

**АНТИПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ РАНІБІЗУМАБУ, БЕВАЦІЗУМАБУ
ТА ПЕГАПТАНІБУ В КУЛЬТУРІ ФІБРОБЛАСТОПОДІБНИХ КЛІТИН IN VITRO**

А. М. Сергієнко, проф., **Л. М. Литвинчук**, аспірант, **Г. Й. Лавренчук**, д. біол. н.

КМКОЛ «Центр Мікрохірургії Ока», м. Київ, Україна
Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»
м. Київ, Україна

Ефективність інтравітреального введення блокаторів фактора росту ендотелія судин (ФРЕС) при хоріоїдальних неоваскулярних мембранах (ХНМ), которые возникают вследствие осложнённой миопии, проявляется, в частности, в уменьшении размеров мембран. Авторами исследовано антипролиферативное и апоптотическое действие препаратов блокаторов ФРЕС (ранибизумаб, бевацизумаб, пегаптаниб) in vitro на культуре фибробластоподобных клеток линии L₉₂₉ (тест-система и модель целлюлярного матрикса ХНМ in vitro). Инкубацию фармакологических препаратов с культурой клеток проводили по стандартным протоколам. Исследовали изменения показателей жизнедеятельности культуры (выживание, митотическая активность, индекс поликариоцитов) и анализировали уровень апоптоза клеток. Инкубация клеточных культур с препаратами блокаторами ФРЕС вызывала угнетение показателей жизнедеятельности культуры, что проявлялось в снижении выживания, митотического индекса и увеличении количества поликариоцитов. Уровень апоптоза повышался при воздействии всех препаратов на культуру клеток. Анализ кинетики роста показал негативную динамику. У исследованных препаратов выявлено воздействие, зависящее от их дозы.

Полученные результаты выявляют и подтверждают альтеративное влияние препаратов, блокирующих ФРЕС, на фибробластоподобные клетки — угнетение митотической активности и увеличение уровня апоптоза.

Ключевые слова: осложнённая миопия, хоріоїдальна неоваскулярна мембрана, фибробластоподобные клетки, препараты анти-ФРЕС, апоптоз, антипролиферативное воздействие.

Ключові слова: ускладнена міопія, хоріоїдальна неоваскулярна мембрана, фібробластоподібні клітини, препарати анти-ФРЕС, апоптоз, антипроліферативна дія.

Вступ. Розвиток хоріоїдальних неоваскулярних мембран (ХНМ) є одним з найнебезпечніших ускладнень аксіальної міопії високого ступеня (АМВС), яке призводить до різкого зниження центрального зору у молодих та працездатних пацієнтів. ХНМ розвиваються як в пацієнтів з відносно здоровою макулярною ділянкою, так і на фоні хоріоретинальної атрофії, що зустрічається у міопів з великим розміром очної осі. Фовеальне чи юкстафовеальне (зустрічається найчастіше) розташування мембран накладає обмеження на застосування в лікуванні лазерних методів, оскільки тепла енергія руйнує не лише новоутворені судини, але й оточуючу їх здорову тканину сітківки. Фотодинамічна терапія (ФДТ) з Візудином також має певні недоліки, оскільки призводить до рубцювання ХНМ, залишаючи стійкий дефект центрального поля зору [16]. Після ФДТ описана також реканалізація новоутворених судин та рецидиви ХНМ [16]. За останні кілька років на перше місце серед лікувальних методик даної патології вийшли ендовітреальні ін'єкції препаратів, які блокують фактор росту ендотелію судин (анти-ФРЕС), оскільки виявлено, що рівень ФРЕС при ХНМ внаслідок патологічної міопії підвищений [17]. Описана ефективність

інтравітреального застосування ранібізумабу, бевацизумабу та пегаптанібу для лікування ХНМ при АМВС [5, 7, 8, 9, 11, 13]. Дія препаратів спрямована на блокування різних типів ФРЕС, зниження проникності стінки новоутворених судин та зменшення набряку сітківки. За даними ОКТ та ФАГ після застосування анти-ФРЕС препаратів відзначається інволюція, тобто, зменшення ХНМ у розмірах. Які саме механізми призводять до зменшення ХНМ достеменно невідомо. За останні роки у закордонних виданнях опубліковано низку наукових праць, в яких досліджувався вплив препаратів анти-ФРЕС на клітинні культури in vitro [3, 12, 14, 15]. Одними з найчисельніших клітин екстрацелюлярного матриксу ХНМ, які мають високу митотичну активність, є фібробласти та міофібробласти [16]. За останні роки з'явилися дані про антипроліферативну та апоптотичну дію анти-ФРЕС на клітинні культури сітківки [10,12]. При розвитку патологічної міопії спостерігається хронічне витончення та атрофія шарів сітківки та хоріоїдеї [18]. Можливий вплив препаратів блокаторів ФРЕС на атрофічну сітківку при міопії високого ступеня не вивчався.

