

УДК 617.7

Увеличение концентрации гиалуронана в слезной жидкости после нахождения контактных линз в многофункциональном растворе Biotrue



К. Э. Шейер,

магистр естественных наук (биохимия), сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)



М. Дж. Ра,

д-р филос., д-р оптометрии, сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)



У. Т. Рейндел,

д-р оптометрии, сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)

Перевод: Е. А. Перфильева, медицинский советник Bausch + Lomb Vision Care

Статья опубликована в журнале *Clinical Ophthalmology* (2016. Vol. 10. P. 1945–1952). Перевод печатается с разрешения правообладателя – компании Bausch & Lomb Inc.

Аннотация

Цель. Исследование проводилось, чтобы определить: 1) какая концентрация гиалуронана (соль гиалуроновой кислоты, ГК) в слезной пленке у тех, кто носит контактные линзы (КЛ) и кто не пользуется ими; 2) сорбируется ли ГК из многофункционального раствора (МФР) Biotrue, содержащего ГК, на поверхности КЛ из материала сенофилкон А и влияет ли это на концентрацию ГК в слезе через 2 ч ношения линзы.

Выбор пациентов и методы исследования. Был проведен анализ слезы у тех, кто носит и не носит КЛ, – в начале эксперимента и через 2 ч ношения линз; слезная жидкость собиралась с помощью тест-полосок для пробы Ширмера, предварительно смоченных в растворе для чувствительных глаз или находившихся в МФР Biotrue в течение 14 ч. Концентрацию ГК измеряли с помощью иммуноферментного анализа в соответствии с объемом образцов.

Результаты. Не было обнаружено значимых различий в исходных концентрациях ГК в слезе пользователей КЛ и тех, кто их не носит ($p = 0,07$), и не выявлено значимых различий между мужчинами и женщинами ($p = 0,06$). Однако наблюдалась обратная отрицательная связь между возрастом и концентрацией ГК ($p < 0,01$), и ношение КЛ способствовало отрицательной связи ($p < 0,01$). Среди испытуемых, чьи контактные линзы предварительно смочили физиологическим раствором, изменения в концентрации ГК в слезной жидкости через 2 ч ношения КЛ не отмечено ($p = 0,38$). Напротив, значительное увеличение концентрации ГК по сравнению с исходным значением ($p = 0,01$) и с концентрацией ГК в контрольной группе ($p = 0,03$) наблюдалось в слезе у пациентов, чьи линзы были предварительно помещены в МФР Biotrue.

Выводы. 1. В ходе исследования не было обнаружено различий в концентрации ГК в слезе между пользователями КЛ и теми, кто ими не пользуется. 2. После 2 ч ношения линз из материала сенофилкон А, предварительно находившихся в МФР Biotrue, концентрация ГК в слезной жидкости пользователей КЛ увеличивалась.

К л ю ч е в ы е с л о в а: гиалуронан, контактные линзы, МФР, синдром сухого глаза

Таблица 1

Функции гиалуронана в человеческом глазу

Удерживает воду (~1000 раз больше своей массы) [14, 15]
Увеличивает толщину слезной пленки [27]
Увеличивает время разрыва слезной пленки [16–18]
Стабилизирует слезную пленку [5, 16, 24, 52, 53]
Снижает скорость испарения слезной жидкости [54]
Поддерживает смачиваемость роговицы и предотвращает обезвоживание роговицы [19, 45, 55, 56]
Смазывает глазную поверхность во время мигания и движения глаза [9, 55]
Уменьшает частоту моргания [57]
Снижает проявление симптома сухости глаза [16–18, 24, 25, 58]
Стабилизирует поверхностный эпителиальный барьер [5, 12]
Способствует миграции клеток в эпителии роговицы [4, 5, 10]
Предотвращает окислительное повреждение клеток свободными радикалами [35, 59]
Уменьшает воспаление [60]
Снижает токсический эффект консервантов глазных капель и растворов [19, 35, 36]
Способствует заживлению ран и восстановлению эпителия [4, 5, 11, 12]

Введение

Гликозаминогликан гиалуронан (соль гиалуроновой кислоты, далее ГК) является биологическим полимером, состоящим из глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, присутствующих в организме человека [1]. Его молекулярная структура у млекопитающих очень специфична; молекула распознается различными рецепторами клеточной поверхности, которые подают сигнал к последующим реакциям, особенно во время роста или процесса заживления повреждений [2]. Кроме того, ГК богата химическими связями, которые удерживают воду [3]. Распределение ГК специфично для разных тканей, но во многих структурах привязано к рецептору CD44, специфично реагирующему на ГК и фибронектин [4, 5].

ГК в организме человека

ГК содержится в большом количестве в межклеточном веществе и перицеллюлярном матриксе, причем примерно половина – в коже, а остальное – в других анатомических структурах, таких как синовиальная жидкость, пуповина и глаз [6]. ГК и производные успешно применяются в клинической практике в дерматологии [7], ортопедии [7] и офтальмологии.

ГК в глазах

ГК присутствует во многих структурах глаза, включая слезные железы, эпителий конъюнктивы, конъюнктивальную строму, эпителий, эндотелий и строму роговицы, кератоциты и внеклеточный матрикс, а также в большинстве биологических жидкостей, включая слезу. Среди функций ГК отмечается стимуляция миграции клеток эпителия роговицы и способствование заживлению поврежденный [4, 5, 10] предположительно путем стимуляции пролиферации эпителиальных клеток [4, 5, 11, 12]. Дополнительный рецептор для клеточного захвата ГК называется рецептором для ГК-опосредованной моторики (receptor for HA-mediated motility – RHAMM) [13]. В табл. 1 представлены исследования, в которых перечислены преимущества ГК, оказывающие положительный эффект на слезную пленку и поверхность роговицы.

