

Жданович И.В., Разгулин А.С., Столярова В.В., Рудакова Г.В., Чекалова Н.Г.,  
Лапшин Р.Д., Лобач А.Р.

## Исследование действия препаратов с иммуномодулирующим и антиоксидантным эффектами в комплексной терапии при экспериментальном воспроизведении роговично-конъюнктивального ксероза

ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород

Zhdanovich I.V., Razgulin A.S., Stolyarova V.V., Rudakova G.V., Chekalova N.G., Lapshin R.D.,  
Lobach A.R.

### Research action drug with immunomodulating and anti-oxidant effect in the complex therapy of experimental reproduction corneal conjunctival xerosis

#### Резюме

В статье представлена динамика клинических проявлений роговично-конъюнктивального ксероза и показателей продукции слезной жидкости экспериментальной модели животных (кроликов) с воспроизведенным роговично-конъюнктивальным ксерозом в условиях общей анестезии при сочетанном применении стиллавита, дерината и эмоксипина в сопровождении традиционной терапии роговично-конъюнктивального ксероза. Выявлено, что указанная схема повышает функцию слезообразования, антиоксидантную активность слезной жидкости, а так же уменьшает воспалительные проявления роговично-конъюнктивального ксероза.

**Ключевые слова:** роговично-конъюнктивальный ксероз, стиллавит, деринат, эмоксипин

#### Summary

The article shows the dynamics of clinical manifestations of corneal conjunctival xerosis and lacrimal fluid parameters of production on the experimental model of the experimental animals (rabbits) under general anesthesia, with playback corneal conjunctival xerosis the combined use derinat, emoxipine and accompanied by traditional therapy of postoperative transient corneal conjunctival xerosis. It was revealed that this scheme increases lacrimal glands function, as well as reduces the inflammatory manifestations, contributes to inflammatory complications and antioxidant activity of lacrimal fluid during therapy of corneal conjunctival xerosis.

**Key words:** corneal conjunctival xerosis, stillavit, derinat, emoxipin

#### Введение

В соответствии с современными представлениями, роговично-конъюнктивальный ксероз определяется как заболевание, которое характеризуется изменениями показателей слезной пленки, как в качественном, так и количественном отношении, вследствие чего наблюдается повреждение эпителия конъюнктивы и роговицы. Актуальность этой проблемы в настоящее время неуклонно возрастает, что обусловлено широкой распространенностью, полиэтиологичной факторностью и существенным влиянием на качество жизни пациента, его трудоспособность и социальную адаптацию. По данным литературных источников распространенность вторич-

ного роговично-конъюнктивального ксероза варьирует от 25 до 33% от числа первичных обращений пациентов с офтальмологической патологией [1,2,3]. Терапия роговично-конъюнктивального ксероза требует комплексного подхода вследствие особенностей патогенеза данного заболевания и его клинических проявлений [3,4,5]. При этом следует учитывать, что назначенные препараты должны эффективно восстанавливать слезообразующую функцию глаза, репаративные процессы эпителия конъюнктивы и роговицы и не снижать местной иммунной защиты слизистых оболочек, а также антиоксидантных свойств слезной жидкости, так как все эти процессы взаимосвязаны [6,7,8]. В ряде случаев при назначении

препаратов не учитывается возможность их негативно-го действия на слезопродуцирующие структуры глаза, количество и качество слезной жидкости [8]. Эффективность терапии может быть объективно оценена при использовании различных экспериментальных моделей роговично-конъюнктивального ксероза с воздействием факторов, повреждающих конъюнктиву и роговицу. Роговично-конъюнктивальный ксероз может развиваться как следствие проявления побочного действия общих анестетиков [9]. Воздействия общей анестезии на защитные свойства роговицы очень специфичны. При этом можно выделить несколько факторов, способствующих снижению ее протективных свойств. Во время обычного сна глазная щель смыкается и роговица защищена благодаря феномену Белла, это предохраняет поверхность глаза от избыточного пересыхания. Во время сна, индуцируемого общей анестезией, феномен Белла нивелируется, и не происходит полного смыкания глазной щели. В этом случае, по мнению многих авторов, лагофтальм является одной из главных причин, приводящих к повышенному испарению прероговичной слезной пленки и, как следствие, развитию вторичного роговично-конъюнктивального ксероза [9,10]. Общие анестезирующие средства снижают слезопродукцию за счет ослабления мигательного рефлекса, на фоне чего развивается потеря регенераторной возможности прероговичной слезной пленки [11]. В основе этого и лежит создание и изучение экспериментальной модели роговично-конъюнктивального ксероза в условиях общей анестезии, отраженное в данной работе. Авторами создана экспериментальная модель роговично-конъюнктивального ксероза у кроликов при общей анестезии и исследована динамика течения роговично-конъюнктивального ксероза при применении различных схем комплексной терапии.

