



Семак Г.Р.¹ ✉, Потапнев М.П.², Летковская Т.А.¹, Клецкий С.К.¹, Рындова Д.В.³,
Сментина А.В.⁴, Громыко В.В.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

³ 11-я городская клиническая больница, Минск, Беларусь

⁴ 432 ордена Красной Звезды главный военный клинический медицинский центр Вооруженных Сил Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Применение активаторов регенерации при лечении воспалительных заболеваний век в эксперименте

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, редактирование – Семак Г.Р., Потапнев М.П.; сбор материала, морфологическое исследование, редактирование – Летковская Т.А., Клецкий С.К.; сбор материала, обработка, написание текста – Рындова Д.В.; сбор материала, редактирование – Сментина А.В.; сбор материала – Громыко В.В.

Подана: 19.02.2024

Принята: 26.02.2024

Контакты: semakgalina@mail.ru

Резюме

Введение. При длительной воспалительной реакции в структурах век происходят атрофия ацинусов и выводных протоков мейбомиевых желез, снижение количества и качественные изменения липидного состава мейбума с развитием болезни сухого глаза испарительного генеза.

Цель. Разработать метод лечения воспалительных заболеваний век и восстановления их функциональной структуры в эксперименте с применением активаторов регенерации.

Материалы и методы. В исследование включены 20 экспериментальных животных (кроликов), которые разделены согласно разработанному лечению с применением инстилляций и подкожных инъекций плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ) и подкожных и субконъюнктивальных инъекций 1%-ного низкомолекулярного натрия гиалуроната (НМ-NaГ). Была воспроизведена модифицированная модель с нарушением целостности роговицы, скарификацией конъюнктивы и края век и инстилляцией суспензии штамма *S. aureus*. Проводилась клиническая оценка по разработанным критериям. На 6-е сутки выполнялся забор тканей век с дальнейшим морфологическим исследованием. Далее кроликам в различные точки век вводился НМ-NaГ для уточнения дозировки и локализации инъекций.

Результаты. При клинической оценке в группах с применением инстилляций ПОРФТ выраженность воспалительного процесса была ниже по сравнению с группами со стандартной терапией и применением НМ-NaГ. Наилучшие результаты наблюдались в группе с комбинированным применением ПОРФТ и НМ-NaГ. При морфологическом исследовании в группах с применением ПОРФТ не наблюдалась воспалительная реакция в тканях, в группах с использованием НМ-NaГ визуализировалось расширение выводных протоков и ацинусов мейбомиевых желез с содержанием секрета внутри



них. У кроликов с введением НМ-НаГ только в 1 и 2 точки не достигалось должного распределения препарата в тканях. Наилучшее распространение НМ-НаГ наблюдалось при введении в 3 точки, однако такое количество препарата вызывало видимое сужение глазной щели.

Заключение. Экспериментальные доказательства эффективности использования активаторов регенерации позволяют разработать четкие методики для восстановления нормальной работы структур век при воспалении.

Ключевые слова: активаторы регенерации, плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, 1%-ный низкомолекулярный натрия гиалуронат, блефарит, кератит

Galina R. Semak¹ ✉, Michael P. Potapnev², Tatiana A. Letkovskaya¹, Semen K. Kletsky¹, Darija V. Ryndova³, Aliaksandr V. Smiantsina⁴, Ulada V. Hramyka¹

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Belarus

³ City Clinical Hospital №11, Minsk, Belarus

⁴ 432 Main Military Clinical Medical Center, Minsk, Belarus

Application of Regeneration Activators in the Treatment of Inflammatory Diseases of the Eyelids in an Experimental Model

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design, collection of material, editing – Semak G., Potapnev M.; collection of material, morphological research, editing – Letkovskaya T., Kletsky S.; collection of material, processing, writing – Ryndova D.; collection of material, editing – Smiantsina A.; collection of material – Hramyka U.

Submitted: 19.02.2024

Accepted: 26.02.2024

Contacts: semakgalina@mail.ru

Abstract

Introduction. Prolonged inflammatory reaction in eyelid structures stimulates atrophy of acinuses and exit ducts of meibomian glands, and decrease in the quantity and quality changes in the lipid composition of meibum. As a result, Dry Eye Disease of evaporative genesis is developed.

Purpose. To develop a method of treatment of inflammatory diseases of eyelids and restoration of their functional structure in experiment with the use of regeneration activators.

Materials and methods. Twenty experimental animals (rabbits) were included in the study. They were divided according to the developed treatment using instillations and subcutaneous injections of plasma enriched with soluble platelet factors (PRP) and subcutaneous and subconjunctival injections of 1% low molecular weight sodium hyaluronate (LM-NaH). A modified model with disruption of corneal integrity, scarification of the conjunctiva and eyelid margin and instillation of a suspension of *S. aureus* strain was reproduced. Clinical evaluation according to the developed criteria was carried out.

On the 6th day, eyelid tissues were sampled for further morphologic examination. Then LM-NaH was injected into the eyelids of rabbits at different points to clarify the dosage and localization of injections.

Results. In clinical evaluation, the severity of the inflammatory process was lower in the groups with PRP instillations compared to the groups with standard therapy and LM-NaH application. The best results were observed in the group with combined application of PRP and LM-NaH. At morphological examination there was no inflammatory reaction in tissues in groups with PRP instillations, dilatation of meibomian gland ducts and acinuses with secretion content inside them was visualized in groups with LM-NaH application. Proper distribution of the drug in tissues was not achieved in rabbits with LM-NaH injection only at 1 and 2 points. The best distribution of LM-NaH was observed when injected into 3 points, but this amount of the drug caused visible narrowing of the eye slit.

