

ТИХОНОВИЧ М. В., ГАВРИЛОВА С. А.

## Нестероидная противовоспалительная терапия эффективно предупреждает развитие пролиферативной витреоретинопатии в эксперименте

*Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова  
119192, Россия, Москва, Ломоносовский пр, д. 35, кор. 5  
e-mail: marina.tikhonovich@gmail.com*

### Реферат

**Введение и цель исследования.** Проллиферативная витреоретинопатия (ПВР) развивается в результате повреждения сетчатки и увеличения проницаемости гематофтальмического барьера. Активация воспаления, миграция и пролиферация клеток в область поражения приводит к формированию соединительнотканых мембран на поверхности сетчатки, приводящих к слепоте. Частота рецидивов ПВР при хирургическом удалении мембран составляет в среднем 30 %, терапевтические подходы не разработаны. Поскольку воспаление играет ключевую роль в формировании ПВР, целью работы являлось обосновать применение нестероидного противовоспалительного препарата лорноксикама для профилактики развития ПВР.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на крысах. ПВР моделировали введением диспазы интравитреально, 0,015 U/мкл. Через 20 минут интравитреально вводили лорноксикам, 8 мг/мл. Объем введенный — 2 мкл. На вторые и третьи сутки препарат вводили 230 мкг/кг внутривентально. Контролем служили интактные животные. Энуклеацию глаз проводили на первый, третий, седьмой и 42-й день эксперимента.

**Результаты исследования.** Лорноксикам уменьшил реакцию воспаления, вызванную введением диспазы. Он сдвинул момент начала ремоделирования сетчатки с первых на третьи сутки эксперимента, сдерживал образование «розеточных» структур в сетчатке ( $p < 0,05$ ), на 34 % ( $p < 0,05$ ) уменьшил частоту поражения фоторецепторов и в 2 раза ( $p < 0,05$ ) снизил выраженность их изменений. На протяжении всего эксперимента толщина сетчатки и хориоидеи животных, получающих терапию, соответствовала толщине сетчатки и хориоидеи интактных крыс. Введение диспазы сопровождалось развитием фиброзных мембран на сроке от 7 до 42 дней после начала эксперимента. Лорноксикам уменьшил частоту развития мембран на 43 % ( $p < 0,05$ ), а мембраны были меньшего размера и с менее выраженным фиброзным компонентом.

**Выводы.** Применение лорноксикама на ранних стадиях развития ПВР уменьшило проявление признаков воспаления в глазу: предупредило ремоделирование сетчатки на всех стадиях развития заболевания, на 43 % снизило частоту развития мембран и значительно уменьшило выраженность фиброзных процессов в последних.

**Ключевые слова:** лорноксикам, пролиферативная витреоретинопатия, НПВС, мембрана, ремоделирование сетчатки.

### Введение

Развитие пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) можно рассматривать как процесс заживления сетчатки при повреждении, сопровождающийся активацией воспаления [17] и развитием фиброзных мембран на ее поверхности. Данная патология относится к тяжелым глазным заболеваниям, так как приводит к стойкой потере зрения. Провоцируют развитие ПВР регматогенная отслойка сетчатки, травмы, увеит. Примерно в 11 % случаев ПВР является осложнением послеоперационного периода, приводящим к рецидиву отслойки сетчатки [20, 21]. В момент нарушения целостности сетчатки одним из первых активируется каскад арахидоновой кислоты. Из арахидоновой кислоты циклооксигеназы (ЦОГ-1 и ЦОГ-2) синтезируют провоспалительные простагландины, которые организуют процесс воспаления в поврежденной области [19]. Увеличение проницаемости сосудов сетчатки и хориоидеи происходит, во-первых, за счет их механического повреждения во время разрыва сетчатки, а во-вторых, за счет

действия на них медиаторов воспаления. Из поврежденных сосудов в витреальную полость глаза просачиваются клетки крови, формируется гемофтальм. Провоспалительные клетки синтезируют цитокины и факторы роста, что, с одной стороны, приводит к еще большему увеличению проницаемости сосудов, а с другой — стимулирует пролиферацию клеток. В процессе участвуют клетки крови — нейтрофилы, моноциты, макрофаги и клетки сетчатки — клетки пигментного эпителия, фибробластоподобные клетки, глиальные и др. [6]. Проллиферация и трансформация клеток приводят к увеличению их секреторной активности и формированию внеклеточного матрикса, через 2 недели от начала развития ПВР увеличение сократительной активности клеток мембраны вызывает ее складчатость и укорочение. Поскольку мембрана плотно связана с сетчаткой, то ее сокращение оказывает выраженное тракционное воздействие на сетчатку, сопровождающееся появлением разрывов, отеков и отслойкой последней [23].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Считалось, что на поздних стадиях ПВР, когда сформирована мембрана, процессы воспаления в глазу снижаются. Однако нами было показано, что в эпиретинальных мембранах человека на поздних стадиях ПВР экспрессируется как ЦОГ-1, так и провоспалительная изоформа фермента — ЦОГ-2 [5], т. е. наличие самих мембран поддерживает высокий уровень воспаления в глазу.

Заболевание диагностируют на поздних стадиях, когда мембраны сформированы и обширны. В настоящее время самым эффективным способом лечения ПВР считают хирургический [22], но в первые три месяца после операции частота рецидивов составляет в среднем 30 % [10]. Поэтому в дополнение к уже существующим хирургическим методам назрела необходимость разработки терапевтических подходов для профилактики ПВР.

