

БЕЗОПЕРАЦИОННЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМЫХ КЕРАТОПАТИЙ

О.С. Комаров¹, докт. биол. наук, проф., Т.В. Беликова², канд. мед. наук,
Е.А. Слесарева³, М.О. Комарова¹, А.Г. Мустафин¹, докт. мед. наук, проф.

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова,
Российская Федерация, 119997, Москва, ул. Островитянова, д. 1;

²Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. С.Н. Федорова,
Российская Федерация, 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59а;

³Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского,
Российская Федерация, 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

E-mail: rsmu@rsmu.ru

Представлены сведения о повреждениях роговицы, которые составляют до 20% общей глазной патологии. К этим заболеваниям относят некоторые виды кератопатии, ожоги глаз известью, карбидом (не единственный и, по-видимому, не главный механизм повреждающего действия).

Ключевые слова: помутнение роговицы, адсорбция ионов кальция, протеолитические ферменты, диффузионные процессы.

Для цитирования: Комаров О.С., Беликова Т.В., Слесарева Е.А., Комарова М.О., Мустафин А.Г. Безоперационный подход к лечению кальцийзависимых кератопатий. Медицинская сестра. 2020; 22 (1): 40–43. <https://doi.org/10.29296/25879979-2020-01-09>

Обработка роговицы раствором, содержащим ионы кальция, приводит к ее структурным изменениям, сопровождающимся прогрессирующим помутнением. Применение комплексообразователей для десорбции ионов из роговицы, в частности ионов кальция, – эффективный подход, сопровождающийся визуальным увеличением прозрачности роговой оболочки. Динамика процесса лимитируется скоростью диффузии ионов в эпителий роговицы. Папаин (полипептид, протеолитический растительный фермент, катализирующий гидролиз белков, пептидов, амидов и сложных эфиров) разрыхляет эпителиальный и более глубокие слои роговицы, что облегчает диффузию и ускоряет десорбцию ионов. Динамика удаления кальция из ткани при совместном применении этилендиаминотетраацетата (ЭДТА) и папаина или диэтилтриаминопентаацетата (ДТПА) иллюстрирует более высокую эффективность десорбции, чем под действием только рас-

творов ДТПА и ЭДТА без предварительного разрыхления ткани ферментом. Анализ полученных данных дает основание применять этот метод, избегая хирургического вмешательства в ткань роговицы, а процедуры инстилляций папаином и комплексообразователями могут осуществляться медсестрами после соответствующего инструктажа.

Работа выполнена на здоровых кроликах породы шиншилла. После энуклеации использовали глаза или изолированные роговицы животных. Все работы проводились на холоде [3, 5, 7, 19]. Изолированные роговицы помещали в 0,01М раствор хлористого кальция, содержащий меченый изотоп Ca^{45} , инкубировали с разными временными интервалами, а затем исследовали активность этого изотопа в ткани роговицы. Далее роговицы помещали в растворы комплексообразователей на разное время (выдерживая их в растворах с интервалом 30 мин), после чего определяли активность в ткани изотопа ионов кальция. В качестве комплексообразователей использовали ЭДТА и ДТПА. В параллельной серии экспериментов на изолированных глазах животных исследовали выход меченого изотопа из роговицы. В этой группе на целостном органе зрения в раствор комплексообразователей добавляли фермент папаин.

В первой серии экспериментов при насыщении роговицы ионами кальция после 2-часовой инкубации развивалась кальцийзависимая кератопатия (табл. 1). Наблюдалось помутнение ткани роговицы, степень помутнения оценивали по шкале: прозрачная (п), слабомутная (см), мутная (м). Концентрация ионов Ca^{2+} в области 0,02–0,03 м/л не сопровождается помутнением, роговица остается прозрачной. По нашим данным, роговица сорбирует до 0,04 мМ ионов Са.