© А. М. Сергієнко, Л. М. Литвинчук, Г. Й. Лавренчук, 2012

Мета роботи: дослідити антипроліферативну та апоптотичну дію препаратів блокаторів ФРЕС на культуру фібробластоподібних клітин як тест-систему та модель целюлярного матриксу ХНМ *in vitro* і проаналізувати залежність антипроліферативної активності від різних доз препаратів.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ. Дослідження в експерименті *in vitro* проводилися на асинхронній культурі перешлеплюваних фібробластоподібних клітин лінії L₉₂₉. Культура одержана в 1946 році з адипозної та ареолярної клітковини та використовується в основному для імунологічних, радіобіологічних, токсикологічних та цитотоксичних досліджень. Клітини L₉₂₉ були обрані для дослідження через їх фібробластоподібні властивості (здатність до перманентного росту). Максимальна активність мітозу культури спостерігається на третю добу. Відсутність стану ішемії та експресії ФРЕС у культурі дозволяють дослідити альтеративні клітинні ефекти досліджуваних препаратів, не пов'язані з блокуванням ФРЕС. Культивування клітин здійснювали загальноприйнятими методами роботи з культуральними штамами [1, 2] у поживному середовищі такого складу: середовище RPMI-1640 (90 %), ембріональна теляча сироватка (10 %) та гентаміцин із розрахунку 10 мкг/мл.

Ранібізумаб — фрагмент людського моноклонального антитіла до ФРЕС-А (VEGF-A), що виділяється рекомбінантним штамом *Escherichia coli* та селективно зв'язується з ізоформами ендотеліального фактору росту судин (VEGF-A: VEGF₁₁₀, VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅). Ранібізумаб додавали до культури через 24 години після посадки клітин в концентраціях 12.5, 50, 125 та 250 мкг/мл,

Бевацізумаб — моноклональне антитіло до фактору росту ендотелію судин. Препарат використовується «не за призначенням» (off-label) для лікування багатьох захворювань органа зору, при яких визначаються підвищений вміст ФРЕС (VEGF) та наявність неоваскуляризації. Бевацізумаб додавали до культури через 24 години після посадки клітин в концентраціях 0.65, 3.13, 6.5, 12.5 мкг/мл.

Пегаптаніб — пегільований, модифікований олігону-клеотид, який селективно зв'язується і володіє високою спорідненістю з позаклітинним ФРЕС₁₆₅ (VEGF₁₆₅). Препарат додавали до культури через 24 години після посадки клітин в концентраціях 0.075; 0.15; 0.3; 0.75; 1.5 мкг/мл.

Клітинні відповіді оцінювали у різні терміни культивування клітин (з 1 по 5 добу) за загально прийнятими показниками життєздатності: проліферативна і мітотична активність та кількість гігантських багатоядерних клітин. Проліферативну активність клітин визначали за кінетикою росту. Для цього клітини у кількості 5·10⁴ в 1 мл поживного середовища вносили у флакони для культивування, на дні яких знаходились покривні скельця розмірами 16×8 мм, на поверхні яких клітини впродовж п'яти днів утворювали моношар. Щоденно готували препарати: фіксували 96° етанолом та фарбували гематоксилином та еозином. Під оптичним мікроскопом «Axioscop» (West Germany) при збільшенні у 1000 разів в межах сітки площію 0,05 мм² підраховували загальну кількість клітин, кількість мітозів і кількість гігантських полікаріоцитів (2 і більше ядер) клітин. Мітотичний індекс та індекс полікаріоцитів розраховували на 1000 клітин (%).

Одночасно з виживанням клітин на четверту добу культивування в інтактних та досліджуваних культурах клітин визначали кількість апоптотичних клітин на протоковому цитофлюориметрі FACStar Plus фірми «Becton Dickinson» (США).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента та за допомогою пакетів прикладних програм Microsoft Excel та Biostat.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. В інтактному контролі типові фібробластоподібні клітини лінії L₉₂₉ утворюють щільний моношар. Форма основної маси клітин веретеноподібна та полігональна, з двома чи кількома відростками. Клітинам характерна наявність відносно великих ядер, світлих вакуолей та дрібних гранул. В культурі зустрічаються поодинокі дво- та триядерні клітини. У полі зору визначаються 2–5 клітин на різних стадіях поділу (рис. 1). Вони мають більш округлу форму з малою кількістю цитоплазми та гіперхромним ядром (за рахунок конденсації хроматину при мітозі). Для інтактних клітин характерне збільшення проліферативної активності в період з першої по п'яту добу культивування (фаза логарифмічного росту) з поступовим виходом на плато на п'яту, шосту добу (фаза стаціонарного росту). У ці терміни щільність моношару клітин досить висока (рис. 2, А). На третю добу культивування спостерігається максимум мітотичної активності (166 %). Після четвертої доби відбувається зменшення мітотичного індексу за рахунок контактної пригніченості мітозу та конфлуентного стану культури клітин. Індекс гігантських полікаріоцитів в інтактному контролі становив 8–12 %.

