

*В печать
30.06.16*

На правах рукописи

**Гусев
Александр Евгеньевич**



**МИТОХОНДРИЙ-АДРЕСОВАННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ
В ПРОФИЛАКТИКЕ ЭРОЗИИ РОГОВИЦЫ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.20 - Анестезиология и реаниматология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена в Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского».

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Лихванцев Валерий Владимирович

Официальные оппоненты:

Лубнин Андрей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением анестезиологии-реанимации Федерального государственного автономного учреждения «Научно-исследовательский институт нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Субботин Валерий Вячеславович – доктор медицинских наук, заведующий центром анестезиологии и реаниматологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Московский клинический научно-практический центр Департамента здравоохранения Москвы».

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2016 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.051.01, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского», адрес: 107031, Россия, г. Москва, ул. Петровка, д. 25 стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского», адрес сайта www.niiorramn.ru

Автореферат разослан «___» июля 2016 года

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук,
профессор

Решетняк Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Анестезиология занимает особое место среди медицинских специальностей, так как управляет жизненными функциями организма, обеспечивая безопасность больного во время операции, агрессивной процедуры или диагностического исследования (Мороз В.В., 2005). Многие лечебные методики, используемые в современной медицине и, призванные, по определению, улучшить состояние здоровья пациентов, могут сами стать причиной развития серьезных осложнений (Лихванцев В.В., 2014). Это положение в полной мере относится и к анестезиологии, хотя именно здесь развитие осложнений выглядит особенно нетерпимым (Бунатян А. А., 1995).

Одним из таких возможных осложнений следует признать синдром сухого глаза (ССГ), который является многофакторным заболеванием, характеризующееся изменениями как качественных, так и количественных показателей слезной пленки, приводящими к повреждению эпителия конъюнктивы и роговицы (Tsubota K., 1994). По данным Американского общества анестезиологов, ССГ является наиболее частым офтальмологическим осложнением интраоперационного периода и наблюдается у 10-44% пациентов, оперированных в условиях общей анестезии (Batra Y.K., 1977; Grover V.K., 1998).

В патогенезе ССГ определенную роль, помимо снижения слезопродукции (Hrazdirova V, 1990; Krupin T., 1977) и стабильности слезной пленки (White E., 1998), играет окислительный стресс – повреждение свободными радикалами и активными формами кислорода (АФК) молекул, клеток, тканей. Одними из самых мощных производителей эндогенных АФК в наших клетках в условиях стресса являются митохондрии, которые вовлечены в своеобразный «порочный круг» (Zorov D.B., 2000). Это приводит к повреждению ДНК и нарушениям функционирования белков, в том числе митохондриальных (Скулачев В.П.).

Небольшие поражения роговицы, как правило, не нуждаются в лечении, т.к. регенерация эпителия происходит в течении 24-72 часов. Однако, в 16% случаев, когда деструктивные изменения приобретают хронический характер, требуется длительная реабилитация (Grover V.K., 1998).

Традиционные методы профилактики и лечения поражений роговицы (ПР) предусматривают пассивное закрытие глазной щели после индукции анестезии (Batra Y.K., 1977), что позволяет почти в 2 раза снизить частоту возникновения эрозий роговицы (Grover V.K., 1998), или применение пластырей, обеспечивающих полное смыкание глазной щели на протяжении всего периода анестезии (что снижает частоту возникновения обсуждаемого осложнения менее 10%) (Ganidagli S., 2004). Тем не менее и 10% офтальмологических осложнений – большое число, а значит проблема профилактики и лечения поражений роговицы, по-прежнему, актуальна.

Препараты антиоксидантного действия пока не заняли достойное место в лечении ССГ, и основное внимание по-прежнему уделяется слезозаместительной терапии.

Используя свойства липофильных катионов (Liberman E.A., 1969) был синтезирован митохондрий-адресованный антиоксидант SkQ1, в состав которого входит пластохинон (антиоксидантный компонент) и липофильный катион (транспортный компонент). SkQ1 (МНН - пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид) проникает через мембраны клеток и митохондрий, избирательно накапливается в последних и проявляет высокую антиоксидантную активность (Антоненко Ю. Н., 2008). Пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид является активной субстанцией глазных капель «Визомитин», первого в мире зарегистрированного лекарственного препарата с митохондрий-адресованным антиоксидантом в качестве основного действующего вещества.

Наряду с углубленным изучением вопросов постреанимационной патологии и ведения раннего послеоперационного периода, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени

В. А. Неговского» (ФГБНУ НИИОР), всегда уделял внимание проблеме оптимизации анестезиологического обеспечения различных оперативных вмешательств. С самого начала характерным стилем работы лаборатории стал комплексный подход к решению поставленных задач: эксперимент и попытка вскрыть механизм изучаемого явления, найти возможные точки воздействия на изучаемый процесс — перенос данных эксперимента в клинику и разработка новых методов анестезии, периоперационной терапии и методов профилактики осложнений анестезии (Мороз В.В., 2012). С учётом современных представлений о механизмах развития периоперационного ССГ и учитывая, что препарат «Визомитин» хорошо переносится больными, не вызывая неприятных ощущений и субъективного дискомфорта, в лечении синдрома «сухого глаза» дает более выраженный и стабильный терапевтический эффект, чем применение препарата «Слезанатуральная» (Яни Е.В., 2012), а также его влияние на слезопродуктивную способность глаза и антиоксидантную активность влаги передней камеры, представляется целесообразным провести исследование его эффективности в профилактике развития эрозий роговицы у больных в послеоперационном периоде, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии.

Цель исследования

Улучшить результаты лечения, снизив частоту развития эрозии роговицы у больных, перенесших хирургические вмешательства в условиях общей анестезии в послеоперационном периоде путем периоперационного применения митохондриально-адресованного антиоксиданта - пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромида – (далее препарат «Визомитин»).

Для реализации указанной цели сформированы следующие задачи:

1. Оценить в эксперименте на лабораторных животных (кролик) в условиях общей анестезии динамику слезопродукции, антиоксидантной и супероксиддизмутазной активности, белкового состава слезной жидкости.
2. Установить в эксперименте на лабораторных животных (кролик) время восстановления уровня слезопродукции, антиоксидантной и супероксиддизмутазной активности слезной жидкости после перенесенной общей анестезии.
3. Определить в эксперименте на лабораторных животных (кролик) в условиях общей анестезии частоту повреждения роговицы, эффективность профилактического воздействия SkQ1 (препарата «Визомитин»).
4. Изучить динамику показателя стабильности слезной пленки в периоперационном периоде в зависимости от метода профилактики ССГ у больных групп контроля, «Слезанатуральная» и «Визомитин».
5. Изучить динамику показателя высоты слезного мениска в периоперационном периоде в зависимости от метода профилактики ССГ у больных групп контроля, «Слезанатуральная» и «Визомитин».
6. Определить частоту развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде в зависимости от метода профилактики ССГ у больных групп контроля, «Слезанатуральная» и «Визомитин».
7. Оценить влияние предоперационных факторов на частоту развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде.

Научная новизна

Впервые, в эксперименте, доказано, что в условиях общей анестезии у кроликов достоверно снижается уровень слезопродукции, антиоксидантная и супероксиддизмутазная активность слезы.

Показано, что восстановление указанных показателей после перенесенной анестезии до исходного уровня происходит в течение 24 - 48 часов.

Выявлено исчезновения белков Актин 1 и Аннексин А1 в слезной жидкости в условиях общей анестезии в эксперименте у кроликов.

Установлено, что появление эрозий роговицы у кроликов наблюдается через 120 минут после индукции анестезии.

Выявлено и доказано, что однократные инстилляциии препарата «Визомитин» перед индукцией анестезии снижают риск повреждения роговицы в 2 раза.

Доказано достоверное улучшение показателя стабильности слезной пленки при оперативных вмешательствах, выполненных в условиях общей анестезии, у больных, получавших препарат «Визомитин».

Установлено, что препарат «Визомитин» эффективно предупреждает развитие эрозии роговицы в послеоперационном периоде у больных, оперированных в условиях общей анестезии.

Показана достоверная корреляция между длительностью анестезии и частотой развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде у больных, оперированных в условиях общей анестезии.

Научно-практическая значимость работы

Представлены данные, свидетельствующие о снижении риска развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде при профилактическом применении SkQ1 (препарат «Визомитин»).

Изложен алгоритм профилактического применения SkQ1 (препарат «Визомитин») у больных, оперированных в условиях общей анестезии, для снижения риска развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде.

Разработан и предложен для клинического применения метод профилактики эрозии роговицы у больных, оперированных в условиях общей анестезии, основанный на применении митохондрий-адресованного антиоксиданта - SkQ1 (препарат «Визомитин»).

Данный метод может быть использован в ходе длительных оперативных вмешательствах, а также у больных, находящихся на искусственной вентиляции легких в состоянии седации или бессознательном состоянии в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Использование разработанного метода профилактики рекомендуется для всех стационаров, отделений анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии.

Теоретические положения, которые раскрыты в ходе исследования, используются при преподавании курса «анестезиологии и реаниматологии» студентам и курсантам ФГБНУ НИИОР и факультета усовершенствования врачей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (ГБУЗ МО "МОНИКИ" им. М.Ф. Владимировского).

Основные положения работы, выносимые на защиту

1. Общая анестезия влияет на слезопродуктивную способность глаза, антиоксидантную активность, белковый состав слезной жидкости и частоту развитие эрозий роговицы у экспериментальных животных.
2. Пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид (SkQ1) (препарат «Визомитин») эффективно предохраняет роговицу глаз экспериментального животного от периоперационного повреждения.
3. У больных, оперированных в условиях общей анестезии, ранний послеоперационный период характеризуется высокой частотой нарушения стабильности слезной пленки и развития повреждения роговицы.
4. Разработанный и предложенный для клинического применения метод профилактики эрозии роговицы у больных, оперированных в условиях общей анестезии, основанный на применении митохондрий-адресованного антиоксиданта - SkQ1 (препарат «Визомитин») позволяет снизить частоту развития указанного осложнения.

Апробация диссертационной работы

Основные положения работы доложены на 16-й выездной сессии МНОАР – Голицыно (2015); 17-й выездной сессии МНОАР – Голицыно (2016).

