

Т.К. ВОЛКОВИЧ

## **ПРИМЕНЕНИЕ АУТОСЫВОРОТКИ, АКТИВИРОВАННОЙ ЗИМОЗАНОМ, В ЛЕЧЕНИИ ВТОРИЧНОЙ ФОРМЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО КЕРАТИТА**

УО «Витебский государственный медицинский университет»,  
Республика Беларусь

**Цель.** Определить эффективность применения аутосыворотки, активированной зимозаном, в комплексном лечении вторичной формы бактериального кератита.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 63 пациентах с вторичной формой бактериального кератита. Группу контроля составили 47 пациентов (традиционное лечение), основную группу – 16 пациентов (традиционное лечение + аутосыворотка, активированная зимозаном (АСАЗ)). Оценка эффективности лечения проводили, используя метод импрессионной цитологии роговицы.

**Результаты.** Применение АСАЗ в комплексном лечении вторичной формы бактериального кератита способствовало развитию раннего начала ( $Me=3,0$ ,  $p=0,002$ ) и сокращению продолжительности эпителизации язвенно-воспалительного дефекта на 4 суток ( $p=0,033$ ).

**Заключение.** Применение аутосыворотки, активированной зимозаном, является эффективным средством активации фагоцитоза, пролиферативных и репаративных процессов при лечении вторичной формы бактериального кератита.

*Ключевые слова: бактериальный кератит, аутосыворотка, макрофаг, эпителизация*

**Objectives.** To determine the efficiency of zymozaan activated by autoserum application in the complex treatment of the secondary form of bacterial keratitis.

**Methods.** 63 patients with the secondary form of bacterial keratitis were included in the investigation. The 1<sup>st</sup> group includes 47 patients (traditional treatment), the 2<sup>nd</sup> group - 16 patients (traditional treatment + autoserum, activated by zymozaan (ASAZ)). Efficiency of treatment was estimated by the method of the cornea impression cytology.

**Results.** Application of ASAZ in the complex treatment of the bacterial keratitis secondary form promoted the development of the early beginning ( $Me=3,0$ ,  $p=0,002$ ) and reduction of the epithelialization duration of the ulcer-inflammatory defect for 4 days ( $p=0,033$ ).

**Conclusions.** Application of zymozaan activated autoserum is effective due to the activation of phagocytosis, proliferative and reparative processes at treatment of the secondary form of bacterial keratitis.

*Keywords: bacterial keratitis, autoserum, zymozaan, macrophages, epithelialization*

### **Введение**

По-прежнему сохраняет свою актуальность проблема лечения воспалительных заболеваний роговицы. По данным ряда авторов, бактериальные кератиты составляют от 13% до 47% в общей структуре воспалительной патологии роговицы [1, 2, 3]. Особое место занимают кератиты, развившиеся вследствие фоновых заболеваний глаз или соматической патологии [4]. Известно, что они имеют подострое начало и

хроническое, нередко рецидивирующее течение, снижающее работоспособность пациентов [4, 5].

В настоящее время нет однозначного мнения в отношении частоты развития вторичной формы бактериального кератита. Вследствие соматической патологии (системные заболевания соединительной ткани, сахарный диабет, нарушения иннервации и др.) заболевание развивается в 3,2–9% случаев [4, 5]. В 16,6% случаев predisposing факторами заболевания

являются наличие заболеваний глаз, таких, как блефарит, дакриоцистит, синдром сухого глаза, глаукома, хронический конъюнктивит, предшествующее хирургическое лечение (11,1%), трихиаз, энтропион, а также дистрофические заболевания роговицы (дистрофия, буллезная кератопатия) – 19% [5]. На фоне применения стероидных и анестезирующих препаратов, антибиотиков и иммуносупрессоров бактериальный кератит развивается в 5–8% случаев, а в 6,3–28,6% причин развития заболевания остаётся неизвестной. В ряде случаев (6,1–22,1%) возможно выявить более одного предрасполагающего фактора риска [5].

В основе патогенеза развития бактериального кератита лежит повреждение эпителия роговицы. При вторичной форме бактериального кератита потеря эпителиальных клеток может происходить спонтанно в результате дистрофических и/или трофических нарушений (при нейропаралитическом кератите), ослабляющих межклеточные связи [6]. Данные обстоятельства обуславливают трудности лечения вторичной формы бактериального кератита.