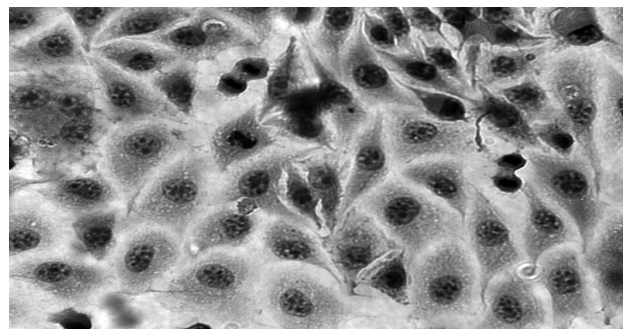


Рис. 1. Культура фібробластоподібних клітин лінії L₉₂₉ на п'яту добу культивування в контролі. Забарвлення гематоксилином-еозином, збільшення × 1000.

При інкубації клітин з ранібізумабом в концентрації 12,5 мкг/мл відзначалося зниження щільності моношару культури (рис. 3, А та 4, А). В полі зору почали з'являтися клітини з ознаками апоптозу: зморщена цитоплазма із змінним ядром (рис. 3, А — стрілка). Форма клітин, в основному, залишалася веретеноподібною. Зміна кінетики показників життєдіяльності проявлялася у зниженні виживання клітин майже в три рази (рис. 4, А) та у значному збільшенні кількості полікаріоцитів (28 %), які для даної культури клітин лінії L₉₂₉ є ознакою репродуктивної загибелі (рис. 4, С).

Збільшення дози ранібізумабу до 125 мкг/мл призвело до наростання гетерогенності клітин в

Експериментальні дослідження

культури: переважали клітини округлої та полігональної форми. Зустрічались клітини з ознаками апоптозу: прогресування зморщення цитоплазми цих клітин (рис.3, А — стрілка). Спостерігалось пригнічення проліферативної активності клітин в культурі (рис. 4, А) у порівнянні з контролем. Помітно збільшилася кількість полікаріоцитів (62 %).

Мітотичний індекс у культурі істотно не змінився в порівнянні з контролем (рис. 4, В). Інкубація клітин з ранібізумабом в дозі 250 мкг/мл призвела до вираженої деградації культури клітин. Цитоплазма клітин стала сильно вакуолізована, збільшилася кількість клітин з ознаками апоптозу (рис.3, А — стрілка).

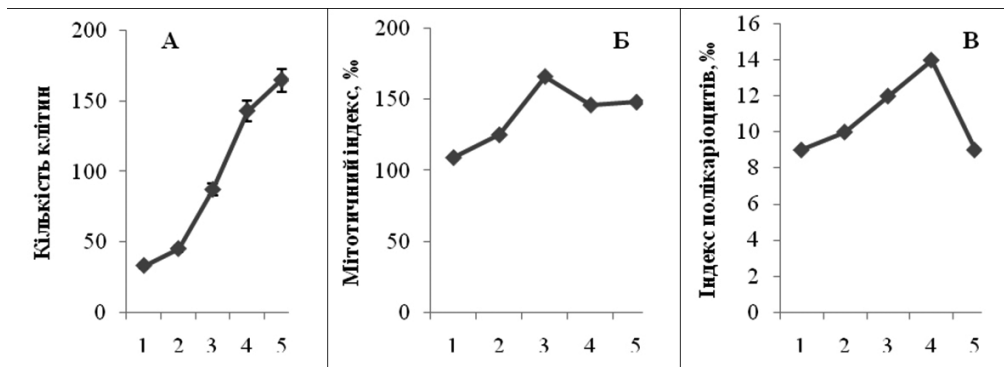


Рис. 2. Кінетика життєздатності клітин в моношарових культурах (кількість клітин на площі препарату 0,05 мм² (А), мітотична активність (Б) та індекс гігантських багатоядерних клітин (В)) інтактної культури клітин лінії L₉₂₉. На осях абсцис — термін культивування клітин, доба.