Гидрофильные и гигроскопические характеристики ГК хорошо известны [14, 15]. Ее присутствие на поверхности роговицы способствует удержанию воды и повышает смачиваемость [16–19]. В то время как гистологические исследования показывают, что ГК обнаруживается в строме роговицы [4], ее наличие в слезе [9, 20] предполагает, что с помощью рецепторов CD44 может происходить сорбция ГК на поверхности эпителия, в результате чего стабилизируется прероговичная слезная пленка [5]. Однако «нормальная» концентрация ГК в натуральной слезе до конца не определена, так как при относительно низких концентрациях отмечается широкий диапазон значений в глазах без контактных линз (от неопределяемого до $840,6 \times 10^3$ нг/мл) и низкие концентрации, но с меньшим разбросом значений у носителей КЛ и пациентов с синдромом сухого глаза ($(1,4 \div 40,0) \times 10^3$ нг/мл) [21].

Дополнительный источник гиалуроновой кислоты

Использование ГК в офтальмологии, в том числе в качестве слезозаменителей, хорошо изучено [8, 22, 23]. В многочисленных исследованиях сообщается, что глазные капли, содержащие гиалуроновую кислоту, эффективны для облегчения симптомов сухости гла-

за [17, 18, 24, 25]. ГК сочетает в себе мукоадгезивные свойства и гигроскопичность, что позволяет как связывать воду, так и удерживать ее на поверхности глаза.

Гиалуроновая кислота также может использоваться носителями контактных линз в виде глазных капель. Гурни (Gurny) и соавт. сообщили о нулевом клиренсе ГК в первые 195 с после инстиляции растворов с гиалуроновой кислотой, а также об удержании на глазной поверхности половины или более инстиллированной ГК (в зависимости от концентрации раствора) [26]. Кайя (Kaya) и соавт. получили данные о том, что ГК, содержащаяся в глазных каплях, увеличивает толщину слезной пленки (в отсутствие КЛ) на протяжении 30 мин [27]. Аналогичным образом Гарциа-Лазаро (García-Lázaro) и соавт. [28] сообщают, что имеющиеся в продаже увлажняющие капли, содержащие ГК, увеличивают объем слезы по крайней мере на 10–20 мин после закапывания, а возможно, и дольше (Blink Contacts; АМО, Санта-Ана, Калифорния, США) [29]. Эти наблюдения показывают, что контактные линзы могут использоваться в качестве средства доставки гиалуроновой кислоты к глазной поверхности и слезной пленке, таким образом обеспечивая преимущества увеличения концентрации гиалуроновой кислоты при ношении контактных линз. В табл. 2 приведены предполагаемые преимущества применения ГК.

ГК, помимо использования в составе глазных капель и увлажняющих капель для контактных линз, также применяется в качестве увлажняющего агента в некоторых многофункциональных растворах (МФР) для ухода за КЛ. К ним относятся МФР Biotrue (Bausch & Lomb Inc., Рочестер, Нью-Йорк, США) и некоторые другие, используемые в разных странах. МФР Biotrue представляет собой стерильный изотонический раствор, содержащий 1,4 МДа молекулы гиалуронана (массовая доля 0,01 %) [30], сурфактанты и дезинфектанты [31]. Есть данные о том, что высокомолекулярный гиалуронан, входящий в состав МФР, легко сорбируется линзами из силикон-гидрогелевых материалов, в том числе с основой из полимеров 2-гидроксиэтилметакрилата, во время их хранения в растворе, а затем в исследовании *in vitro* выделяется из них в раствор искус-

Таблица 2

Преимущества добавления гиалуронана

Повышение стабильности свойств слезной жидкости [5, 16, 24, 52, 53]
Повышение смачиваемости роговицы [19, 45, 55, 56]
Увеличение времени разрыва слезной пленки [16–18]
Снижение скорости испарения слезы [54]
Снижение адгезии белков и бактерий [23]
Снижение прокрашивания роговицы [24]
Снижение проявления симптомов сухости глаза [16–18, 24, 25, 58]

ственной слезы в течение 20 ч [22, 32]. Кроме того, отмечалось увеличение смачиваемости поверхности КЛ из разных материалов [33]. МФР Biotrue хорошо зарекомендовал себя в клинической практике, пациенты и специалисты выражают высокую степень удовлетворенности, основанную на объективных и субъективных критериях, в частности на ощущении комфорта в конце дня ношения КЛ [34].

Опираясь на исследования с указанием преимуществ гиалуроновой кислоты, входящей в состав натуральной слезы, глазных капель для устранения сухости глаз и увлажняющих капель для контактных линз, а также на литературные данные о выделении ГК из линзы, находившейся в растворе с ГК, можно предположить, что линзы, которые на ночь были помещены в МФР Biotrue, будут обеспечивать доставку гиалуроновой кислоты в слезную пленку при ношении КЛ пользователем. Целью настоящего исследования было определить, будет ли ГК, сорбированная из МФР Biotrue поверхностью силикон-гидрогелевых КЛ, выделяться затем из нее на поверхность глаза и обнаруживаться в слезной пленке через 2 ч ношения линзы.

Материалы и методы

Дизайн клинического исследования

Это рандомизированное простое слепое контралатеральное исследование проводилось в соответствии с принципами, изложенными в Хельсинкской декларации, и было одобрено Независимым советом по Юго-Западной Европе. Письменное информированное согласие было получено от каждого из 25 субъектов, отобранных для исследования по возрасту и полу (12 опытных пользователей КЛ и 13 лиц,

не использующих КЛ). Исследование было зарегистрировано с помощью идентификатора клинических испытаний NCT01317030.