В отношении лечения вторичной формы бактериального кератита наибольший интерес представляют возможности активации пролиферативных и репаративных процессов. Наиболее частым является использование репарантов и протекторов роговицы – препаратов, содержащих декспантенол («Корнерегель», Dr. Gerhard Mann, Германия; «Солкосерил гель», Valeant, Германия) [7]. Для защиты язвенно-воспалительного дефекта, а, следовательно, улучшения эпителизации было предложено использование мягких контактных линз [8]. Их применение одиночно или в комбинации с трансплантацией фибробластов способствует купированию корнеального синдрома, уменьшению отека роговицы, активации пролиферативных процессов. Однако они оказывают лишь

временный терапевтический эффект, так как при длительном ношении возникает гипоксическая реакция в эпителиоцитах, что, в свою очередь, приводит к их гибели [8]. Тем не менее, применение контактных линз является хорошей временной защитой язвенно-воспалительного очага и способом поддержания анатомии роговицы (при десцеметоцеле, угрозе или свершившейся перфорации) до выполнения хирургического лечения [8].

Проведённое нами исследование по применению аутосыворотки, активированной зимозаном, в комплексном лечении экспериментального бактериального кератита показало её эффективность в отношении активации фагоцитоза, пролиферативных и репаративных процессов [9]. Представляется актуальным её применение наряду с традиционной терапией и в лечении вторичной формы бактериального кератита.

**Цель.** Определить эффективность применения аутосыворотки, активированной зимозаном, в комплексном лечении больных с вторичной формой бактериального кератита.

### Материал и методы

В исследование включено 63 пациента со вторичной формой бактериального кератита, находившихся на стационарном лечении в отделении микрохирургии глаза УЗ «Витебская областная клиническая больница» и отделениях микрохирургии глаза №1 и №2 УЗ «10-ая городская клиническая больница» г. Минска с 2007 по 2010 гг.

Все пациенты были разделены на следующие группы:

- контрольная группа – 47 пациентов (51,06% мужчин, 48,94% женщин), которым проводили традиционное лечение согласно клиническим протоколам диагнос-

тики и лечения взрослого населения с болезнями глаза и его придаточного аппарата, утвержденным Министерством здравоохранения Республики Беларусь (Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 82 от 12.02.2007): антибактериальная (с учётом чувствительности микроорганизма), противовоспалительная и репаративная терапия.

• основная группа – 16 пациентов (50% мужчин, 50% женщин) в комплексном лечении которых, наряду с традиционным лечением, применяли аутосыворотку, активированную зимозаном (АСАЗ). АСАЗ вводили субконъюнктивально, начиная с первых суток нахождения пациента в стационаре по 200 мкл через сутки в количестве 5 инъекций (инструкция по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 069-0610 «Применение аутосыворотки, активированной зимозаном в комплексном лечении бактериального кератита»).

Для оценки эффективности лечения в обеих группах (группа I – n=23 и группа II – n=16) на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки наблюдения проводили импрессионную цитологию роговицы. Световую микроскопию клеточных образцов выполняли на микроскопе Leica DM2500 при увеличении  $\times 100$ ,  $\times 200$ ,  $\times 400$ ,  $\times 1000$ . Оценку клеточного состава и морфофункционального состояния эпителия роговицы проводили в язвенно-воспалительной, перифокальной и паралимбальной зонах (инструкция по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 013-0210 «Оценка морфофункционального состояния роговицы при бактериальном кератите»). Морфометрию выполняли с помощью программного обеспечения Leica Application Suite в 5 полях зрения с учетом следующих показателей: нейтрофилы, макрофаги, фибробласты, эпителиальные клетки базального типа (БЭК), эпителиальные клет-

ки с выраженным пикнозом ядра (ЭКПЯ) и эпителиальные клетки в состоянии митоза. Учитывая неравномерное распределение клеточных элементов в образцах, определяли их процентное соотношение в каждом поле зрения. Данные каждой исследуемой зоны (язвенно-воспалительная, перифокальная, паралимбальная) суммировали и высчитывали медиану (Me). Контролем служили показатели 15 здоровых волонтеров, не имевших в анамнезе офтальмологических, соматических, а также простудных заболеваний (не менее 3 месяцев до обследования).

Критериями оценки эффективности лечения являлись также сроки начала и продолжительности эпителизации язвенно-воспалительного дефекта роговицы, характер заживления.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием электронных пакетов «MedCalc 10.2.0.0» и «Statistica 6.0». Рассчитывали медиану, 25%-й и 75%-й квартили. Уровень достоверности ( $p < 0,05$ ) внутри- и межгрупповых различий определяли с применением критериев Уилконсона и Манна-Уитни.