Действие нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) на развитие пролиферативной витреоретинопатии не изучено. Для исследования нами был выбран лорноксикам. Он относится к НПВС, неселективно блокирует действие обеих изоформ циклооксигеназы, обладает выраженным противовоспалительным и антиагрегантным действием [18]. Данный препарат не оказывает токсического действия на сетчатку [7]. Лорноксикам способен уменьшать пролиферацию фибробластов и глиальных клеток [1, 3]. Можно предположить, что данные свойства лорноксикама будут эффективны для профилактики развития ПВР.

### Материал и методы исследования

В работе соблюдали регламент, определенный приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г., эксперименты разрешены комиссией по биоэтике факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова. Работа выполнена на самцах популяции Вистар с начальной массой  $354 \pm 110$  г. Все манипуляции, инъекции и энуклеацию глаз проводили на глубоко наркотизированных хлоралгидратом, 400 мг/кг, крысах. Все животные получали инстилляции следующих препаратов: тропикамид 0,5 % (Alcon) — для расширения зрачка, антисептик витабакт 0,05 % (Laboratoires THÉA) и анальгетик алкаин 0,5 % (Alcon).

**Интравитреальная инъекция.** Инъекцию выполняли крысам в правый глаз иглой 30G на 13-ти часах в 3 мм от лимба. Для предупреждения повреждения хрусталика иглу вводили по направлению к заднему полюсу глаза примерно на 2–3 мм, далее выпускали раствор в стекловидное тело. Иглу не вынимали из глаза последующие пару секунд для того, чтоб избежать вытекания раствора через склеростому. После выполнения манипуляции обязательно проверяли целостность хрусталика, чтобы избежать развития катаракты, вызванной проведением инъекции.

**Протокол эксперимента.** ПВР у крыс моделировали по описанной ранее технологии [2, 4], путем интравитреального введения 2 мкл раствора диспазы в дозе 0,015 U/мкл. Через 20 минут животным интравитреально вводили 2 мкл лорноксикама в дозе 8 мг/мл (Ксефокам®, Takeda, Германия) или физио-

логического раствора. В последующие два дня осуществляли внутрибрюшинное введение лорноксикама в дозе 230 мг/кг или физиологического раствора эквивалентно. В качестве контроля использовали интактных животных. Энуклеацию проводили на 1-й, 3-й, 7-й и 42-й день эксперимента.

**Экспериментальные группы:** ИК — интактные животные в качестве контроля (n=5); Физ р-р — крысы, получавшие инъекции 0,9 % NaCl (n=20); Дисп — животные, которым интравитреально вводили диспазу, дополняя инъекциями физиологического раствора (n=20); Дисп+Лорн — животные с диспазной пролиферативной витреоретинопатией, получавшие лорноксикам (n=20).

Внешний осмотр глаз проводили для оценки состояния сосудов, конъюнктивы, роговицы и водянистой влаги передней камеры глаза. Частоту возникновения гемофтальма и катаракты оценивали при проведении офтальмоскопии.

Офтальмоскопию глазного дна и стекловидного тела крысам выполняли на 1-й, 3-й, 7-й и 42-й день после моделирования ПВР. Обследование выполняли у наркотизированных животных с широким зрачком. Видеорегистрацию изображения осуществляли с помощью непрямого офтальмоскопа Video Omega 2C (Heine, Германия).

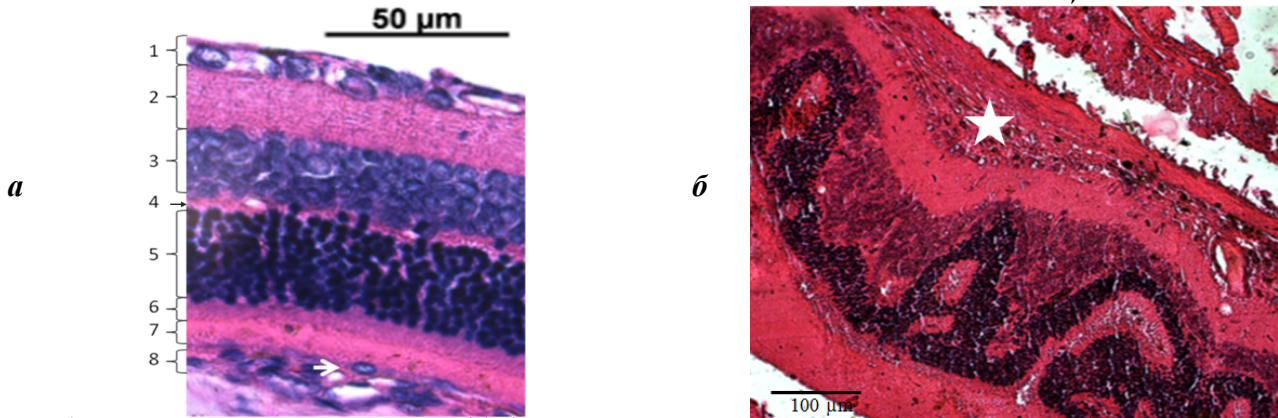
**Морфологические исследования.** Глаз фиксировали целиком в оригинальном фиксаторе Дэвидсона [12], проводку и заливку в парафин выполняли по стандартным методикам. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином (рис. 1А). Фотографировали, анализировали и измеряли толщины слоев и другие параметры в программе AxioVision.

Развитие ПВР на ранних сроках характеризуется изменениями сетчатки, вызванными отеком, апоптозом одних и пролиферацией других клеток. На поздних стадиях развитие мембран также влияет на изменения архитектоники сетчатки (рис. 1Б).

