

Фармакологические свойства гиалуронидазы и возможности ее клинического применения в офтальмологии

В.Е. Забанова^{1,2}, А.Ж. Фурсова^{1,2}, П.Г. Мадонов²

¹ Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Резюме

Заболевания роговицы являются четвертой по значимости причиной слепоты в мире, на их долю приходится примерно 5 % случаев. Существующие методы лечения более чем в 30 % случаев не дают полного терапевтического эффекта и при купировании процесса заканчиваются стойким нарушением прозрачности роговицы, снижением или полной потерей зрительных функций. Отсутствие эффективных средств, доказательно восстанавливающих прозрачность роговицы, определяет актуальность поиска современных препаратов и способов их доставки, возможностей усиления терапевтического воздействия. Рассматриваются возможности использования в офтальмологии препаратов гиалуронидазы на основе изучения ее биологических и фармакологических свойств. Фермент катализирует расщепление кислых мукополисахаридов, в том числе гиалуроновой кислоты, гидролизуя гликозидную связь $\beta(1\rightarrow4)$, биологический эффект определяется молекулярной массой образовавшихся фрагментов: высокомолекулярные обладают антиангиогенными свойствами, повышенной способностью связывать фибриноген, противовоспалительным и иммуносупрессивным действием, а низкомолекулярные проявляют провоспалительную активность и способствуют ангиогенезу. Барьерная функция роговицы обеспечивается особенностями анатомического строения, при этом ее регенерация с формированием помутнения сопровождается избыточной экспрессией и миграцией в строму цитокинов TGF- β и PDGF, активацией миофибробластов и формированием фибропролиферативного ответа. Высокая противовоспалительная, иммуномодулирующая, регенеративная и антифибротическая активность гиалуронидазы, возможность ее воздействия на сложный патофизиологический каскад деструктивных процессов и минимизация процесса рубцевания служат стимулом для более масштабных экспериментальных и клинических исследований по разработке новых методов лечения офтальмологических заболеваний с применением препаратов гиалуронидазы.

Ключевые слова: гиалуронидаза, гиалуроновая кислота, роговица, боуменова мембрана, миофибробласты, эффективность гиалуронидазы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Забанова В.Е., e-mail: vikazabanova@gmail.com

Для цитирования: Забанова В.Е., Фурсова А.Ж., Мадонов П.Г. Фармакологические свойства гиалуронидазы и возможности ее клинического применения в офтальмологии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (4): 11–19. doi: 10.15372/SSMJ20200402

Hyaluronidase pharmacological properties and clinical application in ophthalmology

V.E. Zabanova^{1,2}, A.Zh. Fursova^{1,2}, P.G. Madonov²

¹ Novosibirsk State Region Hospital
630008, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

Abstract

Corneal diseases are the fourth leading cause of blindness in the world, accounting for approximately 5 % of cases. Existing methods of treatment in more than 30 % of cases do not have a full therapeutic effect and when the process is stopped, they end with a persistent violation of corneal transparency, a decrease or complete loss of visual functions. The lack of effective means that evidence-based restore corneal transparency determines the relevance of the search for modern drugs and ways to deliver them, the possibilities of enhancing the therapeutic effect. The possibilities of using hyaluronidase preparations in ophthalmology are considered based on the study of its biological and pharmacological properties. Enzyme catalyzes the breakdown of acid mucopolysaccharides including hyaluronic acid by cleavage of the glycosidic bond $\beta(1\rightarrow4)$, the biological effect is determined by the molecular weight of the resulting fragments: high-molecular fragments have antiangiogenic properties, increased ability to bind fibrinogen, anti-inflammatory and immunosuppressive effects, and low-molecular fragments have pro-inflammatory activity and promote angiogenesis. The barrier function of the cornea is provided by the features of its anatomical structure, while the features of its regeneration with the formation of turbidity are accompanied by overexpression and migration to the stroma of cytokines TGF- β and PDGF, activation of myofibroblasts and the formation of a fibroproliferative response. The high anti-inflammatory, immunomodulatory, regenerative and antifibrotic activity of hyaluronidase, the possibility of its effect on a complex pathophysiological cascade of destructive processes and minimization of the scarring process stimulate more extensive experimental and clinical studies on the development of new methods of treating ophthalmic diseases using hyaluronidase drugs.

Key words: hyaluronidase, hyaluronic acid, cornea, Bowman's membrane, myofibroblasts, hyaluronidase efficacy.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Zabanova V.E., e-mail: vikazabanova@gmail.com

Citation: Zabanova V.E., Fursova A.Zh., Madonov P.G. Hyaluronidase pharmacological properties and clinical application in ophthalmology. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (4): 11–19. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200402

Введение

Заболевания роговицы являются четвертой по значимости причиной слепоты в мире, на их долю приходится примерно 5 % случаев [1]. Существующие методы лечения таких патологических состояний, как кератиты, эктазии и дистрофии роговицы, более чем в 30 % случаев не дают полного терапевтического эффекта и при купировании процесса заканчиваются стойким нарушением прозрачности роговицы и снижением или потерей зрения [2]. При повреждениях боуеновой мембраны и других глубоко лежащих отделов роговицы, учитывая особенности ее анатомического строения, регенерация происходит с формированием помутнения или рубца, что значимо и необратимо влияет на зрительные функции. Отсутствие эффективных средств, доказательно восстанавливающих прозрачность роговицы, определяет актуальность поиска современных препаратов и способов их доставки, возможностей усиления терапевтического воздействия.

