

4. Shadlinskaya S.V. Funktsional'naya morfologiya limfoidnogo apparata matochnoi truby v norme, pri kontralateral'noi aplazii i pri trubnoi beremennosti (Functional morphology of the lymphoid apparatus of the fallopian tube is normal, while the contralateral aplasia and tubal pregnancy): avtoref. ... kand. med. nauk, Baku, 2009, 21 p. (in Russian)
5. Alicia A.W., Jason J.P., Madeline E.R., James W.S., Cheryl A.F. Divergent mechanisms for tropic action of estrogens in the brain and peripheral tissues. *Brain Res.* 2011, Vol. 6, N 1379, P.119-136. (in English)
6. Demir B., Kahyaoglu I., Guvenir A., Yerebasma N., Altinbas S., Dilbaz B., Dilbaz S., Mollamahmutoglu L. Progesterone change in the late follicular phase affects pregnancy rates both against and antagonist protocols in normoresponders: a case-controlled study in ICSI cycles. *Gynecological Endocrinology*, 2016, Vol.35, N.5, P.361-365. (in English)
7. Mauvais-Jarvis F., Clegg D.J., Hevener A.L. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews*, 2013, V.34, N.3, P.309-338. (in English)
8. Monteiro R., Teixera D., Calhau C. Estrogen signaling in metabolic inflammation. *Mediators inflammation*, 2014, V.61, P.17-19. (in English)
9. Patel B., Elguero S., Thakore S., Dahoud W., Bedaiwy M., Mesiano S. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Human Reproduction Update*, 2015, V.21, N.2, P.155-173. (in English)

УДК 617.7-007.681-089-092.9:599.323.4:615.277.3  
 © Т.А. Жигальская, 2018

Т.А. Жигальская  
**ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОНЬЮНКТИВЫ  
 И СКЛЕРЫ ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА ПРИ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ  
 АППЛИКАЦИИ 0,05% РАСТВОРА ЦИКЛОСПОРИНА А**  
*ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»  
 Минздрава России, г. Томск*

Цель исследования – анализ гистологических изменений регенерации конъюнктивы и склеры глазного яблока после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% раствора Циклоспорина А.

Исследование было проведено на крысах породы Wistar (n=48), которые были разделены на 2 группы: основную (n=32), включающую подгруппы а (n=16) и б (n=16), и группу сравнения (n=16). Выполняли сквозной разрез конъюнктивы и поверхностных слоев склеры. На зону оперативного вмешательства накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05% раствором циклоспорина А. В подгруппе а длительность аппликации составляла 3 минуты, в подгруппе б – 6 минут. В группе сравнения проводилась аппликация гемостатической губки без цитостатика.

Установлено, что шестиминутная аппликация 0,05% раствора Циклоспорина А обуславливает меньшую выраженность инфильтративных изменений, что вызвано подавлением миграции клеток к зоне хирургического вмешательства. Напротив, раннее развитие рубцовых изменений было отмечено в группе сравнения, где аппликация цитостатика не проводилась.

Таким образом, использование 0,05% раствора Циклоспорина А в виде интраоперационной аппликации на зону хирургической травмы вызывает замедление регенераторных процессов. Наибольшая эффективность наблюдается при аппликации продолжительностью 6 минут.

**Ключевые слова:** Циклоспорин А, рубцевание, регенерация, цитостатики, глаукома.

T.A. Zhigal'skaya  
**HISTOLOGICAL FEATURES OF THE CONJUNCTIVA  
 AND THE SCLERA OF THE EYEBALL AT INTRAOPERATIVE APPLICATION  
 OF 0.05% SOLUTION OF CYCLOSPORINE A**

Object is the analysis of histological changes of conjunctiva and sclera regeneration after surgical intervention with intraoperative application of 0,05% solution of Cyclosporine A.

The study was conducted on Wistar rats (n = 48), they were divided into 2 groups: the main (n = 32), including subgroups "a" (n = 16) and "b" (n = 16) and the comparison group (n = 16). We performed a through cut of the conjunctiva and the surface layers of the sclera. A hemostatic sponge impregnated with 0,05% Cyclosporine A solution was applied to the surgical intervention zone. In the subgroup "a" duration of application was 3 minutes, in the subgroup "b" – 6 minutes. In the comparison group application of the hemostatic sponge without a cytostatic was performed.