Выделение ГК в слезную пленку во время ношения контактных линз

На первом этапе исследования слезную жидкость собирали во время трех последовательных визитов с разрывом не более трех дней как у пользователей КЛ, так и у тех, кто их не носит. Объем и концентрация ГК измерялись по методу, описанному ниже. На втором этапе исследования пользователи КЛ во время трех последующих посещений специалиста с разрывом не более трех дней носили линзы из материала сенофилкон А (Acuvue Oasys, Vistakon; Джэксонвилл, Флорида, США): на одном глазу – контрольную линзу, обработанную раствором для чувствительных глаз Eyes Saline (Bausch + Lomb), на другом – тестовую линзу, которую предварительно на 14 ч помещали в МФР Biotrue. На каждом осмотре специалист рандомно определял, на какой глаз будет помещаться контрольная линза, а на какой – тестовая. Слезную жидкость собирали с помощью тест-полосок, проводя пробу Ширмера, показания фиксировали до и после 2 ч ношения КЛ. До проведения анализа полоски хранились в замороженном виде.

Измерение концентрации ГК в собранных образцах слезы

Гиалуоновую кислоту выделяли из размороженных тест-полосок, смоченных 0,1 мл сбалансированного солевого раствора Хенкса (код продукта 14025; GIBCO, Уолтем, Массачусетс, США) путем сворачивания и центрифугирования. Концентрации ГК в экстракте измеряли с помощью иммуноферментного анализа (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) (код продукта K-1200; Echeleon Biosciences, Солт-Лейк-Сити, Юта, США) с учетом объема собранных образцов.

Статистический анализ

На первом этапе исследования исходные концентрации ГК и объемы слезы измерялись в каждом глазу 12 опытных пользователей КЛ и 13 пациентов, которые не носят КЛ, во время всех трех посещений ими специали-

та. Соответствующие средние значения были рассчитаны для каждого глаза из данных трех визитов каждого пациента, а достоверность различий между группами пациентов проверялась с помощью критерия Уилкоксона.

Каждое измеренное значение концентрации, выраженное в нанogramмах на миллилитр (нг/мл), переводили в натуральное логарифмическое значение, близкое к нормальному распределению; для выявления корреляции данных по разным показателям у обеих групп пациентов использовалась модель смешанных эффектов. Временная переменная (возраст) была проанализирована с использованием модели линейных регрессионных смешанных эффектов с \ln [ГК] в качестве переменной результата. Категориальную переменную (пол) анализировали с применением повторного анализа мер дисперсии с \ln [ГК] в качестве переменной результата. Для оценки различий в концентрациях ГК использовали повторный дисперсионный анализ. При значении $p \leq 0,05$ разница считалась статистически значимой.

На втором этапе исследования 12 опытных пользователей КЛ на одном глазу носили линзу, обработанную физиологическим раствором, а на другом – линзу, предварительно выдержанную в МФР Biotrue. Концентрацию ГК измеряли в слезной жидкости, собранной из каждого глаза на каждом из трех визитов; данные преобразовывали в их натуральные логарифмические значения для статистического сравнения.

Результаты

Всего в этом рандомизированном простом слепом контралатеральном исследовании участвовали 25 человек, подходящих по возрасту и полу (12 носителей КЛ и 13 пациентов, не использующих КЛ).

Исходные данные объема образцов и концентрации ГК

Исходные концентрации ГК, измеренные в образцах слез основной и контрольной групп, варьировали в диапазоне от неопределяемых до $(3,02 \times 10^3)$ нг/мл. Объем собранных образцов менялся от 1 до 35 мкл с показателями

Таблица 3

Исходная концентрация ГК и объем слезной жидкости у носителей и не носителей КЛ

Показатель	Носители КЛ (n = 24)		Не носители КЛ (n = 26)		Значение p
	М	SD	М	SD	
Концентрация ГК, нг/мл	207	295	115	159	0,07
Объем слезной жидкости, мл	21,0	11,6	19,5	11,3	0,57

Примечание. Здесь и в последующих таблицах: М – среднее значение, SD – стандартное отклонение.

Таблица 4

Соотношение между концентрацией ГК и полом исследуемых

Группа	Пол	Концентрация ГК, нг/мл		Значение ln [ГК], нг/мл		Значение p
		М	SD	М	SD	
Все	Ж	88	83	4,08	0,157	0,06
	М	224	307	4,50	0,151	
Носители КЛ	Ж	111	103	4,25	0,232	0,09
	М	304	389	4,81	0,232	
Не носители КЛ	Ж	66	52	3,91	0,190	0,23
	М	156	206	4,23	0,176	

(21,0 ± 11,6) мкл у носителей контактных линз и (19,5 ± 11,3) мкл у тех, кто ими не пользовался. Достоверной разницы ни в объеме образцов ($p=0,57$), ни в концентрации ГК ($p=0,07$) между группами не выявлено (табл. 3). Пол не влиял на концентрацию ГК у носителей КЛ ($p=0,09$), у субъектов, не использующих КЛ ($p=0,23$), так же как и у участников исследования в целом ($p=0,06$; все вероятности основаны на данных, преобразованных в натуральные логарифмические значения; табл. 4). Однако наблюдалась обратная отрицательная связь между возрастом и концентрацией ГК (чем старше субъект, тем ниже концентрация ГК; $p < 0,01$), и ношение КЛ способствовало отрицательной связи ($p < 0,01$ на основе данных, преобразованных в натуральные логарифмические значения), как показано в табл. 5.

Концентрация ГК в слезе после 2 ч ношения линз

В табл. 6 приведены значения концентрации ГК в слезной жидкости носителей КЛ, преобразованные в натуральные логарифмические единицы. После ношения линз, промытых физиологическим раствором, концентрация ГК по сравнению с исходной не изменилась (см. рисунок; $p=0,38$ на основе данных, преобразованных в натуральный логарифм), также не было обнаружено различий между

Таблица 5

Соотношение между концентрацией ГК, нг/мл, и возрастом исследуемых

Группа	Отклонение	Стандартная ошибка	Значение p
Все	-0,041	0,012	<0,01
Носители КЛ	-0,044	0,015	<0,01
Не носители КЛ	-0,037	0,019	0,06

исходной концентрацией ГК в группах с использованием МФР Biotrue и сбалансированного солевого раствора (см. табл. 6; $p=0,87$ на основе данных, переведенных в натуральные логарифмические значения). В образцах слезы пациентов, которые носили КЛ, предварительно выдержанные в МФР Biotrue, наблюдалось значительное увеличение концентрации ГК по сравнению с исходным значением ($p=0,01$) и с ее концентрацией в контрольной КЛ ($p=0,03$), промытой солевым раствором.