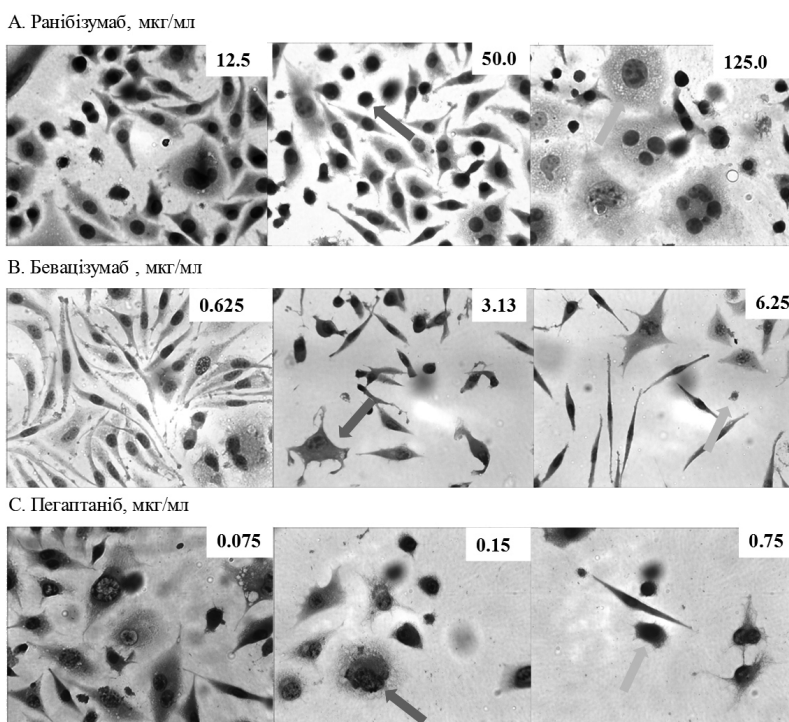


Рис. 3. Клітинні ефекти ранібізумабу (А), бевацізумабу (В) та пегаптанібу (С) при інкубації їх у різних концентраціях з культурою фібробластоподібних клітин лінії L₉₂₉. Забарвлення гематоксилином-еозином, збільшення × 1000.

Вже на 1–2 добу відзначалось істотне зниження щільності клітинної популяції, мітотичної активності та значне зростання (у 8–10 разів у порівнянні з контролем) кількості полікаріоцитів (рис. 4, С). При додаванні мінімальних доз ранібізумабу в культурі клітин лінії L₉₂₉ в порівнянні з контролем у два

рази збільшувався апоптоз клітин (рис. 4, D). При збільшенні дози препарату рівень апоптозу знижувався, проте одночасно знижувалось і виживання клітин, що свідчить про наявність інших шляхів впливу на проліферуючі клітини, зокрема, ініціації репродуктивної та інтерфазної загибелі клітин.

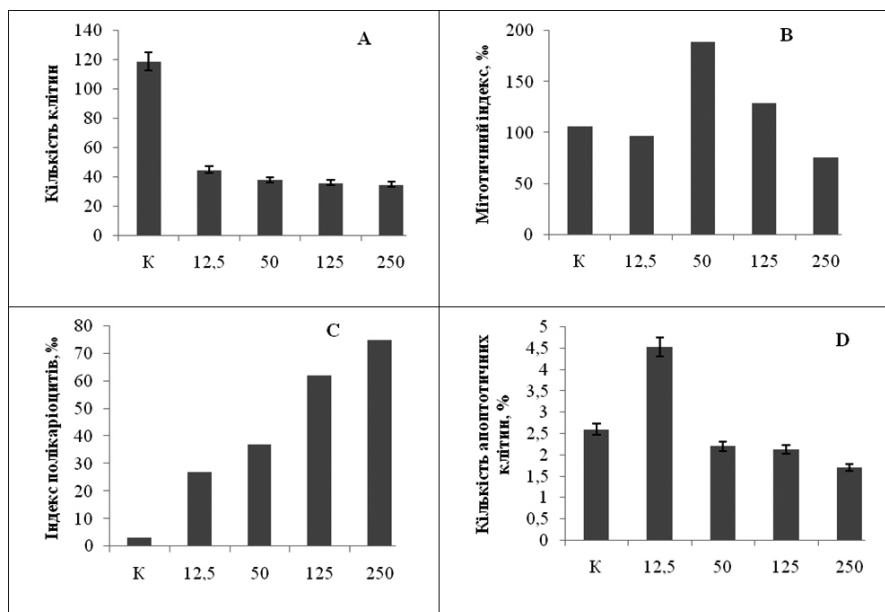


Рис. 4. Залежність життєздатності клітин в моношарових культурах (кількість клітин на площі препарату 0,05 мм² (А), мітотична активність (В), індекс гігантських багатоядерних клітин (С) та апоптоз (D) в культурі клітин лінії L₉₂₉ від концентрації ранібізумабу на 4-ту добу культивування. На осях абсцис — концентрація препарату, мкг/мл.