A six-minute application of 0,05% Cyclosporine A solution was found to cause a lesser degree of infiltrative changes, which is caused by the suppression of cell migration to the surgical intervention zone. In contrast, early development of fibrosis changes was noted in the comparison group, where application of cytostatic was not performed.

Using a 0,05% solution of Cyclosporine A in the form of intraoperative application to the zone of a surgical trauma causes slowing of regenerative processes. The greatest effectiveness is observed in case of 6 minutes application.

**Key words:** Cyclosporine A, scarring, cytostatics, regeneration, glaucoma.

Одной из актуальных проблем современной офтальмологии является лечение рефрактерной глаукомы [1,2]. Основным направлением лечения данной патологии является хирургическое вмешательство [3,4]. Однако примерно у четверти больных после хирургического лечения в отдаленном периоде возникает блокада созданных путей оттока внутриглазной жидкости вследствие рубцевания [5-7].

Разработка результативного способа оперативного вмешательства при рефрактерной глаукоме, обеспечивающего длительный гипотензивный эффект является важной задачей офтальмохирургии [8].

Цель исследования – анализ гистологических изменений конъюнктивы и склеры глазного яблока после хирургического вмешательства с интраоперационной аппликацией 0,05% раствора Циклоспорина А.

## **Материал и методы**

Эксперимент проведен на базе лаборатории биологических моделей ФГБОУ ВО СибГМУ (руководитель – к.б.н. В.В. Иванов) (заключение этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России № 4346 от 16.11.2015).

Экспериментальное исследование выполнено на 42 крысах породы Wistar. Животным в верхневнутреннем квадранте глаза выполнялся сквозной разрез конъюнктивы и непроникающий разрез поверхностных слоев склеры. В зависимости от дальнейшего вмешательства животные были разделены на 2 группы: основную ( $n=32$ ), животным которой на зону операционной травмы накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05% раствором Циклоспорина А. В подгруппе а ( $n=16$ ) длительность аппликации составляла 3 минуты; в подгруппе б ( $n=16$ ) – 6 минут. Животным группы сравнения ( $n=16$ ) на зону хирургического разреза накладывалась гемостатическая губка без цитостатика.

На 3-и, 7-, 14- и 21-е сутки после операции из каждой подгруппы основной группы и группы сравнения выводилось по 4 животных. Все манипуляции проводились с соблюдением правил и норм, прописанных в директивах Европейского сообщества (86/609 ЕС) и Хельсинской декларации. Проводились забор материала и его фиксация в 10% растворе нейтрального формалина. Подготавливались срезы, окрашивались гематоксилином и эозином, а также по методу Маллори в модификации.

В ходе статистической обработки результатов рассчитывались параметры распределений, средние значения, их ошибки (метод Колмогорова–Смирнова). Достоверность различий при сравнении средних величин оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни ( $p_u$ ). Статистически значимыми различия считались при  $p<0,05$ .

## **Результаты и обсуждение**

На 3-и сутки после хирургического вмешательства в подгруппе а основной группы в области операционной травмы конъюнктива была истончена. Отмечались утрата бокаловидных клеток, выраженный отёк, расширение сосудов. Обнаруживались выраженные инфильтративные изменения, в которых преобладали мононуклеарные лейкоциты (76%). В склере отмечались значительное расслоение коллагеновых волокон и изменение тинкториальных свойств.

В подгруппе б основной группы в конъюнктиве также отмечалось выраженное истончение эпителия. В строме конъюнктивы

субэпителиально обнаруживались щелевидные полости. Сосуды конъюнктивы были резко расширены, большая их часть полнокровна. Плотность инфильтрата в данной подгруппе была минимальной ( $p<0,05$ ). Среди клеток преобладали мононуклеарные лейкоциты (80,2%). В склере отмечались нарушение ориентации пучков коллагеновых волокон, их фрагментация, тинкториальные изменения.

В группе сравнения эпителий конъюнктивы был уплощен, без признаков спонгиоза. В склере наблюдались периваскулярный отек, диффузная лейкоцитарная инфильтрация (71,7%). Формировались тонкие, короткие, извитые пучки коллагеновых волокон.