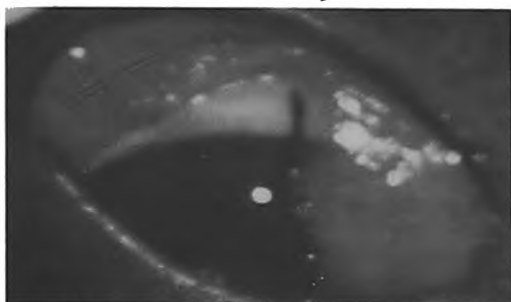
**Цель исследования** - на основании данных показателя слезопродукции и антиоксидантной активности слезной жидкости провести сравнительный анализ результатов терапии роговично-конъюнктивального ксероза с использованием стандартной терапии и сочетанного применения стиллавита, дерината и эмоксилина в сопровождении стандартной терапии на экспериментальной модели животных.

**Задачи исследования:** создать модифицированную фармакологическую экспериментальную модель роговично-конъюнктивального ксероза с использованием анестетика рометар и механического нарушения целостности роговицы путем скарификации; оценить в эксперименте влияние стандартной терапии и сочетанное применение стиллавита, дерината и эмоксилина на фоне стандартной терапии на состояние структур поверхности глазного яблока; исследовать динамику клинических проявлений экспериментальной эрозии роговицы при применении слезозаместительной, иммуномодулирующей и антиоксидантной терапии; экспериментально оценить влияние различных типов терапии на продукцию слезной жидкости и ее антиоксидантную активность.

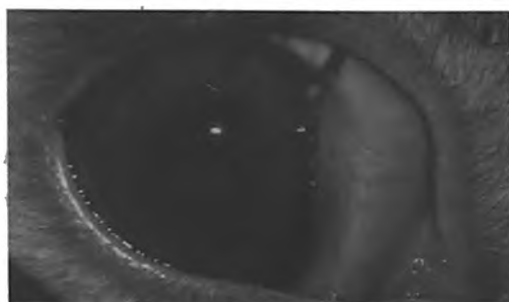
## Материалы и методы

Создана экспериментальная модель роговично-конъюнктивального ксероза на кроликах породы "Советская шиншилла" в условиях SPF вивария Нижегородской государственной медицинской академии при применении общей анестезии введением в мышцу бедра анестетика рометар (Bioveta, Чешская Республика) в дозе 5,0 мг/кг и механического нарушения целостности роговицы путем скарификации. Проведено исследование биопроб слезной жидкости, полученных от 8 кроликов (16 глаз, 64 биопробы) с экспериментально воспроизведенным роговично-конъюнктивальным ксерозом. В качестве группы сравнения были исследованы биопробы слезной жидкости кроликов без роговично-конъюнктивального ксероза 8 кроликов (16 глаз 16 биопроб). Группы были рандомизированы по возрасту, весу ( $p > 0,05$ ). Критериями исключения из исследования служили воспалительные и инфекционные заболевания органа зрения. Исследование было одобрено Этическим комитетом Нижегородской государственной медицинской академии, протокол №13 от «05» ноября 2015г. При проведении исследования соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006) В соответствии с дизайном в исследовании были выделены следующие группы: группа сравнения (4 кролика, 8 глаз, 32 биопробы), получающая стандартную терапию: инстилляции тобрадекса и препарата натуральной слезы; основная группа (4 кролика, 8 глаз, 32 биопробы), получающая стиллавит, деринат и эмоксилин в сопровождении стандартной терапии. Объектами исследования явились данные инструментального обследования, образцы биопроб слезной жидкости, полученные в первые сутки после воспроизведения роговично-конъюнктивального ксероза, сразу после окончания терапии и в течение 16 суток после окончания лечения. Забор слезы был произведен из нижнего конъюнктивального свода глаза при отсутствии стимуляции слезообразования. Биопробы слезной жидкости помещались в пробирки Эппендорфа (2мл). В ходе исследования проводился наружный осмотр (достаточность смыкания век, состояние конъюнктивы и роговицы). При определении суммарной слезопродукции использовался тест Ширмера I (мм/мин). Полоска фильтровальной бумаги помещалась в нижний конъюнктивальный свод приблизительно посередине между латеральным и медиальным углом глаза на 60 секунд. Оценка результата теста проводилась по длине увлажненного слезой участка с целью выявления роговично-конъюнктивального ксероза и анализа динамики его течения.