Клинический опыт применения гиалуронидазы, основанный на ее биологических и фармакологических свойствах, может стать предметом дальнейших исследований по выбору высокоэффективных методов лечения заболеваний роговицы.

Химические и фармакологические свойства гиалуронидазы. В первой половине XX в. гиалуронидаза впервые была описана как «распространяющий фактор», а позднее охарактеризована как муколитический фермент, определяющий повышенное поглощение веществ. Гиалуронидаза содержится в тканях животных и микроорганизмах. Фермент обнаружен в печени, селезенке, костной ткани, семенниках. В организме человека идентифицировано несколько типов гиалуронидазы, как в цитоплазме клеток, так и в экстрацеллюлярном матриксе (ЭЦМ). Согласованная работа этих изоформ способствует поддержанию оптимального баланса гиалуроновой кислоты (ГК) в соединительной ткани [3].

В соответствии с классификацией Карла Мейера [4], гиалуронидазы делят на несколько типов с использованием следующих признаков: источник фермента, используемые субстраты, условия и тип катализируемой реакции, образующиеся продукты. В клинической медицине используется преимущественно тестикулярная гиалуронидаза, получаемая из семенников быка. Фермент катализирует расщепление кислых мукополисахаридов, в том числе ГК, гидролизую гликозидную связь $\beta(1\rightarrow4)$ с образованием N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты.

Будет уместно остановиться на биологических свойствах ГК, поскольку ее расщепление,

по-видимому, является одним из механизмов фармакологического эффекта гиалуронидазы. Изучение механизмов влияния ГК на состояние глазной поверхности является предметом экспериментальных и клинических исследований в офтальмологии. ГК относится к группе кислых гликозаминогликанов – высокомолекулярных линейных биополимеров, молекулы которых построены из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, соединенных $\beta(1\rightarrow4)$ - и $\beta(1\rightarrow3)$ -связями. ГК имеет способность к полимеризации и в разных органах представлена полимерами различной молекулярной массы, в среднем составляющей 3,5 млн Да. Имея большое количество отрицательных зарядов, ГК притягивает катионы натрия, калия, кальция и магния, что вызывает поступление воды в матрикс и тем самым уменьшение проницаемости соединительной ткани. Связывая интерстициальную воду в ЭЦМ, ГК оптимизирует распределение воды в тканях, обеспечивает ионный обмен, транспорт нутриентов, повышение сопротивления тканей к сжатию, благодаря чему обладает высокой вязкоупругостью и влагоудерживающей способностью. ГК входит в состав соединительной ткани, в большом количестве присутствует в стекловидном теле [5], синовиальной жидкости и коже [6] в качестве компонента внеклеточного матрикса. Являясь строительным материалом для фибробластов, коллагеновых и эластических волокон, ГК оказывает регулирующее действие на формирование коллагеновых волокон в зоне повреждения.

Доказано, что биологические свойства ГК зависят от ее молекулярной массы. Высокомолекулярные полимеры ГК обладают антиангиогенными свойствами, повышенной способностью связывать фибриноген [7], противовоспалительным и иммуносупрессивным действием [8]. Их продукция увеличивается в местах воспаления, часто коррелируя с адгезией и миграцией лейкоцитов. Противовоспалительная роль высокомолекулярных полимеров подтверждается возможностью их связывания с моноцитами периферической крови, что индуцирует экспрессию факторов роста и компонентов матрикса [8]. Напротив, низкомолекулярная ГК обладает провоспалительной активностью за счет секреции макрофагальных воспалительных белков (MIP-1 α , MIP-1 β), белка хемотаксиса моноцитов 1, интерлейкинов (IL-8, IL-12, IL-1 β), фактора некроза опухолей (TNF- α) [9]. Низкомолекулярная ГК способствует ангиогенезу, что показано на ряде экспериментальных моделей [10], преимущественно за счет увеличения синтеза коллагена I и VIII типов, которые являются молекулами ЭЦМ

эндотелиальных клеток ангиогенного фенотипа. ГК содействует репарации [11], ангиогенезу [12], [13] и влияет на иммунную регуляцию [14, 15]. На этих свойствах основано включение ГК в состав лекарственных препаратов [16], косметических средств и продуктов лечебного питания.

Экспериментальные исследования показали, что местные инстилляции ГК влияют на стабилизацию слезной пленки, способствуют восстановлению и репарации эпителиальных дефектов роговицы [17] за счет влагоудерживающих характеристик [18] и способности стимулировать прикрепление клеток посредством связывания фибронектина [19]. Несмотря на доказанный эффект восстановления водного слоя слезной пленки, действие ГК на эпителий при совместном применении с другими активными агентами явилось предметом многочисленных исследований, в которых, в частности, обнаружен положительный эффект на эпителизацию роговицы и минимизацию повреждающего действия консервантов [20, 21].

Бензалкония хлорид широко используется в качестве консерванта в глазных каплях благодаря своим антибактериальным свойствам и физико-химическим характеристикам [22, 23], однако продолжительная инстилляция таких капель может оказывать негативное действие на эпителий роговицы. Исследованиями *in vitro* и *in vivo*, с одной стороны, показаны защитные эффекты ГК против задержки клеточной миграции, вызванной бензалкония хлоридом, с другой стороны, усиление его повреждающего действия при увеличении концентрации ГК и частоты инстилляций. Полученные экспериментальные данные могут служить прямым доказательством необходимости активной деградации ГК для усиления диффузии препарата в глубокие слои роговицы при проведении противовоспалительной и рассасывающей терапии.

