



## ОРИГИНАЛЬНАЯ МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ДВУХКОМПОНЕНТНОГО ФИБРИНОВОГО КЛЕЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ

© А.Н. Куликов, С.В. Чурашов, А.Ю. Кузнецова, И.О. Гаврилюк

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Куликов А.Н., Чурашов С.В., Кузнецова А.Ю., Гаврилюк И.О. Оригинальная методика приготовления двухкомпонентного фибринового клея для применения в офтальмохирургии // Офтальмологические ведомости. – 2019. – Т. 12. – № 3. – С. 41–44. <https://doi.org/10.17816/OV15268>

Поступила: 08.07.2019

Одобрена: 24.08.2019

Принята: 18.09.2019

✧ Исследование посвящено модификации способа получения двухкомпонентного фибринового клея, а также изучению возможности применения клеевой фиксации амниотической мембраны к строме роговицы в сравнении с узловыми швами. Экспериментальное исследование позволило определить оптимальный состав первого (базового) и второго (активирующего) компонентов, модифицировать способ получения фибринового клея, а также опробовать *in vivo* на шести кроликах породы Шиншилла фиксацию амниотической мембраны фибриновым клеем, приготовленным по предлагаемому протоколу. Получаемый фибриновый клей позволяет не только надёжно фиксировать амниотическую мембрану к строме роговицы, сократить время проведения операции, но и создать условия для более раннего начала эпителизации с сохранением прозрачности роговицы по сравнению с шовной фиксацией.

✧ **Ключевые слова:** фибриновый клей; амниотическая мембрана; хирургия роговицы.

## ORIGINAL TWO-COMPONENT FIBRIN GLUE PREPARATION TECHNIQUE FOR USE IN OPHTHALMIC SURGERY

© A.N. Kulikov, S.V. Churashov, A.Yu. Kuznetsova, I.O. Gavrilyuk

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kulikov AN, Churashov SV, Kuznetsova AY, Gavrilyuk IO. Original two-component fibrin glue preparation technique for use in ophthalmic surgery. *Ophthalmology Journal*. 2019;12(3):41-44. <https://doi.org/10.17816/OV15268>

Received: 08.07.2019

Revised: 24.08.2019

Accepted: 18.09.2019

✧ The study is aimed to modifying the method of a two-component fibrin glue production, as well as studying the possibility of applying glue fixation of the amniotic membrane to the stroma of the cornea, in comparison with interrupted sutures. An experimental study allowed us to determine the optimal composition of the first (base) and second (activating) components, to modify the method for fibrin glue production, and also to test *in vivo* in six Chinchilla rabbits the fixation of the amniotic membrane using the proposed protocol. The resulting fibrin glue allows not only to securely fix the amniotic membrane to the stroma of the cornea, to reduce the time of the procedure, but also to create conditions for an earlier onset of epithelization while maintaining the transparency of the cornea compared to suture fixation.

✧ **Keywords:** fibrin glue; amniotic membrane; corneal surgery.

### ВВЕДЕНИЕ

Для реконструкции поверхности роговицы после различных патологических воздействий и для восстановления её прозрачности в офтальмохирургии широко применяют различные носители культивированных клеточно-тканевых комплексов [1–6]. Фиксация их, в частности амниотической мембраны (АМ), может осуществляться следующими способами: непрерывным швом или узловым швом, мягкой контактной линзой длительного ношения и с помощью клеевых композиций [7].

Наиболее часто для фиксации АМ при проведении офтальмологических операций используют швы [1–3, 7]. К достоинствам данного способа следует отнести надёжность и простоту исполнения. В то же время существуют и определённые недостатки, такие как высокий риск механической деэпителизации трансплантата, более частое послеоперационное инфицирование, механическое повреждение биомембраны, выраженный роговичный синдром. Всё это повышает интраоперационную кровоточивость, приводит к воспали-

тельной реакции и, как следствие, к снижению прозрачности роговицы.

При использовании мягкой контактной линзы вышеуказанные недостатки сведены к минимуму [7]. К основному достоинству данного способа следует отнести минимальное время выполнения операции. Основными недостатками при данной фиксации является возможное смещение тканевого трансплантата, затруднительный визуальный послеоперационный контроль, прилипание эпителиальных клеток к задней поверхности мягкой контактной линзы, вследствие чего может возникать механическая деэпителизация трансплантата при её снятии или замене, низкое поступление кислорода к трансплантату также не улучшает послеоперационное выживание трансплантированных клеток.

