

DOI: 10.15690/vramn942

Е.Л. Атькова, Н.Н. Краховецкий, В.Д. Ярцев, А.М. Суббот,
А.Н. Габашвили, Д.А. Рейн, Т.В. Нестерова

Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Российская Федерация

Изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа

Обоснование. Одной из основных причин неудачи в хирургическом лечении дакриоцистита является рубцовое заращение дакриостомы — соустья между слезным мешком и полостью носа. Несмотря на наличие большого количества предложенных средств и методик профилактики этого явления, литературные данные свидетельствуют об отсутствии надежных методов, позволяющих предотвратить рубцевание дакриостомы в послеоперационном периоде, что обуславливает необходимость продолжения исследований в данном направлении. **Цель исследования** — изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа. **Методы.** Клетки для культуры фибробластов слизистой оболочки полости носа были получены у 3 пациентов во время эндоназальной эндоскопической дакриоцисторинотомии. Токсичность препарата в концентрациях от 0,01 до 0,5 мг/мл была исследована при помощи теста с MTS-реагентом. Ингибирующий эффект пирфенидона на миграцию фибробластов оценивали на основе модели раны монослоя для концентраций 0,15 и 0,3 мг/мл. **Результаты.** В настоящем исследовании пирфенидон оказывал выраженный дозозависимый эффект на миграцию фибробластов без выраженной цитотоксичности. По данным MTS-теста, количество жизнеспособных клеток после 48 ч инкубации с различными концентрациями препарата не опускалась ниже 80%. В контрольной группе после 24 ч инкубации восстановление клеточного монослоя произошло практически полностью (на $84,88 \pm 4,80\%$). В опытных лунках, в которые был добавлен препарат, монослой практически не восстановился. Рост монослоя в группах с добавлением 0,15 мг/мл препарата составил $8,26 \pm 6,09\%$. При концентрации препарата 0,3 мг/мл произошло увеличение ширины поврежденного участка на 2,10%. Различия между группами были статистически достоверными ($p=0,001$). **Заключение.** Результаты настоящего исследования свидетельствуют о высокой антифибротической эффективности препарата пирфенидон, не связанной с цитотоксическим эффектом. Тем не менее, несмотря на невысокую токсичность препарата, по данным этого и других исследований *in vitro*, вывод о целесообразности и безопасности применения препарата в профилактике заращения соустья после дакриоцисторинотомии возможно сделать только на основании исследования *in vivo*.

Ключевые слова: пирфенидон, клеточная культура, дакриоцисторинотомия, дакриология, антифибротическая терапия.

(Для цитирования: Атькова Е.Л., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Суббот А.М., Габашвили А.Н., Рейн Д.А., Нестерова Т.В. Изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа. Вестник РАМН. 2018;73(1):23–29. doi: 10.15690/vramn942)

23

E.L. At'kova, N.N. Krahoveckij, V.D. Yartsev, A.M. Subbot, A.N. Gabashvili, D.A. Rein, T.V. Nesterova

Research Institute of Eye Disease, Moscow, Russian Federation

Evaluation of Antifibrotic Effect of Pirfenidone on Cultured Human Nasal Mucosa Fibroblasts

Background: One of the main reasons for failure of surgical treatment of primary acquired nasolacrimal duct obstruction is excessive postoperative scarring of the dacryostomy. Despite the variety of procedures designed to prevent this, conflicting evidence of their efficacy and safety provide incentive for further research of adjunctive therapy with antifibrotic agents in dacryocystorhinostomy. **Aims:** To evaluate the antifibrotic effect of pirfenidone on cultured human nasal mucosa fibroblasts. **Materials and methods:** Samples for cultured human nasal mucosa fibroblasts were obtained from 3 consecutive patients during the endonasal endoscopic dacryocystorhinostomy. Cell viability following treatment with pirfenidone was evaluated using MTS-assay. Induced inhibition of cell proliferation and migration was determined by scratch wound assay. **Results:** In this study pirfenidone exhibited a significant dose-dependent inhibiting effect on fibroblast proliferation with insignificant cell toxicity. Cell viability after 48 hours of incubation with various pirfenidone concentrations did not drop below 80%. The recovery of the fibroblast monolayer assessed after 24 hours of incubation was 84.88 and 8.26% in the control group, at a drug concentration of 0.15 mg/ml. Cell proliferation and migration was severely inhibited in cell culture specimens treated with pirfenidone compared to controls. The difference between groups was statistically significant ($p=0.001$). **Conclusions:** In our study pirfenidone demonstrated a pronounced antifibrotic effect. It is unlikely that inhibition of proliferation and migration of human nasal mucosa fibroblasts is mediated by cell toxicity of this medication as it was evaluated as low. Nonetheless, an *in vitro* analysis is insufficient to assess the efficacy and safety of pirfenidone in preventing cicatrix formation following dacryocystorhinostomy.