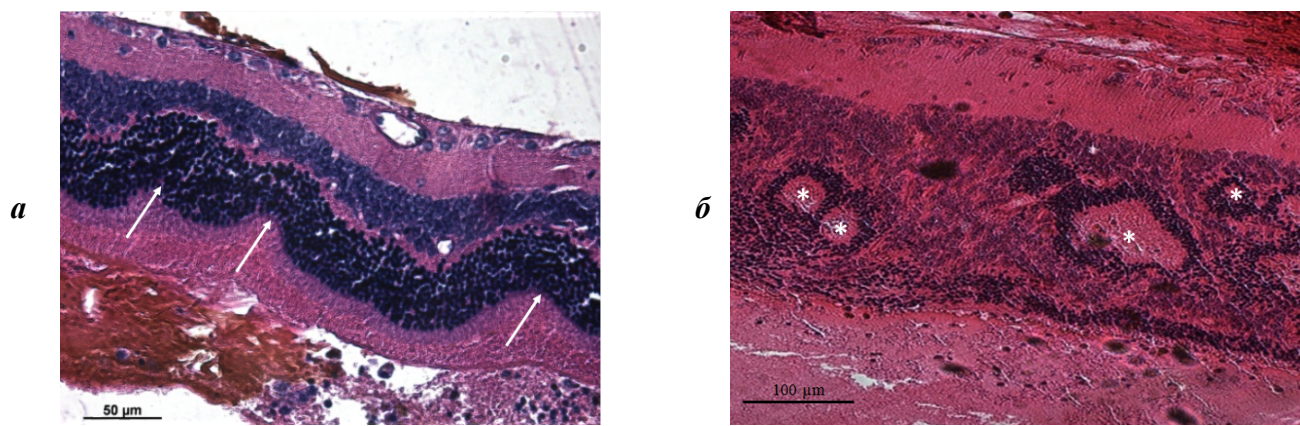
Поэтому для оценки состояния сетчатки и хориоидеи были разработаны оригинальные критерии: толщина отдельных слоев сетчатки и общая толщина сетчатки, толщина хориоидеи, продолжительность волнообразных изменений ядерных слоев сетчатки и ее отслойки, наличие кист и розеток в сетчатке, выраженность деструкции фоторецепторов, наличие суб- и/или эпиретинальных кровоизлияний и суб- и/или эпиретинальных мембран.

Статистическую обработку результатов проводили в программах Microsoft Excel 2011, IBM SPSS Statistics 22. Для частотного анализа использовали метод  $\chi$ -квадрат или точный критерий Фишера. Для оценки межгрупповых различий количественных переменных использовали многофакторный вложенный дисперсионный анализ с построением смешанной линейной модели с последующими попарными сравнениями методом наименьшей значимой разницы Фишера.

Для оценки межгрупповых различий порядковых переменных и количественных переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия признавали значимыми при  $p < 0,05$ .



**Рис. 1.** Строение сетчатки крыс в норме (*а*). 1 – слой ганглионарных клеток и нервных волокон (НГС); 2 – внутренний сетчатый слой (ВСС); 3 – внутренний ядерный слой (ВЯС); 4 – наружный сетчатый слой (НСС); 5 – наружный ядерный слой (НЯС); 6 – слой внутренних сегментов фоторецепторов; 7 – слой наружных сегментов фоторецепторов; 6+7 – слой палочек и колбочек (СПК); 8 – хориоидея. Стрелкой обозначен слой эпителия сетчатки. Морфология сетчатки крысы через 7 дней после введения диспазы (*б*). Звездочкой обозначена мембрана



**Рис. 2.** Морфология сетчатки после введения диспазы: *а* — третьи сутки эксперимента, волнообразные изменения сетчатки обозначены стрелками; *б* — седьмые сутки эксперимента, «розетки» в толще сетчатки обозначены звездочками

### Результаты исследования

Интравитреальное введение физиологического раствора не сопровождалось изменениями со стороны роговицы, конъюнктивы глаза, водянистая влага оставалась прозрачной. В одном случае введение физиологического раствора вызвало гемофтальм, который сопровождался развитием катаракты. Еще у одного животного наблюдали эндофтальмит. После инъекций диспазы наблюдали развитие воспалительной реакции, зрительно характеризующейся полнокровием сосудов радужки, наличием небольшой взвеси в водянистой влаге. Введение диспазы сопровождалось развитием помутнения хрусталика (катаракты) у четверти животных — 25 % ( $p < 0,01$ ), и кровоизлияния в стекловидное тело (гемофтальм) более чем у половины животных в группе ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор. Лорноксикам не влиял на частоту образования катаракты и гемофтальма.

Развитие ПВР сопровождается изменениями архитектоники сетчатки, вызванными дегенеративными процессами в ней. С 1-х суток появляются волнистые изменения, затрагивающие наружные и внутренние ядерные слои (рис. 2А), с 7-х суток начинают образовываться «розеточные» структуры в сетчатке (рис. 2Б). Противовоспалительный препарат сдвинул момент образования волнистых изменений сетчатки с 1-х на 3-и сутки эксперимента.

Лорноксикам сдерживал увеличение частоты встречаемости «розеток» в сетчатке при развитии ПВР ( $p < 0,05$ ). Препарат на 34 % ( $p < 0,05$ ) уменьшил частоту поражения фоторецепторов, при этом состояние фоторецепторов в группе Дисп+Лорн было в 2 раза лучше ( $p < 0,05$ ), чем в группе Дисп, и выраженность их изменений была сопоставима с таковой у животных, получавших физиологический раствор. Протеолитический фермент диспаза приводил к нарушению целостности ретинальных и хориоидальных сосудов (рис. 3) в месте непосредственного контакта с сетчаткой, что в 74 % случаев сопровождается развитием суб- и эпиретинальных мембран на сроке от 7 до 42 дней после начала эксперимента.

