

ИЗУЧЕНИЕ НАСЫЩЕНИЯ ТКАНЕЙ ДАКРИОСТОМЫ МИТОМИЦИНОМ-С

© Е.Л. Атькова¹, А.О. Рюот¹, Н.Н. Краховецкий¹, В.Д. Ярцев¹, С.Д. Ярцев²

¹ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва;

²ФГБНУ «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина» Российской академии наук, Москва

Для цитирования: Офтальмологические ведомости. — 2017. — Т. 10. — № 1. — С. 17–22

Дата поступления: 31.01.2017

Статья принята к печати: 27.02.2017

✦ **Введение.** Для профилактики избыточного рубцевания области дакриостомы после дакриоцисториностомии используют алкилирующий антибиотик Митомин-С. В исследованиях *in vitro* было доказано его подавляющее действие на образование фибробластов в концентрации 0,2 мг/мл. Однако клинические данные об его эффективности до настоящего времени остаются противоречивыми. **Цель исследования:** определить концентрацию Митомин-С в слизистой оболочке полости носа и слёзного мешка при аппликационном введении и оценить его клиническую эффективность. **Материал и методы.** 30 пациентам с облитерацией слезоотводящих путей на уровне шейки слёзного мешка была выполнена эндоназальная эндоскопическая дакриоцисториностомия. На заключительном этапе в область сформированной дакриостомы помещали турунду с Митомин-С в концентрации 0,2 мг/мл на 3 минуты. Биопсии слизистой оболочки полости носа и слёзного мешка осуществляли сразу после применения препарата, через 30 минут, на 1-е сутки после операции. Анализ полученных образцов осуществляли при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии. Оценку эффективности хирургического вмешательства проводили по предложенным ранее критериям. **Результаты.** По данным анализа концентрация Митомин-С сразу после введения составила 626 ± 176 нг на 1 г ткани, через 30 минут — 230 ± 61 нг на 1 г ткани, через сутки после операции препарат обнаружен не был. В результате операции положительные результаты составили 86,7 % случаев, «рецидивы» — 13,3 % случаев. **Выводы.** Клинические результаты проведённого хирургического лечения совпадают с результатами, полученными другими исследователями. Однако химическое исследование показало, что концентрация препарата в тканях значительно ниже, чем заявленная концентрация в исследованиях *in vitro*.

✦ **Ключевые слова:** слезоотводящие пути; эндоназальная эндоскопическая дакриоцисториностомия; Митомин-С; дакриоцистит.

RESEARCH OF MITOMYCIN-C SATURATION IN DACRYOCYSTORHINOSTOMY OSTEOTOMY SITE TISSUE

© E.L. At'kova¹, A.O. Root¹, N.N. Krahoveckiy¹, V.D. Yartsev¹, S.D. Yartsev²

¹The Scientific Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia;

²A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, RAS, Moscow, Russia

For citation: Ophthalmology Journal, 2017;10(1):17-22

Received: 31.01.2017

Accepted: 27.02.2017

✦ **Introduction.** Mitomycin-C is an alkylating antibiotic used to prevent excessive scar formation in the dacryostoma area after dacryocystorhinostomy. *In vitro* studies proved its inhibition effect on fibroblast growth in 0.2 mg/ml concentration. Up to date, clinical data on its efficacy remain contradictory. **Aim.** To evaluate the concentration of Mitomycin-C in nasal cavity and lacrimal sac mucosa after topical application and to determine the clinical efficacy of this procedure. **Materials and methods.** 30 patients with nasolacrimal duct obliteration underwent an endonasal endoscopic dacryocystorhinostomy. At the end of the surgery, at the osteotomy site, a sponge soaked in Mitomycin-C 0,2 mg/ml was applied for 3 minutes. Nasal mucosa biopsy was performed immediately after application, in 30 minutes, and at the 1st day after surgery. Biopsy material analysis of was performed by liquid

chromatography – mass spectrometry. The surgical treatment efficacy was established according to proposed efficacy criteria. **Results.** The analysis of Mitomycin-C concentrations established them to be: 626 ± 176 ng/g tissue immediately after application, 230 ± 61 ng/g tissue in 30 minutes after application. In 24 hours after surgery, there was no Mitomycin-C in the tissue. Surgical efficacy was 86.7%, recurrences were found in 13.3% of cases. **Conclusion.** Surgery clinical results coincide with those obtained by other researchers. But chemical investigation showed that Mitomycin-C tissue concentration was lower than that in previous *in vitro* studies.

✧ **Keywords:** nasolacrimal duct; endoscopic endonasal dacryocystorhinostomy; Mitomycin-C; dacryocystitis.