Key words: Cell Differentiation/drug effects; Cell Migration Inhibition; Cell Movement/drug effects; Cells, Cultured; Dacryocystorhinostomy; Dose-Response Relationship, Drug; Fibroblasts/drug effects; Fibroblasts/physiology; Humans; Nasal Mucosa/cytology; Pyridones/administration and usage; Pyridones/therapeutic use; Pyridones/toxicity.

(For citation: At'kova EL, Krahoveckij NN, Yartsev VD, Subbot AM, Gabashvili AN, Rein DA, Nesterova TV. Evaluation of Antifibrotic Effect of Pirfenidone on Cultured Human Nasal Mucosa Fibroblasts. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):23–29. doi: 10.15690/vramn942)

Обоснование

Дакриоцисториностомия — операция, широко используемая для лечения хронического дакриоцистита, вызванного облитерацией носослезного протока. Вмешательство предполагает создание соустья — дакриостомы — между полостью слезного мешка и областью среднего носового хода, обеспечивающего отток слезной жидкости в обход облитерированной части слезоотводящих путей. В настоящее время многие хирурги отдают предпочтение эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии. По литературным данным, доля успешных исходов операции составляет более 88% [1, 2]. Одной из основных причин неудачи является избыточное образование рубцовой ткани в области дакриостомы, что приводит к закрытию ее просвета и рецидиву заболевания [3]. Предложены различные способы предотвращения данного исхода: модификации техники выполнения операции [4–6], интубация дакриостомы силиконовыми имплантатами [7–9], применение различных медикаментозных средств [10, 11].

Однако данные литературных источников свидетельствуют, что надежных методов профилактики зарращения дакриостомы в современной дакриологии не существует, что обуславливает необходимость поиска новых методов, направленных на предупреждение рубцевания вновь созданного соустья [6, 9, 11].

Пирфенидон — низкомолекулярный препарат, примененный впервые для терапии идиопатического легочного фиброза, показал хороший клинический эффект [12, 13]. По данным исследований, действие пирфенидона основано на угнетении синтеза ряда цитокинов и факторов роста, ответственных за индукцию процесса фиброза [14, 15]. В 2009 г. X. Lin с соавт. [16] испытали препарат на культуре клеток фибробластов теноновой капсулы и показали его выраженный антифибротический эффект. T. Stahnke с соавт. [17] изучили воздействие пирфенидона на два подтипа фибробластов орбиты — фибробласты теноновой капсулы и орбитальной клетчатки. Авторы отметили выраженный антипролиферативный эффект препарата на эти подтипы клеток. В экспериментальной модели антиглаукомной операции, выполненной на кроликах, препарат продемонстрировал аналогичный эффект, уменьшив явления послеоперационного рубцевания в области фильтрационной подушки [18]. Исследований, направленных на изучение эффективности применения пирфенидона для профилактики неблагоприятного исхода эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии, опубликовано не было.

Цель исследования — изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа.

Методы

Дизайн исследования

Проведено доклиническое экспериментальное исследование на клеточной культуре по оценке свойств лекарственного препарата.

Критерии соответствия

Объектом настоящего исследования явилась клеточная культура фибробластов слизистой оболочки полости носа, полученных методом эксплантного культивирования и положительных по специфическим маркерам, — CD90 и Vimentin.

Образцы слизистой оболочки полости носа были получены у трех случайных пациентов во время эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии по поводу дакриоцистита. Критериями исключения пациентов из исследования являлись патология полости носа, требующая лечения; новообразования полости носа, околоносовых пазух, слезоотводящих путей.

Условия проведения

Забор материала и работа с клеточной культурой были проведены на базе ФГБНУ «НИИ глазных болезней» (Москва, Российская Федерация).

Продолжительность исследования

Исследование было проведено в течение 2017 г.

Протокол исследования

Образцы слизистой оболочки полости носа получали у 3 пациентов во время эндоназальной эндоскопической дакриоцисториностомии, выполняемой по поводу дакриоцистита, подтвержденного данными анамнеза, промывания слезных путей и мультиспиральной компьютерной томографии. Образец ткани измельчали при помощи хирургического скальпеля до получения фрагментов размером 2×2 мм. Фрагменты помещали в чашки Петри (Corning Inc., США) с площадью ростовой поверхности 10 см² и культивировали в ростовой среде Gibco DMEM (Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением антибиотиков (пенициллин 100 ед/мл; стрептомицин 100 мкг/мл, Thermo Fisher Scientific, США), 2 мМ GlutaMax (Thermo Fisher Scientific, США) и 10% фетальной сыворотки теленка (HyClone, США) во влажной атмосфере при температуре 37 °С и 5% содержания CO₂. На 5-е сут культивирования клетки начинали мигрировать из фрагментов ткани на пластик. Спустя 14 сут культивирования эксплантаты удаляли, диссоциировали клетки при помощи 0,05% раствора Trypsin-EDTA (Thermo Fisher Scientific, США) и осуществляли пассаж с коэффициентом рассева 1:4.

Наблюдение за ростом клеток и оценку их морфологии осуществляли на инвертированном микроскопе Zeiss Axio Vert.A1 (Carl Zeiss AG, ФРГ).