Внедрение результатов работы в практику

Разработанный метод профилактики применяется повседневно в ходе длительных оперативных вмешательствах, и у больных на искусственной вентиляции легких в палате

интенсивной терапии в практической работе ФГБНУ НИИОР, ГБУЗ МО "МОНИКИ" им. М.Ф. Владимировского и Главного клинического военного госпиталя, г. Голицыно.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ в центральных журналах и сборниках. В том числе 2 в ведущих рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация представляет собой том машинописного текста объемом 102 страницы, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 54 отечественных и 98 иностранных источников. Представленный материал иллюстрирован 21 рисунком и 14 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы экспериментального исследования

Исследования проведены в НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского (под руководством д.х.н. Сенина И.И.) на 12 кроликах породы шиншилла массой 2-3 кг, перенесших 6-часовую анестезию. Оценка состояния суммарной слезопродукции проводилась с помощью теста Ширмера. Применялись готовые тестовые полоски Vausch&Lomb. Сравнительный анализ белкового состава слезы экспериментальных животных проведен с помощью электрофореза слезной жидкости. Антиоксидантная активность (АОА), в полученных образцах, определялась методом, включающим использование системы гемоглобин-перекись водорода-люминол. Проведены эксперименты с изучением динамики изменения супероксиддисмутазной активности (СОД) в слезной жидкости в условиях общей анестезии. Принцип метода основан на спонтанном окислении кверцетина. СОД тормозит автоокисление кверцетина, поэтому при уменьшении СОД абсорбция в опытных образцах снижается меньше, чем в контроле. После начала анестезии через интервалы в 15 минут, 30 мин, 60 минут и 2 часа соответственно, из конъюнктивального мешка животных были взяты образцы слезной жидкости.

Для оценки состояния эпителия конъюнктивы проводили биомикроскопическое исследование каждый час анестезии. Была отработана методика полуколичественного определения уровня эрозии роговицы (эксперимент с препаратом «Визомитин»). В основе метода лежит способность красителя метиленового голубого обратимо связываться с поврежденными участками роговицы. 12 экспериментальных животных случайным образом были распределены на 3 группы по 4 животных: контрольная группа (1) - специфическая (фармакологическая) профилактика повреждения роговицы не проводилась; группы «слеза натуральная» (2) и «визомитин» (3) - в качестве профилактического средства животные получили однократные инстилляции глазных капель (Alcon-Couvreur, Бельгия) и Визомитин (ЗАО Фрамон, Россия), соответственно. Экспериментальным животным вводили анестетик. Через 2 часа, 4 часа и 6 часов роговицу животных обрабатывали раствором метиленового голубого. После этого роговицу удаляли с поверхности глаза и помещали на 24 часа в раствор для экстракции. Метиленовый голубой экстрагировался в раствор. После этого с помощью спектрофотометра определяли поглощение раствора при длине волны 660нм. Чем больше поглощение раствора, тем больше сорбировалось красителя на роговице и, как следствие, ее повреждение.

Общая характеристика больных и методы клинического исследования

В клиническую часть исследования были включены 118 больных, перенесших различные операции в условиях общей анестезии. Все больные письменно подтвердили согласие на участие в исследовании.

Возрастной состав - преобладали пациенты средней возрастной группы: 31-40 лет (33,9%) и 41-50 лет (32,2%). Наблюдалось следующее распределение по полу: мужчины 64 человека, женщины – 54. В возрастных группах до 40 лет преобладали мужчины, после 40 лет – женщины.

В зависимости от способа профилактики повреждения роговицы методом конвертов больные были рандомизированы на три группы:

- контрольная группа (группа сравнения) (1);
- группа «Слеза натуральная» (2);
- группа «Визомитин» (3).

Критериями исключения из исследования явились:

- длительность анестезии менее 100 минут или более 300 минут;
- оперативные вмешательства на голове;
- положение на операционном столе на животе;
- наличие клинических проявлений синдрома сухого глаза, наличие эрозий роговицы и сниженных показателей слезопродуктивной способности глаза ниже нормальных значений в предоперационном периоде;
- отклонение параметров интраоперационного мониторинга более 20% от исходных значений.

Исследуемые группы по антропометрическим, демографическим показателям были однородны и сопоставимы. Группы больных также были достаточно однородны по видам оперативного вмешательства (таблица 1). Межгрупповые различия статистически не значимы $p > 0,05$.

Таблица 1

Антропометрические, демографические данные и распределение больных в зависимости от вида оперативного вмешательства

Показатель	Значения показателей в группах			P
	Контрольная группа n=38	Слеза натуральная n=39	Визомитин n=41	
Женщины, количество (%)	19(50%)	15(38,5%)	20(49%)	0,539
Возраст (годы)	40,5±9,5	40,7±11,1	41,8±8,1	0,687
Вес (кг)	78,8±15,2	80,7±14,6	80±16,5	0,924
Рост (см)	173,5±6,2	175,8±7,4	173,3±7,7	0,172
ASA I (количество/%)	14(37%)	16(41%)	18(44%)	0,818
ASA II (количество/%)	24(63%)	23(59%)	23(56%)	0,818
Лапароскопическая герниопластика, (количество, %)	9(23,7%)	10(25,6%)	10(24,4%)	0,96
Длительность анестезии (мин), Лапароскопическая фундопликация по Ниссену, (количество, %)	138,3±6,6	139,5±8,6	140±7,5	0,89
Длительность анестезии (мин), Лапароскопическая/традиционная надвлагалищная ампутиация/экстирпация матки, (количество, %)	4(10,5%)	4(10,3%)	4(9,7%)	1,0
Длительность анестезии (мин), Лапароскопическая/резекция почки/нефрэктомия, (количество, %)	205±23,8	205±8,2	197,5±14,4	0,368
Длительность анестезии (мин), Тиреоидэктомия, (количество, %)	15(39,5%)	14(35,9%)	14(34,1%)	0,96
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	169,7±13,2	163,9±5,9	163,2±8,5	0,159
Длительность анестезии (мин), Тиреоидэктомия, (количество, %)	4(10,5%)	6(15,4%)	4(9,7%)	0,96
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	206,2±11,1	200,8±5,8	203,7±9,5	0,625
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	4(10,5%)	3(7,7%)	5(12,2%)	0,96
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	155±12,9	165±5,0	165±3,5	0,054
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	2(5,3%)	2(5,1%)	4(9,7%)	0,96
Длительность анестезии (мин), Мастэктомия, (количество, %)	140±14,1	152,5±3,5	148,8±4,8	0,513

Во всех группах применена однотипная анестезия: накануне операции на ночь внутрь атаракс 25 мг, на операционном столе за 5-10 минут до индукции анестезии внутривенно вводился дормикум - 5мг. Во всех группах индукцию осуществляли

последовательным введением пропофола и фентанила. Интубацию трахеи проводили на фоне миоплегии после введения эсмерона. Поддержание анестезии осуществляли болюсами фентанила на фоне постоянной инсуффляции севорана. При появлении признаков неэффективности анестезии увеличивали концентрацию севорана и использовали болюсы фентанила (0,1–0,2мг). Состояние миоплегии поддерживали болюсами эсмерона (таблица 2).

Всем пациентам проводили искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) в режиме управляемой ИВЛ (CMV) аппаратом Blease sirius с интегрированным монитором и постоянный мониторинг витальных функций. После операции пациенты переводились в ОРИТ. Тактика проведения инфузионной терапии и, обезболивания были одинаковыми для всех трех исследуемых групп: инфузионная терапия проводилась раствором Рингера в объеме до 1500 мл/сутки; с целью обезболивания применялись препарат кеторолак в дозе 30 мг 3 раза в сутки, наркотические анальгетики применялись по показаниям при выраженном болевом синдроме. Оценка по визуальной – аналоговой шкале во время пребывания в ОРИТ не превышала 3-х баллов. Утром следующего дня, как правило, больные переводились в палату профильного хирургического отделения.

Мониторами для наблюдения в режиме «on-line» служили Blease sirius.

Интраоперационный мониторинг витальных функций осуществляли согласно Гарвардскому стандарту, дополненному измерением биспектрального индекса (BIS-мониторинг). Показатели неинвазивного измерения артериального давления (систолическое АД, диастолическое АД, среднее АД), ЧСС, пульсоксиметрии, капнометрии, биспектрального индекса регистрировали на фиксированных этапах (временных точках) анестезиологического обеспечения оперативного вмешательства: исходно (непосредственно перед индукцией анестезии), индукция анестезии (после интубации трахеи), начало оперативного вмешательства, каждый час оперативного вмешательства; конец оперативного вмешательства, экстубация.

Таблица 2

Средние дозы препаратов проведенной анестезии

Показатель	Значения показателей в группах			P
	Контрольная группа n=38	Слеза натуральная n=39	Визомитин n=41	
Премедикация, мг				
Атаракс	25	25	25	
Дормикум	5	5	5	
Пропофол для индукции, мг	2,01±0,18	2,01±0,16	2,04±0,16	0,74
Фентанил для индукции, мг	1,73±0,17	1,72±0,18	1,73±0,15	0,97
Эсмерон для интубации, мг	0,54±0,025	0,54±0,021	0,54±0,024	0,73
Фентанил для поддержания анестезии, мг	1,30±0,14	1,36±0,17	1,32±0,17	0,38
Эсмерон для поддержания миоплегии, мг	0,15±0,024	0,15±0,025	0,15±0,018	0,55
Севоран для поддержания анестезии, МАК	0,8-1,3	0,8-1,3	0,8-1,3	

Методы офтальмологического обследования

Офтальмологическое обследование проводилось по традиционным общепринятым методикам и включало комплекс современных методов, позволяющих детально оценить морфофункциональное состояние глаза.

Определение остроты зрения проводилось по общепринятой методике на проекторе испытательных знаков, по необходимости осуществляли подбор оптической коррекции.

Фоторегистрацию состояния переднего отрезка выполняли в динамике с помощью стационарной щелевой лампы.

Состояние эпителия конъюнктивы и роговицы, как проявление ССГ, оценивалась биомикроскопическим исследованием при окрашивании витальным

красителем флюоресцеином. Глазную поверхность исследовали с помощью щелевой лампы с диффузным освещением со следующей оценкой: **0** – нет окрашивания, **1** – до 15 областей точечного окрашивания, **2** – более 15 областей точечного окрашивания или 1 область сливного окрашивания, **3** – более 15 областей точечного окрашивания и 1 или несколько областей сливного окрашивания.

Определение общей слезопродукции — пробу Ширмера (Shirmer O., 1903). Применялись готовые тестовые полоски Baush&Lomb. По истечении 5 минут измеряли длину смоченной слезой части полоски: ≥ 15 мм – норма, **от 5 до 15 мм** – недостаточность выработки слезной жидкости, ≤ 5 мм – тяжелая недостаточность выработки слезной жидкости.