Conclusion. Experimental evidence of the effectiveness of regeneration activators allows the development of clear techniques to restore the normal function of eyelid structures in inflammation.

Keywords: regeneration activators, plasma enriched with soluble platelet factors, 1% low molecular weight sodium hyaluronate, blepharitis, keratitis

■ ВВЕДЕНИЕ

Воспалительные заболевания век занимают одно из ведущих мест в структуре болезней, встречающихся на амбулаторном приеме врача-офтальмолога. Веки принимают активную роль в защите глаза от воздействия вредных факторов окружающей среды, в том числе от ультрафиолетового излучения, загрязненной окружающей среды. Данные структуры одни из первых реагируют при наличии аутоиммунных, желудочно-кишечных заболеваний, на фоне приема антигипертензивных препаратов и контрацептивов, в результате чего изменяется состав липидного секрета мейбомиевых желез век. В итоге данные изменения приводят к закупорке и вторичной атрофии желез, уменьшению липидного слоя слезной пленки и развитию болезни сухого глаза испарительного генеза. Длительно существующее воспаление в тканях век вызывает их утолщение, деформирует реберный край, что в совокупности способствует сдавлению лимбальных сосудов и неправильному росту ресниц, которые в дальнейшем травмируют роговицу [1]. Данные изменения могут вызывать и/или усугублять течение кератитов и язв роговицы, приводя к развитию ее помутнения различной степени выраженности. В настоящее время для лечения воспалительных заболеваний век применяется большое количество препаратов (противовоспалительные антибактериальные мази, инстилляции капель), выполняется гигиеническая обработка с помощью специальных антисептических средств и массаж век [1]. Однако часто данная патология приобретает хронический характер, и лечение ее занимает длительное время. В совокупности это снижает качество жизни пациентов. Несмотря на большое количество лекарственных средств, используемых для лечения данной патологии, остается актуальным вопрос о сокращении сроков лечения и уменьшении количества осложнений.

Новым направлением в офтальмологии является применение активаторов регенерации для лечения заболеваний глаза. Плазма, обогащенная растворимыми



факторами тромбоцитов (ПОРФТ), является распространенным активатором регенеративных процессов в тканях, содержащим более 300 биологически активных веществ и обладающим противовоспалительной активностью, сказывающейся на замедлении фиброобразования и снижении отека тканей, обладающей анаболическим действием и ангиогенным эффектом [2]. Применение инстилляций с содержанием ПОРФТ ускоряет эпителизацию, уменьшает проявление роговичного синдрома, улучшает состояние слезной пленки, что положительно влияет на правильную работу век. 1%-ный низкомолекулярный натрия гиалуронат (НМ-NaГ) обладает про- и противовоспалительной активностью, способен подавлять высвобождение арахидоновой кислоты [3], которая образуется при заболеваниях век, улучшает метаболические процессы в тканях. При поражениях передней поверхности глаза экзогенное введение НМ-NaГ снижает интенсивность процессов фиброобразования, восстанавливает стабильность слезной пленки [4], что является одним из ключевых механизмов развития воспалительной реакции в структурах век.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать метод лечения воспалительных заболеваний век и восстановления их функциональной структуры в эксперименте с применением активаторов регенерации.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В первой части эксперимента были исследованы 20 лабораторных животных (кроликов) породы шиншилла с исключением кроликов-альбиносов, которым было проведено офтальмологическое обследование. Все кролики были взвешены, пронумерованы и разделены на 6 групп согласно разработанным протоколам лечения с применением активаторов регенерации в виде инстилляций и подкожного введения ПОРФТ и 1%-ного низкомолекулярного натрия гиалуроната (НМ-NaГ) подкожно и субконъюнктивально. В качестве экспериментальной модели воспаления век ввиду высоких регенеративных особенностей у кроликов была воспроизведена методика с нарушением целостности роговицы [5] в нашей модификации. Всем экспериментальным животным в условиях операционной под седацией и местным обезболиванием выполнялась трепанация роговицы на 1/3 толщины в центральной области диаметром 5 мм, скарификацией бульбарной и тарзальной конъюнктивы и реберного края век с последующей инстилляцией в конъюнктивальную полость 1,0 мл приготовленной суспензии штамма *S. aureus* в концентрации 1×10^9 микробных тел на 1 см³. При проведении экспериментального моделирования были выбраны правые глаза, левые глаза оставались интактными. Наблюдение животных проводили с помощью фоторегистрации и протоколирования клинического течения на 1-е, 3-и и 5-е сутки.

В 1-й группе лабораторных животных, в которую вошли 2 кролика, противовоспалительное лечение не проводилось. Во 2-й группе (3 кролика) применялось стандартное лечение согласно протоколам Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.09.2022 № 91, включающее в себя санацию конъюнктивальной полости раствором фурацилина для более эффективного воздействия лекарственных средств, инстилляции дексаметазона 0,1% 6 раз в сутки и левофлоксацина 0,1% 6 раз в сутки. В 3-й (4 кролика) и 4-й группах (3 кролика) помимо стандартного лечения

дополнительно применялись инстилляции ПОРФТ 6 раз в день с выполнением в 4-й группе подкожных инъекций 0,4–0,5 мл ПОРФТ на 3-и и 5-е сутки. В 5-й группе (4 кролика) проводилась стандартная терапия с субконъюнктивальным 0,4–0,5 мл и подкожным 0,4–0,5 мл введениями НМ-NaГ на 3-и и 5-е сутки. В 6-й группе (4 кролика) использовалось комбинированное лечение, включающее стандартную терапию с санацией конъюнктивальной полости, инстилляцией ПОРФТ 6 раз в сутки и субконъюнктивальное 0,4–0,5 мл и подкожное 0,4–0,5 мл введения НМ-NaГ на 3-и и 5-е сутки.