## Результаты и обсуждение

При клиническом обследовании и анализе цитологических образцов на 1-е сутки наблюдения достоверных различий между контрольной и основной группой выявлено не было. В контрольной группе воспалительный очаг находился в стадии инфильтрации в 36,17%, в стадии изъязвления – в 63,83% случаев, в основной группе – 31,25% и 68,75% соответственно ( $p = 0,772$ ).

В роговице пациентов обеих групп наблюдались выраженные некротические, некробиотические и дистрофические изменения. Клеточный состав характеризовался полиморфизмом проявлений.

В язвенно-воспалительной зоне преобладали некротические изменения, отмечалась интенсивная нейтрофильная инфильтрация (Me=82,45% – контрольная группа, Me=83,06% – основная группа, p=0,488). Среди нейтрофилов и нитей детрита определялись единичные макрофаги (Me=4,7% – контрольная группа, Me=3,96% – основная группа, p=0,703), фибробласты (Me=2,91% – контрольная группа, Me=2,80% – основная группа, p=0,745), эпителиальные клетки базального типа (Me=5,71% – контрольная группа, Me=4,77% – основная группа, p=0,507) и ЭКПЯ (Me=6,89% – контрольная группа, Me=5,57% – основная группа, p=0,601).

В перифокальной и паралимбальной зонах клеточных образцов пациентов обеих групп преобладали дистрофические изменения. Наряду со слабо выраженной нейтрофильной инфильтрацией (перифокальная зона: Me=9,30% – контрольная группа, Me=9,77% – основная группа, p=0,471; паралимбальная зона: Me=5,55% – контрольная группа, Me=5,10% – основная группа, p=0,943) определялись единичные макрофаги, фибробласты и эпителиальные клетки. При оценке последних выявлялись признаки кариорексиса, кариолизиса и цитолизиса. Характерным также было высокое содержание ЭКПЯ (перифокальная зона: Me=32,85% – контрольная группа,

Me=37,83% – основная группа, p=0,453; паралимбальная зона: Me=35,29% – контрольная группа, Me=37,42% – основная группа, p=0,404). Сопоставление морфологических данных с клиническими проявлениями заболевания показало, что уровень дистрофических изменений в эпителиоцитах определял замедленный процесс заживления язвенно-воспалительного дефекта. Коэффициент эпителизации роговицы (КЭР), отражающий количественное соотношение эпителиальных клеток базального типа и клеток с выраженным пикнозом ядра в перифокальной и паралимбальной зонах, в контрольной группе варьировал от 0,5 до 4,16 (Me=1,45), в основной группе – от 0,82 до 2,50 (Me=1,26). Данные показатели свидетельствовали об очень низкой и низкой репаративной способности эпителия роговицы.

В последующие сроки наблюдения (3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки) исследуемые группы отличались как по клиническим проявлениям, так и по цитологическим показателям. Язвенно-воспалительный дефект постепенно очищался от некротических масс. Клинически видимая эпителизация в основной группе начиналась достоверно на 2-е суток раньше, чем в контрольной группе (p=0,002). Сроки начала и продолжительности эпителизации язвенно-воспалительного дефекта представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Сроки начала и продолжительности эпителизации язвенно-воспалительного дефекта роговицы в контрольной и основной группах**

Признак	Статистический показатель	Контрольная группа	Основная группа
Начало эпителизации роговицы	Медиана	5,0	3,0 p=0,002
	Размах (min-max)	2,0-15,0	2,0-6,0
	25 перцентиль	3,0	2,5
	75 перцентиль	7,0	4,0
Продолжительность эпителизации роговицы	Медиана	18,0	14,0 p=0,033
	Размах (min-max)	8,0-37,0	5,0-28,0
	25 перцентиль	12,0	11,0
	75 перцентиль	26,0	16,0

p – статистически достоверно по сравнению с контрольной группой.