Клиническое применение препаратов гиалуронидазы. Считается, что применение гиалуронидазы началось в 1952 г., когда W. Вreu продемонстрировал, что этот фермент помогает распределять красители и другие вещества в тканях и увеличивает проницаемость дермы и соединительной ткани путем гидролиза полимерной структуры ГК [24]. Однако еще в 1949 г. W.S. Atkinson впервые применил гиалуронидазу в офтальмологии, используя ее в сочетании с адреналином и прокаином с целью пролонгирования их эффекта [25]. Фармакологические эффекты гиалуронидазы позволили использовать фермент для увеличения скорости всасывания и уменьшения дискомфорта, вызванного подкожным или внутримышечным введением растворов, для

усиления рассасывания избыточного накопления жидкости и гематом в тканях, а также для повышения эффективности местной анестезии.

Ферментные препараты уже несколько десятилетий достаточно успешно используются в комплексной терапии хронических воспалительных процессов. Способность гиалуронидазы активировать действие антибиотиков, облегчать их проникновение в ткани и в результате повышать эффективность терапии установлена в ряде экспериментальных и клинических исследований [26].

Препараты на основе гиалуронидазы успешно используются в комплексе лечебных мероприятий совместно с антибактериальными препаратами при лечении хронических воспалительных заболеваний в гинекологии [27, 28], спаечных процессов органов малого таза [29, 30]. В исследованиях Т.А. Назаренко с соавт. показаны высокая противовоспалительная активность и улучшение биодоступности антибактериальных средств в сочетании с препаратами гиалуронидазы [27] за счет ее способности временно и обратимо деполимеризовать ГК и создавать микроканалы в ЭЦМ для проникновения через них препарата [31]. Способность гиалуронидазы регулировать продукцию цитокинов и медиаторов воспаления в зависимости от их исходного уровня применяются в лечении острого воспаления. Показана нормализация содержания провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-8 и увеличение синтеза противовоспалительных цитокинов IL-14, IL-10, IL-1Ra на фоне применения лекарственного препарата на основе тестикулярной гиалуронидазы при острых панкреатитах [32], после трансуретральной резекции аденомы предстательной железы [33]. За счет гликолитической активности фермента повышается проницаемость тканевых барьеров, сопровождающаяся снижением отека тканей, экссудативной реакции, облегчается движение жидкости в межклеточном пространстве и возрастает эластичность соединительной ткани [32], что позволяет ее использовать при пересадке органов [34] и в лечении инфарктов миокарда [35]. Не менее важным является применение гиалуронидазы как фактора распространения, т.е. улучшающего доставку лекарственного препарата: инсулина при диабете, бета-интерферонов при рассеянном склерозе, биотерапии при ревматоидном артрите, заместительной терапии иммуноглобулинами при первичных иммунодефицитах и моноклональных антител при лечении рака [31].

Возможные фармакологические мишени для гиалуронидазы в офтальмологии. Гиалуронидаза доказала свою эффективность в усилении эффекта местных анестетиков при различ-

ных видах офтальмохирургических операций. S.A. Rowley et al. показали ее роль в усилении диффузии анальгетиков из субтенонового пространства к нервам и мионевральным соединениям экстраокулярных мышц при субтеноновой анестезии [36].

Профилактика избыточного рубцевания вновь созданных путей оттока после фистулизирующих операций при глаукоме, приводящего к повторному повышению внутриглазного давления, стала предметом множественных экспериментальных исследований. Использование лекарственного препарата на основе тестикулярной гиалуронидазы и полимера (бовгиалуронидаза азоксимер) в виде субконъюнктивальных инъекций в сравнении с 5-фторурацилом показало выраженный антипролиферативный эффект и отсутствие токсического действия [37]. A. Zahavi, J.R. Grigg представлена методика задней диссекции конъюнктивы и теноновой капсулы при установке дренажного устройства в хирургии глаукомы с использованием гиалуронидазы, которая применялась с целью минимизации травматизации тканей и облегчения рассечения даже при наличии спаек и рубцов конъюнктивы [38].

Перспективными представляются исследования по использованию гиалуронидазы в качестве активного агента для «фармакологического витреолиза» в витреоретинальной хирургии. В экспериментах *in vivo* показана эффективность гиалуронидазы в индукции задней отслойки стекловидного тела в комбинации с плазмином [39] или с перфторпропановым газом [40]. L. Puchalska-Niedbał et al. показан эффект уменьшения интенсивности помутнения стекловидного тела при субконъюнктивальном введении гиалуронидазы [41].

На наш взгляд, заслуживает внимания возможность использования гиалуронидазы при патологии глазной поверхности, в частности роговой оболочки. Роговица выполняет барьерную функцию как для механических факторов, так и для химических и инфекционных агентов. Особенности анатомического строения боуеновой мембраны и глубже лежащих слоев роговицы определяют особенности ее регенерации с формированием помутнения, сопровождающегося необратимым снижением или утратой зрительных функций после тяжелых травм, инфекций или операций.