На 7-е сутки после хирургического вмешательства в подгруппе а основной группы в области 3-минутной аппликации начиналось восстановление архитектоники эпителия конъюнктивы. В глубоких слоях конъюнктивы сохранялся диффузный инфильтрат с преобладанием мононуклеарных лейкоцитов (57,4%) и фибробластов (35,2%). В склере сохранялось расслоение коллагеновых волокон.

В подгруппе б основной группы эпителий конъюнктивы оставался истонченным, однако число бокаловидных клеток увеличивалось. Соединительнотканная основа, образованная тонкими пучками разнонаправленных коллагеновых волокон, была рыхлой. Плотность инфильтрата в зоне вмешательства была в 1,7 раза меньше по сравнению с данным показателем в группе сравнения ( $p<0,05$ ). Преобладали мононуклеарные лейкоциты (66,1%). В склере в области аппликации цитостатика сохранялась нарушенная ориентации коллагеновых волокон с измененными тинкториальными свойствами.

В группе сравнения на 7-е сутки после операции эпителий конъюнктивы в зоне вмешательства имел нормальное строение. Сохранялись умеренный отек и диффузная клеточная инфильтрация соединительнотканной основы слизистой оболочки. При этом отмечалось увеличение численности полиморфных лейкоцитов в 2,0 раза по сравнению с 3-ми сутками. Склера была представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, коллагеновые волокна представляли собой короткие извитые пучки.

На 14-е сутки после оперативного вмешательства в подгруппе а основной группы эпителий конъюнктивы имел нормальное строение. В соединительнотканной основе конъюнктивы обнаруживались разных размеров щели и полости с перифокальной мононуклеарной инфильтрацией. Общая клеточная

плотность инфильтрата уменьшилась в 3,1 раза по сравнению с 7-ми сутками. В клеточном составе стали преобладать фибробласти (57,7%). Склера в зоне воздействия была представлена рыхло расположенным пучками коллагеновых волокон с измененными тинкториальными свойствами.

В подгруппе б основной группы эпителий конъюнктивы имел нормальное строение. Основу конъюнктивы составляла рыхлая соединительная ткань без полостей и щелей. Клеточная плотность в зоне вмешательства была наименьшей ( $p<0,05$ ). Преобладали мононуклеарные лейкоциты (44,2%) и фибробласти (50,0%). Склера была представлена рыхло расположенным пучками коллагеновых волокон.

У животных группы сравнения конъюнктивы имела нормальное строение. Отмечалось в 2,5 раза уменьшение плотности инфильтрата. Преобладали фибробласти (51,9%). Коллагеновые волокна склеры становились толще и располагались плотнее друг к другу.

На 21-е сутки после хирургического вмешательства в подгруппе а основной группы конъюнктивы имела нормальное строение, среди пучков коллагеновых волокон обнаруживались новообразованные сосуды. Общая клеточная плотность инфильтрата сократилась в 1,9 раза по сравнению с 14-ми сутками, преобладали фибробласти (68,8%). Коллагеновые пучки склеры приобретали более упорядоченный ход, однако сохранялись изменения их тинкториальных свойств.

В подгруппе б основной группы конъюнктивы также имела нормальное строение. В соединительнотканной основе конъюнктивы обнаруживались тонкостенные выстланные эндотелием каналы и щели, анастомозирующие между собой. Конъюнктива в зоне оперативного вмешательства была отделена щелевидным пространством от подлежащей склеры. Клеточная плотность в области оперативного вмешательства в 1,1 раза превысила данный показатель группы сравнения. В клеточном составе преобладали фибробласти (52,2%) и мононуклеарные лейкоциты (41,8%). Склера была представлена расслоенными, однако более упорядоченными пучками коллагеновых волокон.

У животных группы сравнения конъюнктивы имела нормальное строение, однако была плотно спаяна с подлежащей склерой. Наблюдалось в 2,6 раза уменьшение клеточной плотности инфильтрата по сравнению с 14-ми сутками. Преобладающими были фибробласти (78,7%). Склера представляла собой плотную соединительную ткань.

