

### ВОЗМОЖНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТИПОВ РОГОВИЧНО-КОНЪЮНКТИВАЛЬНОГО КСЕРОЗА У КРОЛИКОВ ПОРОДЫ ШИНШИЛЛА

В. Ю. Попов<sup>1</sup>, В. В. Бржеский<sup>1</sup>, Н. М. Калинина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург, Россия

### THE POSSIBILITY OF EXPERIMENTAL MODELING OF THE DIFFERENT PATHOGENETIC TYPES CORNEAL-CONJUNCTIVAL XEROSIS IN REX RABBITS

V. Yu. Popov<sup>1</sup>, V. V. Brzheskiy<sup>1</sup>, N. M. Kalinina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg, Russia

#### Резюме

**Цель:** разработка экспериментальных моделей различных патогенетических типов синдрома «сухого глаза» у кроликов породы шиншилла.

**Материалы и методы.** С помощью трансконъюнктивальной инъекции ботулотоксина типа А в основные слезные железы, диатермокоагуляции выводных протоков мейбомиевых желез свободного края века и комбинации указанных выше способов моделировали синдром «сухого глаза» у 30 кроликов породы шиншилла. Функциональное обследование животных включало оценку осмолярности слезной жидкости, стабильности слезной пленки по М. Норг, суммарной слезопродукции по О. Ширмер, а также характеристику окрашивания эпителия глазной поверхности растворами лиссаминового зеленого и флюоресцеина натрия.

**Результаты.** Во всех случаях у кроликов развились клинико-функциональные признаки синдрома «сухого глаза», проявляющиеся снижением слезопродукции, стабильности слезной пленки и повышением осмолярности слезной жидкости. Одновременно отмечены и ксеротические изменения эпителия глазной поверхности, выражающиеся в его окрашивании витальными красителями. Указанные клинико-функциональные изменения эпителия глазной поверхности проявлялись на 3–7-е сут после моделирования ксероза и продолжали нарастать к 21-му дню эксперимента. Наиболее выраженных изменений эпителия глазной поверхности удалось добиться у кроликов с моделью комбинированного патогенетического типа «сухого глаза».

**Заключение.** Предложенные способы моделирования нарушения продукции слезы и/или липидов позволяют стимулировать развитие ксероза эпителия глазной поверхности, что позволяет в дальнейшем использовать разработанные модели основных трех патогенетических типов синдрома «сухого глаза» в исследовательских целях (1 табл., библи.: 9 ист.).

**Ключевые слова:** синдром «сухого глаза», экспериментальное моделирование.

Статья поступила в редакцию 22.06.2018 г.

#### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все больший интерес офтальмологов связан с разработкой новых методов диагностики, и главным образом лечения синдрома «сухого глаза» (ССГ). В последнем случае особое значение приобретает экспериментальное моделирование этой патологии, кото-

#### Summary

**Objective:** the aim was to design the experimental models of dry eye disease in rabbits of the various pathogenetic types.

**Materials and methods.** Modelling of dry eye disease was carried out on 30 rabbits with the help of transconjunctival injections of the botulinic toxin A into the main lacrimal glands, diathermocoagulation of the excretory ducts of the meibomian glands and a combination of these methods. Estimation of functional parameters, namely, precorneal tear fluid osmolarity, tear film stability by M. Norn sampling, total tearing according to O. Schirmer as well as the intensity of its colouring by lissamine green and fluorescein sodium.

**Results of the study.** In all cases, on rabbits was developed clinical and functional signs of dry eye disease, manifested by a decrease in tear production, stability of the tear film and increased osmolarity of the lacrimal fluid. At the same time, there were also marked xerotic changes in the epithelium of the eye surface. These clinical and functional changes in the epithelium of the ocular surface were manifested on 3–7 days after xerosis modeling and continued to increase by the 21<sup>st</sup> day of the experiment. The most pronounced changes in the epithelium of the ocular surface were achieved in rabbits with a combined model of dry eye disease.

**Conclusion.** The proposed methods of modeling the production of tears and/or lipids, can stimulate the development of xerosis of the ocular surface epithelium, which allows to recommend a wide use of this technique as a dry eye disease experimental model (1 tabl., bibliography: 9 refs).

**Key words:** dry eye disease, experimental modeling.

Article received 22.06.2018.