Динамика изменения передней поверхности глаза оценивалась по разработанным критериям, приведенным в табл. 1.

На 6-е сутки все кролики были выведены из эксперимента и произведен забор тканей век для дальнейшего патоморфологического исследования методом окрашивания гематоксилином и эозином.

Вторая часть эксперимента заключалась в уточнении дозировки и локализации введения лекарственных средств подкожно. Было задействовано 6 кроликов породы шиншилла, которым вводился подкожно однократно 1%-ный низкомолекулярный натрия гиалуронат в разной дозировке, отступив 3,0 мм от реберного края, учитывая густую сеть сосудов в веке. Трем экспериментальным животным вводилось лекарственное средство в верхнее веко, трем – в нижнее веко в наружной, наружной и средней, наружной, средней и внутренней трети века по 0,4 мл в каждое место инъекции. Эффективность проводимого эксперимента оценивалась по изменению формы и ширины глазной щели, визуализируемому скоплению препарата в толще век путем ежедневного фотографирования и протоколирования клинического

Таблица 1
Клинические критерии оценки изменений передней поверхности глаза в эксперименте
Table 1
Clinical criteria for assessing changes in the anterior surface of the eye in the experiment

Критерии оценки	Клиническое проявление				
Баллы	0	1	2	3	4
Гнойное отделяемое	Отсутствует	Минимальное количество отделяемого в углу глаза	Обильное количество отделяемого увлажняет веки	Обильное количество выделений увлажняет веки и окружающие ткани	–
Хемоз конъюнктивы	Отсутствие отека	Слегка заметный отек	Выраженный отек с частичным выворотом век	В результате отека глаз закрыт наполовину	В результате отека глаз закрыт полностью
Степень гиперемии конъюнктивы	Бледно-розовая, соответствующая физиологической норме	Слабо выраженная гиперемия	Умеренно выраженная гиперемия	Выраженная гиперемия	–
Гиперемия края века	Отсутствует	Присутствует	–	–	–
Диаметр язвенного дефекта, мм	–	–	–	–	–
Тест Ширмера, мм	–	–	–	–	–



течения с оценкой степени гиперемии конъюнктивы и состояния слезной пленки с помощью теста Ширмера.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 0-й день от момента воспроизведения экспериментальной модели воспаления наблюдалось обильное гнойное отделяемое ($Me = 3$ балла), которое склеивало веки, выраженный хемоз конъюнктивы ($Me = 3$ балла), в результате которого глаз был закрыт наполовину, гиперемия конъюнктивы и реберного края век, что в сумме составило 10 баллов ($p < 0,05$), диаметр язвенного дефекта (d) в среднем был 5 мм во всех исследуемых группах, тест Ширмера – 3,5 мм. На 1-й день от момента начала лечения наблюдалась положительная динамика, однако в группах с применением инстилляций ПОРФТ 6 раз в сутки выраженность воспалительной реакции была ниже (общий балл – 7,3, $p < 0,05$; $d = 4,0$ мм, тест Ширмера – 5,3 мм) по сравнению с группой со стандартным лечением (общий балл – 9,3, $p < 0,05$; $d = 4,9$ мм, тест Ширмера – 4,0 мм) (рис. 1).

На 3-и сутки клиническая динамика значительно отличалась между группами: в группах с применением инстилляций активатора регенерации степень выраженности воспаления была ниже (общий балл – 3,9, $p < 0,05$; $d = 1,9$ мм, тест Ширмера – 6,7 мм), гиперемии реберного края не наблюдалось, в то время в остальных исследуемых группах сохранялись умеренными признаки патологической реакции (общий балл – 7,3, $p < 0,05$; $d = 3,0$ мм, тест Ширмера – 4,7 мм). Полученные положительные результаты свидетельствуют о купировании воспаления при применении инстилляций ПОРФТ, что приводит к улучшению показателей состояния слезной пленки (рис. 2).

На 3-и сутки от начала терапии, согласно разработанным протоколам лечения, были выполнены подкожные и субконъюнктивальные инъекции активаторов регенерации. На 5-е сутки наилучшие результаты наблюдались в группе с комбинированным применением ПОРФТ и НМ-NaГ. В группе с использованием НМ-NaГ клинически воспалительная реакция была ниже, чем в группе со стандартным лечением.



А



В

Рис. 1. Клиническая картина воспаления передней поверхности глаза на 1-е сутки от начала лечения: А – 2-я группа (без лечения), В – 3-я группа (стандартное лечение с инстилляциями ПОРФТ)

Fig. 1. Clinical picture of inflammation of the anterior surface of the eye on the 1st day from the beginning of treatment: А – group 2 (no treatment), В – group 3 (standard treatment with PRP instillations)

