

УДК 617.735-002-02:616.379-008.64-091.8

Особливості ультраструктури епіретинальних мембран у хворих на проліферативну діабетичну ретинопатію після інтравітреальної ін'єкції різних доз афліберсепту

Пономарчук Віра С., Молчанюк Н. І. канд. біол. наук; Уманець М. М., д-р мед. наук

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України»
Одеса (Україна)

E-mail: v.zavodnaya@gmail.com

Ключові слова:

проліферативна діабетична ретинопатія, епіретинальна мембрана, афліберсепт

Актуальність. Проліферативна діабетична ретинопатія (ПДРП) може викликати втрату зору внаслідок таких ускладнень, як крововилив у склоподібне тіло, тракційне відшарування сітківки, які потребують проведення оперативного втручання – вітректомії. Найчастіше джерелом кровотечі є новоутворені судини у складі фіброваскулярної епіретинальної мембрани (ЕРМ). На сучасному етапі для профілактики інтра- та післяопераційних геморагічних ускладнень у хворих на ПДРП широко використовуються інгібітори фактору росту ендотелію судин. **Мета** – вивчити особливості ультраструктури новоутворених судин ЕРМ у хворих на ПДРП після інтравітреальної ін'єкції різних доз афліберсепту.

Матеріал і методи. В дослідження увійшло 5 хворих (5 очей). Фрагменти епіретинальної мембрани (ЕРМ) з новоутвореними судинами вилучені під час оперативного втручання від 5 пацієнтів: 1 – фрагмент нативної ЕРМ; 2 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 1,0 мг афліберсепта, забір фрагменту проходив на 3 добу після ін'єкції; 3 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 1,0 мг афліберсепта, забір фрагменту проходив на 5 добу після ін'єкції; 4 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепта, забір фрагменту здійснювався на 3 добу після ін'єкції; 5 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепта, забір фрагменту ЕРМ відбувався на 5 добу після ін'єкції.

Результат. За результатами нашого дослідження було виявлено, що афліберсепт позитивно впливає на облітерацію новоутворених судин та капілярів. З підвищенням дози препарату та із збільшенням строків його перебування в склоподібному тілі мікросудини ЕРМ спадаються в більший мірі. В той же час на 3 добу після інтравітреальної ін'єкції як 1,0 мг, так і 2,0 мг афліберсепту активно протікають метаболічні процеси як в ендотеліальних клітинах новоутворених судин, так і в фібробластах, спрямованих на синтез колагену.

Актуальність. Проліферативна діабетична ретинопатія (ПДРП) може викликати стійку втрату зору внаслідок таких ускладнень, як крововилив у склоподібне тіло, тракційне відшарування сітківки (ТВС), які потребують проведення оперативного втручання – вітректомії (ВЕ) [1]. Розвиток ПДРП характеризується патологічним васкулогенезом. Васкулогенез, на відміну від ангиогенезу, являє собою процес формування кровоносних судин з прогеніторних ендотеліальних клітин [2]. Інтра- та післяопераційні внутрішньо очні крововиливи є найчастішим ускладненням ВЕ при ПДРП [3]. Найчастіше джерелом кровотечі є новоутворені судини у складі фіброваскулярної епіретинальної мембрани (ЕРМ), які пошкоджуються при її видаленні [4]. На сучасному етапі для профілактики інтра- та післяопераційних геморагічних ускладнень у хворих на ПДРП широко використовуються інгібітори фактору росту ендотелію судин (ФРЕС) [5]. Ряд авторів у своїх дослідженнях показали позитивний вплив анти-ФРЕС препаратів в комбінації з ВЕ для лікування хворих на ПДРП [6,7,8]. Одним з селективних анти-ФРЕС препаратів, який широко використовується в офтальмологіч-

ній практиці, є афліберсепт. Він пов'язує не тільки всі ізоформи ФРЕС-А, але і плацентарний фактор росту та ФРЕС-В [9]. У наших попередніх дослідженнях було встановлено, що інтравітреальне введення афліберсепту в дозі 1 та 2 мг призводить до активації процесів фібротизації фіброваскулярних ЕРМ з вираженим проліферативним компонентом та до облітерації новоутворених судин на 3 та 5 добу після ін'єкції [10].

В літературі ми знайшли мало робіт, присвячених вивченню ультраструктури новоутворених судин та епіретинальних мембран у хворих на ПДРП.