Боуенова мембрана, регуляторная структура роговицы, ограничивает фиброзный ответ, контролируя доступность цитокинов и внеклеточных компонентов к строме [42]. Ее повреждение сопровождается проникновением трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и тромбоцитарно-

го фактора роста (PDGF) в строму роговицы, где происходит активация миофибробластов. Источниками *in vivo* высоких уровней TGF- β является эпителий, а в раннем послеоперационном периоде, до закрытия эпителиального дефекта, вероятно, слезная пленка [43]. TGF- β играет важную роль в заживлении повреждений благодаря своим плейотропным эффектам на пролиферацию и дифференцировку клеток, продукцию ЭЦМ и иммунную модуляцию [44, 45]. TGF- β представлен тремя изоформами, которые кодируются отдельными генами [46] и выполняют разные функции в заживлении ран: TGF- β 1 и TGF- β 2 усиливают пролиферацию, TGF- β 3 обладает противооперативным действием [46–48].

Избыточная экспрессия TGF- β приводит к увеличению экспрессии генов фактора роста соединительной ткани. Пролиферация и миграция белков ЭЦМ, коллагена и фибронектина приводят к формированию помутнения роговицы [49]. В исследованиях на опухолевых клетках показано, что TGF- β ингибирует рост клеток эпителиального происхождения (нормальных эпителиальных клеток, кератиноцитов, гепатоцитов и различных кровяных клеток) [50, 51], стимулирует синтез коллагена и выработку нескольких ключевых белков, таких как тенасины, фибронектин, тромбоспондин, протеогликаны, тканевой ингибитор металлопротеазы-1 (TIMP-1), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) [52, 53]. При повреждениях происходит заживление через фибропролиферативный ответ, который влечет за собой опосредованное TGF- β отложение избыточного коллагена вместе с деградацией ЭЦМ и приводит к увеличению интенсивности образования рубца [54]. В исследовании N.-S. Chang показан функциональный антагонизм между гиалуронидазой и TGF- β 1 при модуляции пролиферации клеток *in vitro* [55]. Например, гиалуронидаза PH-20 противодействует TGF- β 1-опосредованному ингибированию роста эпителиальных клеток [56].

PDGF является цитокином, который участвует в модуляции развития миофибробластов в роговице [57–59]. Миофибробласты генерируются из клеток-предшественников, полученных как из кератоцитов, так и из костного мозга [60, 61], они непрозрачны из-за уменьшенной продукции белка кристаллина по сравнению с кератоцитами [62], что также определяет нарушение прозрачности роговицы. После попадания в строму миофибробласты начинают экспрессировать неорганизованный ЭЦМ, изменяющий точное распределение коллагеновых волокон и физически блокирующий нормальные кератоциты, которые уже не могут участвовать в регенерации боумен-

новой мембраны. Миофибробласты не только не вносят необходимые компоненты для завершения восстановления базальной мембраны, но и препятствуют тому, чтобы кератоциты заняли положение в передней строме, где они могут способствовать полному восстановлению боуменовой мембраны. При регенерации боуменовой мембраны она вновь начинает выполнять свою барьерную функцию, стромальные уровни TGF- β и PDGF падают, миофибробласты подвергаются апоптозу, кератоциты повторно занимают переднюю строму, аномальный внеклеточный матрикс реабсорбируется и восстанавливается прозрачность роговицы [63].

Глубокие повреждения, затрагивающие десцеметову мембрану, вызывают максимальную миграцию миофибробластов, которая поддерживается проникновением из влаги передней камеры в строму TGF- β , что приводит к тотальному помутнению всех слоев роговицы. В редких случаях возможны регенерация десцеметовой мембраны и восстановление полной прозрачности роговицы за счет апоптоза задних стромальных миофибробластов [64, 65].

Эндотелиальные клетки при повреждении способны синтезировать IL-1. IL-1 α и IL-1 β высвобождаются из эндотелия роговицы в результате повреждения или гибели клеток [66, 67]. Когда IL-1 α или IL-1 β связываются с рецепторами IL-1 кератоцитов, они индуцируют выработку лиганда Fas и запускают апоптоз кератоцитов [68].

В.В. Егоров с соавт. показали клиническую эффективность лекарственного препарата на основе тестикулярной гиалуронидазы в комплексном лечении бактериальных кератитов: его применение методом магнитофореза приводило к уменьшению перифокального отека, резорбции экссудата в передней камере, ускорению очищения и эпителизации инфильтратов роговицы. Цитологическое исследование констатировало сокращение продолжительности воспалительно-дегенеративной фазы (за счет уменьшения количества нейтрофилов и их дегенеративных форм), более быстрое развитие регенераторных реакций (укорочение сроков эпителизации), уменьшение плотности фибробластов, что сопровождалось развитием менее грубых помутнений и рубцов роговицы [69].

Заключение

Несмотря на многолетнюю историю изучения и применения гиалуронидазы в экспериментальной и клинической медицине, научных публикаций, посвященных ее применению в офтальмологии, немного. Возможно, это объясняется

небольшим количеством лекарственных препаратов на основе гиалуронидазы; в России наиболее широкое распространение получили лидаза, лонгидаза, ронидаза, биогиал. Лидаза и ронидаза представляют собой гиалуронидазу, выделенную из семенников крупного рогатого скота и имеющую международное непатентованное название «бовгиалуронидаза». Лонгидаза – это конъюгат гиалуронидазы с высокомолекулярным носителем из группы производных N-оксида поли-1,4-этиленпиперазина (азоксимером, который повышает устойчивость фермента к действию температуры и ингибиторов, увеличивает его активность и приводит к пролонгированию протеолитического действия). Биогиал, в отличие от других препаратов, содержит гиалуронидазу бактериального происхождения, продуцируемую штаммом микроорганизмов *Streptomyces actinocidus* 77.