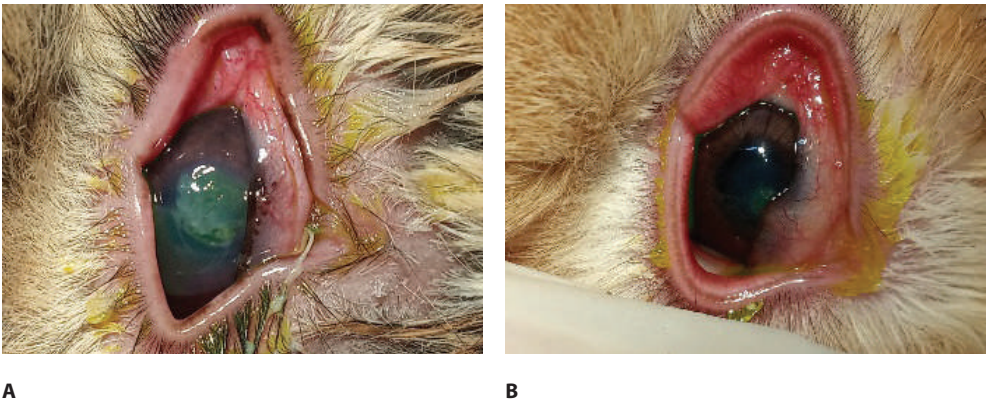


Рис. 2. Клиническая картина воспаления передней поверхности глаза на 3-и сутки от начала лечения: А – 2-я группа (без лечения), В – 3-я группа (стандартное лечение с инстилляциями ПОРФТ)
Fig. 2. Clinical picture of inflammation of the anterior surface of the eye on the 3rd day from the beginning of treatment: А – group 2 (no treatment), В – group 3 (standard treatment with PRP instillations)

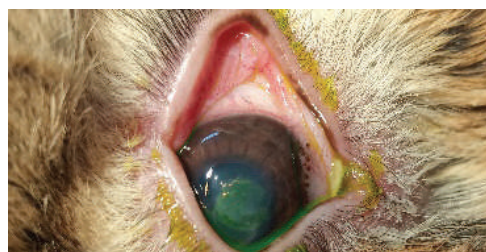
Таблица 2
Клиническая оценка эффективности лечения блефаритов и кератитов в эксперименте на лабораторных животных (кроликах) при совместном применении ПОРФТ и НМ-NaГ в зависимости от стадии воспаления век и роговицы глаз
Table 2
Clinical evaluation of the effectiveness of treatment of blepharitis and keratitis in the experiment on laboratory animals (rabbits) with combined application of PRP and LM-NaГ depending on the stage of inflammation of eyelids and cornea of eyes

Критерии оценки	0 день						1-й день						3-й день						5-й день					
Группа	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Гнойное отделяемое из глаз, баллы	2,8	3	3	3	3	3	2,3	2,7	2	2	2,8	2	2,3	2	1	1	1	0,5	1,3	1	0	0	0	0
Хемоз (отек конъюнктивы), баллы	2,8	3	3	3	3	3	2,7	2,3	2	2	3	2,3	2	2	1	1	2	1,3	1,7	1	0	0	0	0
Степень гиперемии конъюнктивы, баллы	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	2,8	3	2,7	2	2	2,8	2	2,3	2	1,3	1,2	2	1
Гиперемия реберного края века, баллы	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Всего баллов	10	10	10	10	10	10	9	9	7	7	9,8	8	8,3	6,7	4	4	6,8	3,8	5,3	3	1,3	1,2	2	1
	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Диаметр язвенного дефекта, мм	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4,6	4	3,8	3	1,8	2	2,3	2,8	2	0,2	0,1	0,5	0	0
Тест Ширмера, мм	3	4	3	3	4	4	3	5	5	5	4	6	4	5	6	7	5	7	6	7	9	10	8	10

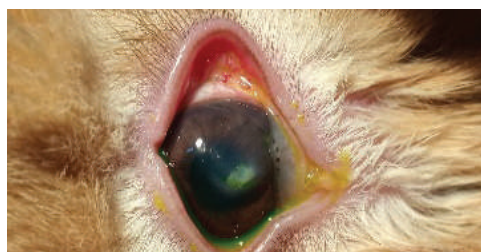


В группе с комбинированным применением ПОРФТ наблюдались незначительно лучшие результаты, чем в группе с применением лишь инстилляций (табл. 2, рис. 3).

Отмечалась положительная параллельная динамика во время лечения век и роговицы, что показывает схожесть и один механизм поражения тканей при воспалении передней поверхности глаза и эффектов от проводимого лечения.



A



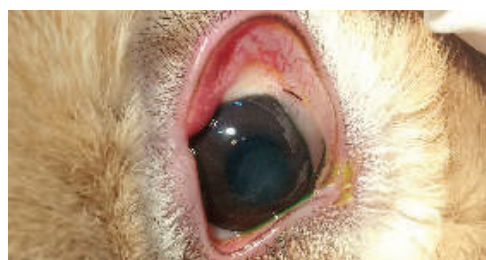
B



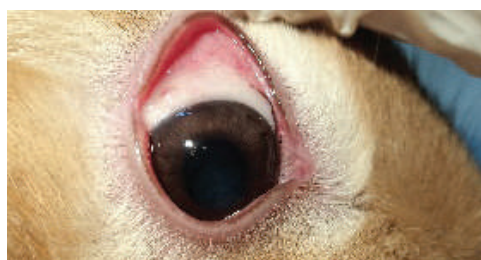
C



D



E



F

Рис. 3. Клиническая картина течения воспаления век, конъюнктивы и роговицы на 5-е сутки от начала лечения: А – группа «без лечения», В – группа «стандартное лечение», С – группа «стандартное лечение и инстилляций ПОРФТ», D – группа «стандартное лечение, инстилляций ПОРФТ, подкожное введение ПОРФТ», E – группа «стандартное лечение и подкожное и субконъюнктивальное введение НМ-NaГ», F – группа «стандартное лечение, инстилляций ПОРФТ, подкожное и субконъюнктивальное введение НМ-NaГ»
Fig. 3. Clinical picture of the course of inflammation of eyelids, conjunctiva and cornea on the 5th day from the beginning of treatment: A – "no treatment" group, B – "standard treatment" group, C – "standard treatment and PRP instillations" group, D – "standard treatment, PRP instillations, subcutaneous injection of PRP" group, E – "standard treatment and subcutaneous and subconjunctival injection of LM-NaG" group, F – "standard treatment, PRP instillations, subcutaneous and subconjunctival injection of LM-NaG" group

При морфологическом исследовании удаленных тканей век на 6-е сутки в 1-й группе без лечения наблюдались выраженный диффузный отек тканей с лимфо-плазмоцитарной инфильтрацией, эозинофилами между протоками ацинусов, повреждение эпителиального слоя конъюнктивы. В структурах мейбомиевых желез была умеренная воспалительная инфильтрация и отек интерстиция. Во 2-й группе со стандартным методом лечения данные изменения были менее выраженные, однако также наблюдались воспалительные клеточные элементы с отеком тканей (рис. 4).