Для характеристики полученной клеточной культуры проводили окрашивание на специфические маркеры фибробластов — виментин и CD90. Для окраски на виментин клетки рассеивали на чашки Петри для конфокальной микроскопии (5×10³ клеток на чашку). При достижении клетками 50% монослоя их фиксировали 4% параформальдегидом (10 мин при температуре 4 °С). После трехкратной промывки натрий-фосфатным буферным раствором (Phosphate buffered saline, PBS) клетки инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре в PBS, содержащем 0,2% Tween 20, 0,2% Triton X-100, 2% сыворотки крови козы. После этого клетки инкубировали с раствором первичных антител к виментину (Abscam plc, США) в разведении 1:40 в PBS с 0,2% Tween 20, 0,2% Triton X-100 и 0,2% сывороткой крови козы (1 ч при 37 °С). Затем клетки три раза промывали PBS, вносили вторичные антитела к иммуноглобулинам мыши Goat anti-Mouse Alexa Fluor 555 в разведении 1:750 (Thermo Fisher Scientific, США) и инкубировали 1 ч при 37 °С. После трехкратной промывки PBS докрасивали ядра клеток с помощью 1:400 DAPI (Thermo Fisher Scientific, США). Для визуализации CD90 клетки выращивали и фиксировали по аналогичному протоколу. Клетки инкубировали (10 мин при температуре 4 °С) с 1:11 раствором первично меченых антител против CD90 (Miltenyi Biotec, ФРГ),

несущих флуоресцентную метку phycoerythrin (Ex-Max 496 nm/Em-Max 578 nm).

Сканирование проводили с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Nikon A1R MP+ (Nikon Corporation, Япония). В исследовании использовали лазеры с эмиссией 405, 488, 561 и 638 нм. Используемая оптика: Plan Apo 20X/0,75 Dic N, Apo IR 60X/1,27 WI и Apo TIRF 60X/1,49 oil Dic объективы. Обработку полученных изображений проводили с помощью программного обеспечения NIS-Elements (Nikon Corporation, Япония).

В эксперименте была использована порошковая форма препарата пирфенидон, предоставленная компанией-производителем (5-метил-1-фенил-2-(1H)-пиридон, P2116-10MG, Sigma-Aldrich Co. LLC). Для получения отдельных концентраций препарат разводили в ростовой среде Gibco DMEM.

Токсичность препарата определяли по результатам MTS-теста (способности живых метаболически активных клеток переводить соль тетразолина в формазан, растворимый в среде культивирования). В работе использовали набор CellTiter 96 Aqueous One Solution Reagent (Promega Corporation, США). Исследование выполняли согласно протоколу, предоставленному фирмой-производителем реагента (Promega Corporation, США, протокол TB245). Клетки высаживали в лунки 96-луночного культурального планшета (по 2 тыс. клеток на лунку в 100 мкл ростовой среды Gibco DMEM) с добавлением антибиотиков (пенициллин 100 ед/мл, стрептомицин 100 мкг/мл), 2 mM GlutaMax и 10% фетальной сыворотки теленка. Через 24 ч культивирования в лунки вносили исследуемый препарат в концентрациях 0,01; 0,1; 0,2; 0,3 и 0,5 мг/мл. После 24 и 48 ч инкубации с препаратом в каждую лунку к 100 мкл ростовой среды добавляли 20 мкл MTS-реагента [3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолиум]. Положительным контролем служили лунки с клетками без препарата; в качестве бланка использовали лунки с ростовой средой. Планшет инкубировали в течение 4 ч при 37 °С во влажной атмосфере с 5% CO₂. В качестве положительного контроля были приняты лунки с клетками без добавления препарата. Бланком служили лунки, не содержащие клеток и заполненные ростовой средой. Время экспозиция с MTS-реагентом составляло 4 ч при стандартных условиях. Оптическую плотность измеряли на планшетном анализаторе при λ=490 нм. Тест был поставлен в 3 повторах. Количество жизнеспособных клеток рассчитывалась по формуле:

$$\text{Количество живых клеток} = (A_o - A_\phi) / (A_k - A_\phi) \times 100\%,$$

где A_o — среднее значение оптической в плотности в образце, A_φ — в бланке, A_k — в контроле.

На основании полученных значений проводили построение графика зависимости количества живых клеток от концентрации препарата.

Для оценки эффекта препарата пирфенидон на миграционную способность фибробластов слизистой оболочки полости носа была использована модель раны монослоя. Для этого осуществляли пассаж клеток в 6-луночный культуральный планшет до образования ими монослоя. Монослой повреждали с помощью наконечника для дозатора (до 10 мкл). Нарушение монослоя фотофиксировали с помощью инвертированного микроскопа при 10-кратном увеличении. Затем ростовую среду заменяли на содержащую препарат в концентрациях 0,15 и 0,3 мг/мл. В контрольную лунку препарат не вносили. Степень восстановления монослоя фиксировали через 24 ч инкубации клеток с препаратом.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Данные о замедлении миграции клеток в модели раны монослоя клеточной культуры фибробластов слизистой оболочки полости носа под воздействием различных концентраций препарата пирфенидон и о жизнеспособности фибробластов слизистой оболочки полости носа после добавления различных концентраций препарата для оценки его цитотоксичности.