Оценка стабильности слезной пленки (проба Норна) — тест времени разрыва слезной пленки. Пробу проводили по стандартной методике. Появление первых «пятен», «трещин» или «дырок» прекорнеальной слезной пленки регистрировали как время разрыва слезной пленки (ВРСП): ≥ 10 сек – норма, **от 5 до 10 сек** – умеренное снижение времени разрыва слезной пленки, ≤ 5 сек – значительное снижение времени разрыва слезной пленки.

Определение высоты слезного мениска проводилось путем инстилляций в конъюнктивальную полость 1% раствора флюоресцеина и последующего осмотра в боковом фокальном освещении и с кобальтовым фильтром. Регистрировали соотношение его вертикальной и горизонтальной составляющей в мм. Нормальные значения индекса высоты слезного мениска (ИВСМ) составляют более 2/1.

Показатели исследуемых параметров слезопродукции регистрировали на фиксированных этапах (временных точках) периоперационного периода: исходно (накануне оперативного вмешательства), 3-и сутки послеоперационного периода.

Методы профилактики ССГ

Больным всех трех групп проводилась неспецифическая профилактика повреждения роговицы – пассивное закрытие глазной щели после индукции анестезии. При наличии лагофтальма или неполного закрытия глазной щели на веки накладывался пластырь.

Инстилляции глазных капель проводили по следующей схеме: первая инстилляция непосредственно перед началом введения анестетика, вторая — по окончании операционного вмешательства, далее больные самостоятельно проводили инстилляции 3 раза в день по одной капле в оба глаза в течение суток.

Статистические методы обработки полученных результатов

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программ “Statistica 7.0 for Windows” (StatSoft Inc., USA) и MedCalc. Для оценки характера распределения пользовались критерием Шапиро-Вилка. Для анализа нормально распределенных переменных использовали для установления достоверности различия для двух независимых групп критерий Стьюдента, для трех и более групп – параметрический дисперсионный апостериорный анализ (тесты Тьюки и Ньюмена-Кейлса). Для анализа ненормально распределенных переменных – тест Манна–Уитни (U-критерий) и непараметрические коэффициенты корреляции, для трех и более групп – ранговый анализ независимых групп (по методу Краскела–Уоллиса). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Обработка результатов проведена при помощи статистических моделей: сравнение частот бинарных качественных признаков в двух группах, общий дискриминантный анализ, ROC-анализ. Данные представлены в виде средней (M) \pm квадратичное стандартное отклонение или медиана (Me) 25%; 75%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Общая анестезия экспериментальных животных осуществлялась путем внутримышечных инъекций 15 мг коммерческого анестетика на 1 кг веса (Золетил, Virbac Sante Animale, Франция).

Исследование показателей **слезопродукции** (тест Ширмера) до индукции анестезии было проведено по стандартной вышеописанной методике на глазах 12 кроликов. Перед применением анестезии из конъюнктивного мешка животных были взяты образцы слезной жидкости.

У большинства здоровых кроликов уровень слезопродукции составлял 11-20 мм.

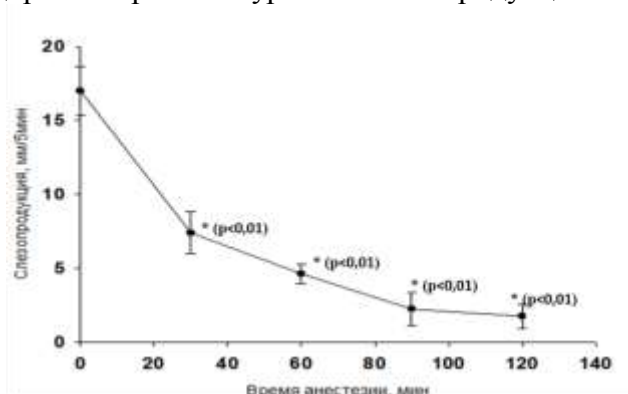


Рисунок 1. Динамика слезопродукции у кроликов в условиях общей анестезии

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями.

Через интервалы в 30 мин, 60 минут, 90 минут, 2 часа, 3 часа, 4 часа и 5 часов соответственно, из конъюнктивного мешка животных были взяты образцы слезной жидкости. На представленном рисунке 1 видно, что через 30 минут от начала анестезии слезопродукция снизилась с $16,8 \pm 2,2$ мм/5 минут до $7,3 \pm 1,1$ мм/5 минут, к 60 минуте – до $4,6 \pm 0,8$ мм/5 минут, к 90 минуте - $2,8 \pm 1,0$ мм/5 минут, а через 2 часа уровень слезопродукции составил $1,9 \pm 0,6$ мм/5 минут. Различия уровня слезопродукции статистически значимые по сравнению с исходными показателями ($p < 0,01$).

Таким образом, общая анестезия существенно влияет на уровень слезопродукции. Заметное снижение слезопродукции наблюдается уже через 30 минут после начала общей анестезии, а через 90 минут слезные железы полностью теряют секреторную активность. В ходе исследований показано, что уровень продукции слезы через 60 минут снижается более чем в 3 раза с последующей стабилизацией через 120 минут от начала анестезии.

На следующем этапе изучено восстановление слезопродукции.

В таблице 3 наглядно видно, что восстановление слезопродукции у экспериментальных животных после окончания анестезии происходит в течении 48 часов после окончания анестезии.

Несмотря на статистическую значимость различий показателя слезопродукции через 24 часа после окончания анестезии его величины не выходят за пределы нормальных значений.

Таблица 3

Восстановление слезопродукции у кроликов после окончания анестезии

	Исходно	24 часа	48 часов
Слезопродукция, мм/5 минут	$16,8 \pm 2,2$	$15,0 \pm 0,9^*$	$16,0 \pm 1,6$

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями.

Из таблицы 4 видно, что восстановление стабильности слезной пленки у экспериментальных животных после окончания анестезии начинается через 24 часа после окончания анестезии и происходит не менее чем через 48 часов после окончания анестезии ($p < 0,05$).

Таблица 4

Восстановление стабильности слезной пленки у кроликов после окончания анестезии

	Исходно	Конец анестезии	24 часа	48 часов
ВРСП, сек	$10,8 \pm 1,0$	$7,5 \pm 0,8^*$	$6,7 \pm 0,8^*$	$8,0 \pm 1,1^*$

ВРСП – время разрыва слезной пленки;

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями.

Проведен **сравнительный анализ** **белкового состава** **слезной жидкости** экспериментальных животных с помощью электрофореза слезной жидкости по вышеописанной методике (рисунки 2).

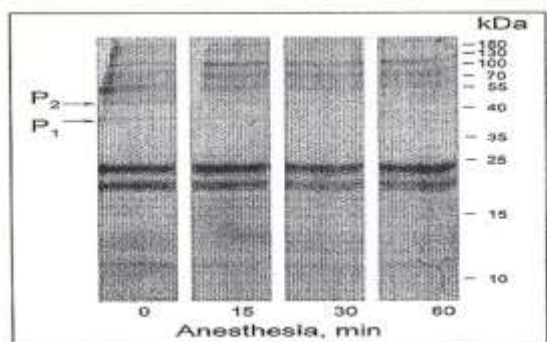


Рисунок 2. Электрофореграмма изменения протеомного состава слезной жидкости в условиях общей анестезии

Напредставленной электрофореграмме наблюдается исчезновение двух белков уже через 15 минут после введения золетила:

- Актин 1 (на рисунке обозначен как P2): опосредует противовоспалительные эффекты глюкокортикоидов, связываясь со специфическими липокортиновыми

рецепторами мембран лейкоцитов;

- Аннексин A1 (на рисунке обозначен как P1): угнетает активность лейкоцитов: эпителиальную адгезию, эмиграцию лейкоцитов из сосудистого русла, хемотаксис, фагоцитоз, окислительный метаболизм, угнетает высвобождение медиаторов воспаления (лизосомальных ферментов, цитокинов, тканевого активатора плазминогена).

Таким образом, в условиях общей анестезии снижается не только слезопродукция (количественная характеристика), но меняется и качественный (белковый) состав слезной жидкости.

Параметры **антиоксидантной активности** слезной жидкости в полученных образцах определяли по вышеописанной методике, исходя, из ее способности ингибировать хемилюминисценцию люминола в окислительных условиях. До анестезии антиоксидантная активность слезной жидкости у кроликов составляла 159 ± 25 мкМ (ед. тролокса) (рисунки 3), тогда как через 15 минут в условиях общей анестезии данный показатель снижался до 111 ± 15 мкМ, к 30 минуте - до 55 ± 22 мкМ, к 60 – до 47 ± 11 мкМ, а через 2 часа снижался до 45 ± 10 мкМ.

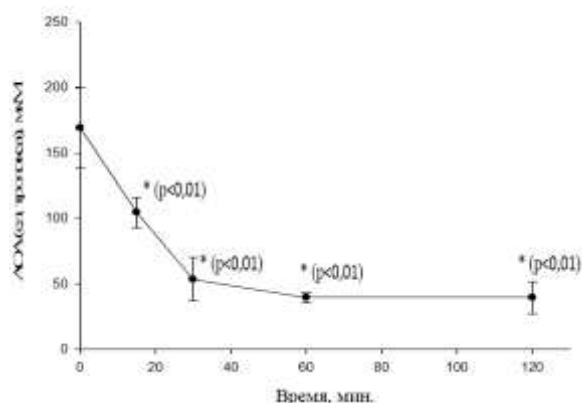


Рисунок 3. Динамика изменения АОА слезной жидкости

*Примечание: * - $p < 0,01$ по сравнению с исходными показателями*

Различия антиоксидантной активности слезной жидкости статистически значимые по сравнению с исходными показателями ($p < 0,01$).

Таким образом, общая анестезия существенно влияет на антиоксидантную активность слезной жидкости. Значимое снижение АОА наблюдается уже через 15 минут после начала общей анестезии. В ходе исследований показано, что антиоксидантная активность слезы через 60 минут снижается более чем в 3 раза с последующей стабилизацией показателей.