Большое внимание было уделено изучению состояния сетчатки и хориоидеи, изменения оценивали количественно. Интравитреальная инъекция физиологического раствора сопровождалась утолщением сетчатки на 54 мкм ( $p < 0,001$ ) на 7-е сутки эксперимента. На 42-е сутки толщина сетчатки стала сопоставима с интактной (рис. 4А). Толщина хориоидеи не изменялась на протяжении всего эксперимента (рис. 4Б). Введение диспазы ухудшило состояние сетчатки и хориоидеи. Изменения появились с 1-х суток и нарастали с увеличением длительности эксперимента. На 1-е сутки происходило увеличение ВЯС и НСС на 33 % ( $p < 0,05$ ) и на 50 % ( $p < 0,01$ ) соответственно.



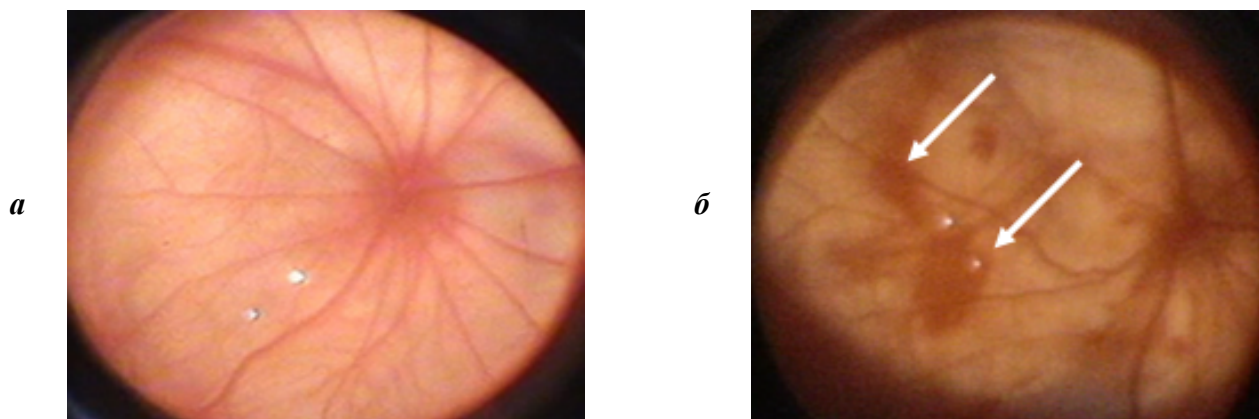


Рис. 3. *а* — глазное дно крысы-альбиноса в норме; *б* — субретиальное кровоизлияние из хориоидальных сосудов через 24 часа после интравитреального введения диспазы отмечено стрелкой

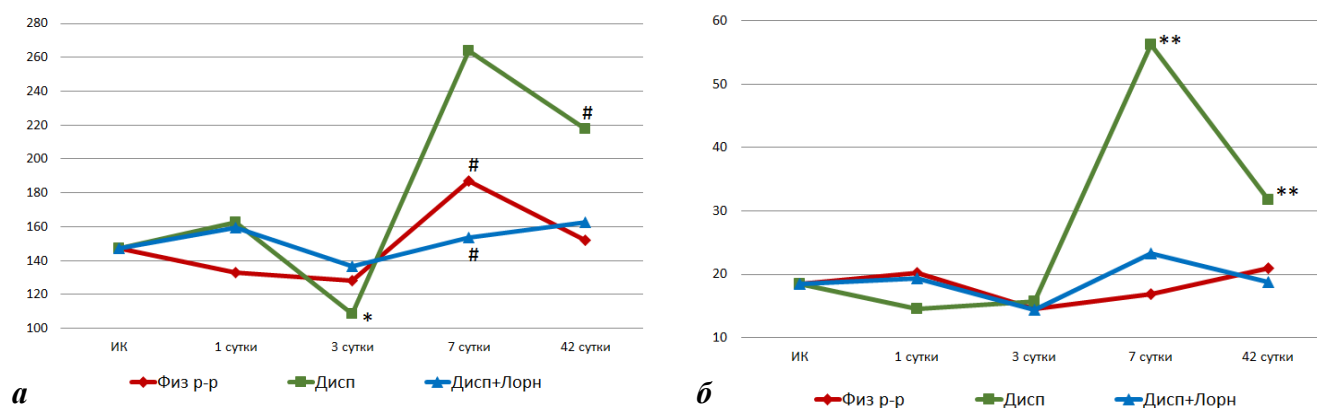


Рис. 4. *а* — Динамика изменений толщины сетчатки. *б* — Динамика изменений толщины хориоидеи. \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , # —  $p < 0,001$  отличие от группы интактного контроля

На 3-и сутки общая толщина сетчатки уменьшалась на 21 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой ИК, в основном за счет уменьшения толщины НЯС, ВСС в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и нейроганглионарного слоя — в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ). На 7-е сутки после внутриглазной инъекции диспазы происходило значительное увеличение толщины всех слоев, кроме СПК и НГС, при этом общая толщина сетчатки увеличилась в 2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой интактного контроля. Толщина хориоидеи увеличивалась в 3 раза ( $p < 0,01$ ). Однако, в отличие от группы Физ р-ра, при использовании диспазы не происходило уменьшения толщины сетчатки к 42-м суткам эксперимента. Толщина хориоидального слоя была больше на 68 % ( $p < 0,01$ ), а толщина сетчатки — на 59 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой ИК.