Обсуждение

Гиалуроновая кислота присутствует в различных структурах глаза в соответствии с особенностями ткани [5]. В эпителии роговицы ГК связана с рецептором CD44. Отмечалось, что ГК, находясь на поверхности глаза, способствует миграции эпителиальных клеток и заживлению ран на роговице [10, 11] и защища-

Таблица 6

Концентрации ГК в слезной жидкости пользователей КЛ ($n=12$) до и после ношения линз, промытых физиологическим раствором и находившихся предварительно в МФР Biotrue

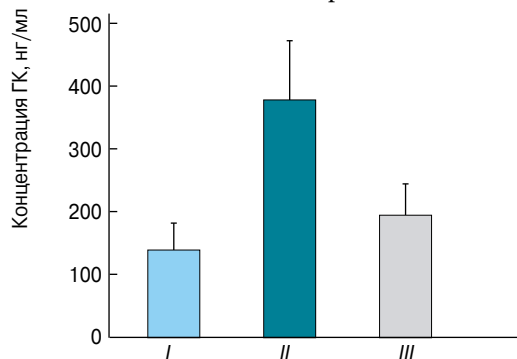
Раствор	Группа	Концентрация ГК, нг/мл		Значение ln[ГК], нг/мл		Значение p
		М	SD	М	SD	
Biotrue	До ношения	147	117	4,50	0,98	0,01
	После ношения	389	493	5,10	1,37	
Физиологический	До ношения	267	401	4,56	1,27	0,38
	После ношения	158	213	4,34	1,09	

ет ее от токсического эффекта консервантов офтальмологических растворов [19, 35, 36], а входя в состав натуральной слезы, помогает стабилизировать слезную пленку [5].

В то время как в литературе есть данные о концентрации гиалуриновой кислоты в натуральной слезе, отсутствует единое мнение о нормальном уровне концентрации ГК, возможно, по причине различной методики измерения, применявшейся в разных исследованиях. Берри (Berry) с соавт. исследовал 18 здоровых людей в возрасте 22–42 лет и 15 человек, страдающих от сухости глаз, в возрасте 32–90 лет. В этой небольшой выборке концентрация ГК в слезной жидкости «нормальных» глаз колебалась от неопределяемой до $840,6 \times 10^3$ нг/мл, у лиц, страдающих сухостью глаз, – от неопределяемой до $83,9 \times 10^3$ нг/мл,

у пользователей КЛ – от 1,4 до 40×10^3 нг/мл; причем в большинстве образцов наблюдалась очень низкая концентрация, а высокая была скорее исключением [21]. Изменение концентрации при использовании слезозаменителей в этом исследовании не было выявлено. По данным Фрескуры (Frescura) с соавт., концентрация ГК была $(0,012 \div 1,900) \times 10^3$ нг/мл в слезах после промывания физиологическим раствором до сбора образцов, и у женщин отмечалась более высокая концентрация, чем у мужчин [20]. Фукуда (Fukuda) и соавт. получили примерно такие же значения концентрации ГК – в диапазоне $(0,036 \div 1,565) \times 10^3$ нг/мл [37]. Различия в полученных данных можно объяснить разной методикой проведения исследований, но причины аномально высоких концентраций ГК в слезе пока плохо объяснимы.

В настоящем исследовании исходная концентрация ГК в образцах составляла от неопределяемых величин до $3,02 \times 10^3$ нг/мл, что совпадает с данными других авторов [20, 37]. Ни ношение КЛ ($p=0,07$; см. табл. 3), ни пол ($p=0,06$; см. табл. 4) не имели влияния на значение исходной концентрации ГК. Однако тенденция к повышению концентрации ГК у носителей КЛ (см. табл. 3) все-таки отмечалась. Напротив, Фрескура и соавт. [20] отметили тенденцию к снижению концентрации ГК в слезе у женщин больше, чем у мужчин (см. табл. 4). Большой разброс исходных значений концентрации ГК усложняет интерпретацию статистических данных. Значимые различия в средней концентрации ГК в образцах между группами (207 нг/мл против 115 нг/мл для лиц, пользующихся КЛ и не использующих их соответственно; 224 нг/мл против 88 нг/мл для мужчин и женщин соответственно; 304 нг/мл против 111 нг/мл для мужчин и женщин – пользователей КЛ соответственно; 156 нг/мл против



Концентрация ГК ($M \pm SD$, нг/мл; нижние значения отклонения опущены) в слезной жидкости до ношения и после 2 ч ношения линз из материала сенофилкон А, промытых физиологическим раствором и предварительно помещенных в МФР Biotrue на 14 ч:

I – линзы, обработанные сбалансированным солевым раствором; *II* – линзы, находившиеся в МФР Biotrue; *III* – исходная концентрация

Показатели концентрации ГК были проверены на значимость с использованием модели смешанных эффектов после преобразования в натуральные логарифмические значения до показателей, близких к нормальному распределению. Концентрация ГК после 2 ч ношения линзы, промытой физиологическим раствором, не отличалась от исходной величины ($p=0,38$), тогда как концентрация ГК после ношения линзы, находившейся в МФР Biotrue, была выше, чем изначально ($p=0,009$), и выше, чем после ношения линзы, промытой физиологическим раствором ($p=0,33$)

66 нг/мл для мужчин и женщин, не использующих КЛ, соответственно) не имели статистически достоверной разницы, а разброс полученных данных может быть по причине малого объема выборки и большого диапазона стандартных отклонений, присущих концентрации ГК (295 нг/мл против 159 нг/мл для носителей и не носителей КЛ соответственно, 307 нг/мл против 83 нг/мл для мужчин и женщин соответственно; 389 нг/мл против 103 нг/мл для мужчин и женщин – носителей КЛ соответственно; 206 нг/мл против 52 нг/мл для мужчин и женщин, не использующих КЛ, соответственно).