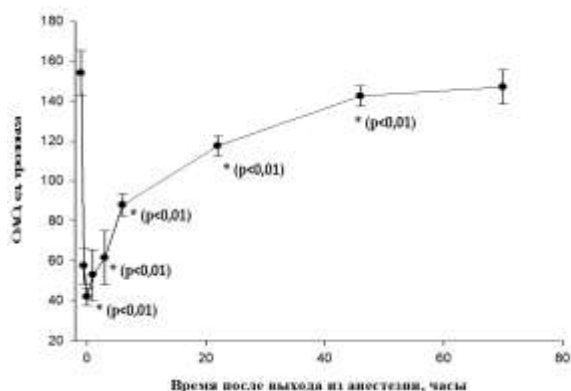


Рисунок 4. Динамика восстановления АОА слезной жидкости после окончания общей анестезии

*Примечание: * - $p < 0,01$ по сравнению с исходными показателями*

На следующем этапе была изучена динамика восстановления антиоксидантной активности после окончания общей анестезии - образцы слезной жидкости из конъюнктивального мешка животных были взяты через 1 час, 3 часа, 6 часов, 24 часа, 48 часов и 72 часа. Из представленного рисунка 4 видно, что через 1 час АОА составила 56 ± 21 мкМ, через 3 часа - 60 ± 18 мкМ, 6 часов - 91 ± 12 мкМ, 24 часа - 115 ± 9 мкМ и через 48 часов - 141 ± 13 мкМ. Различия в восстановлении антиоксидантной активности слезной жидкости статистически значимые по сравнению с показателями до индукции анестезии ($p < 0,01$). Через 72 часа (3 суток) после окончания анестезии АОА слезной жидкости составила 153 ± 10 мкМ (различия статистически не значимы, $p > 0,05$).

Таким образом, определение антиоксидантной активности слезной жидкости показало, что в условиях общей анестезии этот параметр снижается практически в 3 раза, а ее восстановление после 6 часовой общей анестезии происходит в течение не менее 2-3 суток.

Параметры **супероксиддисмутазной активности** слезы в полученных образцах оценены, исходя из ее способности тормозить автоокисление кверцетина, поэтому при уменьшении СОД абсорбция в опытных образцах снижается меньше, чем в контроле.

Как видно на представленном рисунке 5 до анестезии СОД слезной жидкости экспериментальных животных составила 35 ± 10 ед. Через 30 минут СОД снизилась до 27 ± 7 ед, через 60 минут - 22 ± 7 ед, а через 120 минут от начала анестезии - 17 ± 8 ед. Различия супероксиддисмутазной активности слезной жидкости статистически значимые по сравнению с исходными показателями ($p < 0,01$).

Таким образом, общая анестезия существенно влияет на супероксиддисмутазную активность слезной жидкости. Значимое снижение СОД наблюдается уже через 30 минут после начала общей анестезии. В ходе исследований показано, что супероксиддисмутазная активность слезы через 120 минут снижается не менее чем в 2 раза.

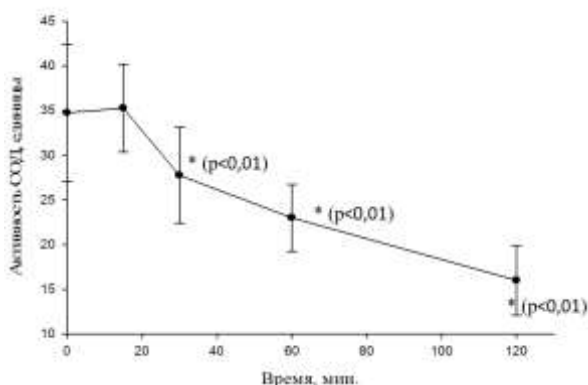


Рисунок 5. Динамика изменения СОД слезной жидкости окончания

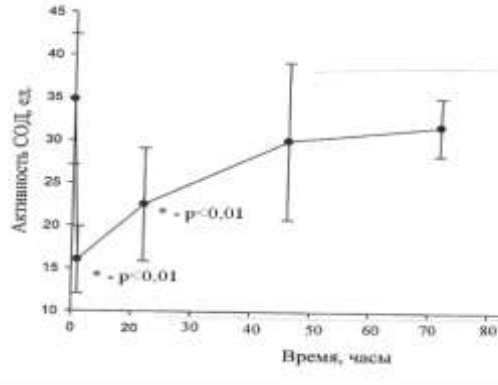


Рисунок 6. Динамика восстановления СОД слезной жидкости после общей анестезии

На следующем этапе была изучена динамика восстановления супероксиддисмутазной активности после окончания общей анестезии - образцы слезной жидкости из конъюнктивального мешка животных были взяты через 1 час, 3 часа, 6 часов, 24 часа, 48 часов и 72 часа. Из представленного рисунка 6 видно, что через 1 час СОД составила 17 ± 7 ед, через 3 часа - 18 ± 8 ед, 6 часов - 19 ± 7 ед, 24 часа - 23 ± 9 ед. Различия в восстановлении супероксиддисмутазной активности слезной жидкости на этапе 24 часа статистически значимые по сравнению с показателями до индукции анестезии ($p < 0,01$). Через 48 и 72 часа после окончания анестезии восстановленные уровни супероксиддисмутазной активности слезной жидкости составили 30 ± 12 и 33 ± 10 ед соответственно (различия статистически не значимы, $p > 0,05$).

Таким образом, определение супероксиддисмутазной активности слезной жидкости показало, что в условиях общей анестезии этот параметр снижается практически в 2 раза,

а ее восстановление после 6 часовой общей анестезии происходит в течение не менее 24 часов.

Биомикроскопическое исследование для оценки **состояния эпителия** конъюнктивы и роговицы проводили по вышеописанной методике. При инстилляции раствора флюоресцеина краситель распространяется по поверхности роговицы, окрашивая поврежденные участки эпителия в ярко-зеленый цвет.

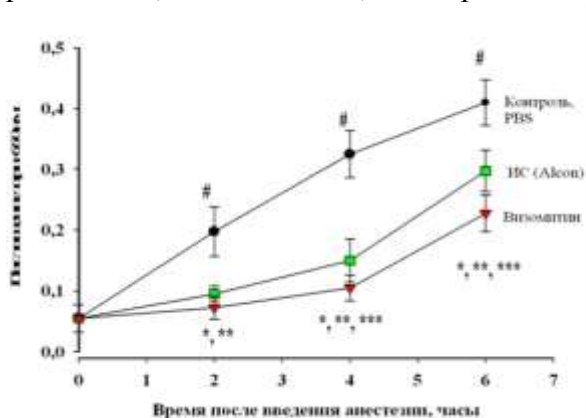
Выявленные изменения, а именно снижение слезопродукции, снижение антиоксидантной и супероксиддисмутазной активности слезной жидкости, а не исключено, что и качественные изменения состава слезы обусловили развитие эрозий роговицы у кроликов в условиях общей анестезии (таблица 5). Из представленной таблицы видно, что появление эрозии роговицы наблюдается уже через 2 часа после индукции анестезии.

Таблица 5
Динамика появления эрозии роговицы у кроликов

Временные промежутки общей анестезии	Исходно	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов
Динамика появления эрозии роговицы, кол-во глаз %	0	0	1 (4,2%)	7 (29,2%)	11 (50%)	17 (77,3%)
P		1,0	1,0	0,023*	0,003*	0,0001*
Динамика появления эрозии роговицы, кол-во кроликов, %	0	0	1 (8,3%)	4 (33,3%)	7 (63,6%)	9 (81,8%)
P		1,0	1,0	0,13	0,023*	0,007*

*- статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями ($p < 0,05$)

На следующем этапе был проведен эксперимент с ПДТФ (препарат «Визомитин») с целью оценки его эффективности в профилактике эрозии роговицы, по вышеописанной методике. Была отработана методика полуколичественного определения уровня эрозии роговицы. В основе метода лежит способность красителя метилового голубого обратимо связываться с поврежденными участками роговицы. Экспериментальным животным вводили анестетик. Через 2 часа, 4 часа и 6 часов роговицу животных обрабатывали раствором метилового голубого. После этого роговицу удаляли с поверхности глаза и помещали на 24 часа в раствор для экстракции. Краситель экстрагировался в раствор. После этого с помощью спектрофотометра определяли поглощение раствора при длине волны 660нм. Чем больше поглощение раствора, тем больше сорбировалось красителя на роговице и, как следствие, ее повреждение.



* - статистически значимые межгрупповые различия групп контрольная и слеза натуральная, $p < 0,05$

** - статистически значимые межгрупповые различия групп контрольная и визомитин, $p < 0,05$

*** - статистически значимые межгрупповые различия групп слеза натуральная и визомитин, $p < 0,05$

- статистически значимые внутргрупповые различия, $p < 0,05$

Рисунок 7. Динамика повреждения роговицы в зависимости от продолжительности общей анестезии

На рисунке 7 представлены данные по динамике сорбции метиленового голубого на поверхности роговицы у трех групп кроликов:

- группа контроля – 4 кролика;
- группа «слеза натуральная» – 4 кролика;
- группа «визомитин» – 4 кролика.

Показано, что однократные инстилляци SkQ1 (препарат «Визомитин») перед введением анестетика снижают риск повреждения роговицы по сравнению с препаратом «слеза натуральная» и с контрольной группой в 1,5 и 2 раза соответственно ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В анализ было включено 118 больных.

Интраоперационный мониторинг (приложение 1) витальных функций осуществляли согласно Гарвардскому стандарту, дополненному измерением биспектрального индекса (BIS-мониторинг).

У всех больных исследуемых групп было проведено адекватное анестезиологическое обеспечение оперативных вмешательств, межгрупповые показатели интраоперационного мониторинга исследуемых групп однородны и сопоставимы (различия статистически не значимы, $p > 0,05$), что нивелирует влияние показателей витальных функций во время анестезии на слезопродуктивную способность глаза и развитие эрозий роговицы.

Исследование показателей слезопродукции

До оперативного вмешательства показатели остроты зрения и слезопродуктивной способности глаза у всех больных были в пределах нормальных значений, у больных отсутствовали жалобы, характерные для синдрома сухого глаза.

Динамика показателей остроты зрения

Исследование остроты зрения до индукции анестезии проводилось по общепринятой методике на проекторе испытательных знаков, по необходимости осуществляли подбор оптической коррекции.

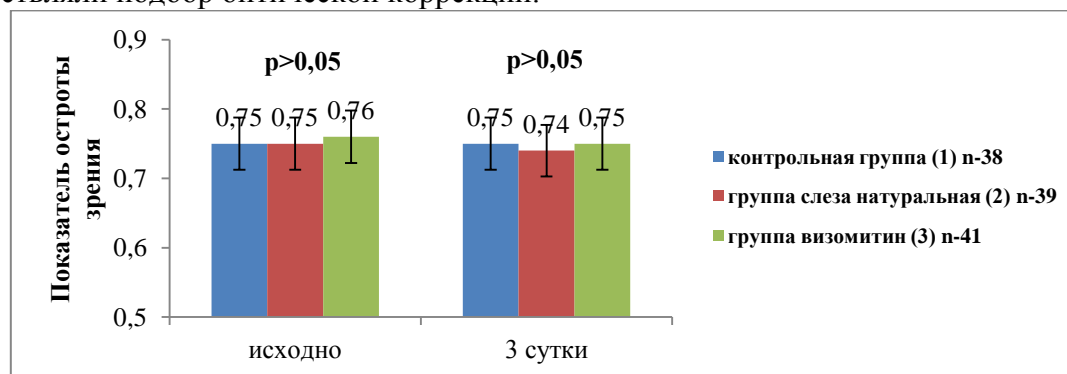


Рисунок 8. Динамика остроты зрения больных исследуемых групп

У больных, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии, острота зрения к 3 суткам послеоперационного периода практически не изменилась (рисунок 8).