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Митомин-С — алкилирующий антибиотик, синтезируемый актиномицетами *Streptomyces caespitosus*, обладающий ингибирующим действием на синтез ДНК, клеточной РНК и белка. Он, в частности, подавляет синтез коллагена фибробластами, что приводит к ослаблению фибротизации в зоне хирургического вмешательства [1, 2]. В дакриологии Митомин-С используют для профилактики избыточного рубцевания области сформированной дакриостомы. Впервые его применили Uygba et al. в 1997 г. Авторы вводили Митомин-С во время операции в область дакриостомы аппликационно в концентрации 0,5 мг/мл на 2,5 мин и оценивали его эффективность по данным морфологического исследования. Было доказано, что местное применение Митомин-С вызывает межклеточный отёк, изменения в митохондриях и ядре клетки. Был сделан вывод, что применение Митомин-С теоретически может повысить результативность дакриоцисториностомии [3]. В дальнейшем многие исследователи применяли Митомин-С также интраоперационно, варьируя концентрацию препарата от 0,2 до 0,5 мг/мл [4, 5] и время экспозиции от 2 до 10 мин [6, 7]. Эффективность операций с применением препарата, по данным различных авторов, составляет от 78,5 до 100 % случаев [8].

В России Митомин-С впервые применил В.Г. Белоглазов и др. На заключительном этапе эндоназальной дакриоцисториностомии по Весту в модификации Белоглазова авторы вводили турунду с Митомин-С в концентрации 0,5 мг/мл в область дакриостомы на 5 мин. Срок наблюдения составил 6 месяцев. Положительные результаты в основной группе составили 93,2 % случаев, в контрольной — 72,5 % случаев, таким образом эффективность применения Митомин-С была подтверждена клинически [9].

Ряд исследователей доказали эффективность применения Митомин-С при повторных

операциях [10], другие, наряду с применением Митомин-С, проводили интубацию дакриостомы силиконовым имплантатом [7, 11]. Учитывая разнообразие полученных результатов, а также нестандартизированность клинических исследований, сделать однозначные выводы о роли Митомин-С в предотвращении избыточного рубцевания и, как следствие, рецидива облитерации слезоотводящих путей не представляется возможным.

В 2013 г. M.J. Ali et al. провели исследование на культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа, изучая цитопатическое действие Митомин-С в различных разведениях. Было показано, что применение препарата с антифибротической целью наиболее оправдано в концентрации 0,2–0,3 мг/мл [12]. Одновременно с этим авторы при помощи электронной микроскопии изучили биопсийный материал слизистой оболочки полости носа после эндоназальной дакриоцисториностомии с применением Митомин-С аппликационно в концентрации 0,2 мг/мл и экспозицией 3 минуты. Было доказано, что аппликационное применение Митомин-С вызывает ультраструктурные изменения, затрагивающие эпителий, сосуды и фибробласты [13].

Таким образом, к настоящему времени накоплено достаточно сведений о возможности использования Митомин-С в качестве антифибротического агента, подтвержденных исследованиями *in vitro*.

Неоднозначность полученных результатов его применения в клинике гипотетически может быть связана с недостаточной концентрацией препарата в тканях области дакриостомы, однако работ по изучению данного вопроса проведено не было. Современные методы химического анализа дают возможность определить крайне низкие концентрации исследуемого препарата в биологическом объекте. Изучение фармакокинетики предполагает анализ изменения концентрации препарата с течением времени, что требует наличия образцов тканей, полученных через определённые проме-

жутки времени. Методика анализа подразумевает изучение изолированного стандартного по массе навеска ткани, насыщенного исследуемым препаратом. Высокоэффективная жидкостная хроматография — масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС) имеют адекватную чувствительность и позволяет проводить исследование в образцах тканей минимальной массы, что даёт возможность выполнить клиническое исследование максимально безопасно.

Цель работы: определить концентрацию Митомицина-С в тканях области дакриостомы при аппликационном способе его применения при эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В ходе моноцентрового рандомизированного открытого проспективного исследования было обследовано 30 пациентов (30 случаев) с облитерацией слезоотводящих путей на уровне шейки слёзного мешка, из них 26 женщин (26 случаев) и 4 мужчин (4 случая) в возрасте 63 ± 15 лет. Исследование было проведено после одобрения локального этического комитета. Пациентам была разъяснена суть предстоящего исследования, и получено информированное добровольное согласие каждого пациента.