Ri-ichiro Kohno із співавторами [11] вивчали гістопатологічний ефект одноразової інтравітреальної ін'єкції бевацизумабу (1,25 мг) на новоутворені судини ЕРМ у хворих з ПДРП та дійшли до висновку, що бевацизумаб призводить до апоптозу ендотелію з регресією новоутворених судин та одночасно зменшує кількість фенестр на стоншених ділянках ендотелію цих судин. Враховуючи те, що афліберсепт відноситься

ся до одного ряду препаратів з бевацизумабом, можна припустити, що і він має властивості впливати на фенестрацію ендотеліальних клітин.

Н. С. Думброва із співавторами [12] провели дослідження ультраструктурних змін хоріоїдеї та сітківки у кроликів після введення селективних та неселективних інгібіторів ФРЕС і дійшли до висновку, що найменші ультраструктурні зміни в сітківці та хоріоїдеї спостерігались після ін'єкції 0,025 мг ранібізумабу.

С. Vidinova із співавторами вивчали вплив бевацизумабу на ультраструктуру субретинальних неоваскулярних мембран (СНМ) у пацієнтів з віковою макулярною дегенерацією (ВМД). Тканина СНМ у пацієнтів з ВМД складалась переважно з фібробластів, ізольованих або згрупованих клітин пігментного епітелію сітківки та елементів крові [13]. В інших своїх роботах автори провели порівняльний аналіз ультраструктури проліферативної тканини ЕРМ у пацієнтів з ПДРП з кровоовиводом у скловидне тіло та без нього [14]. Результати вказують на те, що наявність кровоовиводу у порожнині склоподібного тіла змінює ультраструктуру колагенових фібрил ЕРМ, роблячи їх більш щільними та схильними до скорочень.

Ультраструктурні зміни ЕРМ у пацієнтів з ПДРП після введення афліберсепта в доступних наукових джерелах нами не виявлені.

У зв'язку з цим, **метою** даного дослідження було вивчення особливостей ультраструктури ЕРМ у хворих на ПДРП після інтравітреальної ін'єкції різних доз афліберсепту.

Матеріал та методи

Дане дослідження являється відкритим проспективним і інтервенційним. Протокол дослідження був попередньо схвалений локальним комітетом з біоетики ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМНУ» (протокол № 1, від 15.10.2018 р.) Всі учасники дослідження підписали інформовану згоду на проведення хірургічного втручання та були проінформовані про можливі наслідки та ускладнення. В дослідження увійшло 5 хворих (5 очей), віком від 31 до 58 років, з неоваскулярно-гліальною формою ПДРП з наявністю фіброваскулярної ЕРМ із значним проявом проліферативного компоненту [15]. Тракційне відшарування сітківки (ТВС) із залученням макулярної ділянки відмічалось на 3 очах, тракційно-регіматогенне відшарування сітківки (ТРВС) – на 2 очах. Усім пацієнтам були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включали візометрію, рефрактометрію, тонометрію, статичну комп'ютерну периметрію, біомікроскопію, гоніоскопію, офтальмоскопію. Критерієм виключення із дослідження були введення інгібіторів ФРЕС та ВЕ в анамнезі, наявність внутрішньоочного запалення або увеїту, рубець райдужки або підвищення внутрішньоочного тиску, тотальний гемофтальм, наявність оклюзії центральної вени сітківки або її гілок, оклюзія центральної артерії

сітківки, а також ЕРМ з помірним проліферативним компонентом.