В 3-й группе с применением инстилляций ПОРФТ воспалительные изменения не были выявлены, что свидетельствует о купировании патологической реакции в тканях. В 4-й группе, где дополнительно к инстилляциям выполнялась подкожная инъекция ПОРФТ, воспалительные изменения не наблюдались, а также не были выявлены аллергическая и токсическая реакции. После выполнения инъекции визуализировалась рыхлость тканей век (рис. 5).

В 5-й группе, где применялись подкожные инъекции НМ-NaГ, были обнаружены локальные лимфоплазмоцитарные клетки возле ацинусов мейбомиевых желез, визуализировалась рыхлость тканей с субконъюнктивальным отеком, что

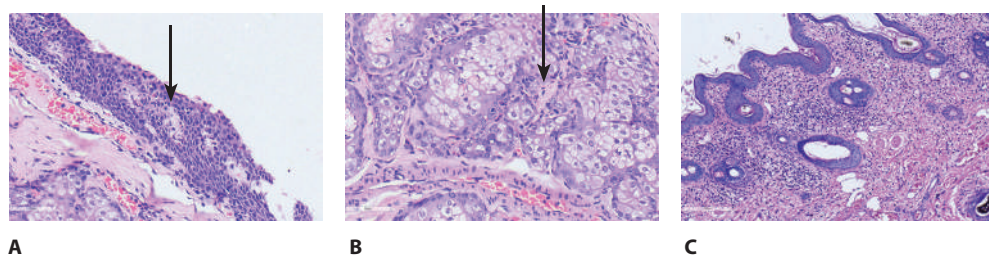


Рис. 4. Морфологическое исследование удаленных тканей век на 6-е сутки: А, В – группа «без лечения», С – группа «стандартное лечение». Стрелка – эозинофильный инфильтрат. Объектив *65
Fig. 4. Morphologic study of the removed eyelid tissues on the 6th day: A, B – "no treatment" group, C – "standard treatment" group. Arrow – eosinophilic infiltrate. Objective *65

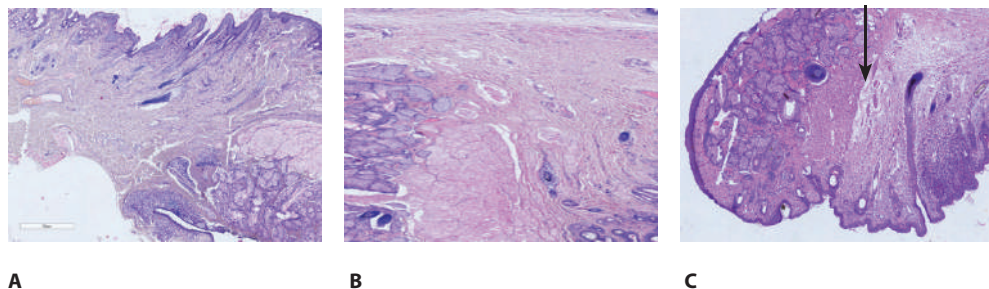


Рис. 5. Морфологическое исследование удаленных тканей век на 6-е сутки: А (объектив *10), В (объектив *65) – группа «стандартное лечение и инстилляций ПОРФТ», С – группа «стандартное лечение, инстилляций ПОРФТ, подкожное введение ПОРФТ», стрелка – рыхлость тканей, объектив *65

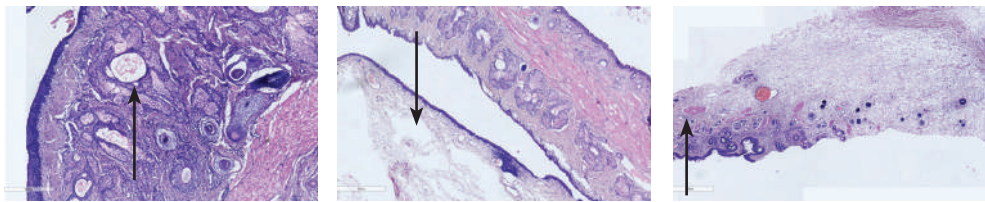
Fig. 5. Morphologic study of the removed eyelid tissues on the 6th day: A (objective *10), B (objective *65) – group "standard treatment and PRP instillations", C – group "standard treatment, PRP instillations, subcutaneous injection of PRP"; arrow – tissue friability, objective *65



свидетельствует о распределении лекарственного средства в веке. Отличительной чертой в удаленных тканях экспериментальных животных являлось наличие расширенных выводных протоков мейбомиевых желез, внутри которых содержался секрет (рис. 6).

В 6-й группе, где инстилляцией ПОРФТ применялись совместно с подкожными и субконъюнктивальными инъекциями НМ-НаГ, воспалительных клеточных элементов не было обнаружено. В удаленных тканях также наблюдалось расширение выводных протоков мейбомиевых желез с содержанием секрета внутри них. Данные изменения свидетельствуют об усилении апокринизации и выходе секрета в проток мейбомиевых желез. Распределение в тканях век данного препарата характеризовалось субконъюнктивальным диффузным отеком и рыхлостью (рис. 7).

