

УДК 617.713-002.44+615.382-018.52
DOI: 10.26435/UC.V014(41).754

Е.А. Михальченко

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ, В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЯЗВ РОГОВИЦЫ

Роговица относится к фиброзной оболочке глаза, является важной частью ее оптической системы. Ее прозрачность определяется степенью гидратации стромы, структурой коллагеновых фибрилл и межфибриллярного пространства, содержащего гликозаминогликаны [1, 2]. Роговица состоит из пяти слоев: эпителия, боуменовой мембраны, стромы, десцеметовой оболочки, эндотелия.

Репаративная регенерация роговичного эпителия осуществляется путем уплощения, миграции, пролиферации с последующей адгезией клеток к строме. Первые митозы появляются не ранее чем через 24-36 ч с момента травмы [3, 6]. В течение 24-48 ч нейтрофилы исчезают, отмечается пик пролиферативной активности и формирование эпителиальной пробки. В следующие 3-4 дня эпителиальная пробка подвергается регрессу, и к 5-14-му дню эпителий приобретает нормальную толщину. За роговичным эпителием следует боуменова мембрана – ацеллюлярная зона толщиной приблизительно 10 мкм, состоящая из беспорядочно ориентированных коллагеновых фибрилл небольшого (16-22 нм) диаметра. Боуменова оболочка характеризуется большой сопротивляемостью при травме и более слабой – при инфекции. Основная часть (90%) роговой оболочки – строма, образованная 200-250 стромальными пластинами, которые состоят из коллагеновых фибрилл диаметром 24-30 нм, преимущественно из коллагена 1-го типа и частично 3-го типа, окруженных гликозаминогликанами [5]. Одинаковый диаметр коллагеновых фибрилл, строгий параллелизм в их расположении, относительно одинаковое расстояние между ними обуславливают прозрачность роговицы. Основной клеточный состав стромы представлен кератоцитами – клетками мезенхимального происхождения, обладающими фибробластической способностью к синтезу и секреции коллагена и гликозаминогликанов. Десцеметова мембрана представляет собой базаль-

ную мембрану клеток эндотелия и состоит преимущественно из коллагена 4-го типа [8]. Основную роль в регуляции водно-электролитного баланса стромы роговицы и, следовательно, ее толщины и прозрачности играет эндотелий [4]. Он также выполняет барьерную функцию, обеспечивая поступление питательных веществ в ее строму и вывод продуктов обмена, отличается избирательной проницаемостью для разных ингредиентов [6, 7].

Роговица постоянно подвергается воздействию факторов внешней среды, а такие факторы, как возраст, метаболические заболевания, состав слезы, состояние придаточного аппарата глаза, могут усугублять данное влияние.

При небольших ранах роговицы процесс регенерации происходит за счет кератоцитов с формированием нежного, почти прозрачного рубца [9]. При тяжелых повреждениях, когда гибнет большое число кератоцитов, оставшихся клеток недостаточно для полноценной регенерации. Бурная воспалительная реакция, наблюдаемая в таких случаях, приводит к миграции в зону повреждения соединительнотканых клеток из склеры, эписклеры и других источников. Преимущественное участие чужеродных клеток в синтезе коллагена приводит к формированию плотного, грубого рубца.

Кроме того, анатомические особенности роговицы препятствуют полноценному проникновению лекарственных веществ, что замедляет ее эпителизацию и может приводить к формированию стойких дефектов эпителия роговицы, появлению рецидивирующих эрозий, развитию кератопатий.

Поддержание слезной пленки также играет важную роль в заживлении эпителия роговицы и может быть обеспечено двумя механизмами:

применением слезозаменителей и воздействием на слезные точки.

В последние годы внимание офтальмологов привлекает технология, связанная с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) для лечения больных с заболеваниями роговицы [10-14]. Тромбоциты способны секретировать разнообразные факторы роста: тромбоцитарный фактор роста (PDGF) PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, трансформирующие факторы роста (TGF- β 1, TGF- β 2), инсулиноподобный фактор роста (IGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), эпидермальный фактор роста (EGF) и фактор роста нервов (NGF) [15-17]. Активация рецепторов факторов роста может стимулировать рост и дифференцировку клеток, ангиогенез, апоптоз или продукцию компонентов внеклеточного матрикса. Кроме того, ОТП содержит лейкоциты (WBC), которые могут способствовать заживлению ран, особенно в профилактике инфекции.

Ключевым фактором, определяющим эффективность терапии, являются характеристики аутоплазмы – количество тромбоцитов и спектра секретлируемых факторов роста [18]. На сегодняшний день доказана эффективность использования ОТП при макулярных разрывах [19, 20], эрозиях и ожогах роговицы [21].