Лорноксикам нивелировал действие диспазы, и толщины сетчатки и хориоидеи не менялась на протяжении всего эксперимента. Использование лорноксикама снизило частоту развития мембран с 74 до 31 % ( $p < 0,05$ ). В тех случаях, когда при применении лорноксикама мембраны образовывались, на 42-е сутки эксперимента они всегда были меньше по размеру и почти не содержали выраженных фиброзных тяжей (рис. 5).

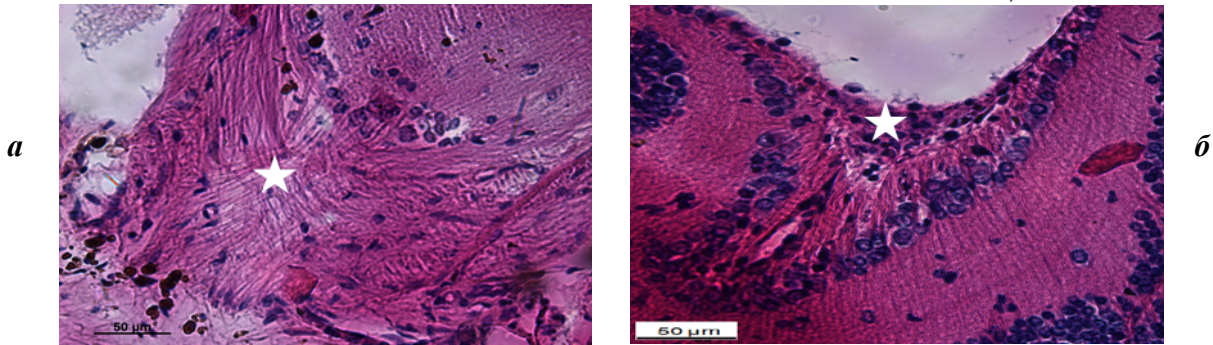
### Обсуждение результатов

Ремоделирование сетчатки при развитии ПВР складывается из ее повреждения, активации вос-

палительной реакции, репарации. На физическое повреждение фармакологическими средствами повлиять невозможно, но можно снизить уровень воспалительной реакции и изменить ход ремоделирования. Лорноксикам блокирует циклооксигеназы и уменьшает уровень продукции простагландинов в ткани [18].

После интравитреального введения протеолитического фермента, разрушающего межклеточные связи [13], увеличивается проницаемость сосудов и капсулы хрусталика, как следствие, развиваются гемофтальмы и катаракты. Лорноксикам не влияет на изменения проницаемости тканей, вызванных нарушением их структуры, и на выраженность внешних признаков заболевания.

Развитие воспаления в задней камере глаза запускает процессы изменения архитектоники сетчатки, частично вызванные повреждением, частично апоптозом одних клеток, отеком, пролиферацией и миграцией других, регуляция процесса не изучена. Деструктивные волнообразные изменения сетчатки в нашем исследовании предшествовали появлению «розеток» и обнаруживались уже на 1-е сутки эксперимента. Ведущим фактором тут выступает нарушение гематофтальмического барьера, просто интравитреальная инъекция вызывала данные изменения. Волнообразные изменения ядерных слоев сетчатки после инъекции физиологического раствора появлялись через 7 суток.



**Рис. 5.** Качественные и количественные различия мембран при ПВР на 42-е сутки эксперимента: *а* — в группе Дисп; *б* — в группе Дисп+Лорн. Звездочкой обозначены мембраны

Интравитреальное введение диспазы уже на 1-е сутки приводило к выраженным волнообразным изменениям. Противовоспалительный препарат сдвинул временную точку появления данных изменений на 3-и сутки. «Розеточные» структуры можно рассматривать как следующий этап ремоделирования: введение диспазы стимулировало развитие «розеток» в сетчатке, они появлялись на 7-е сутки, и частота их встречаемости росла к 6-й неделе эксперимента. В группе Физ р-р на 7-е и 42-е сутки было по одной крысе, у которых наблюдались данные изменения. Поскольку лорноксикам нивелировал эффект нарастания числа розеток и снизил частоту их встречаемости, то можно считать, что потеря архитектоники сетчатки частично обусловлена деструкцией матрикса диспазой, а частично вызвана простагландинами, т. е. регулируется.

Фоторецепторы чувствительны к развитию воспаления в витреальной полости сетчатки и первыми гибнут из-за нарушения питания сетчатки [8, 15]. Развитие ПВР и ремоделирование сетчатки сопровождалось нарастанием дегенерации слоя палочек и колбочек с 1-х по 42-е сутки эксперимента. В группе Физ р-р у крыс с отслойкой сетчатки такие изменения тоже были выявлены. У животных с отсутствием реакции на внутриглазную инъекцию не страдал слой фоторецепторов. Интересно, что ингибирование работы ЦОГ лорноксикамом на ранних сроках развития ПВР уменьшило частоту появления данных изменений, и к концу эксперимента состояние фоторецепторов внешне мало отличалось от такого в группе Физ р-р. Интересно, что разные слои сетчатки в наших экспериментах на провокацию развития ПВР реагировали изолированно.

Инъекция диспазы в 1-е сутки эксперимента вызвала утолщение НСС и ВЯС. Из литературных данных следует, что эта реакция обусловлена активацией глиальных клеток сетчатки, в основном астроцитов и клеток Мюллера. Они первыми реагируют на отслойку сетчатки и секретируют провоспалительные факторы [15] в витреоретинальное пространство.