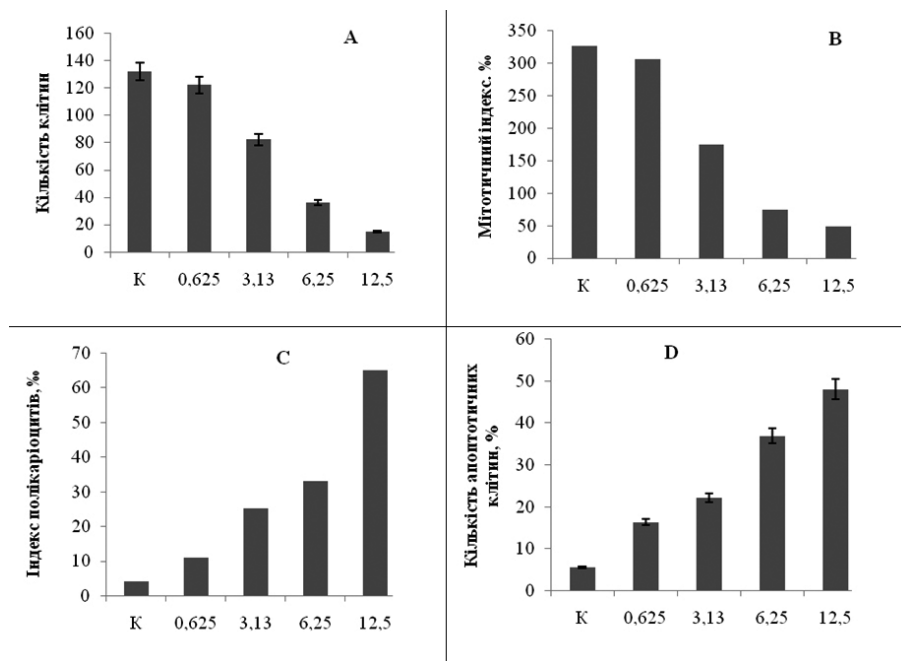


Рис. 5. Залежність життєздатності клітин в моношарових культурах (кількість клітин на площі препарату 0,05 мм² (А), мітотична активність (В), індекс гігантських багатоядерних клітин (С) та апоптоз (D) в культурі клітин лінії L₉₂₉ від концентрації бевацізумабу на 4-ту добу культивування. На осях абсцис — концентрація препарату, мкг/мл.

При інкубації клітин з бевацізумабом в концентрації 0.625 мкг/мл морфофункціональні характеристики клітинної популяції майже не відрізнялися від контролю (рис. 3, В). Збільшення дози бевацізумабу до 3.13 мкг/мл призвело до наростання гетерогенності клітин в культурі: переважали клітини округлої та полігональної форми (рис. 3, В — стрілка). Спостерігалася невелика кількість мітотичних

клітин у порівнянні з контролем, цитоплазма яких була вакуолізована. Помітно збільшувалася кількість полікаріоцитів. Мітотичний індекс та виживання клітин у культурі знизилися на 45 % (рис. 5, А, В). Інкубація клітин з бевацізумабом в дозі 6.25 мкг/мл призвела до вираженої деградації культури клітин. Цитоплазма клітин стала сильно вакуолізована, з'явилася значна кількість клітин з озна-

ками апоптозу (рис. 3, В — стрілка). Починаючи з першої-другої доби відзначалося істотне зниження щільності клітинної популяції, мітотичної активності та значне зростання (у 8–10 разів у порівнянні з контролем) кількості полікаріоцитів (рис. 5, С). Дія бевацізумабу в найменшій концентрації 0,625

мкг/мл, яка не викликає статистично достовірних змін виживання клітин та кінетики їх росту, у три рази підвищує апоптоз у культурі, а інкубація клітин з бевацізумабом в концентрації — 12,50 мкг/мл підвищує кількість апоптотичних клітин у 9 разів (рис. 5, D).