Изучение величины слезопродукции методом Ширмера

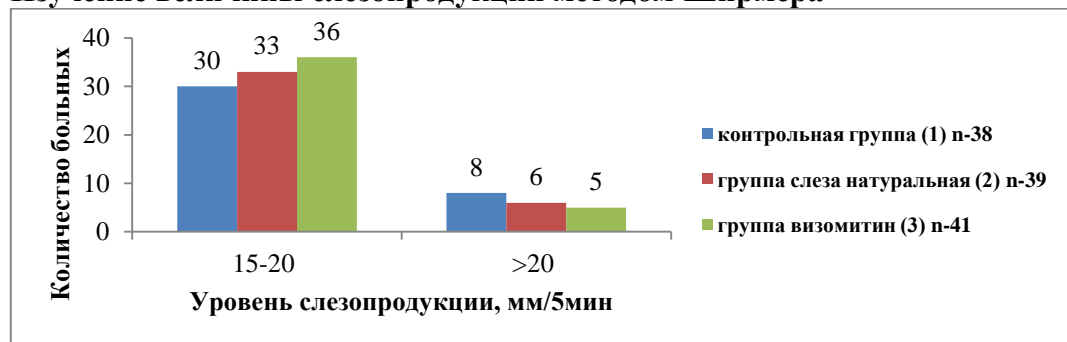


Рисунок 9. Показатели слезопродукции до оперативного вмешательства

До оперативного вмешательства показатель слезопродукции (рисунок 9) у всех больных был в пределах нормальных значений и составлял более или равно 15 мм/5 минут без статистически значимых различий между исследуемыми группами ($p > 0,05$).

У больных, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии, к 3 суткам послеоперационного периода снижение показателя слезопродукции ниже нормальных значений (менее 15 мм/5 мин) было обнаружено (таблица 6):

- в контрольной группе - 12 больных (31,6%);
- в группе «слеза натуральная» - 8 больных (20,5%);
- в группе «визомитин» - 8 больных (19,5%).

Таблица 6

Больные со сниженным показателем уровня слезопродукции

	Контрольная группа n=38	Слеза натуральная n=39	Визомитин n=41	χ^2	p	ϕ
исходно	0	0	0			
3 сутки	12 (31,6%)	8 (20,5%)	8 (19,5%)	1,23* 1,52** 0,01***	0,40* 0,36** 0,94***	0,13* 0,14** 0,01***
P#	0,0015	0,013	0,013			

* - межгрупповое сравнение групп контрольная и «слеза натуральная»

** - межгрупповое сравнение групп контрольная и «визомитин»

*** - межгрупповое сравнение групп «слеза натуральная» и «визомитин»

- внутригрупповое сравнение

Внутригрупповые различия в сравниваемых группах носили статистически значимый характер ($p < 0,05$). Наблюдаемые на 3 сутки послеоперационного периода межгрупповые различия в количестве больных со сниженным показателем уровня слезопродукции статистически не значимы ($p > 0,05$). Коэффициент ассоциации (ϕ) составил 0,14 и указывал на слабую связь между методом профилактики эрозии роговицы и снижением уровня слезопродукции на 3 сутки послеоперационного периода в исследуемых группах.

При количественном анализе (рисунок 10), в те же сроки, выявлено статистически не значимое ($p > 0,05$) снижение уровня слезопродукции во всех группах:

- в контрольной группе с $17,6 \pm 2,4$ до $16,3 \pm 3,8$ мм/5 минут;
- в группе «слеза натуральная» с $17,5 \pm 2,3$ до $15,8 \pm 3,7$ мм/5 минут;
- в группе «визомитин» с $17,2 \pm 2,2$ до $16,1 \pm 3,1$ мм/5 минут.

Межгрупповые различия также статистически не значимы ($p > 0,05$).

Различия количественных показателей слезопродукции в периоперационном периоде были также клинически не значимы, так как не выходили за пределы нормальных значений.

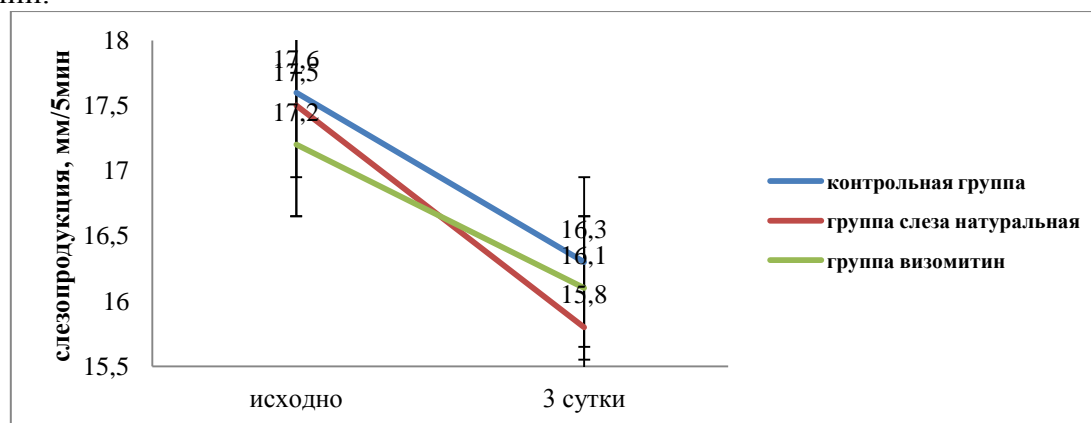


Рисунок 10. Динамика уровня слезопродукции в исследуемых группах

Изучение стабильности слезной пленки методом Норна

До оперативного вмешательства показатель времени разрыва слезной пленки (рисунок 11) у всех больных был в пределах нормальных значений и составлял более 10 сек без статистически значимых различий между исследуемыми группами ($p>0,05$).

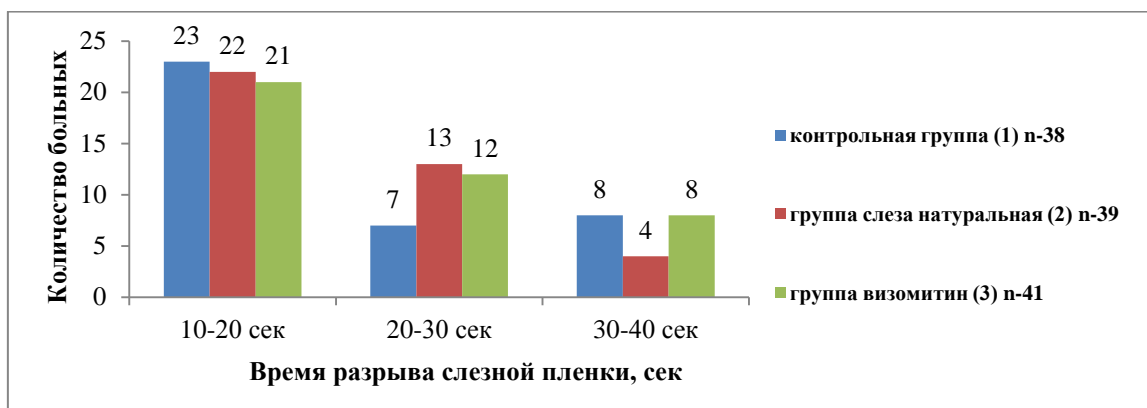


Рисунок 11. Показатели времени разрыва слезной пленки до оперативного вмешательства

У больных, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии, к 3 суткам послеоперационного периода снижение показателя времени разрыва слезной пленки ниже нормальных значений было обнаружено (таблица 7):

- в контрольной группе - 12 больных (31,6%);
- в группе «слеза натуральная» - 6 больных (15,4%);
- в группе «визомитин» - 1 больного (2,4%).

Внутригрупповые различия в группах контроля и «слеза натуральная» статистически значимы ($p<0,05$). Межгрупповой сравнительный анализ показал, что наблюдаемое на 3 сутки послеоперационного периода снижение количества больных со сниженным показателем времени разрыва слезной пленки отличалось, так в контрольной группе таких больных было 12 (31,6%), а в группе «визомитин» – 1 (2,4%), различия статистически значимы ($p<0,05$). Коэффициент ассоциации (ϕ) составил 0,39 и указывал на умеренную связь между методом профилактики эрозии роговицы и временем разрыва слезной пленки на 3 сутки послеоперационного периода в исследуемых группах.

Таблица 7

Больные со сниженным показателем времени разрыва слезной пленки, сек

	Контрольная группа (1) n=38	Слеза натуральная (2) n=39	Визомитин (3) n=41	χ^2	p	ϕ
исходное	0	0	0			
3 сутки	12 (31,6%)	6 (15,4%)	1 (2,4%)	2,8* 12,8** 4,2***	0,22* 0,026** 0,32***	0,19* 0,39** 0,23***
P#	0,0015	0,041				

* - межгрупповое сравнение групп контрольная и «слеза натуральная»

** - межгрупповое сравнение групп контрольная и «визомитин»

*** - межгрупповое сравнение групп «слеза натуральная» и «визомитин»

- внутригрупповое сравнение

При количественном анализе в те же сроки, также выявлено (рисунок 12):

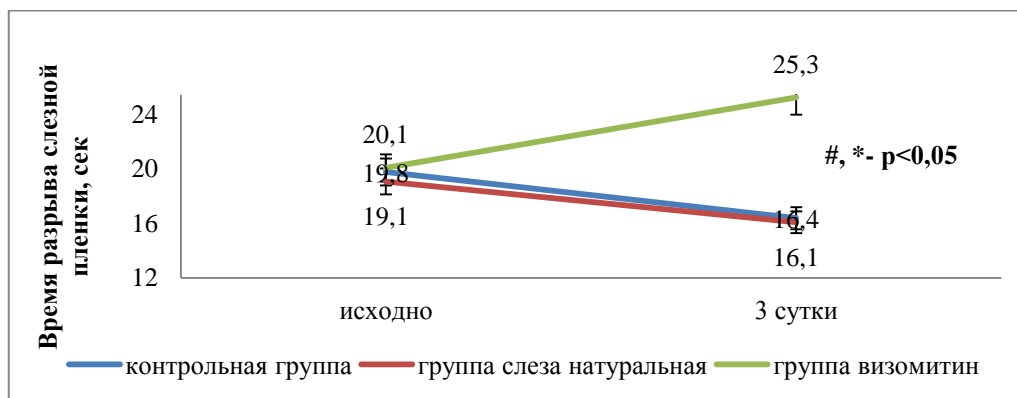
снижение времени разрыва слезной пленки:

- в контрольной группе с $19,1\pm 8,3$ до $16,1\pm 4,9$ сек ($p<0,05$);
- в группе «слеза натуральная» с $19,8\pm 3,2$ до $14,8\pm 3,2$ ($p<0,05$);

увеличение времени разрыва слезной пленки:

- в группе «визомитин» с $20,1\pm 8,6$ до $25,3\pm 12,1$ ($p<0,05$).

