S.S., Henkind P. Experimental carotid occlusion: funduscopy and fluorescein angiographic findings. *Br. J. Ophthalmol.* 1984; 68(1): 47-57.
9. Stevens W.D., Fortin T., Pappas B.A. Retinal and optic nerve degeneration after chronic carotid ligation: time course and role of light exposure. *Stroke.* 2002; 33: 1107-12.
10. Takamatsu J., Hirano A., Levy D., Henkind P. Experimental bilateral carotid artery occlusion: a study of the optic nerve in the rat. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1984; 10(6): 423-8.
11. Wakita H., Tomimoto H., Akiguchi I., Matsuo A., Lin J.X., Ihara M., McGeer P.L. Axonal damage and demyelination in the white matter after chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res.* 2002; 924(1): 63-70.
12. Coleman D.J., Silverman R.H., Rondeau M.J., Lloyd H.O., Khanifar A.A., Chan R.V. Age-related macular degeneration: choroidal ischaemia? *Br. J. Ophthalmol.* 2013; 97(8): 1020-23.

13. Williams A.J., Hartings J.A., Lu X.C., Rolli M.L., Dave J.R., Tortella F.C. Characterization of a new rat model of penetrating ballistic brain injury. *J. Neurotrauma.* 2005; 22(2): 313-31.

14. Kullich W., Klein G., Pollmann G. Influence of lornoxicam on serum pepsinogen levels. *Postgrad. Med. J.* 1990; 4: 46-8.

15. Akiyama H., Nakazawa T., Shimura M., Tomita H., Tamai M. Presence of mitogen-activated protein kinase in retinal Muller cells and its neuroprotective effect ischemia-reperfusion injury. *Neuroreport.* 2002; 13(16): 2103-07.

16. Goto W., Ota T., Morikawa N., Otori Y., Hara H., Kawazu K., Miyawaki N., Tano Y. Protective effects of timolol against the neuronal damage induced by glutamate and ischemia in the rat retina. *Brain Res.* 2002; 958(1): 10-9.

17. Li Y., Schlamp C.L., Poulsen G.L., Jackson M.W., Griep A.E., Nickells R.W. P53 regulates apoptotic retinal ganglion cell death induced by N-methyl-D-aspartate. *Mol. Vis.* 2002; 8: 341-50.

18. Zhang X., Chaudhry A., Chintala S.K. Inhibition of plasminogen activation protects against ganglion cell loss in a mouse model of retina damage. *Mol. Vis.* 2003; 9: 238-48.

19. Nakazawa T., Takeda M., Lewis G.P., Cho K.S., Jiao J., Wilhelmsson U., Fisher S.K., Pekny M., Chen D.F., Miller J.W. Attenuated glial reactions and photoreceptor degeneration after retinal detachment in mice deficient in glial fibrillary acidic protein and vimentin. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007; 48: 2760-8.

20. Ozkiris A., Evereklioglu C., Erkilic K., Tamcelik N., Mirza E. Intravitreal triamcinolone acetonide injection as primary treatment for diabetic macular edema. *Eur. J. Ophthalmol.* 2004; 14(6): 543-9.

21. Sampat K.M., Garg S.J. Complications of intravitreal injections. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2010; 21(3): 178-83.

22. Kim B., Abdel-Rahman M.H., Wang T., Pouly S., Mahmoud A.M., Cebulla C.M. Retinal MMP-12, MMP-13, TIMP-1, and TIMP-2 expression in murine experimental retinal detachment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55(4): 2031-40.

23. dell'Omo R., Tan H.S., Schlingemann R.O., Bijl H.M., Lesnik Oberstein S.Y., Barca F., Mura M. Evolution of outer retinal folds occurring after vitrectomy for retinal detachment repair. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012; 53(13): 7928-35.