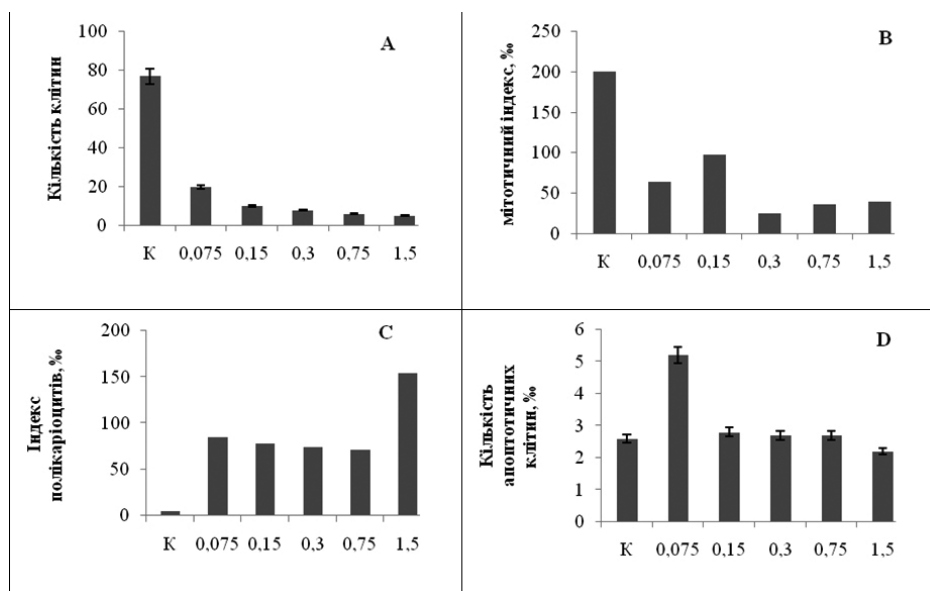


Рис. 6. Залежність життєздатності клітин в моношарових культурах (кількість клітин на площі препарату 0,05 мм² (А), мітотична активність (В), індекс гігантських багатоядерних клітин (С) та апоптоз (D)) в культурі клітин лінії L₉₂₉ від концентрації пегаптанібу на 4-ту добу культивування. На осях абсцис — концентрація препарату, мкг/мл.

Інкубація клітин з пегаптанібом виявила виражену антипроліферативну дію препарату, починаючи з найменших доз (0.075 мкг/мл) (рис.3, С). Це проявлялося в істотному зниженні виживання та мітотичної активності клітин у порівнянні з контролем (рис. 6, А, В). При збільшенні дози препарату до 0.15–0.75 мкг/мл спостерігалось наростання антипроліферативного ефекту: виражене зниження щільності моношару, вакуолізація цитоплазми (рис. 3, С). Значно зменшилась кількість мітозів та майже у 90 разів збільшилась кількість полікаріоцитів (рис. 6, В, С). Кількість клітин з ознаками апоптозу збільшилася майже у два рази при інкубації клітин з найменшою дозою препарату, проте при збільшенні його концентрації апоптоз у культурі клітин зменшувався і залишався на рівні контролю на фоні низького виживання клітин (рис. 6, D).

Отримані дані можуть пояснювати особливості механізму дії препаратів анти-ФРЕС, які після інтравітреального введення при аксіальній міопії високого ступеня АМВС, ймовірно, призводять до зменшення хоріоїдальних неоваскулярних мембран у розмірах за рахунок пригнічення росту та зменшення кількості фібробластів та міофібробластів. Виявлені властивості препаратів потребують подальшого дослідження їх антипроліферативної та апоптотичної дії *in vitro*.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальні дослідження впливу ранібізумабу, бевацізумабу та пегаптанібу на культуру перещеплюваних фібробластоподібних клітин лінії L₉₂₉ виявили особливості їх дії на показники життєздатності (виживання, проліферативну та мітотичну активність, апоптоз) клітин як тест-системи та моделі целолярного матриксу ХНМ *in vitro*.

2. Інкубація клітин з ранібізумабом, бевацізумабом та пегаптанібом показала, що незначні дози досліджуваних препаратів (ранібізумаб — 12.5 мкг/мл, бевацізумаб — 3,13 мкг/мл та пегаптаніб — 0.15 мкг/мл) проявляють виражену антипроліферативну дію на культуру клітин: пригнічують їх проліферативну активність та збільшують гетерогенність культури клітин за рахунок появи гігантських полікаріоцитів, які є ознакою репродуктивної загибелі.

3. За даними дослідження, ранібізумаб та пегаптаніб у найменших концентраціях, та бевацізумаб у всіх концентраціях, викликають апоптоз фібробластоподібних клітин культури L₉₂₉.

4. При культивуванні бевацізумабу з культурою клітин відзначалася залежна від дози активність препарату, яка проявлялася у наростанні антипроліферативної дії із збільшенням дози препарату.