Анализ полученных результатов свидетельствует о развитии воспалительно-регенераторной реакции в конъюнктиве и склере после хирургического вмешательства у животных всех экспериментальных групп. Однако отмечена разная динамика течения данного процесса. В группе сравнения в исходе отмечено развитие плотного конъюнктивально-склерального сращения в зоне хирургического вмешательства. Интраоперационная аппликация 0,05% раствора Циклоспорина А подавляет миграцию клеток к зоне хирургической травмы. Так, в группе с 6-минутной аппликацией цитостатика соотношение мононуклеарных лейкоцитов и фибробластов на 21-е сутки сходно с таковым показателем на 14-е сутки после оперативного вмешательства, в то время как у животных группы сравнения на 21-е сутки численность фибробластов в зоне вмешательства увеличилась в 1,5 раза по сравнению с данным показателем на 14-е сутки.

Интраоперационная аппликация 0,05% раствора Циклоспорина А обусловила замедление reparативной регенерации тканей, препятствуя развитию соединительной ткани и формированию конъюнктивально-склерального рубца в зоне хирургического вмешательства.

### Выводы

Интраоперационная аппликация 0,05% раствора Циклоспорина А является эффективным методом профилактики рубцевания области оперативного вмешательства. Гистологическое исследование показало значительно более низкие показатели плотности клеточной инфильтрации зоны хирургической травмы при аппликации цитостатика в течение 6-ти минут по сравнению с группой сравнения (в 2,7 раза на 3-и сутки, в 1,7 раза на 14-е сутки и в 1,9 раза также на 14-е сутки).

Полученные результаты, являясь перспективными для офтальмохирургии, заслуживают дальнейшего изучения.

### *Сведения об авторе статьи:*

**Жигальская Татьяна Александровна** – аспирант кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.  
Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2. E-mail: 7atyana@gmail.com.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Медведев И.Б. Методы профилактики избыточного рубцевания при антиглаукомных операциях (обзор) / И.Б. Медведев [и др.] // Офтальмология. – 2011. – Т. 8, № 4. – С. 8-12.
2. Захарова, Е.К. Результаты хирургического лечения неоваскулярной глаукомы / Е.К. Захарова, Т.Р. Поскачина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 33-35.

3. Medical versus surgical interventions for open angle glaucoma / Burr J. [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2012. – Vol. 2, № 9.
4. Sharaawy T. Surgical management of glaucoma: evolving paradigms / T. Sharaawy, S. Bhartiya // Indian J. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 59. – P. 123-130.
5. Фабрикантов О.Л. Хирургия рефрактерной глаукомы – показания, осложнения, исходы / О.Л. Фабрикантов, С.И. Николашин, Е.С. Пирогова // Медицина. – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 204-207.
6. Bettin P. Postoperative management of penetrating and nonpenetrating external filtering procedures / P. Bettin, P.T. Khaw // Glaucoma Surgery Dev. Ophthalmol. – 2012. – Vol. 50. – P. 48-63.
7. Шмырева, В.Ф. Причины снижения отдаленной гипотензивной эффективности антиглаукоматозных операций и возможности ее повышения / В.Ф. Шмырева, С.Ю. Петров, А.С. Макарова // Глаукома. – 2010. – № 2. – С. 43-49.
8. Bettin P. Glaucoma: present challenges and future trends / P. Bettin, F. Di Matteo // Ophthalmic Res. – 2013. – Vol. 50, № 4. – P. 197-208.

## REFERENCES

1. Medvedev I. B. et al. Metody profilaktiki izbytochnogo rubtsevaniya pri antiglaukomnykh operatsiyakh (obzor) (Methods of prevention of excessive scarring with antiglaucomah operations (overview)). Ophthalmology in Russia, 2011, vol. 8, № 4, p. 8-12.
2. Zakharova E.K., Poskachina T.R. Results of surgical treatment of neovascular glaucoma. Bashkortostan Medical Journal, 2015, vol. 10, № 2, p. 33-35.
3. Burr J. et al. Medical versus surgical interventions for open angle glaucoma. Cochrane Database Syst. Rev., 2012, Vol. 2, № 9.
4. Sharaawy T., Bhartiya S. Surgical management of glaucoma: evolving paradigms. Indian J. Ophthalmol., 2011, Vol. 59, P. 123-130.
5. Fabrikantov O.L., Nikolashin S.I., Pirogov A.S. Khirurgiya refrakternoi glaukomy – pokazaniya, oslozhneniya, iskhody (Surgery of refractory glaucoma – indications, complications, outcomes). Meditsina, 2016, vol. 21, № 1, p. 204-207.
6. Bettin P., Khaw P.T. Postoperative management of penetrating and nonpenetrating external filtering procedures. Glaucoma Surgery Dev. Ophthalmol, 2012, Vol. 50, P. 48-63.
7. Shmireva V.F., S.Yu. Petrov, Makarova A.S. Causes of long-term decrease of glaucoma surgery hypotensive effect and possibilities of its enhancement. National Journal glaucoma, 2010, № 2, p. 43-49.
8. Bettin P., Di Matteo F. Glaucoma: present challenges and future trends. Ophthalmic Res. 2013, Vol. 50, № 4, P. 197-208.