Гострота зору при надходженні коливалася від 0,01 до 0,04, внутрішньоочний тиск (ВОТ) від 18,0 до 23,0 мм. рт. ст. Три ока були артіфакічними, на 2 очах при надходженні спостерігалась початкова ускладнена катаракта, Інтравітреальну ін'єкцію проводили за стандартною методикою в умовах операційної під епібульбарною анестезією. Голкою 29g через плоску частину циліарного тіла, у нижньо-внутрішньому квадранті очного яблука під офтальмоскопічним контролем, у скловидне тіло вводили 1,0 чи 2,0 мг афліберсепта. Стандартна трьохпортова 25G ВЕ виконувалась всім хворим на 3-5 добу після інтравітреальної ін'єкції афліберсепту на хірургічному комбайні Constellation фірми Alcon під контролем операційного мікроскопу Torcon OMS 800OFFISS. ВЕ центральних та периферичних відділів склоподібного тіла з відшаруванням та висіченням задньої гіалоїдної мембрани на 3600 проводилась під контролем ширококутної системи BIOM. Епіретинальні мембрани видалялись у повному обсязі. Фрагменти ЕРМ з новоутвореними судинами вилучені під час оперативного втручання від 5 пацієнтів: 1 – фрагмент нативної ЕРМ; 2 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 1,0 мг афліберсепта, забір фрагменту проходив на 3 добу після ін'єкції; 3 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 1,0 мг афліберсепта, забір фрагменту проходив на 5 добу після ін'єкції; 4 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепта, забір фрагменту здійснювався на 3 добу після ін'єкції; 5 – фрагмент ЕРМ після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепта, забір фрагменту ЕРМ відбувався на 5 добу після ін'єкції.

Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти ЕРМ фіксувались в 2,5 % розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при значенні рН – 7,4 з додатковою дофіксацією 1% розчином осміевої кислоти при тому ж рН буферного розчину. Потім зразки обезводнювались в спиртах висхідної концентрації. Просочення тканин та їх полімералізація проводились в суміші епоксидних смол епон-аралдит. Контрастування ультратонких зрізів відбувалось за методикою Рейнольдса [16]. Вивчались та фотографувались зразки тканин в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01.

Результати

Тканина нативної ЕРМ представлена різнонаправленими тонкими короткими колагеновими фібрилами, як в нормальному стані, так і в стані їх деструкції. Між фібрилами розташовані поодинокі клітини з альтерацією органел та новоутворені мікросудини. Мікросудини мають просвіт різної ширини, у деяких мікросудинах він значно розширений (рис. 1).

Крупні мікросудини неправильної форми, тіла їх ендотеліальних клітин з великим ядром та вузькою смужкою цитоплазми навколо нього. Стінка мікросудин вистелена, переважно, стоншеними ділянками

гіалоплазми ендотеліальних клітин з електронно-щільним матриксом та поодинокими органелами, які знаходяться в стані альтерації. В окремих цих клітинах спостерігається скупчення лізосом та осміюфільних гранул. В інших мікросудинах ендотеліальні клітини знаходяться в стані некрозу. Фенестри, в невеликій кількості, спостерігаються тільки в новоутворених капілярах. Базальна мембрана ендотеліальних клітин ділянками практично зливається з їх плазмолемою, яка виглядає більш потовщеною і більш електронно-щільною, ніж плазмолема з люмінальної сторони цих клітин. В окремих новоутворених судинах базальна мембрана не візуалізується. Перицити зустрічаються рідко. Вони мають крупні розміри, велике ядро, яке оточене вузькою смужкою гіалоплазми. Структури в них не розрізняються. Інколи дані клітини в судині перебувають в стані некрозу.

На 3 добу після інтравітреальної ін'єкції 1,0 мг афліберсепту, в порівнянні з попереднім матеріалом, в ЕРМ активно протікають проліферативні процеси: сполучна тканина має більшу кількість колагенових фібрил, ділянками розташованих більш щільно і в великій кількості, та клітин, особливо великих фіброblastів, з ознаками активації білоксинтетичних процесів. Серед колагенових фібрил зосереджені кровоносні новоутворені мікросудини. Їх просвіт звужений в порівнянні з контролем. Стінка новоутворених мікросудин вистелена суто великими тілами ендотеліальних клітин (гіпертрофованими клітинами), в гіалоплазмі яких міститься збільшений набір органел. В них активно протікають метаболічні процеси, зокрема білоксинтезуючі, про що свідчить збільшене ядро з інвагінаціями або глибокими складками, в окремих клітинах воно дольчасте, активне ядерце та крупні розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) з зернистим вмістом, які контактують із каріоплазмою, а також в гіалоплазмі багато мітохондрій. На люмінальній поверхні мікросудин спостерігається мікрокламатоз. Слід зазначити, що в новоутворених мікросудинах даних ЕРМ просвіт звужений, практично на половину, по відношенню до ЕРМ контролю. Фенестри не візуалізуються (рис. 2).