Все эти препараты являются парентеральными лекарственными формами, не предполагающими применения в виде инстилляций, субконъюнктивального введения, что делает невозможным их использование в реальной клинической практике. Лечение патологии глазной поверхности основано на местном и частом использовании именно инстилляционных форм. Таким образом, в настоящее время сформировался некий диссонанс между обоснованием использования препаратов гиалуронидазы в офтальмологии и фактическим отсутствием фармакологических технологий их применения. Это обстоятельство является своего рода стимулом для более масштабных экспериментальных и клинических исследований по разработке новых методов лечения офтальмологических заболеваний с применением препаратов гиалуронидазы.

Проведенный анализ литературных данных подтверждает возможности использования препаратов гиалуронидазы при лечении поврежденной роговицы, сопровождающихся нарушением прозрачности и образованием рубца. Учитывая высокую противовоспалительную, иммуномодулирующую, регенеративную и антифибротическую активность фермента, можно предположить возможность воздействия на сложный патофизиологический каскад деструктивных процессов и минимизации процесса рубцевания, ведущих к грубому и необратимому снижению зрительных функций.

Список литературы / References

1. World Health Organization Blindness and vision impairment. Published October 11, 2018. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment>
2. Ziaei M., Barsam A., Shamie N., Vroman D., Kim T., Donnenfeld E.D., Holland E.J., Kanellopoulos J., Mah F.S., Randleman J.B., Daya S., Güell J. ASCRS Cornea Clinical Committee. Reshaping procedures for the surgical management of corneal ectasia. *J. Cataract Refract. Surg.* 2015; 41 (4): 842–872. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.03.010
3. Хабриев Р.У., Камаев Н.О., Данилова Т.И., Качоян Е.Г. Особенности действия гиалуронидаз различного происхождения на соединительную ткань. *Биомед. химия.* 2016; 62 (1). 82–88. doi: 10.18097/PBMC20166201082
4. Khabriev R.U., Kamaev N.O., Danilova T.I., Kachoyan E.G. Features of action of hyaluronidase of various origin on connective tissue. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry.* 2016; 62 (1). 82–88. [In Russian]. doi: 10.18097/PBMC20166201082
5. Meyer K. Hyaluronidases. In: *The enzymes.* Ed. P.D. Boyer. 3rd ed, v. V. N.Y.: Acad. Press, 1971. 307–320.
6. Meyer K., Palmer J.W. The polysaccharide of the vitreous humor. *J. Biol. Chem.* 1934; 107: 629–634.
7. Meyer K., Smyth E.M., Dawson M.H. The isolation of a mucopolysaccharide synovial fluid. *J. Biol. Chem.* 1939; 128: 319–327.
8. Chen W.Y., Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen.* 1999; 7: 79–89. doi: 10.1046/j.1524-475x.1999.00079.x
9. Day A.J., de la Motte C.A. Hyaluronan cross-linking: a protective mechanism in inflammation. *Trends Immunol.* 2005; 26 (12): 637–643. doi: 10.1016/j.it.2005.09.009
10. Nagai N., Ito Y., Okamoto N., Shimomura Y. In vitro evaluation of corneal damages after instillation of eye drops using rat debrided corneal epithelium: changes in corneal damage of benzalkonium chloride by addition of thickening agent. *Yakugaku Zasshi.* 2012; 132 (7): 837–843. doi: 10.1248/yakushi.132.837
11. Noble P.W. Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair. *Matrix Biol.* 2002; 21 (1): 25–29. doi: 10.1016/s0945-053x(01) 00184-6
12. Aya K.L., Stern R. Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player. *Wound Repair Regen.* 2014; 22 (5): 579–593. doi: 10.1111/wrr.12214
13. West D.C., Hampson I.N., Arnold F., Kumar S. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science.* 1985; 228 (4705): 1324–1326. doi: 10.1126/science.2408340
14. Slevin M., Kumar S., Gaffney J. Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce multiple signaling pathways affecting vascular endothelial cell mitogenic and wound healing responses. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (43): 41046–41059. doi: 10.1074/jbc.M109443200
15. Saikia P., Roychowdhury S., Bellos D., Pollard K., McMullen M., McCullough R., McCullough A., Gholam P., de la Motte C., Nagy L.E. Hyaluronic acid 35 normalizes TLR4 signaling in Kupffer cells from ethanol-fed rats via regulation of microRNA291b and