Наблюдаемые внутригрупповые различия статистически значимы ($p<0,05$).



* - статистически значимые внутригрупповые различия

- статистически значимые межгрупповые различия: «визомитин» - «слеза натуральная» и «визомитин» - группа контроля

Рисунок 12. Динамика времени разрыва слезной пленки в исследуемых группах

Межгрупповой сравнительный анализ на 3 сутки послеоперационного периода выявил статистически значимые различия во времени разрыва слезной пленки – в группе «визомитин» на заключительном этапе показатель стабильности слезной пленки превысил соответствующий показатель контрольной группы на 36,3% ($p < 0,05$) и группы «слеза натуральная» на 35,2% ($p < 0,05$).

Таким образом, общая анестезия существенно влияет на стабильность слезной пленки. Данный показатель к 3 суткам послеоперационного периода снижается на 15,7%. В группе больных, получавших слезозаместительный препарат «Слеза натуральная» также наблюдается снижение стабильности слезной пленки на 17,2%, что говорит о низком профилактическом эффекте применяемого препарата. У больных, получавших митохондри-адресованный антиоксидант – ПДТФ в качестве профилактического средства, наблюдалось улучшение стабильности слезной пленки на 25,9%, что указывает на хорошую профилактическую способность применяемого препарата и влияние окислительных процессов на стабильность слезы.

Изучение величины высоты слезного мениска

Определение высоты слезного мениска проводилось по вышеописанной методике.

Нормальные значения индекса высоты слезного мениска (ИВСМ) составляют более 2/1.



Рисунок 13. Показатели индекса высоты слезного мениска у больных исследуемых групп до оперативного вмешательства

Исходно, статистически значимых различий между исследуемыми группами по количеству больных с индексом высоты слезного мениска $< 2/1$ нет ($p > 0,05$) (рисунок 13).

Внутригрупповые различия в группах слеза натуральная (2) и визомитин (3) статистически значимы ($p < 0,05$). Коэффициент ассоциации (ϕ) составил 0,54 и указывал на умеренную связь между методом профилактики эрозии роговицы и ИВСМ на 3 сутки послеоперационного периода.

У больных, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии, к 3 суткам послеоперационного периода количество больных с показателем индекса высоты слезного мениска $< 2/1$ увеличилось:

- в контрольной группе с 7 до 13 больных (34,2%);

- в группе «слеза натуральная» с 4 до 21 больного (53,8%);

В группе «визомитин» наблюдалось снижение количества больных с показателем индекса высоты слезного мениска $<2/1$ с 11 до 2 больных (4,9%) (таблица 8).

Таблица 8

Больные со сниженным показателем ИВСМ $<2/1$, количество, %

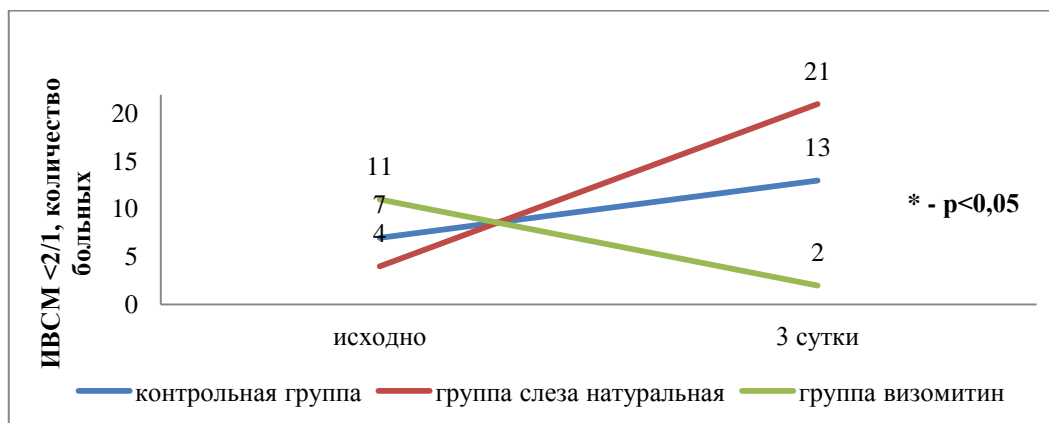
	Контрольная группа (1) n=38	Слеза натуральная (2) n=39	Визомитин (3) n=41	χ^2	p	ϕ
исходное	7 (18,4%)	4 (10,3%)	11 (26,8%)	1,05* 0,79** 3,6***	0,54* 0,52** 0,20***	0,11* 0,1** 0,21***
3 сутки	13 (34,2%)	21 (53,8%)	2 (4,9%)	3,0* 11** 23,4***	0,14* 0,025** 0,0001***	0,2* 0,37** 0,54***
P#	0,11	0,0001	0,0076			

* - межгрупповое сравнение групп контрольная и «слеза натуральная»

** - межгрупповое сравнение групп контрольная и «визомитин»

*** - межгрупповое сравнение групп «слеза натуральная» и «визомитин»

- внутригрупповое сравнение



ИВСМ – индекс высоты слезного мениска;

* - статистически значимые межгрупповые различия: «визомитин» - «слеза натуральная» и «визомитин» - группа контроля

Рисунок 14. Динамика индекса высоты слезного мениска $<2/1$ в исследуемых группах

Межгрупповой сравнительный анализ (рисунок 14) на 3 сутки послеоперационного периода выявил статистически значимые различия – количество больных с индексом высоты слезного мениска $<2/1$ в группе «визомитин» на заключительном этапе меньше чем в контрольной группе на 84,6% ($p<0,05$) и группе «слеза натуральная» на 90,5% ($p<0,01$).

Таким образом, общая анестезия также влияет и на высоту слезного мениска. У больных, получавших митохондрий-адресованный антиоксидант – ПДТФ в качестве профилактического средства, наблюдалось улучшение показателя высоты слезного мениска, что указывает на хорошую профилактическую способность применяемого препарата и влияние окислительных процессов на качество слезы.

Изучение частоты выявленных случаев эрозии роговицы

До начала исследования у всех больных исследуемых трех групп эрозий роговицы не зарегистрировано.

У больных, перенесших оперативные вмешательства в условиях общей анестезии, к 3 суткам послеоперационного периода эрозии роговицы были обнаружены (таблица 9):

- в контрольной группе - 9 больных (23,7%);

- в группе «слеза натуральная» - 3 больных (7,7%).

В группе «визомитин» эрозии роговицы не зарегистрированы.

Внутригрупповые различия в группе контроля (1) статистически значимы ($p < 0,05$).

Коэффициент ассоциации (ϕ) составил 0,38 и указывал на умеренную связь между методом профилактики эрозии роговицы и развитием эрозии роговицы на 3 сутки послеоперационного периода.

Таблица 9

	Показатель частоты эрозии роговицы в % в исследуемых группах			χ^2	p	ϕ
	Контрольная группа (1) n=38	Слеза натуральная (2) n=39	Визомитин (3) n=41			
исходное	0	0	0			
3 сутки	9 (23,7%)	3 (7,7%)	0	3,7*	0,23*	0,22*
				11** 3,3***	0,001** 0,55***	0,37** 0,2***
R#	0,0044	0,25				

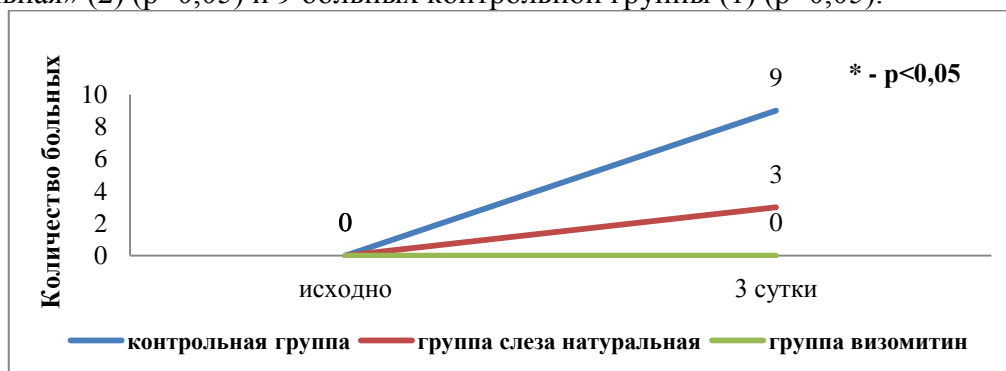
* - межгрупповое сравнение групп контрольная и «слеза натуральная»

** - межгрупповое сравнение групп контрольная и «визомитин»

*** - межгрупповое сравнение групп «слеза натуральная» и «визомитин»

- внутригрупповые сравнения

Межгрупповой сравнительный анализ (рисунок 15) на 3 сутки послеоперационного периода выявил статистически значимые различия – количество больных с эрозией роговицы снизилось до 0 в группе «визомитин» против 3 больных в группе «слеза натуральная» (2) ($p > 0,05$) и 9 больных контрольной группы (1) ($p < 0,05$).



* - статистически значимые межгрупповые различия: визомитин-группа контроля

Рисунок 15. Частота выявленных случаев эрозии роговицы

Таким образом, при анализе результатов исследования показателей слезопродукции выявили как статистически, так и клинически значимые различия в исследуемых группах, которое указывает на негативное влияние анестезии на слезопродуктивную способность глаза. Выявленные различия в стабильности слезной пленки и высоте слезного мениска на фоне сохраненного уровня слезопродукции, а, не исключено, что и качественные изменения состава слезной жидкости, и обусловили на 3-и сутки послеоперационного периода различия в частоте возникновения эрозий роговицы у больных исследуемых групп.