Во второй серии экспериментов (табл. 2) изучалась десорбция (извлечение) избыточного кальция из роговицы, предварительно насыщенной ионами кальция. Растворы с роговицами экспонировали 15 мин при перемешивании. Результаты эксперимента показывают, что оба комплексона достаточно активно извлекают поглощенный роговицей кальций, их эффективность примерно одинакова. Даже физиологический раствор обладает некоторой способностью вымывать ионы кальция. Уменьшение концентрации ионов кальция в роговице сопровождается повышением ее прозрачности, что можно оценить визуально по предложенной шкале.

Полученные данные однозначно свидетельствуют об эффективности применения избранных комплексонов в лечении патологических процессов в роговице, прежде всего – кальцийзависимых кератопатий и химических (щелочных) ожогов. У ДТПА эффект десорбции выражен несколько сильнее, что подлежит дополнительному изучению. Не исключено, что ДТПА больше влияет на десорбционные процессы в более глубоких слоях роговой оболочки (см. табл. 2).

Для исключения ошибки из-за возможного выведения кальция через боковые срезы выделенной роговой оболочки при ее инкубировании, проведена серия исследований роговицы на изолированных глазах кролика.

В литературе нет сведений о динамике проникновения ЭДТА и ДТПА через эпителий роговицы; реакция комплексообразования с кальцием, по-видимому, происходит на границе раствор/эпителий. В связи с этим растворы комплексонов меняли через каждые 15 мин; максимальная эффективность извлечения ионов наблюдалась после 2-й или 3-й смены растворов. Полученный результат, по-видимому, лимитируется скоростью диффузии ионов кальция из более глубоких слоев роговицы к эпителию (табл. 3).

Применение папаина в наших экспериментах позволяло разрыхлять эпителий и, по-видимому, в более глубокие слои роговицы, что улучшает диффузию разных веществ через нее [1, 6, 10]. Работа с ферментами-протеазами подлежит продолжению и анализу [11, 14, 15].

Роговица, как известно, не имеет собственных сосудов, что обеспечивает ей прозрачность. Она питается за счет тканевого дыхания (слеза, кислород воздуха), влаги передней камеры, перикорнеальной сосудистой сети. Патологические процессы в роговице приводят к нарушению ее прозрачности и как следствие – к снижению зрительных функций. Основные причины помутнения роговицы – травмы, воспаление и их исходы, дистрофия и новообразования. Дистрофии

Таблица 1

Клинические признаки адсорбции кальция изолированной роговицей

Количество связанного Са, ммоль/г	Концентрация раствора СаCl ₂ для инкубации роговицы, м/л			
	0,02	0,05	0,075	0,12
0,025	П	–	–	–
0,05	–	См	–	–
0,075	–	–	См	–
0,12	–	–	–	М

Примечание. Степень помутнения роговицы определяли визуально: п – прозрачная; см – слабомутная; м – мутная.

Таблица 2

Динамика извлечения Са⁴⁵ из изолированных роговиц препаратами-комплексообразователями

Масса образцов роговицы, мг	Концентрация десорбента, М	Остаточная активность ткани (имп/100с/1г ткани)	Извлечение, %	Степень мутности ткани
ЭДТА				
101,8	0,01	197	94,0	См
93,7	0,005	160	35,1	См
102,9	0,0035	233	93,0	М
ДТПА				
131,7	0,01	144	96,6	П
121,0	0,005	231	93,0	П
130,3	0,035	228	93,1	П
103,2	0,85% NaCl	468	85,8	См

Таблица 3

Извлечение ионов Са⁴⁵ из роговиц изолированных глаз без выделения ткани роговицы

Время десорбции, мин	Условия десорбции					
	1	2	3	4	5	6
30	6	8	12	22	35	35
60	9	11	14	30	68	82
90	18	18	19	38	95	97
120	52	52	56	50	-	-
150	70	70	76	84	-	-

Примечание. Представлена десорбция Са⁴⁵ из роговицы изолированного глаза, выраженная в процентах, в зависимости от длительности экспозиции: 1 – 0,01М ЭДТА; 2 – 0,005М ЭДТА; 3 – 0,01М ДТПА; 4 – 0,005М ДТПА; 5 – Папаин + 0,01М ЭДТА; 6 – Папаин + 0,01 М ДТПА.