Дополнительные исходы исследования

Не зарегистрированы.

Анализ в подгруппах

Образцы клеточной культуры были разделены на контрольную группу, куда не добавляли препарат, и основную группу, где в ростовую среду добавляли различные концентрации препарата. Деление на подгруппы в основной группе осуществляли на основании концентраций препарата.

Методы регистрации исходов

Для регистрации данных о токсичности препарата измеряли оптическую плотность клеток на планшетном анализаторе. Контроль за ростом клеточной культуры, а также миграцией и пролиферацией фибробластов осуществляли при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа Nikon A1R MP+ (Nikon Corporation, Япония).

Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с международными требованиями и российскими этическими принципами и нормами. Информированное добровольное согласие было получено у всех пациентов, предоставивших материал для культивирования клеток. Разрешение на проведение исследования получено у Локального этического комитета ФГБНУ «НИИ глазных болезней» (выписка из протокола № 6-10 от 03.03.2017).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Количество использованных образцов клеточной культуры в контрольной группе, а также каждой подгруппе основной группы составило 3.

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ полученных данных выполнен в пакете программ IBM SPSS Statistics v23 (IBM Corporation, США). Количественные данные представлены в виде средних значений (M) ± стандартное отклонение (SD). Для определения корреляционных зависимостей средних величин был использован коэффициент корреляции Пирсона. Статистические гипотезы принимали как значимые при p<0,05.

Результаты

Получение и характеристика культуры фибробластов

Фибробласты начинали мигрировать из эксплантатов и адгезироваться к пластику на 5-е сут культивирования; клетки имели характерную веретеновидную форму (рис. 1). Иммуноцитохимический анализ подтвердил, что полученные клетки экспрессируют специфические маркеры фибробластов — виментин и CD90 (рис. 2).

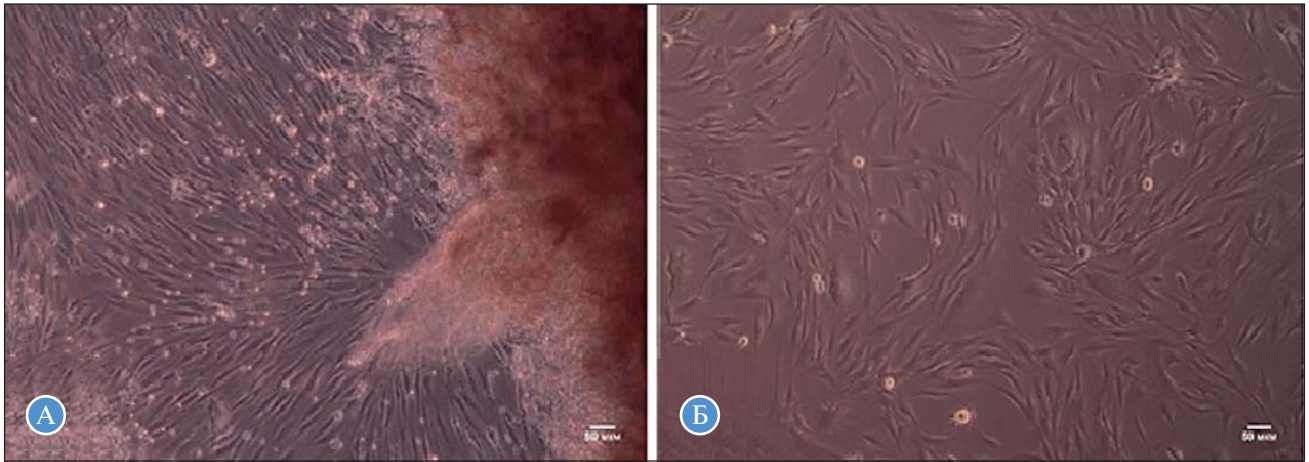


Рис. 1. Получение и характеристика культуры фибробластов

Примечание. Миграция фибробластов из эксплантатов (А), культура фибробластов на 1-м пассаже; эксплантаты удалены (Б). Фазово-контрастная микроскопия, Zeiss Axio Vert.A1. Отрезок: 50 мкм.