В зарубежной литературе большое внимание уделено клеевым композициям, потенциал применения которых в России, к сожалению, не раскрыт в связи с отсутствием собственного производства и наличием импортных готовых продуктов или приборов для их производства в лечебных учреждениях [8–12]. Однако их высокая стоимость логично приводит к необходимости разработки собственных отечественных аналогов.

По данным литературы, фибриновый клей (ФК), имитируя последнюю стадию коагуляционного каскада, является безопасным и эффективным средством, которое позволяет фиксировать ткани, обеспечивает гемостатический эффект, а также снижает воспалительную реакцию в послеоперационном периоде, активируя местные процессы репарации и регенерации [8, 9].

В этой связи большой интерес представляет изучение клеевой фиксации клеточно-тканевого трансплантата, которая дополнительно обеспечивает быстрый интраоперационный гемостаз, чем минимизирует послеоперационное воспаление и обеспечивает условия для сохранения прозрачности роговицы. При этом разработка или модификация получения ФК позволит создать отечественный клеевой биомедицинский продукт и быстро внедрить его в клиническую практику.

*Цель исследования* — модифицировать существующую методику изготовления двухкомпонентного ФК, исследовать его адгезивные свойства. Оценить его клиническую эффективность, сравнив с фиксацией узловыми швами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Была произведена серия экспериментов *in vitro* по модификации и отработке методики пригото-

вления ФК и оценке его адгезивных свойств посредством склеивания АМ между собой. *In vivo* на шести кроликах породы Шиншилла (12 глаз) под местной анестезией осуществлена двусторонняя поверхностная кератэктомия с последующей трансплантацией АМ на роговицу двумя способами: на правых глазах — узловыми швами, на левых глазах — ФК. В дальнейшем проводили динамическое наблюдение за животными: выполняли биомикроскопию, фотофиксацию и сравнивали течение послеоперационного периода на 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30 и 45-е сутки. На 30-е сутки была выполнена сравнительная оптическая когерентная томография роговиц лабораторных животных. Работу с животными осуществляли в соответствии с требованиями нормативных и руководящих документов (Хельсинская декларация). На реализацию эксперимента получено разрешение Комитета по вопросам этики при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (протокол № 215 от 05 ноября 2018 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Скорость образования клеевого сгустка при использовании обогащённой тромбоцитами плазмы составила 30 с, с остальными фракциями — 50 с. Клеевые сгустки образовывались только при наличии в составе второго компонента тромбина, при его отсутствии через 60 мин от начала эксперимента никаких изменений в чашках Петри зафиксировано не было.

Нормальным показателем уровня фибриногена крови считается 2–4 г/л. Известно, что под действием тромбина происходит превращение фибриногена в фибрин, который образует основу сгустка крови (тромба). Биологическая активность препарата измеряется в единицах активности (ЕА). Одна единица активности означает объем тромбина, который необходим для свертывания 1 мл плазмы крови при температуре 37 °С человека за 30 с или же 1 мл 0,1 % очищенного фибриногена за 15 с. Исходя из этого, теоретически минимальная концентрация тромбина должна составлять 1 ЕА. Однако экспериментально мы получили, что минимальная рабочая концентрация тромбина из исследуемых в эксперименте концентраций для второго компонента ФК составляет 2 ЕА, так как при такой концентрации при комнатной температуре почти вся плазма образует клеевой сгусток. При этом минимальное время образования клеевого сгустка равняется 30 с. Это может быть связано с особенностями состава обогащенной тромбоцитами плазмы крови или внешними условиями эксперимента (температура ниже 37 °С).

Было произведено склеивание амниотических мембран, зажатых в устройстве для фиксации при помощи полученного по нашей модифицированной методике ФК. Спустя 1 мин после склейки АМ при попытке их отрыва друг от друга визуальна зафиксирована чёткая фиксация мембран между собой и сопротивление к разрыву. После разъединения мембран на одной из них визуализировался край фибриновой плёнки.

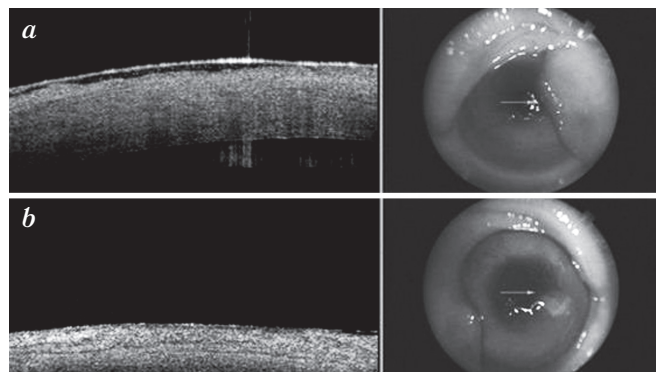
В зависимости от способа фиксации АМ было сформировано две экспериментальные группы: А, контрольная (6 глаз) — фиксация узловыми швами; Б, основная (6 глаз) — фиксация ФК. По результатам исследования отмечено более раннее начало эпителизации роговицы в основной группе на 5-е сутки, в группе контроля — на 7-е сутки, но полная эпителизация роговицы наступила раньше в контрольной группе (на 21-е сутки), в связи с тем что в ней наблюдался выраженный лизис АМ начиная с 7-х суток после операции. В обеих группах неоваскуляризация на 21-й день доходила до оптической зоны роговицы, но в основной группе плотность сосудов была значительно ниже, что обеспечило более высокую прозрачность роговицы.