Учитывая, что в группе «визомитин» эрозии роговицы не наблюдались, можно признать высокую эффективность митохондрий-адресованного антиоксиданта – ПДТФ в профилактике данного осложнения и несомненную роль окислительных процессов в развитии ее повреждении

Исследование влияние периоперационных факторов на повреждение роговицы в зависимости от метода профилактики

Учитывая факт статистически достоверного снижения показателей слезопродуктивной способности глаза в послеоперационном периоде, был проведен

корреляционный анализ, который показал наличие связи между такими периоперационными факторами как пол, тип оперативного вмешательства, длительность анестезии и индекс высоты слезного мениска с развитием эрозии роговицы (таблица 10). Из таблицы видно, что в контрольной группе обнаружена умеренная корреляционная связь послеоперационного повреждения роговицы со следующими факторами:

- пол ($r= 0,61$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у 6 мужчин (66,7%) и 3 женщин (33,3%);

- тип оперативного вмешательства ($r= 0,50$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у больных, которым проводились следующие оперативные вмешательства: лапароскопическая фундопликация по Ниссену – 4 больных (44,4%), лапароскопическая резекция почки/нефрэктомия – 4 больных (44,4%) и лапароскопическая ампутация масти – 1 пациентка (11,2%);

- длительность анестезии ($r= 0,45$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у больных с длительностью анестезии более 150 минут.

В группе слеза натуральная не обнаружено корреляционной связи эрозий роговицы с указанными факторами, что указывает на эффективность препарата «Слеза натуральная» в профилактике ее повреждения. Однако наличие эрозий роговицы у больных указывает на несоответствие механизма повреждения роговицы, выявленного в ходе исследования, и фармакологического воздействия слезозаместительного препарата «Слеза натуральная».

В группе визомитин у больных отсутствовали эрозии роговицы в послеоперационном периоде, что говорит о высокой эффективности ПДТФ в профилактике ее повреждения.

Таблица 10

Корреляционная связь периоперационных факторов и показателей слезопродуктивной способности с развитием эрозии роговицы в контрольной группе

	Коэффициент корреляции (r)	Уровень значимости (p)
Возраст	-0,232	0,093
Пол*	0,613	0,0017
Тип оперативного вмешательства*	0,504	0,0002
Длительность анестезии*	0,454	0,0000
Уровень слезопродукции, 3 сутки	0,026	0,73
Время разрыва слезной пленки, 3 сутки	-0,171	0,29
Индекс высоты слезного мениска, 3 сутки	-0,314	0,17

*- статистически значимые коэффициенты корреляции

С целью предсказания вероятности влияния метода профилактики на формирование эрозии роговицы все группы наблюдения сведены в одну генеральную совокупность и подвергнуты общему дискриминантному анализу, в ходе которого наилучшими предикторами, имеющими наибольшее воздействие на формирование эрозии роговицы, явились метод профилактики, как категориальный предиктор, и длительность анестезии, имеющие непрерывный тип переменных, уровень значимости модели $p<0,05$ (таблица 11).

Таблица 11

Результаты многомерного дискриминантного анализа

Предикторы	Критерий Фишера (F)	Уровень значимости (p)
Метод профилактики повреждения роговицы (исследуемые группы больных)	8,75	0,0002*
Пол	0,24	0,62
Возраст	1,13	0,28

Тип оперативного вмешательства	0,10	0,74
Длительность анестезии	28,25	0,0000*
Уровень слезопродукции, 3 сутки	0,92	0,33
Стабильность слезной пленки, 3 сутки	0,94	0,33
Индекс высоты слезного мениска, 3 сутки	0,33	0,56

*- достоверный уровень значимости модели

Предполагая значимость длительности анестезии для изучения ее связи и событием повреждения роговицы, результаты исследования подвергли логистическому регрессионному анализу (рисунок 16). В анализ вошли событие повреждения роговицы, как зависимая бинарная переменная отклика, и длительность анестезии, как независимая непрерывная переменная. В контрольной группе уровень согласованности модели регрессии составил $\chi^2=26,22$; уровень значимости $p<0,05$.

В ходе проведения ROC-анализа (рисунок 17) оптимальная точка отсечения выбрана по принципу максимальной суммарной чувствительности - Se и специфичности - Sp модели, т.е. Se+Sp, и оказалась равной длительность анестезии >175 минут чувствительность равна 92,3 % (95% ДИ от 64 до 99,8), специфичность равна 84,1% (95% ДИ от 72,7 до 92,1). Площадь под ROC-кривой как маркер прогностической ценности критерия составила 0,91 (SE 0,05; ДИ 95% от 0,82 до 0,96).

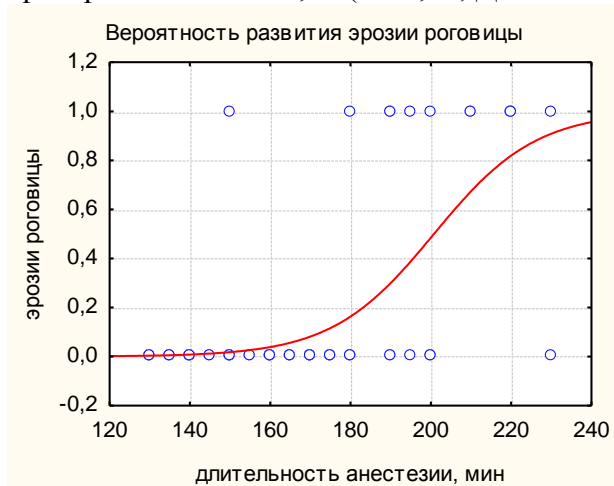


Рисунок 16. Модель логистической регрессии вероятности события повреждения роговицы в зависимости от длительности анестезии у больных контрольной группы

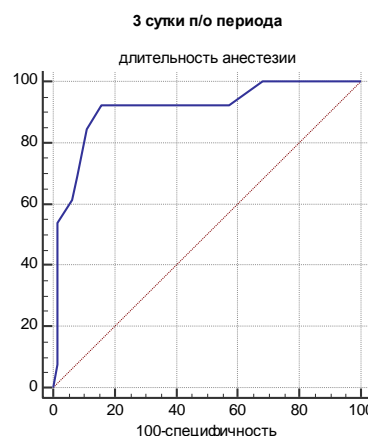


Рисунок 17. ROC-кривая предсказания события повреждения роговицы в зависимости от длительности анестезии в контрольной группе

ВЫВОДЫ

1. В условиях общей анестезии у кроликов достоверно снижается уровень слезопродукции с $16,8 \pm 1,8$ до $1,9 \pm 0,6$ мм/5 минут через 120 минут после индукции анестезии; антиоксидантная и супероксиддисмутазная активность слезы с 159 ± 25 мкМ до 55 ± 22 мкМ и с 35 ± 10 ед. до 27 ± 7 ед. соответственно через 30 минут после индукции анестезии; выявлено исчезновение белков Актин 1 и Аннексин А1 в слезной жидкости.
2. Восстановление слезопродуктивной способности, супероксиддисмутазной и антиоксидантной активности слезной жидкости у экспериментальных животных до исходного уровня, после перенесенной анестезии, происходит в течение 24 - 48 часов
3. Эрозии роговицы у кроликов развиваются через 3 часа от начала анестезии. Однократные инстилляцией SkQ1 (препарат «Визомитин») перед введением анестетика снижают риск повреждения роговицы по сравнению с препаратом «Слезка натуральная» и с контрольной группой в 1,5 и 2 раза соответственно
4. При оперативных вмешательствах, выполненных в условиях общей анестезии, величина показателя стабильности слезной пленки на 3 сутки после операции у больных

группы визомитин превышает показатели больных контрольной группы на 36,3% и больных группы слеза натуральная на 35,2%

5. При оперативных вмешательствах, выполненных в условиях общей анестезии, количество пациентов со сниженным показателем индекса высоты слезного мениска на 3 сутки после оперативного вмешательства снижается в группе визомитин на 82%, а в контрольной группе и в группе «слеза натуральная» увеличивается на 31% и 81% соответственно

6. При оперативных вмешательствах в условиях общей анестезии митохондри-адресованный антиоксидант – SkQ1 (препарат «Визомитин») эффективно предупреждает развитие эрозии роговицы на 3 сутки послеоперационного периода. Количество больных с данным осложнением снизилось до 0 против 9 ($p < 0,05$) в контрольной группе и 3 больных ($p > 0,05$) в группе слеза натуральная

7. У больных контрольной группы, в отличие от больных групп слеза натуральная и визомитин длительность анестезии более 175 минут коррелировала с частотой послеоперационной эрозии роговицы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование было направлено на изучение эффективности митохондри-адресованного антиоксиданта - SkQ1 (препарат «Визомитин») в профилактике развития эрозии роговицы в послеоперационном периоде.

В экспериментальной части в условиях общей анестезии у животных оценивались слезопродукция, состояние роговицы, а также отбирались образцы слезной жидкости из конъюнктивального мешка животных. В полученных образцах исследовали белковый состав, антиоксидантную и супероксиддисмутазную активность. Полученные в эксперименте данные показывают негативное влияние общей анестезии на слезопродуктивную способность глаза и частоту развития повреждения роговицы. Об этом свидетельствовало достоверное ($p < 0,05$) снижение через 120 минут от начала анестезии слезопродукции, антиоксидантной и супероксиддисмутазной активности слезной жидкости более чем в 8, 3 и 2 раза соответственно, изменение белкового состава слезы с исчезновением двух противовоспалительных белков, а также развитие повреждения роговицы у экспериментальных животных в виде ее эрозии в условиях общей анестезии. Восстановление уровня слезопродукции, стабильности слезной пленки, АОА и СОД активности слезной жидкости происходит в течении 2 суток после окончания анестезии.

Клиническая часть исследования проведена в отделении анестезиологии и реанимации Главного клинического военного госпиталя, г. Голицыно. В исследование вошли 118 пациентов, которым были спланированы и выполнены хирургические вмешательства в условиях общей анестезии. Больные были рандомизированы, в зависимости от метода профилактики повреждения роговицы, на три группы: контрольная – больным не проводилась фармакологическая профилактика повреждения роговицы, «слеза натуральная» и «визомитин» – больные в качестве профилактического средства получали инстилляцию глазных капель «Слеза натуральная» и «Визомитин» (митохондри-адресованный антиоксидант), соответственно. Следует отметить, что больным всех трех групп проводилась неспецифическая профилактика повреждения роговицы – пассивное закрытие глазной щели после индукции анестезии, а при наличии лагофтальма или неполного закрытия глазной щели на веки накладывался пластырь.