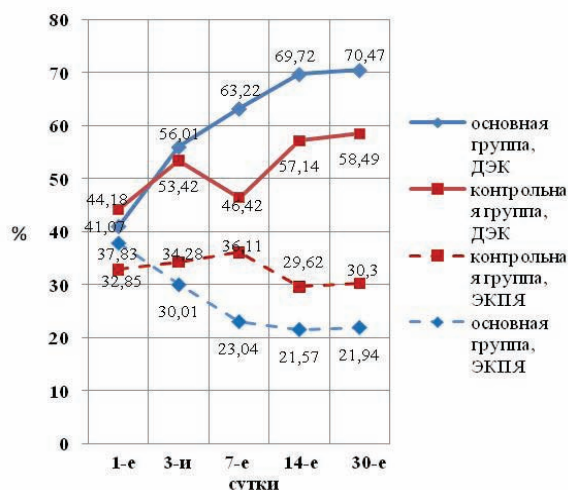


кальной зоне присутствовали лишь единичные нейтрофилы, в паралимбальной зоне они отсутствовали вовсе. Также был выявлен рост числа макрофагов (перифокальная зона:  $Me=5,32\%$ ,  $p=0,181$ ; паралимбальная зона:  $Me=5,94\%$ ,  $p<0,001$ ) и фибробластов (перифокальная зона:  $Me=9,43\%$ ,  $p<0,001$ ; паралимбальная зона:  $Me=8,42\%$ ,  $p<0,001$ ).

На 3-и сутки количество БЭК в перифокальной и паралимбальной зонах обеих групп было выше, по сравнению с 1-и сутками (перифокальная зона:  $Me=53,42\%$ ,  $p=0,002$  – контрольная группа;  $Me=56,01\%$ ,  $p<0,001$  – основная группа; паралимбальная зона:  $Me=56,36\%$ ,  $p=0,002$  – контрольная группа;  $Me=56,92\%$ ,  $p=0,001$  – основная группа) и достоверно между собой не отличалось. Содержание ЭКПЯ в основной группе снижалось (перифокальная зона:  $Me=30,01\%$ ,  $p=0,001$ ; паралимбальная зона:  $Me=29,17\%$ ,  $p<0,001$ ), тогда как в контрольной группе снижение данного показателя определялось только в паралимбальной зоне, а в перифокальной достоверно не изменялось. Данные о динамике БЭК и ЭКПЯ в перифокальной зоне представлены на рисунке.

На 7-е и 14-е сутки наблюдения про-

**Рис. Динамика БЭК и ЭКПЯ в перифокальной зоне клеточных образцов пациентов контрольной и основной групп**



лиферативные и репаративные процессы в основной группе были выражены в большей степени, чем в контрольной. Значительно снижалась выраженность нейтрофильной инфильтрации в язвенно-воспалительной зоне. В контрольной группе содержание нейтрофилов оставалось достоверно выше ( $p<0,001$ ). По количеству макрофагов группы достоверно не отличались, тогда как число фибробластов в основной группе было выше ( $p<0,001$ ). Аналогичная динамика наблюдалась в отношении эпителиальных клеток базального типа ( $p<0,001$ ). Содержание ЭКПЯ в язвенно-воспалительной зоне основной группы достоверно не изменялось, в то время как в контрольной группе на 14-е сутки отмечался их рост.

Несмотря на проводимое лечение, в перифокальной и паралимбальной зонах клеточных образцов пациентов контрольной группы на 7-е и 14-е сутки наблюдения определялись единичные нейтрофилы; в основной группе они отсутствовали. В основной группе количество макрофагов постепенно уменьшалось, а в контрольной оставалось без достоверных изменений. По-видимому, это было связано с сохранявшейся воспалительной реакцией в роговице. Схожая картина наблюдалась и в отношении фибробластов: в основной группе их количество постепенно уменьшалось, тогда как в перифокальной зоне контрольной группы продолжало нарастать, а в паралимбальной достоверно не изменялось.

Подсчёт эпителиальных клеток в перифокальной и паралимбальной зонах показал более выраженное, по сравнению с контрольной группой, увеличение количества дифференцирующихся эпителиоцитов в основной группе на 14-ые сутки исследования. При этом содержание ЭКПЯ постепенно уменьшалось.

На 30-е сутки наблюдения в обеих груп-

пах клиническая картина характеризовалась формированием либо реорганизацией различной степени помутнений роговицы. В клеточных образцах язвенно-воспалительной зоны определялись единичные нейтрофилы, однако в основной группе их количество было достоверно ниже ( $p=0,025$ ), чем в контрольной. Число макрофагов и фибробластов в данной зоне обеих групп достоверно не отличалось, тогда как содержание дифференцирующихся эпителиальных клеток в основной группе ( $Me=88,57\%$ ,  $p<0,001$ ) было значительно выше по сравнению с контрольной ( $Me=63,63\%$ ). Обратная динамика наблюдалась в отношении ЭКПЯ: в контрольной группе их количество было достоверно выше ( $Me=26,08\%$ ,  $p<0,001$ ), чем в основной ( $Me=5,71\%$ ).