рому вместе с тем пока уделяется сравнительно мало внимания [1, 2].

Кроме того, существующие экспериментальные модели ССГ не охватывают всего многообразия этиопатогенетических типов этого заболевания, в то время как клиническая практика требует разработки патогенетически ориентированных методов лечения таких больных.

Как известно, все многочисленные патогенетические звенья в общем виде сводятся к трем механизмам развития ССГ: на почве снижения слезопродукции, по причине избыточного испарения слезной пленки и вследствие комбинированного воздействия обоих патогенетических факторов [3, 4].

Разработке соответствующих вариантов экспериментальных моделей ССГ и посвящено выполненное исследование.

## ЦЕЛЬ

Разработать экспериментальные модели основных патогенетических типов ССГ у кроликов породы шиншилла.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На реализацию исследовательской работы получено разрешение Комитета по вопросам этики при ФГБОУ ВО СПб ГПМУ Минздрава России (протокол № 3/5 от 5.03.2014 г.).

Материалом для исследования послужили 30 половозрелых кроликов (60 глаз) породы шиншилла массой от 2000 до 2500 г, содержащихся в виварии при одинаковых условиях. Все животные были разделены на 3 группы: I группу составили 10 кроликов (20 глаз), которым проводили трансконъюнктивальные инъекции ботулотоксина типа А («Ботокс®», *Allergan, Inc., Irvine, CA*) в основные слезные железы с целью развития у них ССГ на фоне снижения слезопродукции. Во II группу вошли также 10 животных (20 глаз), которым стимулировали ССГ на почве дисфункции мейбомиевых желез путем диатермокоагуляции отверстий их выводных протоков на свободном крае века. Третью группу составили 10 кроликов (20 глаз), у которых создание экспериментальной модели ССГ предполагало комбинацию двух указанных выше способов.

На 1-й, 3, 7, 14 и 21-й дни исследования оценивали стабильность прероговичной слезной пленки пробой по M. S. Norn, суммарную слезопродукцию — по O. Schirmer, а также, в ходе биомикроскопии эпителия глазной поверхности, степень его прокрашивания растворами флюоресцеина-натрия флюоресцеина натрия, а также лиссаминового зеленого соответственно по шкалам Oxford и van Bijsterveld [5–8]. Кроме этого, до начала исследования и на 21-й день определяли осмолярность слезной жидкости с помощью прибора «TearLab Osmolarity System» (*TearLab Corp., США*) [9].

Статистическую обработку материала осуществляли на персональном компьютере с исполь-

зованием прикладных программ MS Excel-2010 и IBM SPSS Statistics 21.0 для Microsoft.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели функционального состояния эпителия глазной поверхности у кроликов, отражающие динамику ксеротического процесса, представлены в таблице.

На 7-й день эксперимента у животных I группы, которым ССГ моделировали путем денервации основных слезных желез, отмечены функциональные признаки развившегося ССГ, которые продолжали нарастать к 21-м сут наблюдения: статистически достоверное понижение суммарной слезопродукции, снижение стабильности прероговичной слезной пленки, а также увеличение интенсивности дегенеративных изменений эпителиальных клеток глазной поверхности ( $p < 0,05-0,001$ ).

У всех кроликов с моделью ССГ на фоне дисфункции мейбомиевых желез (путем коагуляции отверстий их выводных протоков) на свободном крае века в первые дни наблюдения возникали коагуляты, захватывающие свободный край века и выводные протоки мейбомиевых желез. Роговица и конъюнктивы оставались интактными. К 3-му дню эксперимента отмечено достоверное снижение стабильности слезной пленки и слезопродукции ( $p < 0,05$ ). Как и у животных I группы, признаки ксероза глазной поверхности продолжали усиливаться к 21-м сут наблюдения, хотя и менее интенсивно. К концу исследования отмечено достоверное снижение стабильности и продукции слезной пленки, а также увеличение осмолярности слезной жидкости и степени прокрашивания эпителия глазной поверхности витальными красителями ( $p < 0,05-0,001$ ).

Третью группу составили животные, у которых создание экспериментальной модели предполагало комбинацию двух указанных выше способов провоцирования развития ксероза глазной поверхности. Из данных, представленных в таблице, видно, что уже на 3-й день исследования у всех кроликов отмечены функциональные признаки ксероза глазной поверхности, характеризующиеся объективными признаками развившегося ССГ. К концу исследования происходило нарастание ксеротических изменений эпителия.