Также установлено, что возраст имеет обратную отрицательную связь с исходной концентрацией ГК в образцах слезы у пользователей КЛ и в исследуемой выборке пациентов ($p < 0,01$; см. табл. 5). Стоит отметить, что во время старения организма изменения в липидном слое слезной пленки снижают ее стабильность [38], уменьшают объем [39], увеличивают испаряемость [40] и сокращают время ее разрыва [41] независимо от пола, хотя в некоторых исследованиях негативный эффект отмечается у женщин больше, чем у мужчин [38]. Эти данные коррелируют со снижением концентрации ГК в слезной жидкости при старении.

Физические, химические и биохимические характеристики гиалуроновой кислоты делают ее почти идеальным компонентом слезозаменителей. Способность к мукоадгезии позволяет молекуле прикрепляться к поверхностям и длительно удерживаться [42]. Тавацци (Tavazzi) и соавт. показали, что ГК легко сорбируется на поверхности КЛ из первой группы силикон-гидрогелей по классификации FDA (Safilens), заполняет поры и связывается с поверхностью [43]. Мочизуки (Mochizuki) и группа исследователей отметили, что при инстиляции ГК до надевания линзы теряется меньше влаги, и это говорит о сохранении ГК на поверхности глаза [44]. Гидрофильные характеристики гиалуроновой кислоты обеспечивают увеличение увлажнения и смачиваемости роговицы [45]. Кроме того, это, вероятно, способствует сохранению здоровья глазной поверхности благодаря реакциям биохимического взаимодействия с эпителием [4, 5, 10]. Эти характеристики ГК привели

к разработке ряда продуктов с ее содержанием, которые используются по различным офтальмологическим показаниям, для разных манипуляций, а также в препаратах искусственной слезы [8].

Капли с гиалуроновой кислотой успешно применяются как дополнительный источник ГЛ для слезной жидкости в целях облегчения симптомов сухости глаз. Джонсон (Johnson) и соавт. сообщают о снижении симптомов раздражения глаз и увеличении времени разрыва слезной пленки у пациентов после закапывания капель, содержащих 0,1 или 0,3 % ГК [17]. Вогель (Vogel) и соавт. отметили, что глазные капли, содержащие 0,18 % ГК, эффективны при признаках сухости глаза как по объективным, так и по субъективным показателям [25]. Кондон (Condon) и соавт. получили схожие данные для глазных капель с содержанием ГК 0,1 % [24]. Саид (Saeed) и др. обнаружили, что ГК-содержащие гели эффективны для уменьшения симптомов синдрома сухого глаза, включая ощущение инородного тела, зуд, жжение, слезотечение, светобоязнь и чувство сухости [18].

По аналогии с использованием ГК-содержащих капель при лечении синдрома сухого глаза капли с гиалуроновой кислотой можно использовать для увлажнения и уменьшения симптомов сухости при ношении контактных линз [28, 29, 46]. Хотя капли обеспечивают увеличение концентрации ГК при закапывании, сохранение ГК в слезной пленке может быть не настолько длительным, как в случае ношения КЛ в течение дня [26].

С учетом ограниченных возможностей доставки ГК к поверхности глаза и слезной пленке с помощью капель Ван Бик (Van Beek) и соавт. предложили использовать КЛ, которые способны сорбировать ГК из спиртового раствора и могут обеспечить доставку как свободной ГК с высокой относительной молекулярной массой, так и связанной ГК с более низкой относительной молекулярной массой [23]. Они сообщили об освобождении ГК с молекулярной массой 900 кДа из полимерного материала линзы (2-гидроксиэтилметакрилата), причем половина первоначального содержания ГК выделилась из материала в первые 5 ч, а 90 % – после однодневной инкубации в бу-

ферном фосфатном растворе, в то время как молекулы связанной ГК массой 35 и 169 кДа оставались в структуре материала и не выделялись из КЛ. Али (Ali) и Бирн (Byrne) разработали материал КЛ с повышенным сродством к ГК, в основе которого лежит нелфилкон А, и тщательно отобрали акриловые и метакриловые мономеры, которые имитируют аминокислоты из рецептора CD44, связывающего ГК [47]. Макромер поливинилового спирта перед добавлением функциональных мономеров акриламида – N-винилпирролидона и 2-этилметакрилата – сначала смешивали с 1,2 кДа ГК. Коэффициент диффузии ГК через гидрогель в зависимости от концентрации и свойств функциональных мономеров снижался в три раза, обеспечивая определенную скорость высвобождения ГК более 24 ч в эксперименте *in vitro*. Недавно Мольви (Maulvi) и соавт. сравнили выделение ГК гидрогелевой линзой, предварительно пропитанной раствором ГК, с линзой, в материале которой содержится ГК. Они обнаружили, что добавление ГК в материал КЛ в высокой концентрации сказывается на фильтрационной способности полимера и вызывает набухание линзы [48]. При снижении концентрации физические свойства контактных линз были в норме, а среднее значение концентрации ГК в слезе кроликов было выше, чем при использовании увлажняющих капель. Фагнола (Fagnola) и соавт. получили концентрацию ГК $2,0 \times 10^3$ нг/мл при выделении ГК из коммерчески доступного материала филкон 1Б с гиалуронатом (Safe-Gel; Safilens s.r.l., Старанцано, Италия) [49] после пятидневной инкубации в деионизированной воде [50]. Уикс (Weeks) и соавт. сообщают о высвобождении ГК из материала линзы на протяжении 3–7 недель, в зависимости от типа полимера [51].