На 3 сутки послеоперационного периода больные были подвергнуты повторному офтальмологическому обследованию. В ходе клинического исследования установлено, что влияние общей анестезии на слезопродуктивную способность глаза в целом негативное. В группах имелась тенденция к снижению показателя слезопродукции. Стабильность слезной пленки в группе «визомитин» была значимо выше, чем в контрольной группе и группе «слеза натуральная», такая же закономерность наблюдалась и по индексу высоты слезного мениска. Выявленные различия в стабильности слезной пленки и высоте слезного мениска, а, не исключено, что и качественные изменения

состава слезной жидкости в раннем послеоперационном периоде обуславливают высокую частоту развития эрозии роговицы у больных, оперированных в условиях общей анестезии. У больных контрольной группы частота эрозий роговицы значимо чаще развивалась по сравнению с группами «слеза натуральная» и «визомитин».

Схожие результаты получены в исследовании Grover V.K. с соавторами, где из 150 больных, оперированных в условиях общей анестезии, у пациентов, которым применяли пластырь как метод профилактики повреждения роговицы симптомы ССГ возникли в 2% случаев, у больных, которым применяли глазную мазь – 1%, а у пациентов контрольной группы – 27%. В работе Ganidagli S. с соавторами показано, что из 200 пациентов у больных группы А (гипоаллергенный пластырь) симптомы ССГ были выявлены в 10% случаев, группы В (глазная мазь на парафиновой основе) – 8%, в группе С (полиакриловый гель) – 12% и в группе D (глазные капли) симптомы ССГ были выявлены в 6% случаев.

Кроме того, исследование зависимости частоты развития эрозии роговицы от таких показателей как возраст больных, пол, длительность анестезии, показателей слезопродукции в контрольной группе обнаружена умеренная корреляционная связь послеоперационного повреждения роговицы со следующими факторами: **пол** ($r=0,61$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у 6 мужчин (66,7%) и 3 женщин (33,3%); **тип оперативного вмешательства** ($r=0,50$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у больных, которым проводились следующие оперативные вмешательства: лапароскопическая фундопликация по Ниссену – 4 больных (44,4%), лапароскопическая резекция почки/нефрэктомия – 4 больных (44,4%) и лапароскопическая ампутация масти – 1 пациентка (11,2%); **длительность анестезии** ($r=0,45$; $p<0,05$) – эрозии роговицы наблюдались у больных с длительностью анестезии более 150 минут. В группе «визомитин» у больных отсутствовали эрозии роговицы в послеоперационном периоде, что говорит о высокой эффективности ПДТФ в профилактике ее повреждения. Длительность анестезии, превышающая 175 минут, указывает на высокую вероятность развития повреждения роговицы. В контрольной группе у больных отмечена высокая степень корреляционной зависимости между длительностью анестезии и метода фармакологической профилактики повреждения роговицы ($r=0,454$; $p=0,00001$), в группе «слеза натуральная» отсутствовала связь повреждения роговицы с длительностью анестезии ($r=0,030$; $p=0,69$), в группе «визомитин» данное осложнение не наблюдалось.

Полученные в настоящем исследовании результаты подтверждают гипотезу о том, что интраоперационная защита глаз с целью профилактики эрозий роговицы – необходимость, а разработанный метод профилактики путем профилактического применения митохондрий-адресованного антиоксиданта – ПДТФ (препарат «Визомитин») позволяет существенно снизить частоту или вовсе избежать развитие данного осложнения.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено с введением препарата в интраоперационном периоде. Однако, развитие эрозии роговицы – одно из частых осложнений, наблюдающееся у пациентов палат интенсивной терапии, длительно находящихся на ИВЛ в условиях медикаментозной седации, или пребывающих в коматозном состоянии. Теоретически, можно экстраполировать полученные результаты на данную категорию больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработан метод профилактики эрозии роговицы:

- пассивное закрытие глазной щели после индукции анестезии. При наличии лагофталма или неполного закрытия глазной щели на веки накладывается пластырь;
- инстилляцией глазных капель «Визомитин» по следующей схеме: первая инстилляционная непосредственно перед началом введения анестетика, вторая — по окончании операционного вмешательства, далее инстилляцией 3 раза в день по одной капле в оба глаза в течение суток;

- при отсутствии глазных капель «Визомитин» допустимо применение препарата «Слеза натуральная», что позволит если не избежать, то снизить частоту развития повреждения роговицы.

2. Данный метод профилактики может быть использован в ходе длительных оперативных вмешательствах (при предполагаемой длительности анестезии более 3 часов), а также у больных на искусственной вентиляции легких в состоянии седации или бессознательном состоянии в ПИТ.

3. Использование разработанного метода профилактики ССГ рекомендуется для всех стационаров, отделений анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Неверовский А.Е., Чемоданов Д.В., Гусев А.Е., Сунгуров В.А., Скулачев М.В., Сенин И.И., Лихванцев В.В. Развитие синдрома сухого глаза у пациентов в послеоперационный период. 15 всероссийская конференция с международным участием «жизнеобеспечение при критических состояниях», 18-19 ноября 2013 г., стр.75.
2. Неверовский А.Е., Чемоданов Д.В., Гусев А.Е., Сунгуров В.А., О. А. Аверина, А. С. Бабаков, О. А. Гребенчиков, Сенин И.И. Синдром Сухого глаза у пациентов в периоперационном периоде. Вестник анестезиологии и реаниматологии том 2, № 4, 2014 год, стр. 46-51.
3. Кичин В. В., Сунгуров В. А., Прокин Е. Г., Гусев А. Е., Чемоданов Д. В., Сенин И. И. Развитие синдрома «сухого глаза» у пациентов в периоперационном периоде. Материалы 16 сессии МНОАР, 2015 год, стр.32.
4. Гусев А.Е., Чемоданов Д.В., Сунгуров В.А., Неверовский А.Е., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В. Митохондри-адресованные антиоксиданты в профилактике эрозии роговицы при выполнении оперативных вмешательств в условиях общей анестезии. Анестезиология и реаниматология, 2016 год № 3, 224-227.
5. Кичин В.В., Сунгуров В.А., Прокин Е.Г., Лихванцев В.В., Чемоданов Д.В., Гусев А.Е. Митохондри-адресованные антиоксиданты в профилактике эрозии роговицы. Материалы 17 сессии МНОАР, 2016 год, стр. 31.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОА	Антиоксидантная активность
ВАК	Высшая аттестационная комиссия
ВРСП	Время разрыва слезной пленки
МНОАР	Московское научное общество анестезиологов-реаниматологов
ОРИТ	Отделение реанимации и интенсивной терапии
ПДТФ	Пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид
ПР	Повреждение роговицы
СОД	Супероксиддисмутазная активность
ССГ	Синдром сухого глаза
ФАР	Федерация анестезиологов-реаниматологов
ЭР	Эрозия роговицы
ASA	Американское общество анестезиологов
BIS	Биспектральный индекс активности головного мозга
CMV	Режим управляемой искусственной вентиляции легких (от англ. Control mandatory ventilation)
SkQ1	Пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид

Динамика показателей интраоперационного мониторинга

Показатель	Значения показателей в группах			P
	Контрольная группа n=38	Слеза натуральная n=39	Визомитин n=41	
Неинвазивное АД(ср), мм.рт.ст.				
исходно	101,9±3,9	102,3±8,8	101,7±10,6	0,101
индукция	85,7±9,3	87,6±10,0	87,7±8,1	0,564
начало операции	81,9±8,9	82,9±8,7	86,1±7,5	0,075
1 час	85,2±9,1	87,2±9,3	87,2±8,0	0,502
2 час	82,8±8,9	84,1±9,0	85,0±8,1	0,550
3 часа	85,2±10,1	86,9±5,7	84,9±1,0	0,618
конец операции	83,1±9,8	83,7±8,2	83,4±6,6	0,961
экстубация	101,2±6,1	101,0±6,2	101,5±6,2	0,933
ЧСС, уд/мин				
исходно	79,4±10,5	79,6±9,1	82,4±9,1	0,279
индукция	73,4±9,9	74,0±7,7	74,8±8,0	0,741
начало операции	69,9±11,8	69,6±7,6	71,1±6,6	0,079
1 час	71,2±6,7	69,8±8,0	69,9±7,4	0,632
2 час	71,3±8,2	68,8±7,6	70,6±8,4	0,368
3 часа	73,2±5,9	76,7±6,9	74,6±1,1	0,65
конец операции	73,9±6,9	72,5±9,4	72,1±7,6	0,592
экстубация	85,4±6,9	86,2±7,4	87,0±5,8	0,579
Пульсоксиметрия, %				
исходно	98,6±1,2	98,3±1,0	98,8±1,0	0,191
индукция	99,4±0,7	99,5±0,6	99,6±0,5	0,317
начало операции	99,5±0,6	99,5±0,6	99,5±0,6	0,849
1 час	99,4±0,8	99,5±0,6	99,3±0,7	0,269
2 час	99,5±0,7	99,5±0,6	99,3±0,6	0,341
3 часа	99,5±0,5	99,3±0,7	99,0±0,8	0,593
конец операции	99,6±0,5	99,5±0,6	99,5±0,5	0,732
экстубация	96,7±0,5	96,6±0,5	96,6±0,5	0,119
Концентрация CO ₂ в конце выдоха, EtCO ₂ , мм.рт.ст.				
индукция	36,6±2,7	36,0±1,7	36,3±1,6	0,399
начало операции	36,9±2,0	37,4±1,6	37,5±1,2	0,196
1 час	38,4±0,9	38,2±0,9	38,2±0,8	0,361
2 час	38,3±0,8	38,0±0,8	38,0±0,8	0,276
3 часа	38,7±1,4	38,3±1,1	38,0±0,9	0,698
конец операции	38,3±1,2	38,1±0,7	38,4±0,7	0,09
экстубация	39,3±0,6	39,0±0,7	39,0±0,6	0,119
Биспектральный индекс, BIS, ед				
исходно	87,9±2,9	87,1±2,3	87,2±2,1	0,103
индукция	26,2±3,3	27,7±5,0	26,0±2,4	0,153
начало операции	39,4±2,2	40,4±4,2	39,3±2,7	0,14
1 час	43,9±2,7	44,2±3,5	44,0±3,2	0,909
2 час	44,7±3,0	44,8±2,6	45,9±3,1	0,137
3 часа	43,3±2,4	43,4±2,5	42,8±1,9	0,632
конец операции	45,5±3,8	44,4±2,4	44,6±2,7	0,226
экстубация	86,8±1,0	86,4±1,6	86,1±2,1	0,504