5. Отримані результати свідчать про альтеративну властивість препаратів блокаторів ФРЕС, а саме, сповільнювати та пригнічувати проліферативну активність фібробластоподібних клітин шляхом активації апоптозу та ініціації репродуктивної загибелі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Животная клетка в культуре (Методы и применение в биотехнологии) / под общ. ред. проф. Дьяконова Л. П. — М.: Изд-во «Спутник+», 2009. — 656с.
2. L-929 (NCTC-clone 929, Clone of strain L) (Connective tissue, mouse) // <http://www.viromed.com/services/product/1929.htm>.
3. Bngela Carneiro Comparative effects of bevacizumab, ranibizumab and pegaptanib at intravitreal dose range on endothelial cells / Bngela Carneiro, Manuel Falcrob, Ana Pirraoa, Paula Milheiro-Oliveirac, Fernando Falcro-Reisb, and Raquel Soaresa // Elsevier Ltd, 2008. — С. 246–279.
4. **Biswas P.** Comparative role of intravitreal ranibizumab versus bevacizumab in choroidal neovascular membrane in age-related macular degeneration / Biswas P., Sengupta S., Choudhary R., Home S., Paul A., Sinha S. // *Indian J Ophthalmol.* — 2011. — V.59 (3). — P.191–6.
5. **Bennett M. D.** Pegaptanib for myopic choroidal neovascularization in a young patient / Bennett M. D., Yee W. // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* — 2007. — Jun; 245 (6). — P.903–5.
6. Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab on different ocular cells. M. S. Spitzer, B. Wallenfels-Thilo, A. Sierra, E. Yoeuek, S. Peters, S. Henke-Fahle, K. U. Bartz-Schmidt, P. Szurman on behalf of the Tuebingen Bevacizumab Study Group // *Br J Ophthalmol.* — 2006. — V.90. — P.1316–1321.
7. **Gharbiya M.** Choroidal neovascularization in pathologic myopia: intravitreal ranibizumab versus bevacizumab—a randomized controlled trial / Gharbiya M., Giustolisi R., Allievi F., Fantozzi N., Mazzeo L., Scavella, Gabrieli C. B. // *Am J Ophthalmol.* — 2010. — Mar; 149 (3). — P.458–64.
8. **Lai T. Y.** Intravitreal ranibizumab for the primary treatment of choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia / Lai T. Y., Chan W. M., Liu D. T., Lam D. S. // *Retina.* — June 2009. — V.29 (6). — C-750–6.
9. Daniel Lorenzo Intravitreal Ranibizumab for Choroidal Neovascularization Secondary to Pathological Myopia: 12-Month Follow-Up / Daniel Lorenzo Luis Arias, Rafel Alcubierre, Octavio Pujol, J. M. Caminal, Marcos Rubio, Jaume Catala, Pere Garcia-Bru, Jorge Arruga // *Ophthalmologica.* — 2011. — V.226. — P.103–109.
10. **Martin S.** Spitzer Comparative antiproliferative and cytotoxic profile of bevacizumab (Avastin), pegaptanib (Macugen) and ranibizumab (Lucentis) on different ocular cells / Martin S. Spitzer, Efdal Yoeuek, Ana Sierra, Barbara Wallenfels-Thilo, Ulrich Schraermeyer, Bernhard Spitzer, Karl U. Bartz-Schmidt, Peter Szurman // *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* — 2007. — V.245. — P.1837–1842.
11. **Neruban Kumaran.** Long-term remission of myopic choroidal neovascular membrane after treatment with ranibizumab: a case report / Neruban Kumaran, Dawn A. Sim and Adnan Tufail // *Journal of Medical Case Reports.* — 2009. — C.1186/1752–1947–3–84.
12. **Spitzer S.** Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab on different ocular cells / M. S. Spitzer, B. Wallenfels-Thilo, A. Sierra, E. Yoeuek, S. Peters, S. Henke-Fahle, K. U. Bartz-Schmidt, P. Szurman, on behalf of the Tuebingen Bevacizumab Study Group // *Br J Ophthalmol.* — 2006. — V.90. — P.1316–1321.
13. **Salvatore Grisanti, M. D. Bevacizumab:** Off-label use in Ophthalmology / Salvatore Grisanti, M.D., Focke Ziemssen, M.D. // *Indian Journal of Ophthalmology.* — 2007. — C-55; 217–20.
14. **Freshney I.**, Animal cell culture, A practical approach, IRL Press Oxford-Washington DC // http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_40825.htm#sostav-i-forma-vypuska.
15. **Kaempf Stefanie,** Effects of Bevacizumab (Avastin) on Retinal Cells in Organotypic Culture / Kaempf Stefanie, Johnen Sandra, Salz Anna Katharina, Weinberger Andreas, Walter Peter, Thumann Gabriele // *Invest ophthalmol & Visual Sci.* — 2008. — vol. 49, no7. — P.3164–3171.
16. **Scupola A.**, Histological findings of a surgically excised myopic choroidal neovascular membrane after photodynamic therapy, A case report / **Scupola A. L.** Ventura, A. C. Tiberti, D. D'Andrea and E. Balestrazzi // *Graefe's archive for clinical and exp ophthalmol.* — 2004. — V.242, N7. — P.605–610.
17. **Tong J. P.**, Aqueous humor levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor in polypoidal choroidal vasculopathy and choroidal neovascularization / Tong J. P., Chan W. M., Liu D. T., Lai T. Y. Choy K. W., Pang C. P., Lam D. S. // *Am J Ophthalmol.* — 2006. — Mar; 141 (3). — P.456–62.
18. **Hooshang Faghihi.** Optical Coherence Tomographic Findings in Highly Myopic Eyes / Hooshang Faghihi, Fedra Hajizadeh, Mohammad Riazi-Esfahani // *J Ophthalmic Vis Res.* — 2010. — 5 (2). — P.110–121.