При определении антиоксидантной активности был использован метод, включающий систему гемоглобин-перекись водородалюминол (Hb-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Лм). Препараты слезной жидкости были получены с использованием биопроб теста Ширмера I и их последующей экстракции 0,05М фосфатным буфером PBS, pH 7,4. При определении антиоксидантной активности слезной жидкости измерялась величина латентного периода хемиллюминес-



**Рис.1.** Данные фоторегистрации кролика основной группы с экспериментально воспроизведенным роговично-конъюнктивальным кератозом при проведении обследования до начала терапии: выявлены отек, покраснение конъюнктивы, воспалительные инъекции и микроэрозии роговицы.



**Рис.2.** Данные фоторегистрации кролика основной группы при проведении обследования на 16 сутки после окончания терапии: исчезновение воспалительных инъеций, отека конъюнктивы, микроэрозий отсутствуют.

ценции опытной пробы, содержащей биологический материал, - tпр и контрольной пробы, содержащей вместо биологического материала аликвоту буфера PBS – t0. Для расчетов использовалось отношение разности латентных периодов пробы и контроля (tпр – t0)/t0 и калибровочная кривая, построенная для ряда известных концентраций тролокса. Для стандартизации измерений антиоксидантную активность слезы выражали в виде тролокс-эквивалента, который представляет собой концентрацию стандартного антиоксиданта тролокса, вызывающую увеличение латентного периода модельной системы аналогичное исследуемой биологической пробе [4].

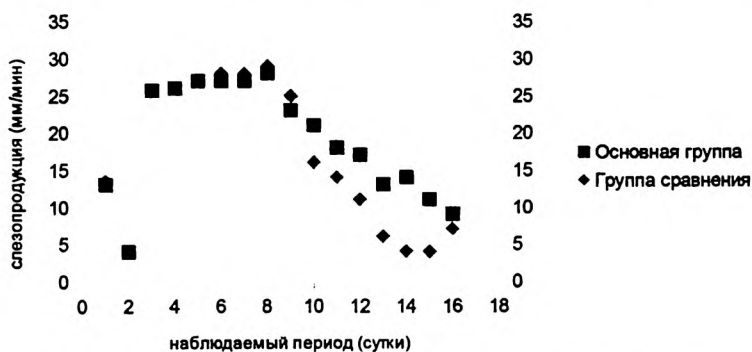
Статистическая обработка вариационных рядов проводилась с применением прикладных программ «Microsoft Excel» и статистического пакета «Statistica 8.0». Полученные данные оценивались с помощью непараметрического критерия Вилкоксона, парного критерия Стьюдента, коэффициента корреляции Спирмена. Достоверными считались данные при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При исследовании состояния кроликов группы сравнения и основной группы в условиях экспериментально вос-

произведенного роговично-конъюнктивального кероза путем введения препарата рометар и скарификации роговицы было выявлено изменение поведения, указывающее на дискомфорт в глазу, отек и покраснение конъюнктивы, воспалительные инъекции (рис. 1). На основании анализа результатов теста Ширмера I динамика изменения слезопродукции была характерна для роговично-конъюнктивального кероза. При этом при исследовании биопроб теста Ширмера I кроликов с воспроизведенным роговично-конъюнктивальным кератозом (группы основная и сравнения) обнаруживались признаки дисфункции слезных желез: снижение в условиях общей анестезии, затем выраженное повышение слезообразования, и далее значительное снижение при достоверном статистическом различии ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями бипроб теста Ширмера животных до воспроизведения роговично-конъюнктивального кероза [рис.3].