роговицы бывают врожденными и приобретенными [13, 16, 20]. В результате любого из этих заболеваний, как правило, в роговице происходит помутнение.

Дистрофические изменения в роговице возникают при нарушении ее метаболических про-

цессов. В структуре заболеваний глаз дистрофии, возникшие после воспалительных процессов, вызванных нарушениями метаболизма, занимают 2-е место и плохо поддаются лечению из-за особенностей изменений в тканях. Отложение кристаллов в роговице наблюдается при цистинозе, кристаллических дистрофиях, подагре, нефропатиях, тирозинемии II типа, пропитывании боуменовой мембраны кальцием.

Кальцийзависимая кератопатия – частый спутник таких общих расстройств, как саркоидоз, паратиреоидальная патология, ювенильный ревматоидный артрит, гиперкальциемия, отравление витамином D. Она может развиваться у старых людей, а также на слепых и субатрофичных глазах. Отложение кальция часто первоначально локализуется в пределах глазной щели, начинаясь от наружного и внутреннего лимба. Оно медленно прогрессирует до тех пор, пока не пересечет всю роговицу. В самом же помутнении обнаруживается множество точечных углублений. На остальном протяжении роговица относительно прозрачна. Помутнение обусловлено гиалиновой инфильтрацией поверхностных слоев стромы с последующим отложением известковых солей, т.е. происходит кальцификация участка дегенерации. Из-за отложения известковых солей поверхность роговицы становится сухой, шероховатой; со временем возможно отторжение пластинок ороговетшего эпителия, пропитанного солями. Грубые солевые отложения могут травмировать слизистую оболочку века. Лентовидная дистрофия роговицы у детей часто сочетается с полиартритом, изменениями в лимфатических узлах.

Клинические признаки отложения кальция – периферические, расположенные между веками кальциевые бляшки-наложения. Наиболее часто встречающейся разновидностью кальцийзависимой дистрофии является лентовидная кератопатия – это либо тонкий слой отложений кальция с носовой и височной стороны по лимбу, либо отложения, закрывающие для осмотра радужку и зрачок. В бляшках часто имеются «дырки», придающие им вид «швейцарского сыра».

Лечение легких форм заболевания начинают с ежедневного применения препаратов искусственной слезы, что сочетается с использованием лечебных контактных линз [10, 12, 17]. Однако такое лечение при данном виде кератопатии не всегда достаточно эффективно, часто необходимо применение более сложных и радикальных подходов, в частности хирургических.

Кальцийзависимые кератопатии – кератопатии, не снимаемые лубрикантами.

Отдаленные последствия патологии роговицы обуславливают до 50% случаев стойкого снижения остроты зрения или даже слепоты.

При выраженных поражениях роговицы, связанных с кальцификатами, проводят поверхностную кератоэктомию, показания к которой чаще всего – оптические, косметические, противоболевые.

Лентовидная кератопатия может рецидивировать, если состояние, являющееся его причиной, возникает вновь или продолжается.

После хирургического удаления эпителия роговицы скальпелем проблемную зону обычно протирают целлюлозной губкой с хелатирующим компонентом. Эта процедура может продолжаться до 30 мин. Есть данные о применении, в частности, ЭДТА для снижения концентрации кальция в роговице у пациентов с лентовидной кератопатией [2, 19]. На большой группе пациентов (65 глаз) с лентовидной кератопатией в 98% случаев продемонстрированы положительные результаты хелатирования. Облегчение симптомов частичное или полное – было достигнуто у всех пациентов. Однако у части больных (в 17% случаев) в отдаленные сроки (иногда – через несколько лет) наблюдались рецидивы заболевания. Наибольшее число рецидивов отмечали у больных, перенесших увеит. Авторы делают вывод, что хелатирование является эффективным методом лечения кальцифицирующей кератопатии, и на основании своих наблюдений рекомендуют этот метод, когда консервативные меры не принесли желаемого результата.