- its target *Tollip. Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 15671. doi: 10.1038/s41598-017-15760-4
15. Bollyky P.L., Wu R.P., Falk B.A., Lord J.D., Long S.A., Preisinger A., Teng B., Holt G.E., Standifer N.E., Braun K.R., Xie C.F., Samuels P.L., Vernon R.B., Gebe J.A., Wight T.N., Nepom G.T. ECM components guide IL-10 producing regulatory T-cell (TR1) induction from effector memory T-cell precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108 (19): 7938–7943. doi: 10.1073/pnas.1017360108
16. Palmieri B., Rottigni V., Iannitti T. Preliminary study of highly cross-linked hyaluronic acid-based combination therapy for management of knee osteoarthritis-related pain. *Drug Des. Devel. Ther.* 2013; 7: 7–12. doi: 10.2147/DDDT.S37330
17. Cagini C., Torroni G., Fiore T., Cerquaglia A., Lupidi M., Aragona P., Iaccheri B. Tear film stability in sjögren syndrome patients treated with hyaluronic acid versus crosslinked hyaluronic acid-based eye drops. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2017; 33 (7): 539–542. doi: 10.1089/jop.2016.0149
18. Zheng X., Goto T., Shiraishi A., Ohashi Y. *In vitro* efficacy of ocular surface lubricants against dehydration. *Cornea.* 2013; 32 (9):1260–1264. doi: 10.1097/ICO.0b013e31829cfd44
19. Nakamura M., Mishima H., Nishida T., Otori T. Binding of hyaluronan to plasma fibronectin increases the attachment of corneal epithelial cells to a fibronectin matrix. *J. Cell. Physiol.* 1994; 159 (3): 415–422. doi: 10.1002/jcp.1041590305
20. Liu X., Yu F.F., Zhong Y.M., Guo X.X., Mao Z. Therapeutic effects of sodium hyaluronate on ocular surface damage induced by benzalkonium chloride preserved anti-glaucoma medications. *Chin. Med. J.* 2015; 128 (18): 2444–2449. doi: 10.4103/0366-6999.164927
21. Yu F., Liu X., Zhong Y., Guo X., Li M., Mao Z., Xiao H., Yang S. 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. doi: 10.1167/iops.12-11181
22. Nagai N., Murao T., Okamoto N., Ito Y. Comparison of corneal wound healing rates after instillation of commercially available latanoprost and travoprost in rat debrided corneal epithelium. *J. Oleo Sci.* 2010; 59 (3): 135–141. doi: 10.5650/jos.59.135
23. Lin Z., Liu X., Zhou T., Wang Y., Bai L., He H., Liu Z. A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride. *Mol. Vis.* 2011; 17: 257–264.
24. Breu W. Hyaluronidase. *Wien. Med. Wochenschr.* 1952; 102 (23): 435–437.
25. Atkinson W.S. Use of hyaluronidase with local anesthesia in ophthalmology; preliminary report. *Arch. Ophthalmol.* 1949; 42 (5): 628–633. doi: 10.1001/archophth.1949.00900050638012
26. Harb G., Lebel F., Battikha J., Thackara J.W. Safety and pharmacokinetics of subcutaneous ceftriaxone administered with or without recombinant human hyaluronidase (rHuPH20) versus intravenous ceftriaxone administration in adult volunteers. *Curr. Med. Res. Opin.* 2010; 26 (2): 279–288. doi: 10.1185/03007990903432900
27. Дубницкая Л.В., Назаренко Т.А. Хронический эндометрит: возможности диагностики и лечения. *Consil. med.* 2007; 9 (6): 25–28.
- Dubnitskaya L.V., Nazarenko T.A.. Chronic endometritis: diagnostic and treatment options. *Consilium Medicum.* 2007; 9 (6): 25–28. [In Russian].
28. Петрович Е.А., Колесов А.А., Манухин И.Б. Безопасность и эффективность препарата Лонгидазы 3000 МЕ при лечении больных, страдающих спаечным процессом в малом тазе. *Иммунология.* 2006; 2: 124–126.
- Petrovich E.A., Kolesov A.A., Manuchin I.B. Safety and effectiveness of the drug longidase 3000 IU in the treatment of patients suffering from adhesions in the pelvis. *Immunologiya = Immunology.* 2006; (2): 124–126. [In Russian].
29. Кулаков В.И., Овсянникова Т.В. Значение лапароскопии в клинике бесплодия: структура и частота патологии, эффективность лечения. *Пробл. репродукции.* 1996; (2): 35–37.
- Kulakov V.I., Ovsyannikova T.V. The significance of laparoscopy in infertility clinics: the structure and frequency of pathology, the effectiveness of treatment. *Problemy reproduktivnoy = Russian Journal of Human Reproduction.* 1996; 2: 35–37. [In Russian].
30. Иванова А.С., Юрьева Э.А., Длин В.В. Фиброзирующие процессы. Патофизиология соединительной ткани. Методы диагностики и принципы коррекции фиброза: Диагностический справочник. М.: Оверлей, 2008. 196 с.
- Ivanova A.S., Yur'eva E.A., Dlin V.V. Fibrotic processes. Pathophysiology of connective tissue. Diagnostic methods and principles of fibrosis correction: diagnostic reference. Moscow: Overley, 2008. 196 p. [In Russian]
31. Gilson R.L., Gondal Z.A. Hyaluronidase. StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2020.
32. Лазаренко В.А., Локтионов А.Л., Азарова Ю.Е., Синякова О.А., Конопля А.И. Коррекция лонгидазой цитокинсинтетической активности перитонеальных макрофагов при остром панкреатите различной этиологии. *Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье».* 2010; (4): 34–39.
- Lazarenko V.A., Loktionov A.L., Azarova Yu.E., Sunyaykina O.A., Konoplya A.I. Correction of cytokinesynthetic activity of peritoneal macrophages with longidaza at acute pancreatitis various etiology. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i yego zdorov'ye» = Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and His Health».* 2010; (4): 34–39. [In Russian].
33. Теодорович О.В., Шатохин М.Н., Мальцев В.Н., Конопля А.И., Локтионов А.Л., Крас-

нов А.В.. Коррекция иммунометаболических нарушений при аденоме предстательной железы в сочетании с хроническим простатитом. *Урология*. 2010; (5): 22–26.