На 3-и сутки происходило резкое уменьшение толщины сетчатки, которое в основном связано было с истончением НЯС, ВСС и НГС. Из литературных данных известно, что на 3-и сутки отслойки сетчатки приходится пик атрофии фоторецепторов, вызванный процессами апоптоза [24], который спадает к 7-м суткам. Апоптоз фоторецепторов сопровождается

истончением наружного ядерного слоя. Известно, что через 24 часа ишемии ганглионарные клетки сетчатки вступают в апоптоз [16].

К 3-м суткам эксперимента количество погибших ганглионарных клеток возросло настолько, что это вызвало истончение НГС и ВСС. Согласно стандартным срокам развития воспалительной реакции, на 7-е сутки после введения диспазы сетчатка становилась толще в 3 раза, а хориоидея — в 2 раза по сравнению с группой интактного контроля, что было вызвано второй волной отека, пролиферацией клеток и ремоделированием сетчатки. На 7-е сутки, в меньшей степени, отек сетчатки выявлен у контрольной группы с инъекцией физиологического раствора. К 6-й неделе эксперимента отек слоев спал, но выросли дегенеративные изменения в сетчатке, глиоз, и добавилось тракционное воздействие сформировавшихся мембран на сетчатку.

Поэтому в группе Дисп в конце исследования наблюдали утолщение сетчатки в 2 раза. Хориоидея также была увеличена на 47 % по сравнению с группой интактного контроля. Использование противовоспалительного нестероидного препарата лорноксикама в ранние сроки развития ПВР предотвратило развитие столь выраженных изменений в толщине сетчатки и хориоидеи на протяжении всего эксперимента.

Конечным этапом ремоделирования травмы сетчатки считают развитие соединительнотканых мембран, как суб-, так и эпиретинальных. Наличие субретинального и эпиретинального кровоизлияний predisposed к развитию фиброза. Важно, что использование лорноксикама в ранние сроки развития ПВР уменьшило частоту развития мембран на 43 %. При этом образовавшиеся мембраны были меньше по размеру, чем в группе, получавшей только диспазу. Морфологически мембраны в группе Дисп+Лорн представляли из себя многоклеточные структуры, похожие на молодые мембраны, наблюдаемые на 7-е сутки у животных без лечения. Вероятно, хирургическое удаление данного типа мембран будет менее травматично для сетчатки.

Действие лорноксикама на развитие ПВР в диспальной модели у крыс оказалось очень эффективным и интересным. Долгое время считалось, что в воспалительной реакции участвует в основном ЦОГ-2, именно ее уровень определяют в мембранах биоптатов у человека. Нами ранее было показано, что в мембранах, удаленных у пациентов во время опера-

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ции, синтезируется одновременно ЦОГ-1 и ЦОГ-2. Из литературы следует, что в отсутствие ЦОГ-2 роль провоспалительного фермента выполняет ЦОГ-1 [11, 14]. Этому важно, что лорноксикам ингибирует обе изоформы фермента, не затрагивая другие пути метаболизма арахидоновой кислоты. По крайней мере, для части липоксинов и лейкотриенов известны противовоспалительные эффекты: они подавляют воспаление и способствуют его разрешению, уменьшают количество лейкоцитов в пораженной ткани, уменьшают отек и ангиогенез, улучшают заживление ран [9].

## Литература

1. Гаврилова С. А., Липина Т. В., Загидулин Т. Р. и др. Протекторное действие лорноксикама на развитие инфаркта миокарда у крыс в условиях ишемии и ишемии-реперфузии // *Кардиология*. 2008. Т. 48. № 12. С. 42–48.
2. Ердяков А. К., Тихонович М. В., Ржавина Е. М. и др. Характеристика сетчатки при развитии пролиферативной витреоретинопатии у крыс после внутриглазной инъекции конканавалина А и диспазы // *Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. 2015. Т. 101. № 5. С. 572–585.
3. Тихонович М. В., Гаврилова С. А., Таратин Д. В. и др. 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. Т. 11. № 4 (44). С. 83–90.
4. Тихонович М. В., Гаврилова С. А. Способ моделирования пролиферативной витреоретинопатии у крыс: патент РФ № 2558991 // *Бюл.* 2015. № 22. 7 с.
5. Тихонович М. В., Лыскин П. В., Иойлева Е. Э. и др. Экспрессия ростовых, трофических и провоспалительных факторов в эпиретинальных мембранах пациентов с тяжелой формой пролиферативной витреоретинопатии // *Офтальмохирургия*. 2015. Т. 4. С. 36–42.
6. Тихонович М. В., Иойлева Е. Э., Гаврилова С. А. Роль воспаления в развитии пролиферативной витреоретинопатии // *Клин. мед.* 2015. Т. 93. № 7. С. 14–20.
7. Diakonis V. F., Tsourdou A., Tzatzarakis M. N. et al. Evaluation of vitreous clearance and potential retinal toxicity of intravitreal lornoxicam (xefo) // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2013. Vol. 29. № 7. P. 627–632.
8. Delyfer M. -N., Raffelsberger W., Mercier D. et al. Transcriptomic analysis of human retinal detachment reveals both inflammatory response and photoreceptor death // *PLoS One*. 2011. Vol. 6. № 12. P. 1–13.
9. Gronert K. Resolution, the grail for healthy ocular inflammation // *Exp. Eye Res.* 2010. Vol. 91. № 4. P. 478–485.
10. Kon C. H., Asaria R. H., Occeleston N. L. et al. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy after primary vitrectomy: a prospective study // *Br. J. Ophthalmol.* 2000. Vol. 84. № 5. P. 506–511.
11. Langenbach R., Morham S. G., Tian H. F. et al. Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration // *Cell*. 1995. Vol. 83. № 3. P. 483–492.
12. Latendresse J. R., Warbritton A. R., Jonassen H.,

## Заключение

Применение нестероидных противовоспалительных средств на ранних стадиях развития ПВР патогенетически обосновано и эффективно. Использование лорноксикама предупредило ремоделирование сетчатки и хориоидеи на ранних и поздних стадиях заболевания, на 43 % снизило частоту образования мембран и значительно уменьшило их фиброзирование.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01318-А.