Поступила 09.04.2012

Рецензент д. м. н., проф. Э. В. Мальцев

ANTIPROLIFERATIVE ACTION OF RANIBIZUMAB, BEVACIZUMAB AND PEGAPTANIB
ON FIBROBLAST-LIKE CELL STRAIN IN VITRO

A. Sergiienko, L. Lytvynchuk, G. Lavrenchuk

Kyiv, Ukraine

The efficacy of intravitreal injections of anti-VEGF in the case of choroidal neovascularization (CNV) due to pathologic myopia becomes apparent in particular with decreasing of membrane's dimensions. The authors have investigated antiproliferative and apoptotic action of anti-VEGF agents (ranibizumab, bevacizumab, pegaptanib) on fibroblast-like cell strain L₉₂₉ in vitro (testing model of CNV cellular matrix in vitro). Cultivation of investigated drugs with cellular culture was held according to standard protocol. During investigation cellular vital indices were evaluated (survival, mitotic activity, polycariocyte index). Analysis of cellular apoptosis level was evaluated as well. Cultivation of cellular culture L₉₂₉ with anti-VEGF agents has provoked depression of cellular vital indices that was manifested with decrease of survival, mitotic index and increase of polycariocytes, which are signs of cellular reproductive death. Apoptosis has increased as a result of action of all drugs. Antiproliferative and apoptotic effects were dependent on drug's doses. Obtained results reveal and approve an alternative actions of anti-VEGF drugs on fibroblast-like cells: depression of mitotic activity and apoptosis increase.



УДК 617.7-002.3-085

**ДИНАМІКА КЛІНІЧНОЇ КАРТИНИ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ
ПРИ ЗАСТОСУВАННІ АНТИМІКРОБНОЇ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ З МЕТИЛЕНОВИМ
СИНІМ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ СТАФІЛОКОКОВОМУ ЕНДОФТАЛЬМІТІ**

О. В. Зборовська, канд. мед. наук, **Н. Б. Курильців**, аспірант

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

С целью изучения действия антимикробной фотодинамической терапии с метиленовым синим проведено экспериментальное исследование на 60 кроликах. На всех глазах был смоделирован стафилококковый эндофтальмит путем введения интравитреально 0,1 мл (150000 МТ) культуры музейного штамма Staphylococcus aureus ATCC 25923F-49. Все экспериментальные животные составляли 2 группы: контрольную (30 кроликов), в которой не проводилось лечение, и основную (30 кроликов), в которой использовали антимикробную фотодинамическую терапию с 0,1 % метиленовым синим. Мы провели сравнительную характеристику динамики клинической картины и микробиологических показателей в двух группах. В результате установлено, что при использовании предлагаемой методики на 90 % глазах удается достичь полной регрессии воспалительного процесса уже на 14 день эксперимента. Во всех случаях санация влаги передней камеры происходит на 10 день, а стекловидного тела на 14 день после инфицирования.

Ключові слова: енд офтальміт, Staphylococcus aureus, антимікробна фотодинамічна терапія, метиленовий синій

Ключевые слова: енд офтальміт, Staphylococcus aureus, антимікробна фотодинамічна терапія, метиленовий синій

Введення. Одним з невідкладних станів в офтальмології є, безперечно, гнійне запалення внутрішніх оболонок очного яблука з формуванням абсцесу в склистому тілі, що розвивається внаслідок внутрішньоочної інфекції, а саме – енд офтальміт.

Гострий та відстрочений післяопераційний енд офтальміт у структурі цього захворювання до-

мінують і складають приблизно 70 %, посттравматичний – близько 25 %, ендogenous – 5–8 %. Найбільш часто енд офтальміт розвивається після екстракції катаракти (близько 70–90 % випадків) [9]. Іноді енд офтальміт може розвиватись після pars plana вітректомії, вторинної імплантації кри-

© О. В. Зборовська, Н. Б. Курильців, 2012