В исследование не были включены пациенты с травматическими повреждениями слезоотводящих путей и их вторичными изменениями, после ранее проведённых хирургических вмешательств на слезоотводящих путях, а также пациенты с заболеваниями полости носа и его придаточных пазух, требовавшими лечения. Было проведено стандартное офтальмологическое и дакриологическое обследование. Жалобы на слезотечение оценивали по шкале Munk. Всем пациентам была проведена лакримальная менискометрия при помощи оптической когерентной томографии, эндоскопия полости носа и мультиспиральная компьютерная томография с контрастированием слезоотводящих путей.

Эндоскопическую эндоназальную дакриоцисториностомию проводили по методике P. Worgald, однако при формировании дакриостомы медиальную стенку слёзного мешка иссекали по периметру костного «окна», а фрагмент слизистой оболочки полости носа резецировали до уровня заднего края дакриостомы. Всем пациентам на заключительном этапе операции в область сформированной дакриостомы вводили турунду, обработанную 2 мл Митомицина-С в концен-

трации 0,2 мг/мл на 3 минуты. После удаления турунды слезоотводящие пути промывали физиологическим раствором. Всем пациентам под контролем 30° оптики диаметром 3,4 мм (Karl Storz, Германия) проводили биопсию слизистой оболочки полости носа и слёзного мешка. Через 30 минут осуществляли вторую биопсию, на 1-е сутки — третью.

Перед анализом полученные образцы помещали в 1 мл деионизированной воды, после чего взвешивали на прецизионных весах (Sartorius AG, Германия) с точностью до 0,001 г и выдерживали в ультразвуковой ванне WiseClean (Daihan Scientific, Корея) в течение 15 минут. Образцы хранили не более суток при температуре 5 °С. Определяли концентрацию препарата в полученном растворе и, относя её к массе соответствующего образца ткани, находили концентрацию Митомицина-С в исходном образце ткани.

Определение Митомицина-С проводили методом ВЭЖХ-МС. Исследование выполняли на жидкостном хроматографе Agilent 1260 (Agilent, США) с масс-спектрометрическим детектором Maxis Impact (Bruker, Германия) с электро-распылительной ионизацией, квадрупольным и времяпролётным масс-анализаторами (рис. 1).



Рис. 1. Масс-спектрометрический детектор Maxis Impact (Bruker, Германия)

Fig. 1. Mass spectrometer detector Maxis Impact (Bruker, Germany)

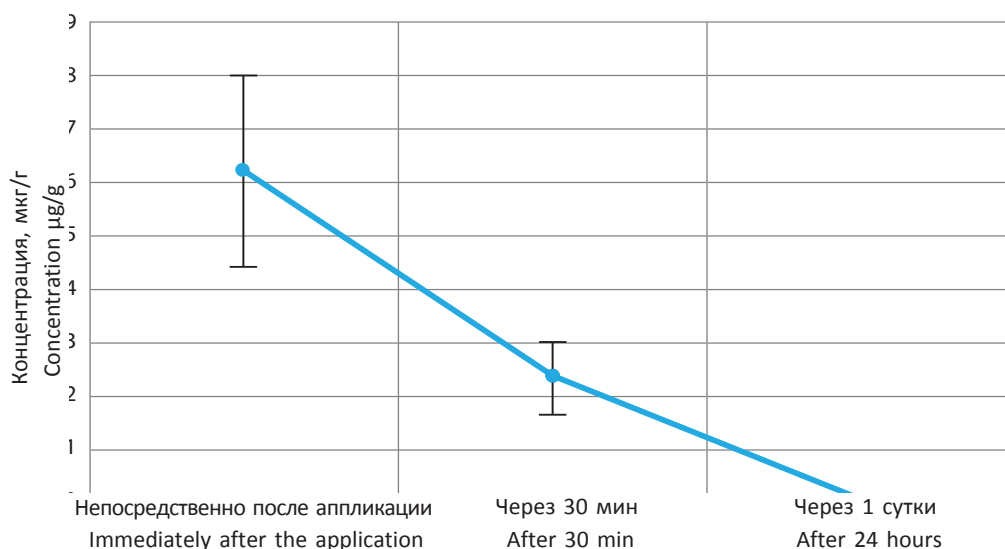


Рис. 2. Зависимость концентрации Митомицина-С, мкг/г, от времени

Fig. 2. Dependence of Mitomycin-C mcg/g concentration on time

Для разделения использовали колонку Zorbax SB-C18150 мм × 2,1 мм × 5 мкм (Agilent, США), режим элюирования: изократический, 100 % ацетонитрил (JT Baker, Нидерланды), скорость подвижной фазы — 0,25 мл/мин. Общее время анализа — 2,1 мин.