Teodorovich O.V., Shatokhin M.N., Maltsev V.N., Konoplya A.I., Loctionov A.L., Krasnov A.V. Correction of immunometabolic disorders in prostatic adenoma in combination with chronic prostatitis. *Urologiya = Urology*. 2010; 5: 22–26. [In Russian].

34. Johnsson C., Tufveson G., Hällgren R. Monitoring of intragraft pressure of rejecting organs: increased tissue pressure can be reduced by hyaluronidase therapy. *Transplantation*. 2000; 70 (11): 157515–157580. doi: 10.1097/00007890-200012150-00007

35. Yotsumoto G., Moriyama Y., Yamaoka A., Taira A. Experimental study of cardiac lymph dynamics and edema formation in ischemia/reperfusion injury – With reference to the effect of hyaluronidase. *Angiology*. 1998; 49 (4): 299–305. doi: 10.1177/000331979804900408

36. Rowley S.A., Hale J.E., Finlay R.D. Sub-Tenon's local anaesthesia: the effect of hyaluronidase. *Br. J. Ophthalmol*. 2000; 84 (4): 435–436. doi: 10.1136/bjo.84.4.435

37. Шмырева В.Ф., Иванова А.С., Федоров А.А., Петров С.Ю., Макарова А.С. Медико-биологическое исследование лонгидазы. Ч. 1. *Глаукома*. 2011; (4): 5–10.

Shmyrova V.F., Ivanova A.S., Fedorov A.A., Petrov S.Yu., Makarova A.S. Medico-biological study of longidase. Part 1. *Glaukoma = Glaucoma*. 2011; (4): 5–10. [In Russian].

38. Zahavi A., Grigg J.R. Hyaluronidase injection for improved tissue dissection in Baerveldt tube surgery. *Eur. J. Ophthalmol*. 2018; 28 (3): 339–340. doi: 10.5301/ejo.5001065

39. Zhi-Liang W., Wo-Dong S., Min L., Xiao-Ping B., Jin J. Pharmacologic vitreolysis with plasmin and hyaluronidase in diabetic rats. *Retina*. 2009; 29 (2): 269–274. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181923ff0

40. Kang S.W., Hyung S.M., Choi M.Y., Lee J. Induction of vitreolysis and vitreous detachment with hyaluronidase and perfluoropropane gas. *Korean J. Ophthalmol*. 1995; 9 (2): 69–78. doi: 10.3341/kjo.1995.9.2.69

41. Puchalska-Niedbał L., Millo B. Efficacy of hyaluronidase in reducing vitreous opacities-preliminary report. *Klin. Oczna*. 2002; 104 (2): 135–137. [In Polish].

42. Torricelli A.A., Singh V., Santhiago M.R., Wilson S.E. The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2013; 54 (9): 6390–6400. doi: 10.1167/iovs.13-12547

43. Vesaluoma M., Teppo A.M., Grönhagen-Riska C., Tervo T. Release of TGF-beta 1 and VEGF in tears following photorefractive keratectomy. *Curr. Eye Res*. 1997; 16 (1): 19–25. doi: 10.1076/ceyr.16.1.19.5119

44. Finnson K.W., McLean S., di Guglielmo G.M., Philip A. Dynamics of transforming growth factor beta signaling in wound healing and scarring. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2 (5): 195–214. doi: 10.1089/wound.2013.0429

45. Penn J.W., Grobbelaar A.O., Rolfe K.J. The role of the TGF-beta family in wound healing, burns and scarring: a review. *Int. J. Burns Trauma*. 2012; 2 (1): 18–28.

46. Karamichos D., Hutcheon A.E., Zieske J.D. Reversal of fibrosis by TGF-beta3 in a 3D in vitro model. *Exp. Eye Res*. 2014; 124: 31–36. doi: 10.1016/j.exer.2014.04.020

47. Munger J.S., Sheppard D. Cross talk among TGF-beta signaling pathways, integrins, and the extracellular matrix. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2011; 3 (11): a005017. doi: 10.1101/cshperspect.a005017

48. Matsuba M., Hutcheon A.E., Zieske J.D. Localization of thrombospondin-1 and myofibroblasts during corneal wound repair. *Exp. Eye Res*. 2011; 93 (4): 534–540. doi: 10.1016/j.exer.2011.06.018

49. Chang Y., Wu X.-Y. The Role of c-jun n-terminal kinases 1/2 in transforming growth factor beta(1)-induced expression of connective tissue growth factor and scar formation in the cornea. *J. Int. Med. Res*. 2009; 37 (3): 727–736. doi: 10.1177/147323000903700316

50. Moses H.L., Tucker R.F., Leof E.B., Coffey R.J., Halper J., Shipley G.D. Type β-transforming growth factor is a growth stimulator and a growth inhibitor. In: Cancer cells: growth factors and transformation. Eds. J. Feramisco, B. Ozanne, C. Stiles. N.Y.: Cold Spring Harbor Press, 1985. 65–71.

51. Holley R.W., Bohlen P., Fava R., Baldwin J.H., Kleeman G., Armour R. Purification of kidney epithelial cell growth inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1980; 77 (10): 5989–5992. doi: 10.1073/pnas.77.10.5989

52. Roberts A.B. Molecular and cell biology of TGF-beta. *Miner Electrolyte Metab*. 1998; 24 (2-3): 111–119. doi: 10.1159/000057358

53. Laiho M., Saksela O., Keski-Oja J. Transforming growth factor-beta induction of type-1 plasminogen activator inhibitor. pericellular deposition and sensitivity to exogenous urokinase. *Biol. Chem*. 1987; 262 (36): 17467–17474.