В клеточных образцах перифокальной и паралимбальной зон контрольной группы на 30-е сутки наблюдения продолжали определяться единичные нейтрофилы, в то время как в основной группе они отсутствовали. Наблюдалось снижение количества макрофагов и фибробластов. Содержание дифференцирующихся эпителиальных клеток в контрольной группе постепенно нарастало, но было значительно ниже данного показателя в основной группе (перифокальная зона:  $Me=58,49\%$  – контрольная группа,  $Me=70,47\%$  – основная группа,  $p=0,002$ ; паралимбальная зона:  $Me=65,0\%$  – контрольная группа,  $Me=75,21\%$  – основная группа,  $p<0,001$ ). В отношении ЭКПЯ наблюдалась обратная динамика: их количество как в перифокальной, так и паралимбальной зонах контрольной группы превышало уровень их содержания у пациентов основной группы ( $p=0,013$  и  $p=0,004$  соответственно).

Таким образом, применение аутосыворотки, активированной зимозаном, в лечении вторичной формы бактериального кератита способствовало активации фагоци-

тоза, пролиферативных и репаративных процессов. Благодаря запуску альтернативного пути системы комплемента [10] уже на 3-и сутки наблюдался резкий рост количества макрофагов в язвенно-воспалительной зоне, тогда как в группе пациентов, получавших традиционное лечение, их число увеличивалось постепенно вплоть до 14-ых суток с более длительным сохранением нейтрофильной инфильтрации во всех исследуемых зонах.

Активация пролиферативных и репаративных процессов АСАЗ проявлялась в быстром росте количества фибробластов, эпителиальных клеток базального типа и значительном уменьшении количества дистрофически измененных клеток (ЭКПЯ).

### Выводы

Аутосыворотка, активированная зимозаном, является эффективным средством активации фагоцитоза, пролиферативных и репаративных процессов в роговице при лечении вторичной формы бактериального кератита.

Применение аутосыворотки, активированной зимозаном, в комплексном лечении вторичной формы бактериального кератита позволяет сократить сроки заживления язвенно-воспалительного дефекта роговицы на 4 суток ( $p=0,033$ ).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Старков, Г. Л. Об эпидемиологии, профилактике и диспансеризации офтальмологических больных с наружными воспалительными заболеваниями / Г. Л. Старков, Р. С. Соколова // Вестн. офтальмологии. – 1988. – № 1. – С. 3-5.
2. Либман, Е. С. Слепота и инвалидность вследствие патологии органа зрения в России / Е. С. Либман, Е. В. Шахова // Вестн. офтальмологии. – 2006. – № 1. – С. 35-37.
3. Либман, Е. С. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России / Е. С. Либман, Е. В. Шахова / Материалы

VII Съезда офтальмологов России. – Москва, 2000. – Ч. 2. – С. 209-214.

4. Полянская, Н. К. Тактика лечения пациентов с язвами роговицы на фоне тяжелой соматической патологии / Н. К. Полянская // Клин. офтальмология. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 15-16.

5. Шаимова, В. А. Клинико-этиологические особенности различных типов течения гнойной язвы роговицы / В. А. Шаимова // Вестн. офтальмологии. – 2002. – Т. 118, № 1. – С. 39-41.

6. Khurana, A. K. Ophthalmology / A. K. Khurana. – New age international, 2007. – 603 p.

7. Рыбакова, Е. Г. Корнерегель – новый стимулятор репаративной регенерации / Е. Г. Рыбакова // Офтальмология в Беларуси. – 2009. – № 3. – С. 63-66.

8. О введении антибиотиков в ткани глаза при помощи лечебных мягких контактных линз / В. Ф. Даниличев [и др.] // Современная оптометрия. – 2007. – № 9. – С. 11-15.

9. Волкович, Т. К. Клеточный состав и морфофункциональное состояние эпителия роговицы при при-

менении аутосыворотки, активированной зимозаном в комплексном лечении экспериментального бактериального кератита / Т. К. Волкович, И. В. Самсонова, В. И. Морхат // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы конф. – Витебск, 2010. – С. 18-21.

10. Закенфельд, Г. К. Иммунологический механизм действия полисахаридов дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* / Г. К. Закенфельд. – Рига, 1990. – 152 с.

#### Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27,  
Витебский государственный  
медицинский университет,  
кафедра офтальмологии,  
e-mail: t.volkovich@rambler.ru,  
Волкович Т.К.

*Поступила 24.08.2010 г.*

---

---

#### ЧИТАЙТЕ В СЛЕДУЮЩЕМ НОМЕРЕ:

А.М. Шестюк, А.С. Карпицкий, С.В. Панько, Р.И. Боуфалик  
Определение параметров видеоторакоскопического подхода  
к наддиафрагмальному сегменту пищевода