На втором этапе эксперимента при уточнении локализации и дозировке при подкожном введении НМ-НаГ в одну точку не наблюдалось видимого сужения глазной щели в верхнее и нижнее веко (рис. 8).



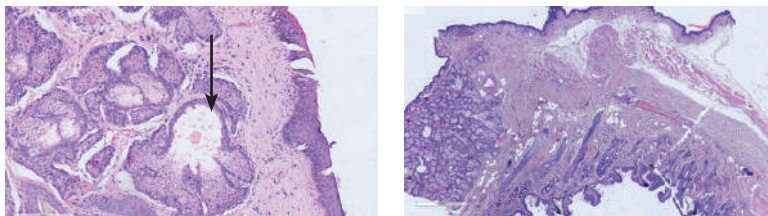
A

B

C

Рис. 6. Морфологическое исследование удаленных тканей век на 6-е сутки в группе «стандартное лечение, подкожное и субконъюнктивальное введение НМ-НаГ»: А – стрелка – расширение выводного протока с содержанием секрета, объектив *65, В – стрелка – субконъюнктивальный отек с рыхлостью тканей, объектив *20, С – очаговое воспаление с расширенными выводными протоками и секретом внутри них, объектив *10

Fig. 6. Morphologic study of the removed eyelid tissues on the 6th day in the group "standard treatment, subcutaneous and subconjunctival injection of LM-NaG": A – arrow – dilated outlet duct with secretion content, objective *65, B – arrow – subconjunctival oedema with friability of tissues, objective *20, C – focal inflammation with dilated outlet ducts and secretions inside them, objective *10



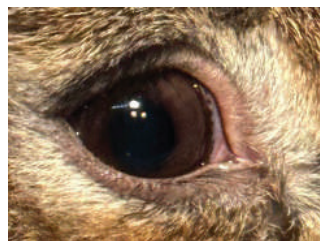
A

B

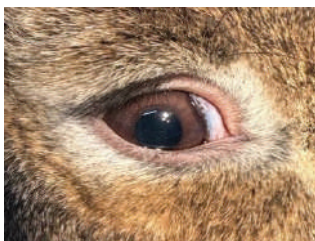
Рис. 7. Морфологическое исследование удаленных тканей на 6-е сутки в группе «стандартное лечение, инстилляцией ПОРФТ, подкожное и субконъюнктивальное введение НМ-НаГ»: А – апокринизация концевых отделов мейбомиевых желез (стрелка), объектив *130, В – рыхлость тканей без воспаления с наличием расширенных протоков мейбомиевых желез с содержанием секрета внутри них, объектив *10

Fig. 7. Morphologic study of the removed tissues on the 6th day in the group "standard treatment, PRP instillations, subcutaneous and subconjunctival injection of LM-NaG": A – apocrinization of meibomian glands end sections (arrow), objective *130, B – loose tissues without inflammation with the presence of dilated ducts of meibomian glands with the content of secretion inside them, objective *10

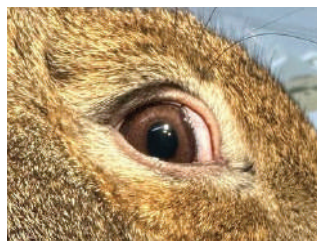
A



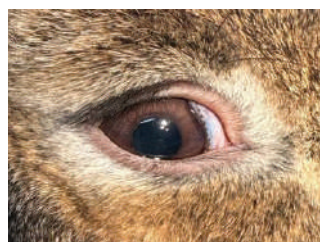
1



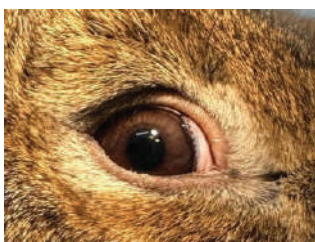
2



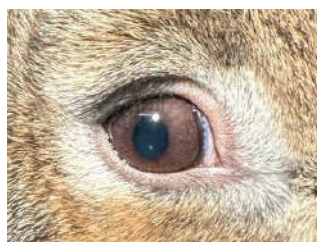
3



4

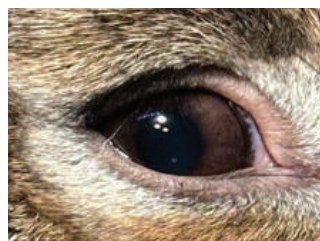


5

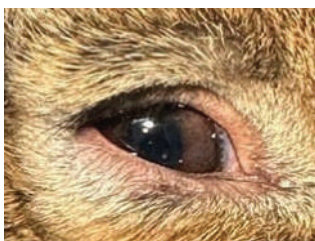


6

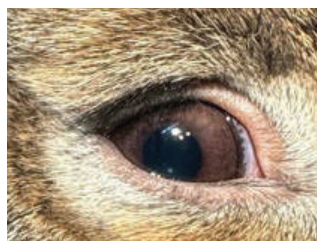
B



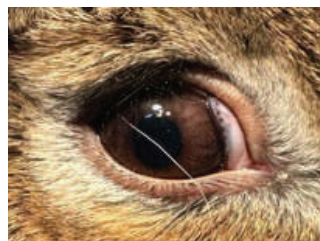
1



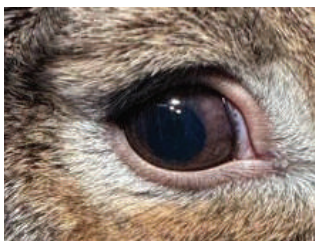
2



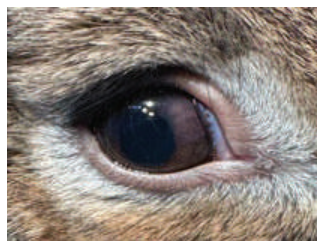
3



4



5



6

Рис. 8. Клиническая картина у кроликов при подкожном введении НМ-НаГ в 1 точку: 1 – до введения, 2 – 0-й день, 3 – 1-й день, 4 – 2-й день, 5 – 3-й день, 6 – 5-й день, А – введение в верхнее веко, В – введение в нижнее веко