54. Liu W., Wang D.R., Cao Y.L. TGF-beta: a fibrotic factor in wound scarring and a potential target for anti-scarring gene therapy. *Curr. Gene Ther*. 2004; 4 (1): 123–136. doi: 10.2174/1566523044578004

55. Chang N.S. Hyaluronidase enhancement of TNF-mediated cell death is reversed by TGF-beta 1. *Am. J. Physiol*. 1997; 273 (6): 1987–1994. doi: 10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1987

56. Chang N.S. Transforming growth factor-β1 blocks the enhancement of tumor necrosis factor cytotoxicity by hyaluronidase Hyal-2 in L929 fibroblasts. *BMC Cell Biol*. 2002; 3: 8. doi: 10.1186/1471-2121-3-8

57. Jester J.V., Huang J., Petroll W.M., Cavanagh H.D. TGFbeta induced myofibroblast differen-

- tiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGF-beta, PDGF and integrin signaling. *Exp. Eye Res.* 2002; 75 (6): 645–657. doi: 10.1006/exer.2002.2066
58. Kaur H., Chaurasia S.S., de Medeiros F.W., Agrawal V., Salomao M.Q., Singh N., Ambati B.K., Wilson S.E. Corneal stroma PDGF blockade and myofibroblast development. *Exp. Eye Res.* 2009; 88 (5): 960–965. doi: 10.1016/j.exer.2008.12.006
59. Stramer B.M., Fini M.E. Uncoupling keratocyte loss of corneal crystallin from markers of fibrotic repair. *Invest. Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45 (11): 4010–4015. doi: 10.1167/iovs.03-1057
60. Stepp M.A., Zieske J.D., Trinkaus-Randall V., Kyne B.M., Pal-Ghosh S., Tadvalkar G., Pajooresh-Ganji A. Wounding the cornea to learn how it heals. *Exp. Eye Res.* 2014; 121: 178–193. doi: 10.1016/j.exer.2014.02.007
61. Wilson S.E. Corneal myofibroblast biology and pathobiology: generation, persistence, and transparency. *Exp. Eye Res.* 2012; 99 (1): 78–88. doi: 10.1016/j.exer.2012.03.018
62. Jester J.V., Moller-Pedersen T., Huang J., Sax C.M., Kays W.T., Cavangh H.D., Petroll W.M., Piatigorsky J. The cellular basis of corneal transparency: evidence for ‘corneal crystallins’. *J. Cell Sci.* 1999; 112 (5): 613–622.
63. Torricelli A.A., Singh V., Agrawal V., Santhiago M.R., Wilson S.E. Transmission electron microscopy analysis of epithelial basement membrane repair in rabbit corneas with haze. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013; 54 (6): 4026–4033. doi: 10.1167/iovs.13-12106
64. Medeiros C.S., Marino G.K., Santhiago M.R., Wilson S.E. The corneal basement membranes and stromal fibrosis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2018; 59 (10): 4044–4053. doi: 10.1167/iovs.18-24428
65. Wilson S.E., Marino G.K., Torricelli A.A.M., Medeiros C.S. Injury and defective regeneration of the epithelial basement membrane in corneal fibrosis: a paradigm for fibrosis in other organs? *Matrix Biol.* 2017; 64: 17–26. doi: 10.1016/j.matbio.2017.06.003
66. Dinarello C.A. Interleukin-1. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997; 8 (4): 253–265. doi: 10.1016/s1359-6101(97)00023-3
67. Weng J., Mohan R.R., Li Q., Wilson S.E. IL-1 upregulates keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor mRNA and protein production by cultured stromal fibroblast cells: interleukin-1 beta expression in the cornea. *Cornea.* 1997; 16 (4): 465–471.
68. Mohan R.R., Liang Q., Kim W.J., Helena M.C., Baerveldt F., Wilson S.E. Apoptosis in the cornea: further characterization of Fas/Fas ligand system. *Exp. Eye Res.* 1997; 65 (4): 575–589. doi: 10.1006/exer.1997.0371
69. Егоров В.В., Смолякова Г.Л., Гохуа Т.И., Борисова Т.В. Клиническая оценка новой физиотерапевтической технологии в комплексном лечении бактериального воспаления роговицы. *Практ. медицина.* 2017; 2: 72–77.
- Egorov V.V., Smolyakova G.L., Gohua T.I., Borisova T.V. Clinical evaluation of a new physiotherapy technology in the complex treatment of bacterial corneal inflammation. *Prakticheskaya meditsina = Practical medicine.* 2017; 2: 72–77. [In Russian].

Сведения об авторах:

Виктория Евгеньевна Забанова, ORCID: 0000-0001-9879-8986, e-mail: vikazabanova@gmail.com
Анжелла Жановна Фурсова, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6311-5452, e-mail: anzhellafursova@yandex.ru
Павел Геннадьевич Мадонов, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Information about the authors:

Viktoriya E. Zabanova, ORCID: 0000-0001-9879-8986, e-mail: vikazabanova@gmail.com
Anzhella Zh. Fursova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6311-5452,
e-mail: anzhellafursova@yandex.ru
Pavel G. Madonov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.06.2020
После доработки 06.07.2020
Принята к публикации 15.07.2020

Received 30.06.2020
Revision received 06.07.2020
Accepted 15.07.2020