Ранее в исследовании *in vitro* было зафиксировано высвобождение гиалурононовой кислоты, сорбированной из МФР Biotrue контактными линзами девяти видов из различных материалов, которое происходило непрерывно в течение 20 ч проведения эксперимента [22, 32]. Таким образом, КЛ, помещенные в МФР Biotrue на ночь, а затем надетые на глаза, могут выделять дополнительную гиалурононовую кислоту в слезную пленку и обес-

печивать некоторые преимущества, перечисленные в табл. 2, на протяжении всего дня ношения КЛ. В настоящем клиническом исследовании концентрацию ГК в слезной жидкости испытуемых измеряли через 2 ч ношения линз из материала сенофилкон А, которые предварительно либо промывали солевым раствором, либо помещали на ночь в МФР Biotrue. Ношение КЛ, промытых физиологическим раствором, не отражалось на концентрации ГК в образцах слезы [(267 ± 401) нг/мл до ношения и (158 ± 213) нг/мл после (среднее значение ± стандартное отклонение); $p=0,38$ на основе данных, преобразованных в натуральные логарифмические единицы], в то время как ношение линз, пропитанных МФР Biotrue, приводило к повышению концентрации ГК в образцах слезы [(147 ± 117) нг/мл до ношения и (389 ± 493) нг/мл после; $p=0,01$], как показано в табл. 6. Это, вероятно, подтверждает, что ГК, сорбированная из МФР Biotrue, непрерывно выделяется из КЛ как минимум на протяжении 2 ч во время эксперимента. Постепенное высвобождение ГК позволяет получить более высокую концентрацию ГК, чем при инстилляцией капель, содержащих гиалуроновою кислоту [29], которые хотя и эффективны, но требуют неоднократного использования в течение дня для достижения такого же эффекта. Частота инстилляций может быть ниже, если использовать глазные капли с ГК высокой молекулярной массы или содержащие дополнительные компоненты для удержания ГК на поверхности линзы.

При получении исходных данных по концентрации ГК в разных группах – мужчины и женщины, пользователи КЛ и нет, молодые пациенты и старшая возрастная категория (см. табл. 3–5) – были выявлены большие различия в показателях концентрации ГК и стандартном отклонении [(147 ± 117) нг/мл с КЛ, промытых физиологическим раствором, против (267 ± 401) нг/мл с КЛ, находившихся предварительно в МФР Biotrue]. Эти данные отражают высокую вариабельность концентрации ГК в слезной жидкости, природа которой на сегодня недостаточно ясна. До тех пор пока не будет полного понимания причин вариабельности концентрации ГК у разных лиц и возможности контроля, статистичес-

кая оценка этого параметра будет не слишком подходящей для дальнейших исследований.

Выводы

В предыдущем исследовании *in vitro* было сымитировано естественное смачивание поверхности КЛ и скорость слезопродукции, при этом ГК удерживалась на поверхности КЛ до 20 ч [22, 32]. Данное клиническое исследование продемонстрировало, что гиалуроновая кислота сохраняется в слезе через 2 ч ношения КЛ из материала сенофилкон А, которые предварительно выдерживали в МФР, содержащем высокомолекулярную ГК. В дальнейшем требуется выяснить, как долго сохраняется повышенная концентрация ГК в слезной пленке по сравнению с исходными данными.

Список литературы

1. Dumitriu S, ed. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 2004.
2. Price RD, Berry MG, Navsaria HA. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007; 60 (10): 1110–1119.
3. Shanker RM, Ahmed I, Bourassa PA, Carola KV. An *in vitro* technique for measuring contact angles on the corneal surface and its application to evaluate corneal wetting properties of water soluble polymers. *Int J Pharm*. 1995; 119 (2): 149–163.
4. Asari A, Morita M, Sekiguchi T, Okamura K, Horie K, Miyauchi S. Hyaluronan, CD44 and fibronectin in rabbit corneal epithelial wound healing. *Jpn J Ophthalmol*. 1996; 40 (1): 18–25.
5. Lerner LE, Schwartz DM, Hwang DG, Howes EL, Stern R. Hyaluronan and CD44 in the human cornea and limbal conjunctiva. *Exp Eye Res*. 1998; 67 (4): 481–484.
6. Kogan G, Soltés L, Stern R, Gemeiner P. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol Lett*. 2007; 29 (1): 17–25.
7. Fakhari A, Berkland C. Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomater*. 2013; 9 (7): 7081–7092.
8. Rah MJ. A review of hyaluronan and its ophthalmic applications. *Optometry*. 2011; 82 (1): 38–43.
9. Aragona P. Chapter 24. Hyaluronan in the treatment of ocular surface disorders. In: Garg HG, Hales CA, editors. *Chemistry and Biology of Hyaluronan*. Oxford: Elsevier Ltd; 2004: 529–551.
10. Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T. Hyaluronan stimulates corneal epithelial migration. *Exp Eye Res*. 1991; 53 (6): 753–758.
11. Inoue M, Katakami C. The effect of hyaluronic acid on corneal epithelial cell proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993; 34 (7): 2313–2315.
12. Yokoi N, Komuro A, Nishida K, Kinoshita S. Effectiveness of hyaluronan on corneal epithelial barrier function in dry eye. *Br J Ophthalmol*. 1997; 81 (7): 533–536.
13. Contreras-Ruiz L, de la Fuente M, Párraga JE, et al. Intracellular trafficking of hyaluronic acid-chitosan oligomer-based nanoparticles in cultured human ocular surface cells. *Mol Vis*. 2011; 17: 279–290.
14. Laurent TC, Fraser JRE. Hyaluronan. *FASEB J*. 1992; 6 (7): 2397–2404.
15. Bray BA. The role of hyaluronan in the pulmonary alveolus. *J Theor Biol*. 2001; 210 (1): 121–130.
16. Mengher LS, Pandher KS, Bron AJ, Davey CC. Effect of sodium hyaluronate (0.1%) on break-up time (NIBUT) in patients with dry eyes. *Br J Ophthalmol*. 1986; 70 (6): 422–427.
17. Johnson ME, Murphy PJ, Boulton M. Effectiveness of sodium hyaluronate eyedrops in the treatment of dry eye. *Graef Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006; 244 (1): 109–112.
18. Saeed N, Qazi Z, H Butt N, Siddiqi A, Maheshwary N, Athar Khan M. Effectiveness of sodium hyaluronate eye gel in patients with dry eye disease: a multi-centre, open label, uncontrolled study. *Pak J Med Sci*. 2013; 29 (4): 1055–1058.
19. Wysenbeek YS, Loya N, Ben Sira I, Ophir I, Ben Shaul Y. The effect of sodium hyaluronate on the corneal epithelium. An ultrastructural study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1988; 29 (2): 194–199.
20. Frescura M, Berry M, Corfield A, Carrington S, Easty DL. Evidence of hyaluronan in human tears and secretions of conjunctival cultures. *Biochem Soc Trans*. 1994; 22: 228S.
21. Berry M, Pastis WK, Ellingham RB, Frost L, Corfield AP, Easty DL. Hyaluronan in dry eye and contact lens wearers. *Adv Exp Med Biol*. 1998; 438: 785–790.
22. Scheuer CA, Fridman KM, Barniak VL, Burke SE, Venkatesh S. Retention of conditioning agent hyaluronan on hydrogel contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye*. 2010; 33 (Suppl 1): S2–S6.
23. Van Beek M, Jones L, Sheardown H. Hyaluronic acid containing hydrogels for the reduction of protein adsorption. *Biomaterials*. 2008; 29 (7): 780–789.
24. Condon PI, McEwen CG, Wright M, Mackintosh G, Prescott RJ, McDonald C. Double blind, randomised, placebo controlled, crossover, multicentre study to determine the efficacy of a 0.1% (w/v) sodium hyaluronate solution (Fermavisc) in the treatment of dry eye syndrome. *Br J Ophthalmol*. 1999; 83 (10): 1121–1124.