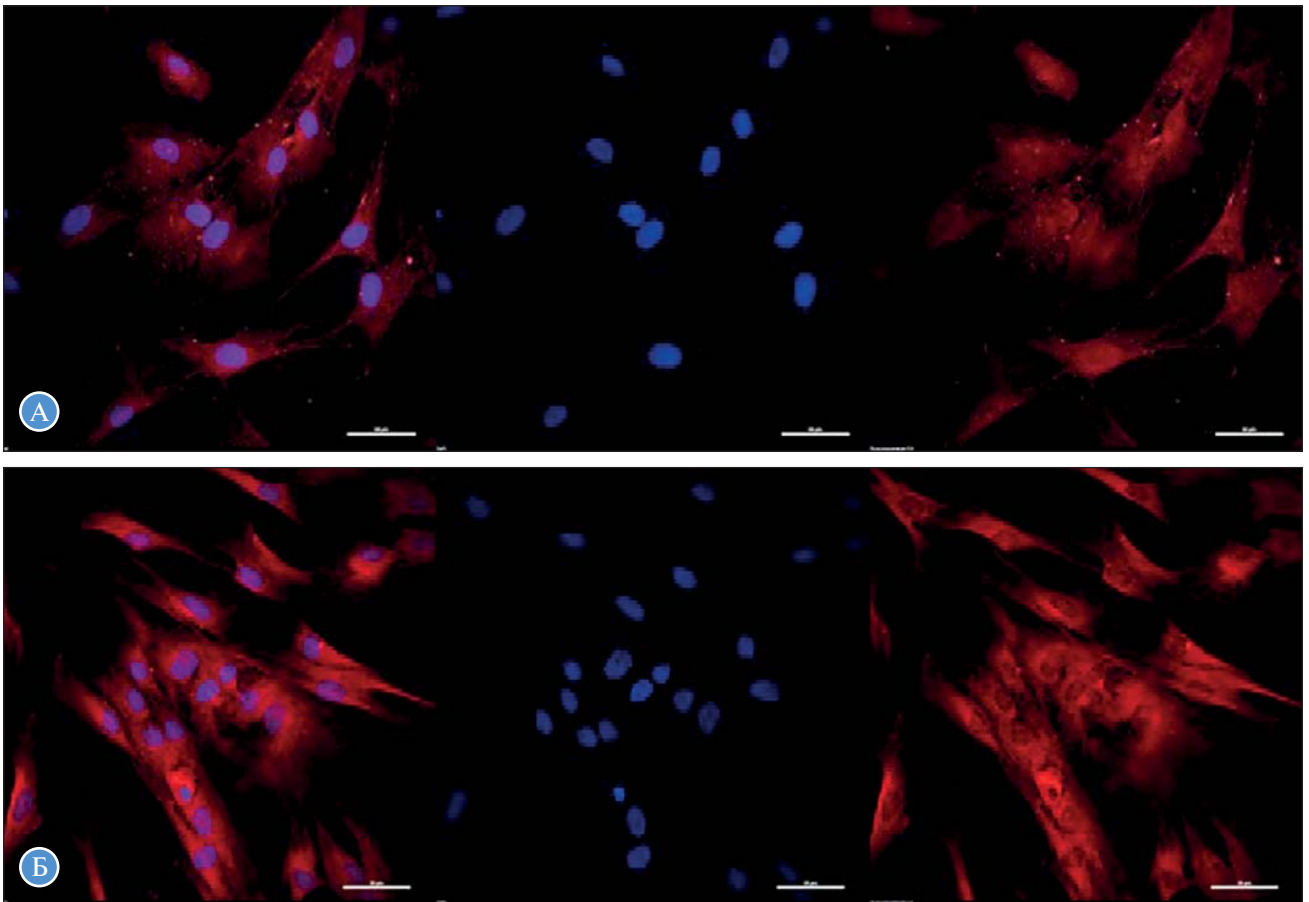


Рис. 2. Иммуноцитохимическое окрашивание CD90 и виментина в культуре фиксированных фибробластов

Примечание. А. Первично меченые антитела CD90-PE (Miltenyi Biotec, ФРГ) в разведении 1:11 для визуализации CD90 (красная флуоресценция). Б. Для визуализации виментина использовали 1:40 первичные моноклональные антитела против виментина (Abcam plc, США) и вторичные антитела против иммуноглобулинов мыши, конъюгированные с флуоресцентной меткой Alexa 555 в разведении 1:750 (Thermo Fisher Scientific, США) (красная флуоресценция). Ядра клеток окрашены 1:400 DAPI (Thermo Fisher Scientific, США) (синяя флуоресценция). Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (Nikon A1, Nikon Corporation, Япония). Отрезок: 50 мкм.

Основные результаты исследования

Было исследовано влияние двух концентраций препарата (0,15 и 0,3 мг/мл) на восстановление монослоя фибробластов после повреждения (рис. 3). В контрольной группе после 24 ч инкубации восстановление клеточного монослоя произошло практически полностью (на $84,88 \pm 4,80\%$). В опытных лунках, в которые был добавлен препарат, монослой практически не восстановился. Рост

монослоя в группах с добавлением 0,15 мг/мл препарата составил $8,26 \pm 6,09\%$. При культивации с 0,3 мг/мл пирфенидона было отмечено незначительное увеличение ширины поврежденного участка монослоя, которое составило $2,10 \pm 2,69\%$. Изменение ширины поврежденного участка в каждой из групп статистически достоверно отличалось в сравнении с другими группами ($p < 0,05$). Сравнительные данные о ширине поврежденного участка