Сравнение клинических результатов хирургического вмешательства проводили с результатами 30 случайно выбранных аналогичных операций, которые были выполнены в клинике с января по ноябрь 2015 г. без применения Митомицина-С.

Мониторинг результатов лечения проводили еженедельно в течение 1 месяца после операции, затем через 3 и 6 месяцев. Во время заключительного исследования определяли жалобы пациентов по шкале Mupk, результаты теста с исчезновением красителя, высоту слёзного мениска при помощи оптической когерентной томографии, проходимость слезоотводящих путей при промывании, результаты эндоскопического исследования полости носа и области дакриостомы. Использо-

вали следующие критерии оценки результатов лечения: «выздоровление» и «улучшение» (положительные результаты), «рецидив» (отрицательный результат) [14].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи программы MS Excel 2007, вычисляя среднее значение признака в статистической выборке и его стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При определении концентрации Митомицина-С в исходных образцах ткани было обнаружено, что непосредственно после аппликации концентрация препарата составила $0,626 \pm 0,176$ мкг/г. Через 30 минут концентрация препарата снижалась до $0,23 \pm 0,06$ мкг/г. Через сутки после операции препарата в образцах ткани обнаружено не было (рис. 2).

Клинические результаты, хирургического лечения представлены в таблице 1.

Таблица 1

Клинические результаты хирургического лечения

Table 1

Surgery clinical results

| Период | Оценка выраженности слезотечения по Mupk, баллы | Тест с исчезновением красителя (носовая проба), случаи (%) | | Высота слёзного мениска, мм |
|----------------|---|--|-------------|-----------------------------|
| До операции | $3,8 \pm 0,8$ | Положительный | 0 (0 %) | $0,67 \pm 0,13$ |
| | | Отрицательный | 30 (100 %) | |
| После операции | $1,1 \pm 0,3$ | Положительный | 26 (86,7 %) | $0,26 \pm 0,09$ |
| | | Отрицательный | 4 (13,3 %) | |

При заключительном эндоскопическом осмотре через 6 месяцев после операции эпителиальная выстилка области дакриостомы была визуализирована у 26 пациентов, рубцовая ткань, закрывающая область сформированной дакриостомы, — у 4 пациентов. В результате проведённой операции положительные результаты составили 86,7 % случаев, из них «выздоровление» — 66,7 % случаев, «улучшение» — 20,0 % случаев. «Рецидивы» заболевания составили 13,3 % случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое химическое исследование дало возможность выявить, что концентрация Митомицина-С в тканях области дакриостомы при аппликационном способе введения составляет $0,626 \pm 176$ мкг/г, что примерно в 300 раз ниже доказанной эффективной антифибротической концентрации препарата — 0,2–0,3 мг/мл, установленной в исследованиях *in vitro*. Таким образом, отсутствие убедительных данных об эффективности применения Митомицина-С, по-видимому, связано с недостаточной концентрацией препарата в тканях области дакриостомы при применении его аппликационно.

Так как в опубликованных экспериментальных работах возможность Митомицина-С воздействовать на фибробласты и подавлять их активность доказана, то дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку мер по повышению концентрации Митомицина-С в тканях области дакриостомы.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Е.Л. Атькова, А.О. Роот, С.Д. Ярцев

Сбор и обработка материалов — А.О. Роот, Н.Н. Краховецкий, С.Д. Ярцев, В.Д. Ярцев.

Анализ полученных данных и написание текста — Е.Л.Атькова, А.О. Роот, С.Д. Ярцев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hata T, Hoshi T, Kanamori K, et al. Mitomycin, a new antibiotic from *Streptomyces*. *I J Antibiot (Tokyo)*. 1956 Jul;9(4):141-6.
2. Hu D, Sires B, Tong D, et al. Effect of brief exposure to mitomycin C on cultured human nasal mucosa fibroblasts. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2000;16(2):119-125. doi: 10.1097/00002341-200003000-00006.