У всех трех групп животных на 21-й день исследования отмечено достоверное повышение осмолярности слезной жидкости ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, наиболее выраженных изменений эпителия глазной поверхности удалось добиться у кроликов III группы.

Динамика клинико-функциональных показателей у кроликов (M ± m) с экспериментальными моделями ССГ

Оцениваемый параметр	Модель ССГ	Этапы наблюдения, сут												
		исходные данные	1-е	t*;p	3-и	t*;p	7-е	t*;p	14-е	t*;p	21-е	t*;p		
Осмолярность, мОсм/л	I*	301,65 ± 3,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	344,70 ± 4,00	8,98; p < 0,001
	II**	304,40 ± 2,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	336,95 ± 3,42	7,42; p < 0,001
	III***	308,85 ± 3,21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	349,35 ± 3,55	8,44; p < 0,001
Стабильность прероговичной слезной пленки, с	I*	11,66 ± 0,37	10,51 ± 0,28	2,46; p > 0,05	10,10 ± 0,28	3,30; p > 0,05	6,26 ± 0,34	10,62; p < 0,01	2,24 ± 0,20	22,06; p < 0,001	1,54 ± 0,13	25,39; p < 0,001		
	II**	11,50 ± 0,51	11,55 ± 0,33	0,08; p > 0,05	9,95 ± 0,32	2,55; p < 0,05	8,10 ± 0,28	5,79; p < 0,001	6,15 ± 0,25	9,30; p < 0,001	3,05 ± 0,22	15,01; p < 0,001		
	III***	12,05 ± 0,55	11,90 ± 0,2	0,23; p > 0,05	9,10 ± 0,28	4,77; p < 0,05	5,85 ± 0,44	8,82; p < 0,001	2,30 ± 0,29	15,77; p < 0,001	1,05 ± 0,18	20,15; p < 0,001		
Суммарная слезопродукция, мм/5 мин	I*	14,14 ± 0,24	13,66 ± 0,18	1,55; p > 0,05	11,19 ± 0,26	8,13; p < 0,001	7,04 ± 0,28	18,94; p < 0,001	3,29 ± 0,23	32,05; p < 0,05	2,79 ± 0,17	42,23; p < 0,001		
	II**	14,05 ± 0,29	14,20 ± 0,23	0,40; p > 0,05	13,25 ± 0,24	2,10; p < 0,05	10,65 ± 0,17	8,45; p < 0,05	6,20 ± 0,27	19,73; p < 0,001	4,10 ± 0,29	31,21; p < 0,001		
	III***	14,30 ± 0,32	13,85 ± 0,31	1,04; p > 0,05	10,60 ± 0,27	9,23; p < 0,05	7,20 ± 0,38	14,63; p < 0,001	2,95 ± 0,13	35,36; p < 0,001	1,05 ± 0,22	36,11; p < 0,001		
Прокрашивание эпителия раствором лиссаминового зеленого по шкале van Bijsterveld, баллов	I*	-	1,41 ± 0,17	23,93; p < 0,001	2,80 ± 0,12	24,30; p < 0,001	5,35 ± 0,22	24,21; p < 0,001	6,85 ± 0,22	31,00; p < 0,001	8,45 ± 0,16	49,77; p < 0,001		
	II**	-	0,05 ± 0,05	1,00; p > 0,05	0,20 ± 0,09	1,17; p < 0,05	1,75 ± 0,14	12,25; p < 0,01	5,10 ± 0,19	26,76; p < 0,001	6,20 ± 0,36	27,95; p < 0,001		
	III***	-	0,25 ± 0,09	2,51; p > 0,05	0,45 ± 0,14	3,94; p < 0,05	4,30 ± 0,30	14,33; p < 0,001	7,45 ± 0,41	18,02; p < 0,001	8,95 ± 0,21	33,60; p < 0,001		
Прокрашивание раствором флюоресцина натрия эпителия роговицы по шкале Oxford, баллов	I*	-	0,20 ± 0,10	2,17; p > 0,05	0,30 ± 0,11	2,83; p < 0,01	3,15 ± 0,29	10,76; p < 0,001	4,35 ± 0,11	39,75; p < 0,001	4,65 ± 0,11	42,49; p < 0,001		
	II**	0,01 ± 0,08	0,05 ± 0,09	0,40; p > 0,05	0,65 ± 0,10	3,65; p > 0,05	1,25 ± 0,12	7,44; p < 0,001	3,55 ± 0,18	16,83; p < 0,05	4,05 ± 0,21	31,31; p < 0,001		
	III***	0,05 ± 0,05	0,20 ± 0,08	1,43; p > 0,05	1,45 ± 0,15	8,67; p < 0,05	2,35 ± 0,17	13,22; p < 0,001	3,90 ± 0,20	18,33; p < 0,05	4,70 ± 0,10	26,39; p < 0,001		