- 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. Vol. 30. № 4. P. 524–533.
13. Matsumura T., Yamanaka T., Hashizume S. et al. Tissue dispersion, cell harvest and fluid suspension culture by the use of bacterial neutral protease // *Jpn J Exp Med.* 1975. Vol. 45. № 5. P. 377–382.
14. Morham S. G., Langenbach R., Loftin C. D. et al. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse // *Cell*. 1995. Vol. 83. № 3. P. 473–482.
15. Nakazawa T., Matsubara A., Noda K. et al. Characterization of cytokine responses to retinal detachment in rats // *Mol. Vis.* 2006. Vol. 12. P. 867–878.
16. Nishijima K., Ng Y.-S., Zhong L. et al. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 171. № 1. P. 53–67.
17. Pastor J. Proliferative vitreoretinopathy: an overview // *Surv. Ophthalmol.* 1998. Vol. 43. № 1. P. 3–18.
18. Prasad Byrav D. S., Medhi B., Prakash A. et al. Lornoxicam : a Newer NSAID // *Indian J. Phys. Med. Rehabil.* 2009. Vol. 20. № 1. P. 27–31.
19. Radi Z. A. Comparative Pathophysiology and Toxicology of Cyclooxygenases. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2012. 332 p.
20. Ricker L., Kessels A. Prediction of proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery: potential of biomarker profiling // *Am. J. Ophthalmol.* Elsevier Inc., 2012. Vol. 154. № 2. P. 347–354.
21. Roldán-Pallarès M., Musa A. S., Bravo-Llatas C., Fernández-Durango R. Preoperative duration of retinal detachment and subretinal immunoreactive endothelin-1: repercussion on logarithmic visual acuity // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010. Vol. 248. № 1. P. 21–30.
22. Silva D. J., Kwan A., Bunce C., Bainbridge J. Predicting visual outcome following retinectomy for retinal detachment // *Br. J. Ophthalmol.* 2008. Vol. 92. P. 954–958.
23. Walshe R., Esser P., Wiedemann P., Heimann K. Proliferative retinal diseases: myofibroblasts cause chronic vitreoretinal traction // *Br. J. Ophthalmol.* 1992. Vol. 76. № 9. P. 550–552.
24. Yang L. Preventing Retinal Detachment-Associated Photoreceptor Cell Loss in Bax-Deficient Mice // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004. Vol. 45. № 2. P. 648–654.

## Nonsteroidal anti-inflammatory therapy effectively prevents the development of proliferative vitreoretinopathy in the experiment

*M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Medicine  
119192, Lomonosov ave., 35 bild. 5, Moscow  
e-mail: marina.tikhonovich@gmail.com*

### Abstract

**Introduction and purpose.** Proliferative vitreoretinopathy (PVR) is caused by retinal damage and increased permeability of the blood-ocular barrier. Activation of inflammation, cell migration and proliferation leading to the membrane formation on the surface of the retina in the lesion area, causes blindness. After surgical removal of all membranes the frequency of PVR recurrence is 30 % on average. Therapeutic approaches are not developed. Since inflammation plays a key role in PVR formation, the aim of our study was to justify the use of non-steroidal anti-inflammatory drug lornoxicam for prevention of the development of proliferative vitreoretinopathy.

**Materials and methods.** The work was performed on rats. PVR was modeled by intravitreal injection of dispase, 0,015U/ $\mu$ l. Intravitreal administration of lornoxicam was performed 20 minutes later, 8 mg/ml. Volume of injections was 2  $\mu$ l. On the second and the third day of the experiment we performed intraperitoneal injections of the drug in a dose of 230 mg/kg. Intact animals were used as a control group. Enucleation of the eyes was performed on the first, third, seventh and 42th day of the experiment.

**Results.** Lornoxicam reduced the inflammatory response caused by the dispase introduction. It shifted the start of retinal remodeling from the first to the third day of the experiment, restrained a formation of «rosette» structures in the retina ( $p < 0.05$ ), decreased the rate of destruction of photoreceptors by 34 % ( $p < 0.05$ ) and caused twofold decrease ( $p < 0.05$ ) in the severity of photoreceptor changes. Throughout the experiment, the thickness of retinal and choroidal layers among the treated animals was the same as the thickness of retina and choroid of intact rats. The dispase introduction was accompanied by fibrous membrane formation during the period from 7th to 42th day after the beginning of the experiment. Lornoxicam decreased the incidence of membrane formation by 43 % ( $p < 0.05$ ), and the membranes were smaller and contained less fibrotic components.

**Conclusions.** The use of lornoxicam during early period of PVR development reduced the manifestation of signs of inflammation in the eye: it controlled retinal remodeling at all stages of the disease, decreased the incidences of membrane formation by 43 % and significantly reduced the intensity of fibrotic processes in the membranes.