24. Wilson R.S., Havener W.H., McGrew R.N. Bilateral retinal artery and choriocapillaris occlusion following the injection of long-acting corticosteroid suspensions in combination with other drugs: I. Clinical studies. *Ophthalmology.* 1978; 85(9): 967-73.

25. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network (DRCR.net), Beck R.W., Edwards A.R., Aiello L.P., Bressler N.M., Ferris F., Glassman A.R., Hartnett E., Ip M.S., Kim J.E., Kollman C. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch. Ophthalmol.* 2009; 127(3): 245-51.

26. Torriglia A., Valamanesh F., Behar-Cohen F. On the retinal toxicity of intraocular glucocorticoids. *Biochem. Pharmacol.* 2010; 80(12): 1878-86.

27. Kim S.J., Schoenberger S.D., Thorne J.E., Ehlers J.P., Yeh S., Bakri S.J. Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cataract surgery: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 2015; 122(11): 2159-68.

28. Topcu I., Gumuser G., Bayram E., Aras F., Cetin I., Temiz C., Civi M. The effects of lornoxicam on brain edema and blood brain barrier following diffuse traumatic brain injury in rats. *Ulus. Travma. Acil. Cerrahi. Derg.* 2013; 19(4): 294-8.

References

1. Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M.A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* 1999; 22(9): 391-7.
2. Tikhonovich M.V., GavriloVA S.A., Taratin I.V., Leonenko I.V., Parnes E.I. Inhibition of COX reduces the size of necrosis and death of neurons in the cerebral cortex of rats with ischemic insult and insult complicated with reperfusion of carotid arteries. *Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya.* 2012;. 4(4): 83-90. (in Russian)
3. Diakonis V.F., Tsourdou A., Tzatzarakis M.N., Tsika C., Charisis S., Naoumidi I., Plainis S., Tsilimbaris M.K. Evaluation of vitreous clearance and potential retinal toxicity of intravitreal lornoxicam (xefo). *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2013; 29(7): 627-32.
4. Berg J., Christoph T., Widerna M., Bodenteich A. Isoenzyme-specific cyclooxygenase inhibitors: a whole cell assay system using the human erythroleukemic cell line HEL and the human

monocytic cell line Mac 6. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 1997; 37(4): 179-86.

5. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4): 524-33.

6. Osborne N.N., Chidlow G., Layton C.J., Wood J.P., Casson R.J., Melena J. Optic nerve and neuroprotection strategies. *Eye (Lond).* 2004; 18(11): 1075-84.

7. Gehlbach P.L., Purple R.L. A paired comparison of two models of experimental retinal ischemia. *Curr. Eye Res.* 1994; 13(8): 597-602.

8. Spertus A.D., Slakter J.S., Weissman S.S., Henkind P. Experimental carotid occlusion: funduscopy and fluorescein angiographic findings. *Br. J. Ophthalmol.* 1984; 68(1): 47-57.

9. Stevens W.D., Fortin T., Pappas B.A. Retinal and optic nerve degeneration after chronic carotid ligation: time course and role of light exposure. *Stroke.* 2002; 33: 1107-12.

10. Takamatsu J., Hirano A., Levy D., Henkind P. Experimental bilateral carotid artery occlusion: a study of the optic nerve in the rat. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1984; 10(6): 423-8.

11. Wakita H., Tomimoto H., Akiguchi I., Matsuo A., Lin J.X., Ihara M., McGeer P.L. Axonal damage and demyelination in the white matter after chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res.* 2002; 924(1): 63-70.

12. Coleman D.J., Silverman R.H., Rondeau M.J., Lloyd H.O., Khanifar A.A., Chan R.V. Age-related macular degeneration: choroidal ischaemia? *Br. J. Ophthalmol.* 2013; 97(8): 1020-23.

13. Williams A.J., Hartings J.A., Lu X.C., Rolli M.L., Dave J.R., Tortella F.C. Characterization of a new rat model of penetrating ballistic brain injury. *J. Neurotrauma.* 2005; 22(2): 313-31.