25. Vogel R, Crockett RS, Oden N, Laliberte TW, Molina L; Sodium Hyaluronate Ophthalmic Solution Study Group. Demonstration of efficacy in the treatment of dry eye disease with 0.18% sodium hyaluronate ophthalmic solution (vismed, rejena). *Am J Ophthalmol.* 2010; 149 (4): 594–601.
26. Gurny R, Ryser JE, Tabatabay C, Martenet M, Edman P, Camber O. Precorneal residence time in humans of sodium hyaluronate as measured by gamma scintigraphy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1990; 228 (6): 510–512.
27. Kaya S, Schmidl D, Schmetterer L, et al. Effect of hyaluronic acid on tear film thickness as assessed with ultra-high resolution optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol.* 2015; 93 (5): 439–443.
28. Garcia-Lázaro S, Madrid-Costa D, Ferrer-Blasco T, Montés-Micó R, Cerviño A. OCT for assessing artificial tears effectiveness in contact lens wearers. *Optom Vis Sci.* 2012; 89 (1): E62–E937.
29. FDA 510k Summary K032030. Blink™ CL Lubricant Eye Drops; September 25, 2003. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf3/k032030.pdf. Accessed August 24, 2016.
30. Liu XM, Harmon PS, Maziarz EP, Rah MJ, Merchea MM. Comparative studies of hyaluronan in marketed ophthalmic products. *Optom Vis Sci.* 2014; 91 (1): 32–38.
31. FDA 510 (k) Summary K083757. Bausch & Lomb BPZ02 MultiPurpose Solution; November 18, 2009. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf8/K083757.pdf. Accessed August 24, 2016.
32. Scheuer CA, Doty K, Liranso T, Burke SE. Wetting agent retention and release from hydrogel and silicone hydrogel contact lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52 (14): 6487.
33. Fagehi RA, Tomlinson A, Manahilov V. Comparative study of soft contact lens wetting *in vitro* after storage in Biotrue MPS. *Cont Lens Anterior Eye.* 2012; 35 (Suppl 1): e21.
34. Reindel W, Cairns G, Merchea M. Assessment of patient and practitioner satisfaction with Biotrue™ multi-purpose solution for contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010; 33 (Suppl 1): S12–S17.
35. Ye J, Zhang H, Wu H, et al. Cytoprotective effect of hyaluronic acid and hydroxypropyl methylcellulose against DNA damage induced by thimerosal in Chang conjunctival cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012; 250 (10): 1459–1466.
36. Yu F, Liu X, Zhong Y, et al. Sodium hyaluronate decreases ocular surface toxicity induced by benzalkonium chloride-preserved latanoprost: an *in vivo* study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013; 54 (5): 3385–3393.
37. Fukuda M, Miyamoto Y, Miyara Y, Mishima H, Ottori T. Hyaluronic acid concentration in human tear fluids. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996; 37 (Suppl): S848.
38. Maïssa C, Guillon M. Tear film dynamics and lipid layer characteristics – effect of age and gender. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010; 33 (4): 176–182.
39. Mathers WD, Lane JA, Zimmerman MB. Tear film changes associated with normal aging. *Cornea.* 1996; 15 (3): 229–234.
40. Patel S, Boyd KE, Burns J. Age, stability of the precorneal tear film and the refractive index of tears. *Cont Lens Anterior Eye.* 2000; 23 (2): 44–47.
41. Ozdemir M, Temizdemir H. Age- and gender-related tear function changes in normal population. *Eye (Lond).* 2010; 24 (1): 79–83.
42. Snibson GR, Greaves JL, Soper NDW, Prydals JI, Wilson CG, Bron AJ. Precorneal residence times of sodium hyaluronate solutions studied by quantitative gamma scintigraphy. *Eye (Lond).* 1990; 4: 594–602.
43. Tavazzi S, Tonveronachi M, Fagnola M, et al. Wear effects on microscopic morphology and hyaluronan uptake in siloxane-hydrogel contact lenses. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015; 103 (5): 1092–1098.
44. Mochizuki H, Yamada M, Hato S, Nishida T. Fluorophotometric measurement of the precorneal residence time of topically applied hyaluronic acid. *Br J Ophthalmol.* 2008; 92 (1): 108–111.
45. Nakamura M, Hikida M, Nakano T, Ito S, Hamano T, Kinoshita S. Characterization of water retentive properties of hyaluronan. *Cornea.* 1993; 12: 433–436.
46. FDA 510k Summary K042176. AQUify Lens Comfort Drops, November 3, 2004. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf4/K042176.pdf. Accessed August 24, 2016.
47. Ali M, Byrne ME. Controlled release of high molecular weight hyaluronic acid from molecularly imprinted hydrogel contact lenses. *Pharm Res.* 2009; 26 (3): 714–726.
48. Maulvi FA, Soni TG, Shah DO. Extended release of hyaluronic acid from hydrogel contact lenses for dry eye syndrome. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2015; 26 (15): 1035–1050.
49. Filippo A, inventor; Safilens SRL, assignee. Contact lens, method for producing same, and pack for storage and maintenance of a contact lens. United States patent US 7726809. 2010 June 1.
50. Fagnola M, Pagani MP, Maffioletti S, Tavazzi S, Papagni A. Hyaluronic acid in hydrophilic contact lenses: spectroscopic investigation of the content and release in solution. *Cont Lens Anterior Eye.* 2009; 32 (3): 108–112.
51. Weeks A, Subbaraman LN, Jones L, Sheardown H. Physical entrapment of hyaluronic acid during synthesis results in extended release from model hydrogel and silicone hydrogel contact lens materials. *Eye Contact Lens.* 2013; 39 (2): 179–185.
52. Hamano T, Horimoto K, Lee M, Komemushi S. Sodium hyaluronate eye drops enhance tear film stability. *Jpn J Ophthalmol.* 1996; 40 (1): 62–65.