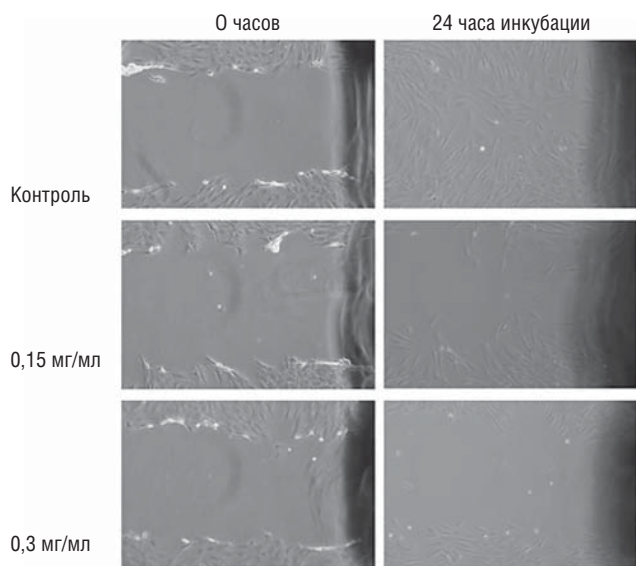


Рис. 3. Пирфенидон ингибирует восстановление монослоя фибробластов

через 24 ч культивирования с различными концентрациями препарата представлены на рис. 4.

Исследуемый препарат добавляли к клеткам в концентрациях 0,01; 0,1; 0,2; 0,3 и 0,5 мг/мл. Доля жизнеспособных клеток по истечении 24 ч инкубации при указанных концентрациях препарата составила 100; 97,1; 92,3; 85,7 и 76,4%, после 48 ч инкубации — 100; 86,1; 86,2; 88,4 и 81,1% соответственно. Зависимость процента погибших клеток от концентрации препарата представлена на рис. 5.

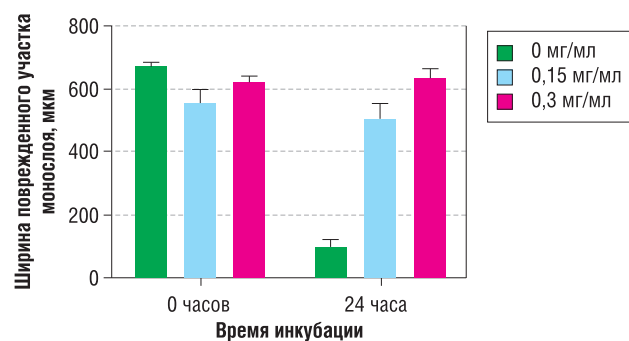


Рис. 4. Зависимость ширины поврежденного участка монослоя от концентрации препарата после 24 ч инкубации с клетками

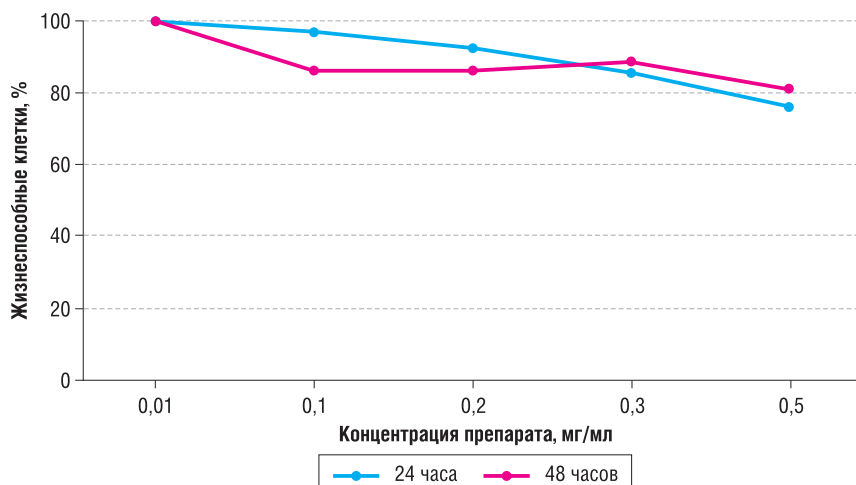


Рис. 5. Количество жизнеспособных клеток после инкубации с различными концентрациями препарата

Полученные результаты позволили сделать заключение, что исследуемый препарат обладает низкой степенью цитотоксичности.

Дополнительные результаты исследования

Не регистрировались.

Нежелательные явления

В процессе исследования нежелательных явлений не отмечено.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В настоящем исследовании нами был проведен анализ действия низкомолекулярного препарата пирфенидон на культуру фибробластов слизистой оболочки полости носа. Именно эти клетки, частично трансформируясь в миофибробласты, в значительной степени оказывают влияние на процесс заживления раны в этой области. Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом влиянии пирфенидона на активность фибробластов слизистой оболочки полости носа в эксперименте.