Fig. 8. Clinical picture in rabbits by subcutaneous injection of LM-NaG at 1 point: 1 – before injection, 2 – day 0, 3 – day 1, 4 – day 2, 5 – day 3, 6 – day 5, A – injection into the upper eyelid, B – injection into the lower eyelid



A



1



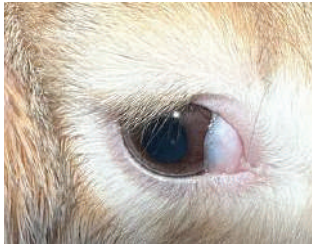
2



3



4



5



6

B



1



2



3



4



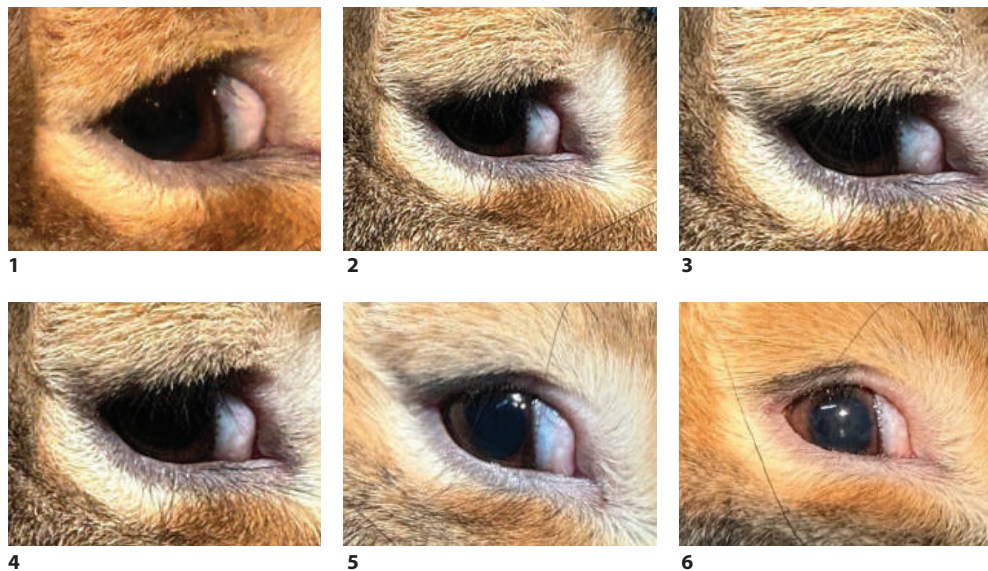
5



6

Рис. 9. Клиническая картина у кроликов при подкожном введении НМ-NaГ в 2 точки: 1 – до введения, 2 – 0-й день, 3 – 1-й день, 4 – 2-й день, 5 – 3-й день, 6 – 5-й день, А – введение в верхнее веко, В – введение в нижнее веко
Fig. 9. Clinical picture in rabbits by subcutaneous injection of LM-NaG at 2 points: 1 – before injection, 2 – day 0, 3 – day 1, 4 – day 2, 5 – day 3, 6 – day 5, A – upper eyelid injection, B – lower eyelid injection

A



B

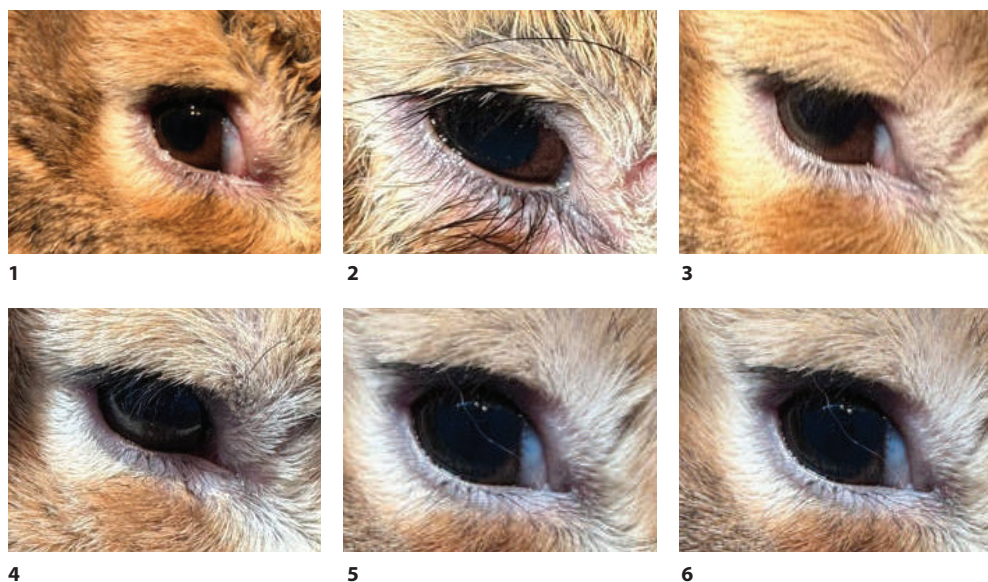


Рис. 10. Клиническая картина у кроликов при подкожном введении НМ-НаГ в 3 точки: 1 – до введения, 2 – 0-й день, 3 – 1-й день, 4 – 2-й день, 5 – 3-й день, 6 – 5-й день, А – введение в верхнее веко, В – введение в нижнее веко
Fig. 10. Clinical picture in rabbits by subcutaneous injection of LM-NaG at 3 points, 1 – before injection, 2 – day 0, 3 – day 1, 4 – day 2, 5 – day 3, 6 – day 5, A – injection into the upper eyelid, B – injection into the lower eyelid

У кроликов, которым была выполнена инъекция в 2 точки, ширина глазной щели была уже и значительно визуализировалась приподнятость над уровнем глазной щели (рис. 9).