14. Kullich W., Klein G., Pollmann G. Influence of lornoxicam on serum pepsinogen levels. *Postgrad. Med. J.* 1990; 4: 46-8.

15. Akiyama H., Nakazawa T., Shimura M., Tomita H., Tamai M. Presence of mitogen-activated protein kinase in retinal Muller cells and its neuroprotective effect ischemia-reperfusion injury. *Neuroreport.* 2002; 13(16): 2103-07.

16. Goto W., Ota T., Morikawa N., Otori Y., Hara H., Kawazu K., Miyawaki N., Tano Y. Protective effects of timolol against the neuronal damage induced by glutamate and ischemia in the rat retina. *Brain Res.* 2002; 958(1): 10-9.

17. Li Y., Schlamp C.L., Poulsen G.L., Jackson M.W., Griep A.E., Nickells R.W. P53 regulates apoptotic retinal ganglion cell death induced by N-methyl-D-aspartate. *Mol. Vis.* 2002; 8: 341-5

18. Zhang X., Chaudhry A., Chintala S.K. Inhibition of plasminogen activation protects against ganglion cell loss in a mouse model of retina damage. *Mol. Vis.* 2003; 9: 238-48.

19. Nakazawa T., Takeda M., Lewis G.P., Cho K.S., Jiao J., Wilhelmsson U., Fisher S.K., Pekny M., Chen D.F., Miller J.W. Attenuated glial reactions and photoreceptor degeneration after retinal detachment in mice deficient in glial fibrillary acidic protein and vimentin. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007; 48: 2760-8.

20. Ozkiris A., Evereklioglu C., Erkilic K., Tamcelik N., Mirza E. Intravitreal triamcinolone acetonide injection as primary treatment for diabetic macular edema. *Eur. J. Ophthalmol.* 2004; 14(6): 543-9.

21. Sampat K.M., Garg S.J. Complications of intravitreal injections. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2010; 21(3): 178-83.

22. Kim B., Abdel-Rahman M.H., Wang T., Pouly S., Mahmoud A.M., Cebulla C.M. Retinal MMP-12, MMP-13, TIMP-1, and TIMP-2 expression in murine experimental retinal detachment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55(4): 2031-40.

23. dell'Omo R., Tan H.S., Schlingemann R.O., Bijl H.M., Lesnik Oberstein S.Y., Barca F., Mura M. Evolution of outer retinal folds occurring after vitrectomy for retinal detachment repair. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012; 53(13): 7928-35.

24. Wilson R.S., Havener W.H., McGrew R.N. Bilateral retinal artery and choriocapillaris occlusion following the injection of long-acting corticosteroid suspensions in combination with other drugs: I. Clinical studies. *Ophthalmology.* 1978; 85(9): 967-73.

25. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network (DRCR.net), Beck R.W., Edwards A.R., Aiello L.P., Bressler N.M., Ferris F., Glassman A.R., Hartnett E., Ip M.S., Kim J.E., Kollman C. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch. Ophthalmol.* 2009; 127(3): 245-51.

26. Torriglia A., Valamanesh F., Behar-Cohen F. On the retinal toxicity of intraocular glucocorticoids. *Biochem. Pharmacol.* 2010; 80(12): 1878-86.

27. Kim S.J., Schoenberger S.D., Thorne J.E., Ehlers J.P., Yeh S., Bakri S.J. Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cataract surgery: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* 2015; 122(11): 2159-68.

28. Topcu I., Gumuser G., Bayram E., Aras F., Cetin I., Temiz C., Civi M. The effects of lornoxicam on brain edema and blood brain barrier following diffuse traumatic brain injury in rats. *Ulus. Travma. Acil. Cerrahi. Derg.* 2013; 19(4): 294-8.

Сведения об авторах

Ключихина Екатерина Михайловна, аспирант

Гаврилова Светлана Анатольевна, канд. биол. наук, доцент