53. Lee HS, Ji YS, Yoon KC. Efficacy of hypotonic 0.18% sodium hyaluronate eye drops in patients with dry eye disease. *Cornea*. 2014; 33 (9): 946–951.
54. McCann LC, Tomlinson A, Pearce EI, Papa V. Effectiveness of artificial tears in the management of evaporative dry eye. *Cornea*. 2012; 31 (1): 1–5.
55. Choy EP, Cho P, Benzie IF, Choy CK. Investigation of corneal effect of different types of artificial tears in a simulated dry eye condition using a novel porcine dry eye model (pDEM). *Cornea*. 2006; 25 (10): 1200–1204.
56. Zheng X, Goto T, Shiraishi A, Ohashi Y. *In vitro* efficacy of ocular surface lubricants against dehydration. *Cornea*. 2013; 32 (9): 1260–1264.
57. Acosta MC, Gallar J, Belmonte C. The influence of eye solutions on blinking and ocular comfort at rest and during work at video display terminals. *Exp Eye Res*. 1999; 68 (6): 663–669.
58. Aragona P, Papa V, Micali A, Santocono M, Milazzo G. Long term treatment with sodium hyaluronate-containing artificial tear reduces ocular surface damage in patients with dry eye. *Br J Ophthalmol*. 2002; 86 (2): 181–184.
59. Camillieri G, Nastasi A, Gulino P, Bucolo C, Drago F. Effects of hyaluronan on free radical formation, corneal endothelium damage, and inflammation parameters after phacoemulsification in rabbits. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2004; 20 (2): 151–157.
60. Oh HJ, Li Z, Park SH, Yoon KC. Effect of hypotonic 0.18% sodium hyaluronate eyedrops on inflammation of the ocular surface in experimental dry eye. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2014; 30 (7): 533–542.

Increased concentration of hyaluronan in tears after soaking contact lenses in Biotrue multipurpose solution

Purpose. This study was conducted to determine 1) the concentration of hyaluronan (HA) in the tear films of contact lens (CL) wearers versus non-CL wearers and 2) whether HA sorbed from Biotrue, an HA-containing multipurpose solution (MPS), onto senofilcon A lenses affects the concentration of HA in tears after 2 hours of wear.

Patients and methods. Tears of habitual CL wearers and non-CL wearers were collected on Schirmer strips at baseline and after 2 hours of wear of senofilcon A CLs that had first been either rinsed with Sensitive Eyes Saline or soaked in Biotrue MPS for 14 hours. HA concentrations were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and adjusted for sample volumes.

Results. No difference in baseline concentrations of HA in tears was found between CL wearers and non-CL wearers ($p=0.07$), nor between males and females ($p=0.06$). However, age was significantly negatively associated with HA concentration ($p<0.01$), and mostly, CL wear contributed to a significant association ($p<0.01$). Among saline-rinsed CL wearers, no change in HA concentration in tears was observed after 2 hours of wear ($p=0.38$). By contrast, a significant increase in HA concentration was observed in the tears from eyes that had worn CLs soaked in Biotrue MPS when compared to baseline ($p=0.01$) or to saline-rinsed control ($p=0.03$).

Conclusion. 1. In this study population, no difference in baseline concentration of HA was observed between CL wearers and non-CL wearers. 2. After 2 hours of wear of senofilcon A lenses that were soaked in Biotrue MPS, HA concentrations in the tear films of CL wearers increased.

Keywords: contact lens, dry eye, hyaluronan, MPS

Кэтрин Э. Шейер (Catherine A. Scheuer),
магистр естественных наук (биохимия), сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании
Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)

Марджори Дж. Ра (Marjorie J. Rah),
доктор философии, доктор оптометрии, сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании
Bausch & Lomb Inc. (Рочестер, США)
1400 North Goodman Street Rochester, NY 14609, USA
Tel.: +1 (585) 413-63-97
E-mail marjorie.rah@bausch.com

Уильям Т. Рейндел (William T. Reindel),
доктор оптометрии, сотрудник подразделения контактной коррекции зрения компании Bausch & Lomb Inc.
(Рочестер, США)