Однако ни у одного из четырех кроликов не удалось достичь должного распределения препарата в тканях.

Наилучшие результаты с равномерным распространением НМ-НаГ наблюдались при введении в 3 точки, однако такое количество препарата вызывало видимое сужение глазной щели и приподнятость над уровнем реберного края (рис. 10).

В течение проведенного эксперимента у всех кроликов при подкожном введении в различные точки нижнего и верхнего века не наблюдалось изменение теста Ширмера. Отмечалось постепенное возвращение глаза к исходному состоянию к 5-му дню (табл. 3).

Согласно полученным данным, наиболее подходящим методом является введение НМ-НаГ в 3 точки максимальной дозировкой до 0,4–0,5 мл, благодаря чему получится достигнуть равномерного распределения лекарственного средства в тканях без выраженного сужения глазной щели.

Таблица 3
Изменение клинических критериев при подкожном введении НМ-НаГ при различных дозировках и локализации
Table 3
Changes in clinical criteria with subcutaneous administration of LM-NaG at different dosages and localizations

Доза/место введения	Внешний вид	До введения	0-й день	1-й день	2-й день	3-й день	5-й день
Верхнее веко							
0,4 мл / наружная треть века	Тест Ширмера, мм	10	10	10	10	10	10
	Ширина глазной щели, мм	12	11	11	11	12	12
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	4	3	2,5	2	0
0,8 мл / наружная и средняя треть века	Тест Ширмера, мм	12	10	10	10	11	12
	Ширина глазной щели, мм	12	10	10	10	11	12
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	5	4	3	2	0
1,2 мл / наружная, средняя, внутренняя треть века	Тест Ширмера, мм	9	9	9	10	10	10
	Ширина глазной щели, мм	10	7	7	7	8	9
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	5	4,5	3	1,5	0
Нижнее веко							
0,4 мл / наружная треть века	Тест Ширмера, мм	10	10	10	10	10	10
	Ширина глазной щели, мм	12	10	10	11	12	12
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	4	3	1	0,5	0

Окончание таблицы 3

0,8 мл / наружная и средняя треть века	Тест Ширмера, мм	7	9	10	12	13	13
	Ширина глазной щели, мм	12	9	9	10	11	12
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	5	3	2	1	0
1,2 мл / наружная, средняя, внутренняя треть века	Тест Ширмера, мм	9	9	9	10	10	10
	Ширина глазной щели, мм	10	7	7	7	7	8
	Гиперемия слизистой	–	–	–	–	–	–
	Приподнятость над уровнем реберного края, мм	0	5	4	3	1,5	0

■ ВЫВОДЫ

1. Проведенное морфологическое исследование подтвердило высокую эффективность использования активаторов регенерации при острых воспалительных заболеваниях в эксперименте и помогло уточнить патоморфологию мейбомиевых желез.
2. Применение подкожных инъекций плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, не вызывает аллергических и токсических реакций, эффективнее уменьшает воспалительные изменения в тканях век по сравнению с группой со стандартным лечением и в комбинации с инстилляциями улучшает показатели слезной пленки, однако не оказывает воздействия на процессы апокринизации в мейбомиевых железах.
3. Применение подкожных инъекций 1%-ного низкомолекулярного натрия гиалуроната ускоряет апокринизацию мейбоцитов в ацинусах, улучшает состояние секрета мейбомиевых желез, воздействует на патогенетические факторы развития воспалительных изменений при блефаритах, купирует воспалительную реакцию в структурах век и в комбинации с субконъюнктивальным введением и инстилляциями ПОРФТ позволяет восстановить глазную поверхность и состав слезной пленки.
4. Введение лекарственных средств подкожно в ткани век в суммарной дозе до 0,4–0,5 мл в 3 точки в эксперименте является оптимальным при выполнении инъекций для исключения сужения глазной щели и ухудшения показателей слезной пленки, для улучшения равномерного распределения препарата и восстановления нормальной работы структур век при воспалении.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Maychuk Yu.F. et al. The role of meibomian gland dysfunction in the pathogenesis of dry eye syndrome. Choice of drug therapy. *Refractive surgery and ophthalmology*. 2007;7(2):51–55.

2. Semak G.R. et al. The use of plasma enriched with soluble platelet factors in the treatment of diseases of the ocular surface. *Ophthalmology Eastern Europe*. 2021;11(1):59–67.

3. Sonnylal S. et al. Selective expression of connective tissue growth factor in fibroblasts in vivo promotes systemic tissue fibrosis [Electronic resource]. *Arthritis Rheum*. 2010;62(5):1523–1532. Mode of access: <http://doi.org/10.1002/art.27382>. Date of access: 03/21/2018.

4. Semak G.R. Mechanisms of action of hyaluronic acid in the treatment of dry eye disease against the background of chronic dystrophic diseases of the cornea (literature review). *Ophthalmology Eastern Europe*. 2013;9(2):264–271.

5. Volkovich T.K., Samsonova I.V. Method for modeling a bacterial corneal ulcer in a rabbit: Pat. BY No. 16186. Publ. 08/30/2012.