**Keywords:** lornoxicam, proliferative vitreoretinopathy, NSAIDs, membrane, retinal remodeling.

### References

- Gavrilova S. A., Lipina T. V., Zagidulin T. R. i dr. *Protektornoe deystvie lornoksikama na razvitie infarkta miokarda u krys v usloviyakh ishemii i ishemii-reperfuzii* // Kardiologiya. 2008. T. 48. № 12. S. 42–48. [In Russian].
- Erdayakov A. K., Tikhonovich M. V., Rzhavina E. M. i dr. *Harakteristika setchatki pri razvitiy proliferativnoy vitreoretinopatii u krys posle vnutriglaznoy in'ekcii konkanavalina A i dispazy* // Ross. fiziolog. zhurn im. I. M. Sechenova. 2015. T. 101. № 5. S. 572–585. [In Russian].
- Tikhonovich M. V., Gavrilova S. A., Taratin D. V. i dr. *Ingibirovanie ciklooksigenaz umen'shaet razmer nekroza i gibel' neyronov v kore golovnogo mozga krys s ishemicheskimi insul'tom i insul'tom, oslozhnennym reperfuziyei sonnykh arteriy* // Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2012. T. 11. № 4 (44). S. 83–90. [In Russian].
- Tikhonovich M. V., Gavrilova S. A. *Spособ modelirovaniya proliferativnoy vitreoretinopatii u krys: patent RF № 2558991* // Byul. 2015. № 22. 7 s. [In Russian].
- Tikhonovich M. V., Lyskin P. V., Ioyleva E. E. i dr. *Ekspressiya rostovykh, troficheskikh i provospalitel'nykh faktorov v epiretinal'nykh membranah pacientov s tyazheloy formoy proliferativnoy vitreoretinopatii* // Oftal'mohirurgiya. 2015. T. 4. S. 36–42. [In Russian].
- Tikhonovich M. V., Ioyleva E. E., Gavrilova S. A. *Rol' vospaleniya v razvitiy proliferativnoy vitreoretinopatii* // Klin. med. 2015. T. 93. № 7. S. 14–20. [In Russian].
- Diakonis V. F., Tsourdou A., Tzatzarakis M. N. et al. *Evaluation of vitreous clearance and potential retinal toxicity of intravitreal lornoxicam (xefo)* // J. Ocul. Pharmacol. Ther. 2013. Vol. 29. № 7. P. 627–632.
- Delyfer M. -N., Raffelsberger W., Mercier D. et al. *Transcriptomic analysis of human retinal detachment reveals both inflammatory response and photoreceptor death* // PLoS One. 2011. Vol. 6. № 12. P. 1–13.
- Gronert K. *Resolution, the grail for healthy ocular inflammation* // Exp. Eye Res. 2010. Vol. 91. № 4. P. 478–485.
- Kon C. H., Asaria R. H., Occleston N. L. et al. *Risk factors for proliferative vitreoretinopathy after primary vitrectomy: a prospective study* // Br. J. Ophthalmol. 2000. Vol. 84. № 5. P. 506–511.
- Langenbach R., Morham S. G., Tiano H. F. et al. *Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration* // Cell. 1995. Vol. 83. № 3. P. 483–492.
- 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. Vol. 30. № 4. P. 524–533.
- Matsumura T., Yamanaka T., Hashizume S. et al. *Tissue dispersion, cell harvest and fluid suspension culture by the use of bacterial neutral protease* // Jpn J Exp Med. 1975. Vol. 45. № 5. P. 377–382.
- Morham S. G., Langenbach R., Loftin C. D. et al. *Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse* // Cell. 1995. Vol. 83. № 3. P. 473–482.
- Nakazawa T., Matsubara A., Noda K. et al. *Characterization of cytokine responses to retinal detachment in rats* // Mol. Vis. 2006. Vol. 12. P. 867–878.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

16. Nishijima K., Ng Y.-S., Zhong L. et al. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 171. № 1. P. 53–67.
17. Pastor J. Proliferative vitreoretinopathy: an overview // *Surv. Ophthalmol.* 1998. Vol. 43. № 1. P. 3–18.
18. Prasad Byrav D. S., Medhi B., Prakash A. et al. Lornoxicam : a Newer NSAID // *Indian J. Phys. Med. Rehabil.* 2009. Vol. 20. № 1. P. 27–31.
19. Radi Z. A. *Comparative Pathophysiology and Toxicology of Cyclooxygenases*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2012. 332 p.
20. Ricker L., Kessels A. Prediction of proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery: potential of biomarker profiling // *Am. J. Ophthalmol.* Elsevier Inc., 2012. Vol. 154. № 2. P. 347–354.
21. Roldán-Pallarès M., Musa A. S., Bravo-Llatas C., Fernández-Durango R. Preoperative duration of retinal detachment and subretinal immunoreactive endothelin-1: repercussion on logarithmic visual acuity // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010. Vol. 248. № 1. P. 21–30.
22. Silva D. J., Kwan A., Bunce C., Bainbridge J. Predicting visual outcome following retinectomy for retinal detachment // *Br. J. Ophthalmol.* 2008. Vol. 92. P. 954–958.
23. Walshe R., Esser P., Wiedemann P., Heimann K. Proliferative retinal diseases: myofibroblasts cause chronic vitreoretinal traction // *Br. J. Ophthalmol.* 1992. Vol. 76. № 9. P. 550–552.
24. Yang L. Preventing Retinal Detachment-Associated Photoreceptor Cell Loss in Bax-Deficient Mice // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004. Vol. 45. № 2. P. 648–654.