Мы применили объективный высокочувствительный радиоизотопный метод для оценки динамики просветления роговицы. Кроме того, нами впервые применен для этих целей ферментный препарат папаина, чтобы улучшить проникновение хелатирующего агента через эпителий роговицы. Данный подход позволяет избежать хирургического удаления эпителия роговицы. Папаин имеет неоспоримые преимущества перед любыми известными протеазами. Диапазон действия папаина весьма широк: он активен в пределах pH от 3 до 12, а его pH-оптимум составляет 5–8. Для сравнения: оптимальное значение pH пепсина 1,5–2,0, что делает совершенно невозможным его применение в офтальмологии из-за крайне кислых значений pH для его активации. В то же время папаин успешно гидролизует белки, пептиды, амиды, эфиры аминокислот, разрушает жесткие волокна при pH, близких к нейтральным, что соответствует состоянию кислотности тканей глаза. К тому же папаин активизирует иммунную систему, уменьшает воспаление, улучшает регенерацию тканей; его применяют при лечении ран, в том

числе гноящихся ожогов. Все эти качества фермента крайне желательны для его применения в клинике.

В здоровых тканях есть ингибиторы папаина, и потому этот фермент не разрушает здоровые ткани; только нежизнеспособные поврежденные структуры подвергаются гидролитическому расщеплению. Следует отметить, что сегодня папаин широко применяется в дерматологии, косметологии, гинекологии [1]. Применение папаина в нашем случае облегчило хелатирующим комплексобразователям проникновение через эпителий роговицы, что способствовало высвобождению ионов кальция, значительно повышало прозрачность роговицы, а следовательно, уменьшало инвалидизацию при травмах, воспалительных заболеваниях и дистрофиях роговицы. Анализ полученных результатов дает основание применять этот метод, избегая хирургического вмешательства в ткань роговицы. Процедуры инстилляций папаина и комплексобразователей могут осуществляться медсестрами после соответствующего инструктажа.

Литература

1. Альмешева Г. К. Применение Вобэнзима в лечении патологий органа зрения. Вестник КАЗНМУ. 2012; 2: 94–5.
2. Артемов А.В., Бурячковский Э.С. Перспективы применения таргетной антицитокининовой терапии на основе хелатных наноконплексов (на примере глазной патологии) Art of medicine. 2018; 1 (5): 14–8.
3. Архипова О.Г., Зорина Л.А., Сорокина Н.С. Комплексоны в клинике профессиональных болезней. М., 1975.
4. Бабанов С.А. Профессиональные заболевания органа зрения, связанные с воздействием физических факторов, РМЖ «Клиническая офтальмология». 2015; 16 (2): 89–94.
5. Бойко Э.В., Даниличев В.Ф., Сажин Т.Г., Белогуров А.А., Дельвер Е.П., Агафонова О.В., Суворов А.С. Методы клинического применения рекомбинантной проурокиназы в офтальмологической практике. Клиническая офтальмология. 2017; 2: 118–29.
6. Декина С.С., Романовская И.И., Овсепян А.М., Балашова М.В., Исследование стерилизации глазных лекарственных пленок с иммобилизованными белками. Химико-фармацевтический журнал. 2015; 4: 52–6.
7. Диденко Е.В., Батманов Ю.Е., Лещенко И.А. Применение силикон-гидрогелевых контактных линз в лечении язвенных кератитов. Вестник РГМУ. 2008; 6: 70–3.
8. Добрица Т.А., Саркисян К.А. Случай развития лентоидной дегенерации роговицы на фоне приема препаратов, содержащих кальций. Офтальмологические ведомости. 2008; 1 (3): 80–2.
9. Каноков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Яхина О.М. Кислоты при ожогах роговицы. Бюллетень СО РАМН. 2014; 34 (3): 37–40.
10. Коломейцева Г.Я. В кн. Физико-химические методы в молекулярной биологии. М., 1978; 173.