УДК 547.857.4.: 547.71.+615.2

© Коллектив авторов, 2018

В.А. Небогатова, М.А. Уразбаев, Е.Э. Клен, Ф.А. Халиуллин

## СИНТЕЗ И МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЦАМФ-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 4А В РЯДУ ГИДРАЗИНОПРОИЗВОДНЫХ 2-[3-МЕТИЛ-7-(ТИЕТАНИЛ-3)КСАНТИНИЛ-1]УКСУСНОЙ И 2-[3-МЕТИЛ-7-(ТИЕТАНИЛ-3)КСАНТИНИЛ-8-ТИО]УКСУСНОЙ КИСЛОТ

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»*

*Минздрава России, г. Уфа*

Исследованы реакции этиловых эфиров 2-[8-бром-3-метил-7-(тиетанил-3)ксантинил-1]уксусной (1) и 2-[1-бензил-3-метил-7-(тиетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислот (5) с гидразингидратом и синтезированы гидразинопроизводные 2, 6, реакции которых с ароматическими карбонильными соединениями приводят к образованию арилметилиденгидразинов 3а,б и 7а,б. Строение синтезированных соединений подтверждено спектральными методами. На основании прогноза биологической активности в программе PASS среди синтезированных соединений отобраны перспективные ингибиторы цАМФ фосфодиэстеразы и проведен их молекулярный докинг с активным сайтом связывания цАМФ фосфодиэстеразы 4А. Расчетная константа ингибирования цАМФ фосфодиэстеразы 4А соединения 2 и 7а меньше, чем у пентоксифиллина, в 15 и 253 раза соответственно, что подтверждает перспективность поиска ингибиторов цАМФ фосфодиэстеразы 4А в ряду гидразинопроизводных 2-[3-метил-7-(тиетанил-3)ксантинил-1]уксусной и 2-[3-метил-7-(тиетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислот.

**Ключевые слова:** тиетан, ксантин, арилметилиденгидразины, прогноз биологической активности, ингибиторы цАМФ фосфодиэстеразы 4А, молекулярный докинг.

V.A. Nebogatova, M.A. Urazbaev, E.E. Klen, F.A. Khaliullin

## SYNTHESIS AND MOLECULAR MODELING OF INHIBITORS OF C-AMP PHOSPHODIESTERASE 4A IN SERIES OF HYDRAZINE DERIVATIVES OF 2-[3-METHYL-7-(THIETANYL-3)XANTHINYL-1]ACETIC AND 2-[3-METHYL-7-(THIETANYL-3)XANTHINYL-8-THIO]ACETIC ACIDS

Reactions of ethyl 2-[8-bromo-3-methyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-1]acetate (1) and ethyl 2-[1-benzyl-3-methyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-8-thio]acetate (4) with hydrazine were investigated and hydrazine 2 and hydrazide 6 derivatives were synthesized. Reactions hydrazine 2 and hydrazide 6 with aromatic carbonyl compounds arylmethylenedrazides 3a,b and 7a,b were obtained. The structure of the synthesized compounds was confirmed by spectroscopy. Based on the prediction of biological activity of the synthesized compounds in the PASS program we selected promising inhibitors of c-AMP phosphodiesterase, and their molecular docking with an active cAMP phosphodiesterase 4A binding site was performed. The calculated inhibition constant of cAMP phosphodiesterase 4A by compounds 2 and 7a is lower than that of pentoxifylline by 15 and 253 times, respectively, which confirms the prospectivity of the search for cAMP inhibitors of phosphodiesterase 4A in the series of hydrazine derivatives of 2-[3-methyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-1]acetic and 2-[3-methyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-8-thio]acetic acids.

**Key words:** thietane, xanthine, arylmethylenedrazines, prediction of biological activity, inhibitors of c-AMP phosphodiesterase 4A, molecular docking.