На 5 добу після інтравітреальної ін'єкції 1, 0 мг афліберсепту в ЕРМ протікають активні синтетичні процеси в частині фіброblastів, в той же час частина з них перебуває в стані деструкції. Значні ділянки ЕРМ спустошені внаслідок деструкції колагенових фібрил і розпаду окремих клітин. Новоутворені мікросудини в ЕРМ поодинокі, вони облітеровані або мають просвіт у вигляді вузької смужки. Їх ЕК в стані деструкції або некрозу, фенестри не виявляються (рис. 3).

На 3 добу після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепту в структурі ЕРМ зустрічаються новоутворені мікросудини з перицитами і капіляри в незначній кількості, які переважно облітеровані, особливо новоутворені капіляри. Їх ендотеліальні клітини перебувають в стані глибокої деструкції. У звуженому про-

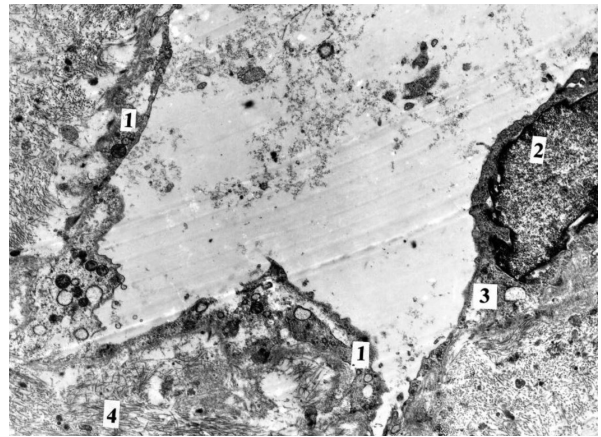


Рис. 1. Хворий Д. Ультраструктура епіретинальної мембрани. Фрагмент новоутвореної мікросудини з розширеним просвітом, її ендотеліальні клітини з альтерацією мембранных органел. Електронна мікрофотографія: X 4 000. Умовні позначення: 1 – ендотеліальна клітина новоутвореної мікросудини, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – колагенові фібрили.

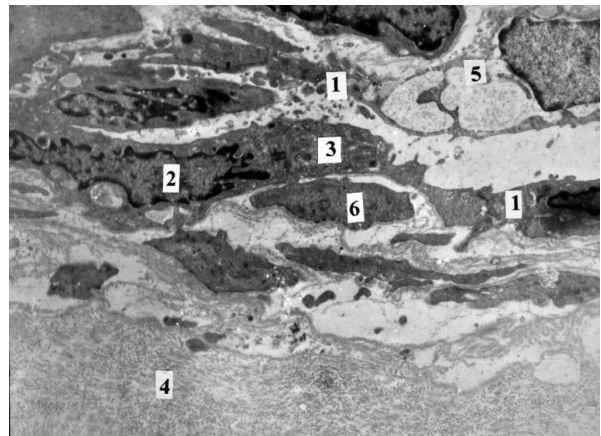


Рис. 2. Хворий А. Ультраструктура епіретинальної мембрани на 3 добу після інтравітреальної ін'єкції 1, 0 мг афліберсепту. Новоутворена мікросудина із звуженим просвітом. Ендотеліальні клітини в стані активного синтезу білку. Контакт перициту з ендотеліальними клітинами. Електронна мікрофотографія: X 4 000. Умовні позначення: 1 – ендотеліальна клітина новоутвореної мікросудини, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – колагенові фібрили, 5 – гранулярна ендоплазматична сітка, 6 – перицит.

світі частини новоутворених мікросудин локалізовані еритроцити, частина з яких деформована. Між щільно розташованими колагеновими фібрилами також спостерігаються еритроцити та велика кількість клітин склоподібного тіла і сполучної тканини з ознаками активних синтетичних процесів. В ЕРМ поодинокі виявляються мікросудини дещо з розширеним просвітом, але він значно вужчий, ніж у таких з контрольного матеріалу і еритроцити в ньому деформовані. Слід зазначити, що ендотеліальні клітини даних мікросудин перебувають в активному стані, фенестри в них від-