11. Максимова О.Н., Каргер Е.М., Скулачев М.В. Профилактика и лечение повреждений роговицы у лиц, применяющих мягкие контактные линзы. Медицинский совет. 2014; 17: 134–7.

12. Очирова Е.К., Плеханов А.Н. Медикаментозное лечение ожогов глаз. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010; 3 (73): 364–9.

13. Пучковская Н.А., Шульгина Н.С., Непомнящая В.М. Патогенез и лечение ожогов глаз и их последствий. М., 1973.

14. Романовская Н.Н., Декина С.С., Челанова Р.И., Сотникова Е.П. Технология получения и изучение токсичности глазных лекарственных пленок с папаином и мочевиной. Химико-фармацевтический журнал. 2012; 46 (3): 37–9.

15. Тризна Е.Ю., Байдашина Д.Р., Холявка М.Г., Шарафутдинов И.С., Хаирутдинова А.Р., Хафизова Ф.А., Закирова Е.Ю., Хафизов Р.Г., Богачев М.И., Каюмов А.Р. Растворимые и иммобилизованные папаин и трипсин-деструкторы бактериальных биопленок. Россия гены&клетки. 2015; X (3): 106–12.

16. Труфанов С.В., Саловарова Е.П., Текеева Л.Ю. Дегенерации роговицы. Вестник офтальмологии. 2018; 5 (ч. 2): 282–8.

17. Яни Е.В., Селиверстова К.Е. Вопросы терапии дистрофических изменений переднего отдела глаза. Медицинский совет. 2016; 4: 88–91.

18. Jhanji V., Rapuano C.J., Vajpayee R.B. Corneal calcific band keratopathy. Curr Opin Ophthalmol. 2011; 22 (4): 283–9.

19. Najjar D.M., Cohen E.J., Rapuano C.J., Laibson P.R. EDTA chelation for calcific band keratopathy: results and long-term follow-up. Am. J. Ophthalmol. 2004; 137 (6): 1056–64.

20. Weiss J.S., Moller H.U., Aldave A.J., Seitz B., Bredrup C., Kivela T., Munier F.L., Rapuano C.J., Nischal K.K., Kim E.K., Sutphin J., Busin M., Labbe A., Kenyon K.R., Kinoshita S., Lisch W. IC3D Classification of Corneal Dystrophies—Edition 2. Cornea. 2015; 34: 117–59.

NONOPERATIVE APPROACH TO TREATING CALCIUM-DEPENDENT KERATOPATHIES

Prof. O.S. Komarov, Biol.D¹; T.V. Belikova, Cand. Med. Sci.²; E.A. Slesareva³; M.O. Komarova¹; Prof. A.G. Mustafin, MD¹

1N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,

1, Ostrovityanov St., Moscow 119997, Russian Federation
2S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Intersectoral Research and Technical Complex

59a, Beskudnikovskiy Boulevard, Moscow 127486, Russian Federation

3M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical Research Institute,

61/2 Shchepkin St., Moscow 129110, Russian Federation

The paper gives information on corneal injuries that accounts for 20% of total eye pathology. These diseases include some types of keratopathy, burns of the eye with lime and those of the cornea with carbide - not the only and, apparently, not the main damaging mechanism.

Key words: corneal opacity; adsorption of calcium ions, proteolytic enzymes, diffusion processes.

For reference: Komarov O.S., Belikova T.V., Slesareva E.A.; Komarova M.O.; Mustafin A.G. Nonoperative approach to treating calcium-dependent keratopathies. Meditsinskaya Sestra. 2020; 22 (1): 40–43. <https://doi.org/10.29296/25879979-2020-01-09>