Обсуждение основного результата исследования

Механизм действия пирфенидона на фибробласты остается невыясненным, однако, по данным литературы, предполагается, что препарат реализует свой антифибротический эффект посредством воздействия на сигнальные системы ряда цитокинов. Так, в эксперименте с индуцированным фиброзом легких у крыс, проведенном S. Yueг с соавт. [14], пирфенидон ингибировал гиперэкспрессию гена *TGF-β* (трансформирующий фактор роста β) — суперсемейства цитокинов, считающихся одними из основных медиаторов процесса фиброза. Аналогичные результаты получили X. Lin с соавт. [16] и T. Stahnke с соавт. [17], изучая эффект препарата на заживление экспериментальной раны в клеточной культуре фибробластов теноновой капсулы и фибробластов орбитальной клетчатки. В исследовании J. Wang с соавт. [19] препарат ингибировал миграцию клеток пигментного эпителия сетчатки, а также снижал уровень продукции фибронектина, фактора роста соединительной ткани, гладкомышечного актина α (α -SMA) и TGF-β. Пирфенидон предотвращал развитие пролиферативной витреоретинопатии у кроликов после проникающего ранения глазного яблока, также снижая экспрессию

TGF- β и α -SMA [20]. Кроме того, J. Shin с соавт. [21] исследовали препарат на культуре фибробластов полости носа с аналогичными результатами.

В проведенном эксперименте препарат продемонстрировал ингибирующий эффект на миграцию фибробластов слизистой оболочки полости носа. На основании предварительного тестирования различных концентраций, а также данных других исследований эффективности пирфенидона на культуре клеток нами были выбраны для тестирования концентрации 0,15 и 0,3 мг/мл. По данным X. Lin с соавт. [16], меньшие концентрации препарата не оказывают значительного эффекта на пролиферацию фибробластов, в то время как дальнейшее увеличение концентрации сопряжено с увеличением цитотоксичности без дальнейшего увеличения ингибирующего эффекта. По нашему мнению, ингибирующий эффект препарата реализуется уже при концентрации 0,15 мг/мл, в то время как увеличение ширины поврежденного участка монослоя при концентрации препарата 0,3 мг/мл говорит о незначительном дополнительном токсическом эффекте такой концентрации.

По всей вероятности, ингибирующее действие пирфенидона на фибробласты не связано с цитотоксическим эффектом, так как в нашем эксперименте препарат показал низкую токсичность через 24 и 48 ч после добавления к клеточной культуре. Полученные данные позволяют говорить об относительной безопасности топического применения препарата. Кроме того, об этом может говорить низкая частота побочных эффектов, зафиксированная при клиническом испытании системного применения пирфенидона у больных идиопатическим легочным фиброзом [13].

Ограничения исследования

Несмотря на выраженный ингибирующий эффект пирфенидона на миграцию фибробластов в модели раны монослоя клеточной культуры, полученных данных недостаточно для заключения о безопасности и эффективности применения препарата с целью предотвращения

рубцевания дакриостомы. Хотя полученные данные свидетельствуют о низкой токсичности препарата, его возможные побочные действия на организм при таком способе применения также остаются невыясненными. Для формирования выводов о возможных побочных эффектах препарата, а также целесообразности его применения в дакриологии необходимо исследование на экспериментальной модели оперативного вмешательства *in vivo* на лабораторных животных.