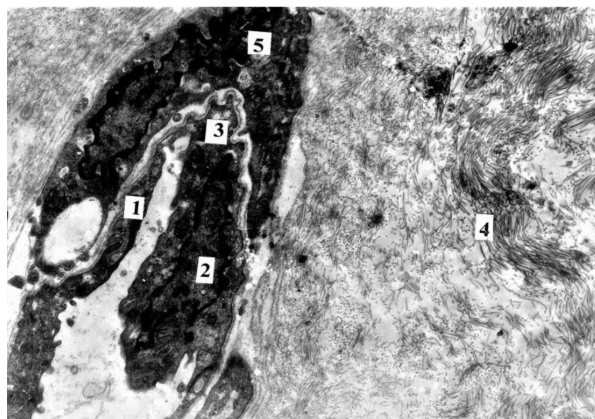


Рис. 3. Хворий Д. Ультраструктура епіретинальної мембрани після інтравітреальної ін'єкції 1, 0 мг айлії. Новоутворена мікросудина із звуженим просвітом. Ендотеліальні клітини в стані активного синтезу білку. Електронна мікрофотографія: X 10 000. Умовні позначення: 1 – ендотеліальна клітина новоутвореної мікросудини, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – колагенові фібрили, 5 – перицит.

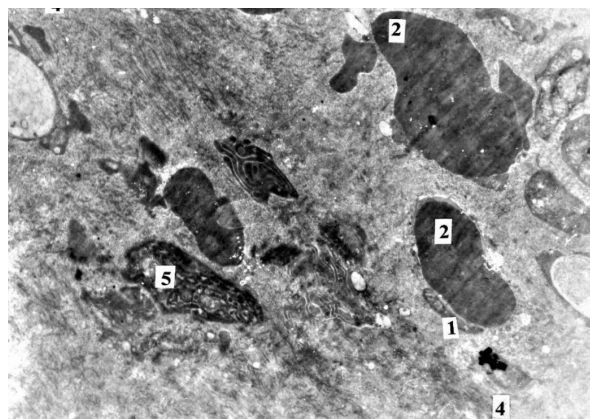


Рис. 4. Хворий С. Ультраструктура епіретинальної мембрани на 3 добу після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепту. Новоутворений капіляр з еритроцитом в просвіті. Еритроцити серед структур сполучної тканини. Фібробласти з активацією білоксинтетичних процесів. Електронна мікрофотографія: X 4 000. Умовні позначення: 1 – ендотеліальна клітина новоутвореного капіляру, 2 – еритроцити, 3 – фібробласт, 4 – колагенові фібрили, 5 – плазматична клітина.

сутні. Елементи деструкції колагенових фібрил та сполучнотканинних клітин також характерні для даних ЕРМ (рис. 4).

На 5 добу після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепту в тканині ЕРМ, по відношенню до матеріалу, забраного на 3 добу, новоутворені мікросудини повністю облітеровані. Ультраструктура ендотеліальних клітин неоднорідна: в одних судинах вона близька до норми, в інших – з елементами дистрофії та деструкції. Місцями виявляються конгломерати із облітерованих новоутворених мікросудин. Фенестри в них не виявляються. Між ними розташовані клітини сполучної тканини, частина яких з ознаками білоксинтетичних процесів, інші знаходяться в стані деструкції. Незважаючи на активні синтетичні процеси, які спрямовані на синтез компонентів колагенових фібрил, значні ділянки ЕРМ спустошені або колагенові фібрили знаходяться в стані фібриноїдного некрозу (рис. 5).

Обговорення

Аналіз результатів дослідження показав, що в нативній ЕРМ спостерігаються новоутворені мікросудини із просвітом різної ширини. Їх ендотеліальні клітини знаходяться як в стані близькому до норми, так і з елементами деструкції органел. Фенестри в ЕК виявляються лише в капілярах. Тонкі короткі колагенові фібрили в ЕРМ розташовані переважно розріджено і хаотично серед клітин склоподібного тіла і сполучної тканини. На 3 добу після інтравітреального введення 1,0 мг афліберсепта в ЕРМ виявляється проліферація фібробластів і в них відбуваються активні білоксинтетичні процеси, які також характерні для частини ендотеліальних клітин новоутворених мікросудин, а також спостерігається збільшення в ній кількості колагенових фібрил в порівнянні з нативною ЕРМ. Крім того,



Рис. 5. Хворий К. Ультраструктура епіретинальної мембрани на 5 добу після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепту. Облітерований новоутворений капіляр, ендотеліальні клітини з вакуолізованими мітохondріями. Набряк основної речовини сполучної тканини з поодинокими колагеновими фібрилами. Електронна мікрофотографія: X 10 000. Умовні позначення: 1 – ендотеліальна клітина новоутвореного капіляру, 2 – ядро, 3 – цитоплазма, 4 – колагенові фібрили, 5 – гранулярна ендоплазматична сітка.