PDGF участвует в регуляции процессов остро-го воспаления, заживления ран и образования рубца, отвечает за клеточный рост, дифференцировку, секрецию цитокинов.

По данным D. M. Dohan Ehrenfest [22], в настоящее время существует простая классификация плазмы, основанная на характеристике молекул фибрина и содержания клеток (главным образом лейкоцитов). В этой классификации выделяют 4 основных группы: 1) чистая обогащенная тромбоцитами плазма (P-PRP); 2) обогащенная тромбоцитами и лейкоцитами плазма (L-PRP); 3) чистый обогащенный тромбоцитами фибрин (P-PRF); 4) обогащенный тромбоцитами и лейкоцитами фибрин (L-PRF). Эти 4 группы имеют различную технологию получения, механизмы действия, соответствующие области применения. Наибольшее распространение в клинике получила обогащенная тромбоцитами плазма благодаря легкости ее получения [23, 24].

Существует множество методик получения ОТП: одно-, и двухэтапное центрифугирование, различное время и скорость центрифугирования, применяются различные антикоагулянты. Но, несмотря на положительные эффекты, описанные различными авторами, не существует единой методики и единого протокола по изготовлению ОТП.

Капли, приготовленные из плазмы, обогащенной тромбоцитами, представляют собой инновационный подход при лечении язв роговицы.

По своему составу и биохимическим характеристикам сыворотка крови близка к нормальному составу слезной жидкости. Она имеет одинаковую со слезой pH и осмолярность, содержит в большей концентрации, по сравнению со слезой, факторы роста [25].

На протяжении многих лет проводились многочисленные исследования по определению состава основных действующих компонентов PRP в зависимости от режима центрифугирования (1500, 3000, 3500, 4000, 4200 оборотов в минуту), условий хранения (замораживание, хранение в охлажденном состоянии), различных разведений ее (физиологическим раствором, BSS, хлорамфениколом), различной концентрации (20%, 50%, 100%), а также режимов инстилляций (от 5-ти до 12-ти раз в сутки) [26-30].

Geerling с соавт. в 2004 г., проанализировав опыт применения ОТП в разных странах, предложили оптимизированный протокол ее приготовления и применения. В настоящее время спектр заболеваний, при которых применяют ОТП, включает: рецидивирующие эрозии различной этиологии, дегенерацию Зальцмана, лентовидную дегенерацию, верхний лимбальный кератоконъюнктивит, синдром Стивенса-Джонсона, синдром Сьегрена, макулярные разрывы, эрозии, ожоги роговицы. Следует отметить, что ОТП в основном применялась при поверхностных дефектах роговой оболочки [31-34], а применение ее при язвах роговицы в литературе упоминается редко.

Таким образом, поиск возможности управления репаративными процессами с восстановлением целостности, прозрачности роговицы и образованием тонкого и нежного рубца является актуальным и перспективным направлением в офтальмологии.

Традиционные методы лечения язв роговицы включают в себя местное применение противовоспалительных препаратов, в которых содержится различный консервант. Данный консервант отрицательно воздействует на целостность муцинового и липидного слоев слезной пленки, тем самым опосредованно влияет на скорость заживления дефектов роговицы. Кроме того, известно, что консерванты могут усиливать симптомы воспалительных заболеваний поверхности глаза, дисфункцию мейбомиевых желез и увеличивать нестабильность слезной пленки. В результате ускоряются процессы десквамации эпителиоцитов глазной поверхности, сокращается число митозов и миграция

клеток. [35]. Кроме некроза эпителиальных клеток, в патогенезе токсического действия консерванта на эпителий глазной поверхности в настоящее время признают роль их апоптоза (программированная гибель клеток) [37, 38].

Бокаловидные клетки, вырабатывающие муцин, очень чувствительны к токсическим воздействиям. В исследованиях было показано снижение их плотности при кратковременном воздействии консервантов [36].

Таким образом, вопрос выбора тактики лечения язв роговицы остается открытым.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить закономерности влияния плазмы, обогащенной тромбоцитами, в комплексном лечении язв роговицы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением в отделении микрохирургии глаза Донецкого клинического территориального медицинского объединения (ОМХГ ДОКТМО) с 2015 по 2021 год находилось 435 пациентов (435 глаз) с язвой роговой оболочки. При отборе пациентов для нашего исследования учитывались следующие критерии:

- критерии включения: пациенты с язвами роговицы без угрозы перфорации;
- критерии исключения: тяжелые или нестабильные соматические заболевания (сахарный диабет, рефрактерная сердечно-сосудистая и почечная недостаточность и т.д.), применение пациентом тромболитиков, иммунодефицитные состояния, анемия, онкологические заболевания, язвы роговицы с угрозой перфорации, перфорация роговицы.