Заключение

Имеющиеся способы предотвращения рубцового заращения дакриостомы, по данным литературы, не обладают достаточной эффективностью. В настоящем исследовании нами был испытан препарат пирфенидон, обладающий высокой эффективностью в лечении ряда заболеваний, в основе патогенеза которых лежит процесс фиброза. Полученные данные позволяют говорить о высокой эффективности антифибротического действия пирфенидона на фибробласты слизистой оболочки полости носа в лабораторном эксперименте *ex vivo*. Целесообразно продолжение исследования препарата *in vivo* на лабораторных животных.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках темы НИР 0511-2014-0025 «Инновационные диагностические и лечебные технологии в дакриологии» за счет средств федерального бюджета.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Liang J, Hur K, Merbs SL, Lane AP. Surgical and anatomic considerations in endoscopic revision of failed external dacryocystorhinostomy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;150(5):901–905. doi: 10.1177/0194599814524700.
- Balikoglu-Yilmaz M, Yilmaz T, Taskin U, et al. Prospective comparison of 3 dacryocystorhinostomy surgeries: external versus endoscopic versus transcanalicular multidiode laser. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2015;31(1):13–18. doi: 10.1097/Iop.0000000000000159.
- Dave TV, Mohammed FA, Ali MJ, Naik MN. Etiologic analysis of 100 anatomically failed dacryocystorhinostomies. *Clin Ophthalmol.* 2016;10:1419–1422. doi: 10.2147/Oph.S113733.
- Marcet MM, Kuk AK, Phelps PO. Evidence-based review of surgical practices in endoscopic endonasal dacryocystorhinostomy for primary acquired nasolacrimal duct obstruction and other new indications. *Curr Opin Ophthalmol.* 2014;25(5):443–448. doi: 10.1097/Icu.0000000000000084.
- Dirim B, Sendul SY, Demir M, et al. Comparison of modifications in flap anastomosis patterns and skin incision types for external dacryocystorhinostomy: anterior-only flap anastomosis with w skin incision versus anterior and posterior flap anastomosis with linear skin incision. *ScientificWorldJournal.* 2015;2015:170841. doi: 10.1155/2015/170841.
- Kansu L, Aydin E, Avci S, et al. Comparison of surgical outcomes of endonasal dacryocystorhinostomy with or without mucosal flaps. *Auris Nasus Larynx.* 2009;36(5):555–559. doi: 10.1016/j.anl.2009.01.005.
- Gibbs DC. New probe for the intubation of lacrimal canaliculi with silicone rubber tubing. *Br J Ophthalmol.* 1967;51(3):198. doi: 10.1136/bjo.51.3.198.
- Chong KK, Lai FH, Ho M, et al. Randomized trial on silicone intubation in endoscopic mechanical dacryocystorhinostomy (SEND) for primary nasolacrimal duct obstruction. *Ophthalmology.* 2013;120(10):2139–2145. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.02.036.
- Xie C, Zhang L, Liu Y, et al. Comparing the success rate of dacryocystorhinostomy with and without silicone intubation: a trial sequential analysis of randomized control trials. *Sci Rep.* 2017;7(1):1936. doi: 10.1038/s41598-017-02070-y.
- Zilelioglu G, Ugurbas SH, Anadolu Y, et al. Adjunctive use of mitomycin C on endoscopic lacrimal surgery. *Br J Ophthalmol.* 1998;82(1):63–66.
- Xue K, Mellington FE, Norris JH. Meta-analysis of the adjunctive use of mitomycin C in primary and revision, external and endonasal dacryocystorhinostomy. *Orbit.* 2014;33(4):239–244. doi: 10.3109/01676830.2013.871297.
- Meyer KC, Decker CA. Role of pirfenidone in the management of pulmonary fibrosis. *Ther Clin Risk Manag.* 2017;13:427–437. doi: 10.2147/TCRM.S81141.

13. King TE, Jr., Bradford WZ, Castro-Bernardini S, et al. A phase 3 trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2014;370(22):2083–2092. doi: 10.1056/NEJMoa1402582.
14. Iyer SN, Gurujeyalakshmi G, Giri SN. Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;291(1):367–373.
15. Gurujeyalakshmi G, Hollinger MA, Giri SN. Pirfenidone inhibits PDGF isoforms in bleomycin hamster model of lung fibrosis at the translational level. *Am J Physiol.* 1999;276(2 Pt 1):L311–L318.
16. Lin X, Yu M, Wu K, et al. Effects of pirfenidone on proliferation, migration, and collagen contraction of human tenon's fibroblasts in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(8):3763–3770. doi: 10.1167/iops.08-2815.
17. Stahnke T, Kowtharapu BS, Stachs O, et al. Suppression of TGF-beta pathway by pirfenidone decreases extracellular matrix deposition in ocular fibroblasts in vitro. *PLoS One.* 2017;12(2):e0172592. doi: 10.1371/journal.pone.0172592.
18. Zhong H, Sun GY, Lin XC, et al. Evaluation of pirfenidone as a new postoperative antiscarring agent in experimental glaucoma surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(6):3136–3142. doi: 10.1167/iops.10-6240.
19. Wang J, Yang YF, Xu JG, et al. Pirfenidone inhibits migration, differentiation, and proliferation of human retinal pigment epithelial cells in vitro. *Mol Vis.* 2013;19:2626–2635.
20. Khanum BN, Guha R, Sur VP, et al. Pirfenidone inhibits post-traumatic proliferative vitreoretinopathy. *Eye (Lond).* 2017;31(9):1317–1328. doi: 10.1038/eye.2017.21.
21. Shin JM, Park JH, Park IH, Lee HM. Pirfenidone inhibits transforming growth factor beta 1-induced extracellular matrix production in nasal polyp-derived fibroblasts. *Am J Rhinol Allergy.* 2015;29(6):408–413. doi: 10.2500/ajra.2015.29.4221.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Атькова Евгения Львовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: evg.atkova@mail.ru, SPIN-код: 1186-4060, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9875-6217>

Краховецкий Николай Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: krahovetskiynn@mail.ru, SPIN-код: 8112-2018, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3247-8418>

Ярцев Василий Дмитриевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: yartsew@ya.ru, SPIN-код: 4151-4946, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2990-8111>

Суббот Анастасия Михайловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: kletkagb@gmail.com, SPIN-код: 3898-2570, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8258-6011>

Габашвили Анна Николаевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: gabashvili.anna@gmail.com, SPIN-код: 3427-6573, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4251-3002>

Рейн Денис Алексеевич, аспирант отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: illefarn@mail.ru, SPIN-код: 1131-6128, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0868-3876>

Нестерова Татьяна Владимировна, лаборант-исследователь лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: tanesta12@gmail.com, SPIN-код: 1901-6235, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1799-1897>