просвіт в новоутворених мікросудинах значно звужений в порівнянні з такими контрольної групи. На 5 добу після інтравітреального введення 1,0 мг афліберсепта в ЕРМ переважають деструктивні зміни у всіх її структурних компонентах, зменшена кількість новоутворених мікросудин і їх просвіт облітерований або вони мають вузьку електронно-прозору смужку. Їх ендотеліальні клітини знаходяться у стані деструкції або некрозу. На 3 добу після інтравітреального введення 2,0 мг афліберсепта в ЕРМ наявна незначна кількість новоутворених мікросудин, які переважно облітеровані. Стінка мікросудин представлена ендотеліальними

клітинами в стані деструкції та поодинокими перичитами. Однак в даній мембрані колагенові фібрили сполучної тканини розташовані щільно та упорядковано, що характеризує її міцність, і між ними розташовані поодинокі еритроцити. В літературних джерелах виявлені дані С. Vidinova із співав. [14], які порівнювали гістохімічні показники та ультраструктуру ЕРМ у хворих на ПДРП з такою при крововиливі. У зразках ЕРМ пацієнтів з крововиливом у склоподібному тілі частіше виявляли макрофаги та еритроцити. Серед новоутворених мікросудин переважали капіляри, а їх стінка складалась лише з дуже тонкого шару ендотеліальних клітин, що співпадає з даними нашого дослідження. У позаклітинному матриксі серед комплексів протеогліканів було виявлено багато залишкових елементів крові. Дані автори вказують на те, що наявність кровивилу у порожнині склоподібного тіла змінює ультраструктуру ЕРМ, роблячи її більш щільною та схильною до скорочень.

На 5 добу після інтравітреального введення 2,0 мг афліберсепта новоутворені мікросудини у складі ЕРМ повністю облітеровані, їх ендотеліальні клітини подекуди з елементами дистрофії та деструкції, а колагенові фібрили в стані некрозу.

Так, при застосуванні 1,0 мг афліберсепту та збільшенні строків його перебування в склоподібному тілі (до 5 доби) мікросудини ЕРМ спадаються в більшій мірі, тоді як після інтравітреальної ін'єкції 2,0 мг афліберсепту повна облітерація новоутворених судин ЕРМ настає практично на 3 добу дослідження.

Дослідження також показали, що афліберсепт як в дозі 1,0 мг, так і 2,0 мг не тільки спонукає звуженню новоутворених судин, але й активує синтетичні процеси в клітинах як сполучної тканини, тобто в фібробlastах, так і в ендотеліальних клітинах новоутворених мікросудин на 3 добу спостереження. Однак дані явища в ЕРМ дещо зменшуються на 5 добу дослідження і, в той же час, в ній збільшуються деструктивні процеси, що призводить до зниження її щільності та дозволяє більш легке її видалення.

Слід відзначити, що у новоутворених судинах містяться поодинокі перичити, у новоутворених капілярах ми їх не виявили. Фенестри на стоншених ділянках гіалоплазми ЕК притаманні лише капілярам і вони поодинокі. Зменшення кількості фенестр в ЕК у новоутворених судинах також відмічено рядом авторів [11] при вивченні впливу одноразової інтравітреальної ін'єкції бевацизумабу на новоутворені судини очей з проліферативною діабетичною ретинопатією. Крім того, іншими авторами вивчався вплив бевацизумабу на ультраструктуру субретинальних неоваскулярних мембран (СНМ) у пацієнтів з віковою макулярною дегенерацією (ВМД). Ними також показано, що інтравітреальне введення бевацизумабу викликає зміни в новоутворених судинах, що призводить до зменшення фенестрації ендотеліальних клітин [13]. Інші дослідники продемонстрували проникнення бевацизумабу

через гематоретинальний бар'єр у мавп, з подальшими морфологічними змінами в хоріокапілярах. Автори відмітили зменшення фенестрацій в хоріокапілярах, які спостерігалися вже через 24 години після інтравітреальної ін'єкції [17-19].