На 30-е сутки была выполнена выборочная сравнительная оптическая когерентная томография (рис. 1), по данным которой выявлено, что в группе А эпителий в центральных отделах неадгезирован, визуализируются субэпителиальные кисты, АМ присутствует только в парависочной области и постепенно истончается до полного исчезновения в оптической зоне. Толщина эпителия — 68 мкм, толщина АМ в парависочной зоне — 78 мкм, в оптической зоне АМ не визуализируется, субэпителиальные кисты достигают 59 мкм. В группе Б визуализируется интеграция АМ между стромой и эпителием на всем протяжении, эпителий полностью адгезирован, субэпителиальные кисты отсутствуют. Толщина эпителия — до 36 мкм, АМ — до 91 мкм.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Отличительными чертами модифицированной методики приготовления ФК является её простота и скорость выполнения. Для первого (базового) компонента используется минимальный объём крови пациента, не требуется разведения и дополнительного очищения плазмы крови, отсутствует очищение фибрина и обработка осадка по сравнению с запатентованными в России методиками приготовления ФК [1, 9–12].

Предлагаемый способ приготовления ФК позволяет не только надёжно зафиксировать АМ



**Рис. 1.** Оптическая когерентная томография на 30-е сутки после операции

**Fig. 1.** Optical coherence tomography on the 30<sup>th</sup> day after surgery

к строме роговицы, сократить время операции, но и создать условия для более раннего начала эпителизации и сохранения прозрачности АМ по сравнению с шовной фиксацией. Результаты исследования могут быть использованы в хирургической практике врачей-офтальмологов.

## ВЫВОДЫ

1. В качестве первого (базового) компонента ФК обогащённая тромбоцитами плазма более эффективна по сравнению с остальными фракциями. Минимальная рабочая концентрация тромбина из исследуемых вариантов для второго (активирующего) компонента составляет 2 ЕД. Минимальное время образования клеевого сгустка — 30 с.

2. В эксперименте на животных (кролики породы Шиншилла) применение ФК позволяет надёжно зафиксировать АМ к строме роговицы и сократить время операции, а так же создаёт условия для более раннего начала эпителизации АМ по сравнению с шовной фиксацией.

### Дополнительная информация

У авторов нет конфликта интересов и материальной заинтересованности в данном исследовании.

### Вклад авторов

А.Н. Куликов, С.В. Чурашов — концепция и дизайн исследования. А.Ю. Кузнецова, И.О. Гаврилюк — сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста. А.Ю. Кузнецова — экспериментальное исследование. С.В. Чурашов, И.О. Гаврилюк — редактирование текста.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дубовиков А.С., Безушко А.В., Гаврилюк И.О., и др. Исследование возможности применения культивированных на амнио-