Согласно полученным данным, показатель слезопродукции у кроликов без проявлений роговично-конъюнктивального кероза (тест Ширмера I) составил  $13 \pm 1,2$  мм/мин, что было принято для сравнения как эталон показателя нормы при проведении дальнейших исследований. В первый час в условиях общей анестезии произошло изменение секреции слезной жидкости:



**Рис.3.** Показатели слезопродукции основной группы и группы сравнения по данным теста Ширмера I (мм/мин).

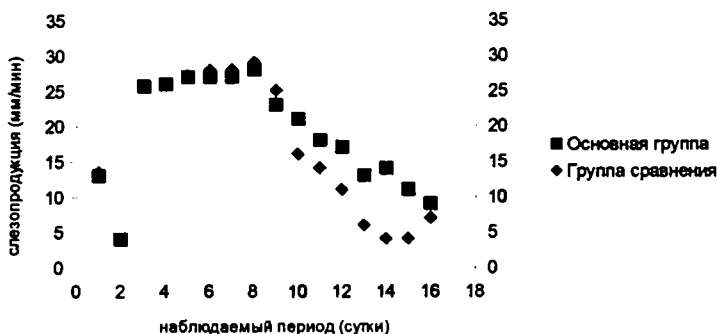


Рис.4. Показатели антиоксидантной активности основной группы и группы сравнения (мкМ (ед. тролокса)).

снижение показателя теста Ширмера I до 4,33мм/5мин и затем увеличение до 25,7 +3,2мм/мин в среднем в основной группе и группе сравнения до лечения, статистически значимыми при сравнении с данными биопроб здоровых животных [рис.3]. В ходе терапии в основной группе и группе сравнения была выявлена разнонаправленная динамика слезопродукции при достоверном межгрупповом статистическом различии и с показателями до лечения, при этом в основной группе на 16 сутки после воспроизведения роговично-конъюнктивального ксероза показатель теста Ширмера составлял 9,94±0,3мм/мин, в группе сравнения 7,6±0,9мм/мин. Применение стиллавита, дерината и эмоксипина в сопровождении стандартной терапии послеоперационного роговично-конъюнктивального ксероза, оказало положительное влияние на слезопродукцию при статистически значимой разнице между показателями теста Ширмера I основной группы и группы сравнения, что происходило параллельно с динамикой клинических проявлений воспалительного процесса [рис.2].

Исследование динамики антиоксидантной активности слезной жидкости при экспериментально воспроизведенном роговично-конъюнктивальном ксерозе выявило, что в условиях общей анестезии происходит выраженное снижение данного показателя [рис.4].

До воспроизведения роговично-конъюнктивального ксероза антиоксидантная активность слезной жидкости у кроликов составляла 168±17 мкМ (ед. тролокса). В течение 1 часа при условии общей анестезии выявлялась в среднем 42,04±12,3мкМ (ед. тролокса) в обеих группах. На фоне острого периода, который характеризовался воспалительной реакцией (гиперемия и отек конъюнктивы, век, микроэрозия, воспалительные инъекции), поведенческие реакции, свидетельствующие о наличии дискомфорта в глазу, отмечена достоверная разница (p<0,05) в показателях антиоксидантной активности основной группы и группы сравнения. При анализе динамики процесса было выявлено увеличение антиоксидантной активности слезной жидкости животных с воспроизведенным роговично-конъюнктивальным ксерозом основной группы по сравнению с животными группы сравнения на 10 сутки 102±13 мкМ основной группы и 61,9 мкМ группы

сравнения. По мере восстановления секреторной функции слезных желез антиоксидантная активность слезной жидкости повышалась на 16 сутки до 142±13 мкМ в основной группе и 74,9 мкМ в группе сравнения [рис.4].