Таким чином нами виявлено, що інтравітреальні ін'єкції афліберсепту призводять до звуження та облітерації новоутворених мікросудин в залежності від введеної його дози та строків перебування в склоподібному тілі. Зменшення кількості фенестр в ендотеліальних клітинах новоутворених капілярів в динаміці дослідження попереджає просочуванню речовин плазми в навколо судинний простір. В цілому, розвиток деструктивних процесів в ЕРМ та облітерація новоутворених судин після інтравітреальної ін'єкції афліберсепту попереджає крововилив і сприяє більш легкому її видаленню.

Література

1. Шкворченко Д.О. Ретинотомия и ретинэктомия в лечении пролиферативной диабетической ретинопатии осложненной передней пролиферативной витреоретинопатией / Шкворченко Д.О., Левина Л.В. // Всеросс. научно-практич. конф. офтальмологов. – Москва, 2006. – С.205-210.
2. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis // *BMB Rep.* – 2008. – Vol. 4 (41). – P. 278–86.
3. Hendrick A. M. Diabetic Retinopathy / A. M. Hendrick, M. V. Gibson, A. Kulshreshtha // *Prim Care.* – 2015. – Vol. 42 (3). – P. 451- 64.
4. Sawa H. Neovascularization from scleral wound as cause of vitreous rebleeding after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy / H. Sawa, T. Ikeda, Y. Matsumoto // *J Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 44(2). – P. 154-60.
5. Adamis A.P. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. / Adamis A.P., Shima D.T. // *Retina.* – 2005. – Vol. 25(2). – P.111–118.
6. Aleman I. Ziv-aflibercept versus bevacizumab administration prior to diabetic vitrectomy: a randomized and controlled trial / Aleman I., Castillo Velazquez J. // *Br J Ophthalmol.* – 2019. – Vol.103 (12). – P.1740-1746.
7. Castillo Velazquez J. Bevacizumab before Diabetic Vitrectomy: A Clinical Trial Assessing 3 Dosing Amounts / Castillo Velazquez J., Aleman I., Rush S.W. // *Ophthalmol Retina.* – 2018. – Vol. 2(10). – P.P. 1010-1020.
8. Antoszyk A. N., Glassman A. R., Beaulieu W.T., Jampol L. M. et al. Effect of Intravitreal Aflibercept vs Vitrectomy With Panretinal Photocoagulation on Visual Acuity in Patients With Vitreous Hemorrhage From Proliferative Diabetic Retinopathy: A Randomized Clinical Trial // *JAMA.* – 2020. – Vol.15; 324(23). – P.2383-2395.
9. Abd Elhamid A.H. Intravitreal Aflibercept injection with panretinal photocoagulation versus early vitrectomy for diabetic vitreous hemorrhage : randomized clinical trial / Abd Elhamid A.H., Mohamed A.A.E.A., Khattab A.M. // *BMC Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 6, № 20 (1). – P.130.
10. Пономарчук Віра С. Морфологічні та офтальмоскопічні особливості епіретинальних мембран після інтравітреального введення різних доз афліберсепта у хворих на проліферативну діабетичну ретинопатію / Віра С. Поно-

- марчук, В. В. Біт, М. М. Уманець // Офтальмол. журн. – 2021. – №5. – С.3-9.
11. **Ri-ichiro Kohno.** Histopathology of neovascular tissue from eyes with proliferative diabetic retinopathy after intravitreal bevacizumab injection / Ri-ichiro Kohno, Yasuaki Hata, Yasutaka Mochizuki // Am J Ophthalmol. – 2010 Vol.150(2). – P.223-229.
 12. **Думброва Н.Е.** Структурные изменения хориоидеи и сетчатки кроликов при интравитреальном введении селективных и неселективных ингибиторов факторов роста эндотелия сосудов / Думброва Н.Е., Король А.Р., Насинник И.О. и др. // Офтальмол. журн. – 2012. – №3. – С.68-72.
 13. **Vidinova C.** The effect of bevacizumab on the ultrastructure of choroidal neovascular membranes in patients with age-related macular degeneration (AMD) / C. Vidinova, N. Vidinov // Klin Monbl Augenheilkd. – 2009. – Vol. 226(6). – P.491-5.
 14. **Vidinova C.** Comparative ultrastructural analysis of the proliferative tissue in PDR patients with or without vitreous haemorrhage: from ultrastructural approach to clinical practice / C Vidinova N Vidinov // Klin Monbl Augenheilkd. – 2007. – Vol.224(3). – P.185-9.
 15. **Пономарчук Віра С.** Рівень фактору росту ендотелію судин у скловидному тілі в залежності від вихідного загальноклінічного та офтальмологічного статусу хворих на проліферативну діабетичну ретинопатію / Пономарчук Віра С., Величко Л.М., Уманець М.М. // Офтальмол. журн. – 2021. – №4. – С.19-25.
 16. **Reynoldes E. S.** The use of lead citrate at high pH an electronopaque stain in electron microscopy // I. of Cell Biol. – 1963. – V. 17. – P. 208-212.
 17. **Julien S.** Immunohistochemical localisation of intravitreally injected bevacizumab at the posterior pole of the primate eye: implication for the treatment of retinal vein occlusion. / Julien S., Heiduschka P., Hofmeister S. // Br J Ophthalmol. – 2008. – Vol.92(10). – P. 1424 –1428.
 18. **Heiduschka P.** Penetration of bevacizumab through the retina after intravitreal injection in the monkey / Heiduschka P, Fietz H, Hofmeister S. // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2007. – Vol.48(6). – P.2814 – 2823.
 19. **Peters S.** Ultrastructural findings in the primate eye after intravitreal injection of bevacizumab / Peters S., Heiduschka P., Julien S. // Am J Ophthalmol. – 2007. – Vol.143(6). – P. 995–1002.