**Примечание.** ♦ — различия по сравнению с исходными данными; \* — кролики с экспериментальной моделью ССГ на фоне снижения слезопродукции (n = 20); \*\* — кролики с экспериментальной моделью ССГ на фоне дисфункции мейбомиевых желез (n = 20); \*\*\* — кролики с комбинированной экспериментальной моделью ССГ (n = 20).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что предложенные способы моделирования трех основных патогенетических типов ССГ эффективны и позволяют стимулировать ксероз эпителия глазной по-

верхности к 21-м сут наблюдения. Таким образом, данные методики можно успешно использовать в целях моделирования роговично-конъюнктивального ксероза для изучения патогенеза, клинических проявлений и разработки новых методов лечения больных с ССГ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Barabino S., Dana M. R.* Animal models of dry eye: a critical assessment of opportunities and limitations. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2004; 45 (6): 1641–6.
2. *Chen Z. Y., Liang Q. F., Yu G. Y.* Establishment of a rabbit model for keratoconjunctivitis sicca. *Cornea.* 2011; 30 (9): 1024–9.
3. *Brzheskiy V. V., Egorova G. B., Egorov E. A.* Dry eye syndrome and diseases of the eye surface: clinical course, diagnostics, treatment. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. 464. Russian (*Бржеский В. В., Егорова Г. Б., Егоров Е. А.* Синдром «сухого глаза» и заболевания глазной поверхности: клиника, диагностика, лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. 464).
4. *Brzheskiy V., Popov V., Kalinina I., Kalinina N.* Efficiency of 0.01% dexamethasone solution in comprehensive therapy of dry eye disease. *Journal of Ocular Diseases and Therapeutics.* 2016; 4 (1): 2–12.
5. *Norn M. S.* Desiccation of the precorneal film. I. Corneal wetting time. *Acta Ophthalmologica.* 1969; 47 (4): 865–80.
6. *Schirmer O.* Studien zur Physiologie und Pathologie der Tränenabsonderung und Tränenabfuhr. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie.* 1903; 56 (2): 197–291.
7. *Van Bijsterveld O. P.* Diagnostic tests in the sicca syndrome. *Archives of Ophthalmology.* 1969; 82 (1): 10–4.
8. *Bron A. J., Evans V. E., Smith J. A.* Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea.* 2003; 22 (7): 640–9.
9. *Tomlinson. A., Khanal S., Ramaesh K.* Tear film osmolarity: determination of a referent value for dry eye diagnosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2006; 47 (10): 4309–15.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Попов Владимир Юрьевич** — ассистент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Россия, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2г, e-mail: popovvladimir221122@gmail.com

**Бржеский Владимир Всеволодович** — докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой офтальмологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Россия, г. Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2г, e-mail: vbrzh@yandex.ru

**Калинина Наталия Михайловна** — докт. мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, научно-исследовательский отдел клинической иммунологии, ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2, e-mail: medicine@arccerm.spb.ru

## INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Popov Vladimir Yu.** — Assistant of the Ophthalmology Department, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, 2g, Litovskaya str., Saint Petersburg, Russia, 194100, e-mail: popovvladimir221122@gmail.com

**Brzheskiy Vladimir V.** — M. D., D. Sc. (Medicine), Professor, the Head of the Ophthalmology Department, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, 2g, Litovskaya str., Saint Petersburg, Russia, 194100, e-mail: vbrzh@yandex.ru.

**Kalinina Natalia M.** — M. D., D. Sc. (Medicine), Professor, the Chief research scientist, Clinical Immunology Research Department, Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, 4/1, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044, e-mail: medicine@arccerm.spb.ru