- тической мембране лимбальных эпителиальных стволовых клеток для лечения лимбальной недостаточности в эксперименте // Современные технологии в офтальмологии. — 2017. — № 4. — С. 72–75. [Dubovikov AS, Bezushko AV, Gavrilyuk IO, et al. Study of the possibility of using limbal epithelial stem cells cultivated on the amniotic membrane for the treatment of limbal insufficiency in the experiment. *Modern technologies in ophthalmology*. 2017;(4):72-75. (In Russ.)]
2. Дубовиков А.С., Безушко А.В., Куликов А.Н., и др. О применении культивированных на амниотической мембране стволовых клеток роговичного эпителия для устранения лимбальной недостаточности в эксперименте // Практическая медицина. — 2017. — Т. 2. — № 9. — С. 67–71. [Dubovikov AS, Bezushko AV, Kulikov AN, et al. On the application of corneal epithelium stem cells cultivated on the amniotic membrane to eliminate limbal insufficiency in the experiment. *Practical Medicine*. 2017;2(9):67-71. (In Russ.)]
  3. Кузьменко В.В., Ступникова Т.В., Хейфец Ю.Б., и др. Возможности клинического применения стволовых клеток в офтальмологии // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». — 2015. — Т. 4. — № 13. — С. 35–43. [Kuzmenko VV, Stupnikova TV, Heyfets YuB, et al. The use of stem cells in ophthalmology. *Journal of scientific articles. Health and education in the twenty-first century*. 2015;4(13):35-43. (In Russ.)]
  4. Куликов А.Н., Чурашов С.В., Черныш В.Ф., и др. Современные подходы к проблеме выбора носителя для культивирования стволовых клеток роговицы в лечении лимбальной недостаточности // Офтальмологические ведомости. 2018. — Т. 11. — № 2. — С. 48–56. [Kulikov AN, Churashov SV, Chernysh VF, et al. Modern approaches to the problem of choosing a carrier for the cultivation of corneal stem cells in the treatment of limbal insufficiency. *Ophthalmological statements*. 2018;11(2):48-56. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/OV11248-56>.
  5. Дубовиков А.С., Гаврилюк И.О., Куликов А.Н., и др. Лимбальная недостаточность: этиология, патогенез, принципы и перспективы хирургического лечения // Российский офтальмологический журнал. — 2019. — Т. 12. — № 1. — С. 103–111. [Dubovikov AS, Gavrilyuk IO, Kulikov AN, et al. Limbal stem cell deficiency: etiology, pathogenesis, principles and prospects of surgical treatment. *Russian Ophthalmological Journal*. 2019;12(1):103-111. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-1-103-111>.
  6. Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз — состояние проблемы и новые подходы. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 184 с. [Chernysh VF, Boyko EV. Burns of the eye — status challenges and new approaches. Moscow: GEOTAR-Media. 2017. P. 184. (In Russ.)]
  7. Подолужный В.И., Зайков И.Н., Аринчев Р.С., и др. История клинико-экспериментального применения биологических и синтетических медицинских клеев // Медицина в Кузбассе. 2008. — № 3. — С. 12–14. [Podoluzhny VI, Zaykov IN, Arinchev RS, et al. The history of clinical and experimental use of biological and synthetic medical adhesives. *Medicine in Kuzbass*. 2008;(3):12-14. (In Russ.)]
  8. Белозерская Г.Г., Макаров В.А., Жидков Е.А., и др. Гемостатические средства местного действия // Химико-фармацевтический журнал. — 2006. — № 7. — С. 9–15. [Belozerskaya GG, Makarov VA, Zhidkov EA, et al. Hemostatic means of local action. *Chemical and pharmaceutical journal*. 2006;(7):9-15. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2006-40-7-9-15>.
  9. Щудло Н.А., Щудло М.М., Сбродова Л.И. Применение тканевых адгезивов и герметиков в микрососудистой хирургии (обзор литературы) // Научное обозрение. Реферативный журнал. — 2016. — № 4. — С. 25–30. [Schudlo NA, Schudlo MM, Sbrodova LI. The use of tissue adhesives and sealants in microvascular surgery (literature review). *Scientific Review. Abstract journal*. 2016;4:25-30. (In Russ.)]
  10. Kheirkhah A, Casas V, Blanco G, et al. Amniotic membrane transplantation with fibrin glue for conjunctivochalasis. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:311-313. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.03.044>.
  11. Panda A, Sandeep K, Abhiyan K, et al. Fibrin glue in ophthalmology. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2009;57(5):371-79. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.55079>.
  12. Pfister RR, Sommers C. Fibrin sealant in corneal stem cell transplantation. *Cornea*. 2005;24(5):593-598. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.08.059>.

Сведения об авторах

**Алексей Николаевич Куликов** — д-р мед. наук, доцент, начальник кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург. SPIN: 6440-7706. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Сергей Викторович Чурашов** — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург. E-mail: churashoff@mail.ru.

**Анна Юрьевна Кузнецова** — врач-офтальмолог. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург. SPIN: 1708-1765. E-mail: anutka.kuznetsova@gmail.com.

**Илья Олегович Гаврилюк** — врач-офтальмолог. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург. E-mail: iluaayaks@gmail.com.

Information about the authors

**Alexey N. Kulikov** — MD, PhD, DMedSc, Professor, Head of the Department. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia. SPIN: 6440-7706. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Sergey V. Churashov** — MD, PhD, DMedSc, Assistant Professor. Ophthalmology Department. S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia. E-mail: churashoff@mail.ru.

**Anna Yu. Kuznetsova** — Ophthalmologist. S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia. SPIN: 1708-1765. E-mail: anutka.kuznetsova@gmail.com.

**Iliia O. Gavrilyuk** — Ophthalmologist. S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia. E-mail: iluaayaks@gmail.com.