Участь авторів: проведення інтравітреальних ін'єкцій, набір та аналіз матеріалу, обробка, написання тексту – Віра С. Пономарчук; проведення електронопомікроскопічних досліджень – Н.І. Молчанюк; концепція та дизайн дослідження, проведення хірургічних втручань, редагування – М.М. Уманець.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Зовнішні джерела фінансування відсутні.

Поступила 02.11.2021

Особенности ультраструктуры эпиретинальных мембран у больных пролиферативной диабетической ретинопатией после интравитреального введения различных доз афлиберсепта

Пономарчук Вера С., Молчанюк Н.И., Уманец Н.Н.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

Актуальность. Проліферативна діабетическа ретинопатія (ПДРП) може викликати стійку втрату зору через такі ускладнення, як кровоизлияние в стекловидное тело, тракционная отслойка сетчатки, что требует проведения хирургического вмешательства – витрэктомии (ВЭ). Интра- и послеоперационные внутриглазные кровоизлияния являются наиболее частыми осложнениями ВЭ при ПДРП. Наиболее частыми источниками кровотечения являются новообразованные сосуды в составе фиброваскулярной ткани эпиретинальной мембраны (ЭРМ). На современном этапе, ингибиторы фактора роста эндотелия сосудов широко применяются для профилактики геморрагических осложнений у пациентов с ПДРП.

Цель – изучение особенностей ультраструктуры новообразованных сосудов ЭРМ у пациентов с ПДРП после интравитреальной инъекции различных доз афлиберсепта.

Материал и методы. В исследование были включены 5 пациентов (5 глаз). Фрагменты ЭРМ с новообразованными сосудами удаляли во время операции у 5 пациентов: 1 – фрагмент нативной ЭРМ; 2 – фраг-

мент ЭРМ после интравитреального введения 1,0 мг афлиберсепта, забор фрагмента осуществлялся на 3 сутки после инъекции; 3 – фрагмент ЭРМ после интравитреальной инъекции 1,0 мг афлиберсепта, забор фрагмента осуществлялся на 5 сутки после инъекции; 4 – фрагмент ЭРМ после интравитреальной инъекции 2,0 мг афлиберсепта, забор фрагмента проводился на 3 сутки после инъекции; 5 – фрагмент ЭРМ после интравитреальной инъекции 2,0 мг афлиберсепта, забор фрагмента ЭРМ состоялся на 5 сутки после инъекции.

Результаты. По результатам нашего исследования было установлено, что афлиберсепт положительно влияет на облитерацию новообразованных сосудов и капилляров ЭРМ. При увеличении дозы препарата и увеличении сроков его пребывания в стекловидном теле микрососуды ЭРМ спадаются в большей мере. При этом на 3-й день после интравитреального введения как 1,0 мг, так и 2,0 мг афлиберсепта активно происходят обменные процессы как в эндотелиальных клетках новообразованных сосудов, так и в фибробластах, направленных на синтез коллагена.

Ключевые слова: пролиферативная диабетическая ретинопатия, эпиретинальная мембрана, афлиберсепт