3. Ugurbas SH, Zilelioglu G, Sargon MF, et al. Histopathologic effects of mitomycin-C on endoscopic transnasal dacryocystorhinostomy. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1997;28:300-4.
4. Selig YK, Biesman BS, Rebeiz EE. Topical application of mitomycin-C in endoscopic dacryocystorhinostomy. *Am J Rhinol*. 2000May-Jun;14(3):205-7. doi: 10.2500/105065800782102672.
5. Zilelioglu G, Uğurbaş S, Anadolu Y, et al. Adjunctive use of mitomycin C on endoscopic lacrimal surgery. *Br J Ophthalmol*. 1998;82(1):63-66. doi: 10.1136/bjo.82.1.63.
6. Dolmetsch A. Nonlaser endoscopic endonasal dacryocystorhinostomy with adjunctive mitomycin C in nasolacrimal duct obstruction in adults. *Ophthalmology*. 2010;117:1037-1040. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.09.028.
7. Ozkiriş M, Ozkiriş A, Göktaş S. Effect of mitomycin C on revision endoscopic dacryocystorhinostomy. *J Craniofac Surg*. 2012;23(6):608-10. doi: 10.1097/scs.0b013e31826c7cf7.
8. Ghosh S, Roychoudhury A, Roychoudhuri BK. Use of mitomycin C in endo-DCR. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Oct;58(4):368-9. doi: 10.1007/BF03049597.
9. Белоглазов В.Г., Груша О.В., Саад-Ельдин Н.М., и др. Профилактика и лечение рецидивов после дакриоцисториностомии // Вестник офтальмологии. — 1999. — № 5. — С. 14–17. [Beloglazov VG, Grusha OV, Saad-El'din NM, et al. Profilaktika i lechenie retsidivov posle dakriotsistorinostomii. *Vestnik oftal'mologii*. 1999;5:14-17. (In Russ.)]
10. Ragab S, Elsherif H, Shehata E, et al. Mitomycin C-enhanced revision endoscopic dacryocystorhinostomy: a prospective randomized controlled trial. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;147(5):937-942. doi: 10.1177/0194599812450280.
11. Apuhan T, Yildirim Y, Eroglu F, Sipahier A. Effect of mitomycin C on endoscopic dacryocystorhinostomy. *J Craniofac Surg*. 2011;22(6):2057-2059. doi: 10.1097/SCS.0b013e3182319863.
12. Ali MJ, Mariappan I, Maddileti S, et al. Mitomycin C in dacryocystorhinostomy: the search for the right concentration and duration — a fundamental study on human nasal mucosa fibroblasts. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2013Nov-Dec;29(6):469-74. doi: 10.1097/IOP.0b013e3182a23086.
13. Ali MJ, Baig F, Lakshman M, Naik MN. Electron microscopic features of nasal mucosa treated with topical mitomycin C: implications in dacryocystorhinostomy. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2015 Mar-Apr;31(2):103-7. doi: 10.1097/IOP.000000000000205.
14. Атькова Е.Л., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Роот А.О. Эффективность применения препарата «Мезогель» при эндоскопической эндонозальной дакриоцисториностомии // Точка зрения. Восток-Запад. — 2015. — № 1. — С. 222–224. [At'kova EL, Krakhovetskiy NN, Yartsev VD, Root AO. Effektivnost' primeneniya preparata "Mezogel" pri endoskopicheskoy endonazal'noy dakriotsistorinostomii. *Tochka zreniya. Vostok-Zapad*. 2015;(1):222-224. (In Russ.)]

Сведения об авторах

Евгения Львовна Атькова — канд. мед. наук, заведующая отделением патологии слёзного аппарата. ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва. E-mail: evg.atkova@mail.ru.

Information about the authors

Evgeniya L. At'kova — PhD, head of the Department of Pathology of the lacrimal apparatus. The Scientific Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia. E-mail: evg.atkova@mail.ru.

Сведения об авторах

Анна Олеговна Роот — аспирант. ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва. E-mail: a.root@niigb.ru.

Николай Николаевич Краховецкий — старший научный сотрудник отделения патологии слёзного аппарата. ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва. E-mail: krahovetskiynn@mail.ru .

Василий Дмитриевич Ярцев — научный сотрудник отделения патологии слёзного аппарата. ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва. E-mail: yartsev@ya.ru.

Степан Дмитриевич Ярцев — аспирант. ФГБНУ «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина» Российской академии наук, Москва. E-mail: yartsev1@yandex.ru.

Information about the authors

Anna O. Root — MD, postgraduate student. The Scientific Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia. E-mail: a.root@niigb.ru.

Nikolay N. Krahoveckiy — MD, researcher, Department of Pathology of the lacrimal apparatus. The Scientific Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia. E-mail: krahovetskiynn@mail.ru..

Vasily D. Yartsev — MD, researcher, Department of Pathology of the lacrimal apparatus. The Scientific Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia. E-mail: yartsev@ya.ru.

Stepan D. Yartsev — postgraduate student. A.N. Frumkin Institute of physical chemistry and electrochemistry, RAS, Moscow, Russia. E-mail: yartsev1@yandex.ru.