### Заключение

В проведенном исследовании была создана модифицированная фармакологическая экспериментальная модель роговично-конъюнктивального ксероза в условиях SPF вивария для изучения эффективности исследуемых схем терапии. Было оценено в эксперименте влияние комплексной терапии с применением стиллавита, дерината и эмоксипина на состояние поверхности глазного яблока; динамику клинических проявлений, продукцию слезной жидкости. На основании полученных данных был проведен сравнительный анализ результатов указанных схем терапии. Данное исследование показало, что сочетанное применение стиллавита, дерината и эмоксипина, назначаемых местно, изменяет динамику клинических проявлений воспалительного процесса и повышает функцию слезных желез. Было выявлено, что сочетанное применение стиллавита, дерината и эмоксипина поддерживает более высокую антиоксидантную активность слезной жидкости по сравнению с традиционной терапией в острый период заболевания. Это позволяет рекомендовать стиллавит, деринат и эмоксипин для включения в клинические исследования в комплексной терапии роговично-конъюнктивального ксероза. ■

*Жданович Илья Владимирович, аспирант кафедры общей и клинической фармакологии ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», врач офтальмолог, Визус I. Международная клиническая больница им.Б.И. Филоненко, г. Нижний Новгород; Разулин Алексей Сергеевич, аспирант кафедры общей и клинической фармакологии ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», медицинский представитель фармацевтической компании «Такеда», г. Нижний Новгород; Сталярова Валентина Васильевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической фармакологии, ФБОУ ВО «Нижегородская*

государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород; Чекалова Наталья Генриховна, доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической фармакологии, ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород; Лапшин Роман Дмитриевич, кандидат медицинских наук, доцент, Центральная научно-исследовательская лаборатория ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород; Рудакова Галина Васильевна, кандидат фармацевтических наук, доцент

кафедры общей и клинической фармакологии, ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород; Лобач Анастасия Ростиславовна, врач офтальмолог, ГБУЗ НО Заволжский филиал Городецкая ЦРБ, Нижегородская область, Автор, ответственный за переписку - Столярова Валентина Васильевна доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической фармакологии, ФБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия МЗ России», г. Нижний Новгород, – e-mail: valentina00@inbox.ru

## Литература:

1. Anushree Sharma and Holly B. Hindman. Aging: A Predisposition to Dry Eyes. *Journal of Ophthalmology* Volume 2014. P.781683.8.
2. Alejandro Clemente Millán, Eloy Viso, María Teresa Rodríguez. Rosacea-associated Meibomian Gland Dysfunction – An Epidemiological Perspective. *J Ophthalmic Vis Res. European Ophthalmic Review*, 2014;8(1) P.13–6 DOI.
3. Avani Sapovadia, Divya Gupta, Hemal Jasani, Kavita R Bhatnagar, Pooja Kumar. Dry eye syndrome. A rising occupational hazard in tropical countries. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil* 2014. 7 (1). P.13-18.
4. Тихомирова Н.К., Аверина О.А., Чемоданов Д.В. Развитие синдрома «сухого глаза» в условиях общей анестезии. Актуальные проблемы и достижения в медицине/ Сб. науч. трудов по итогам междунар. научно-практич. конф. Самара. 2015. № 2. С. 60-62
5. Жданович И.В., Разулин А.С., Столярова В.В. Патогенетические основы терапии послеоперационного транзиторного роговично-конъюнктивального ксероза. *Медицинский альманах*. 2016. №1 (41).3. С. 89-92.
6. Жданович И.В., Разулин А.С., Столярова В.В., Рудакова Г.В., Малиновская С.В. Применение метода оптической когерентной томографии в комплексной сравнительной оценке результатов терапии послеоперационного транзиторного роговично-конъюнктивального ксероза. *Медицинский альманах*”, 2016. № 2 (42).5. С. 159-162.
7. Егоров Е.А., Бржевский В.В., Муратова Н.В. Нежелательные эффекты офтальмогипотензивной терапии: синдром «сухого глаза» // *Новости глаукомы*. — 2009. № 3. С. 3-5.
8. Shen M., Li J., Wang J. et al. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *IOVS*. 2009; 50:2722–2726.
9. Chen F., Shen M., Chen W. et al. Tear meniscus volume in dry eye after punctal occlusion. *IOVS*. 2010; 51:1965–1969.
10. Yuan Y., Chen J.W., Tao A. et al. Reduced tear meniscus dynamics in dry eye patients with aqueous tear deficiency. *Am. J Ophthalmol*. 2010; 149:932–938.
11. Vasilis Achtsidis, Eleftheria Kozanidou Dry Eye and Clinical Disease of Tear Film, *Diagnosis and Management European Ophthalmic Review*. 2014;8(1):17–22 DOI