Под наблюдением находились 129 пациентов (129 глаз) с язвой роговой оболочки, из них 72 мужчины, 57 женщин в возрасте от 18-ти до 55-ти лет. Всем пациентам проводились следующие клиничко-лабораторные исследования: общий анализ крови (особое внимание уделялось гематокриту, общему количеству тромбоцитов, среднему объему тромбоцитов), глюкоза крови натощак, коагулограмма.

Всем пациентам проводилось бактериальное исследование соскобов роговицы. Соскоб брался непосредственно при осмотре за щелевой лампой с края язвенного дефекта с помощью лезвия № 15. Предварительно проводилась инстилляционная 0,5-процентного проксиметакаина гидрохлорида (алкаина).

Оценку тяжести язвы определяли, используя шкалу оценки степени тяжести язв роговицы по классификации Ситника Г.В. [40]. При поступлении группы по степени тяжести статистически сравнимы.

Площадь поражения определяли с помощью флюоресцеинового теста. Суть метода заключается в инстиляции 2-3 капель 0,1-процентного раствора флюоресцеина непосредственно на роговицу. При этом язвенный дефект при биомикроскопии окрашивается в зеленый цвет.

Пациентам определяли остроту зрения с помощью проектора знаков, опто типов Поляка.

Сезопродукцию определяли пробой Ширмера: используются полоски фильтровальной бумаги размером в среднем 5×50 мм, которые закладываются в конъюнктивальный мешок нижнего века на несколько минут (предварительно инстиллируется местный анестетик), чтобы предотвратить слезотечение вследствие раздражения конъюнктивы бумагой. После размещения бумажных полосок пациента просят закрыть глаза на 5 минут, затем полоски извлекаются и оценивается степень их увлажнения путём измерения длины окрашиваемого слезой участка. Применение анестетика гарантирует, что пробой будет оцениваться только базальный уровень секреции слезной жидкости.

Время разрыва прероговичной слезной пленки (СП) оценивали с помощью пробы Норна. Проводится исследование с использованием специальных тест-полосок, окрашенных флюоресцеином: их располагают за нижнее веко на 2-3 минуты и, как только конъюнктивa окрасится в желтый цвет, тест-системы убирают. Далее осмотр глаз производится за щелевой лампой: в синем цвете сканируют роговицу в горизонтальном направлении при открытых глазах пациента, таким образом устанавливается время разрыва слезной пленки. В норме разрыв прероговичной слезной плёнки происходит не ранее чем через 10 с после последнего мигания. Если он произошел раньше, то это свидетельствует о нарушении стабильности прероговичной слезной плёнки.

Слезопродукцию и время разрыва прероговичной СП определяли при поступлении, на 7-й, 14-й день лечения, через 1 месяц после лечения.

Визуальный осмотр больных проводили с применением биомикроскопии (ЩЛ-2Б), офтальмоскопии глазного дна (прямой налобный офтальмоскоп «SIGMA 100»).

Пациентов распределили на три группы методом простой (случайной) рандомизации по дате обращения в клинику. После подробного информационного инструктажа относительно характера эксперимента, потенциальных осложнений и альтернативных вариантов лечения было получено информированное согласие:

1-я группа – 43 пациента – получала традиционное лечение (цефуроксим 1,0 внутривенно (в/в), гентамицин 0,3 мл + мезатон 0,3 мл субконъюнктивально (с/к), Метрогил 100,0 в/в, Солкосерил 1,0 мл с/к, Диклоберл 3,0 мл внутримышечно; местно: Вигамокс, диклофенак, солкосерильный глазной гель, масло облепихи, глазная мазь Флоксал).

2-ю группу составили 43 пациента, которым наряду с традиционным лечением вводили антибиотик в строму роговицы. Этот метод заключается в следующем: с помощью кератотомического ножа у лимба производят дозированный надрез роговой оболочки на $\frac{1}{2}$ ее толщины, длиной 2–4 мм. Слои роговицы (эпителий, Боуменова мембрана, часть стромы) расслаивают с помощью расслаивающего ножа по направлению к пораженному участку роговой оболочки. С помощью канюли с тупым концом, изогнутым под 110° – 130° , упираясь в край сформированного тоннеля, производят нагнетание в строму роговицы лекарственного вещества (цефуроксима (Зинацеф) 0,01–0,02 мл) до появления отека роговицы, захватывающего участок поражения и окружающей его части роговой оболочки (декларационный патент на полезную модель от 24.04.2014 г. № 8755/ЗУ/14). Указанной дозировки хватает для создания дозированного отека роговицы. При введении меньшей дозы образуется слабый отек, следовательно, создается недостаточное депонирование антибиотика. При введении большей дозы в области создаваемого отека формировались вторичные эрозии, что приводило к увеличению пораженного участка.

3-я группа – 43 пациента, которые на фоне традиционного лечения получали сочетание интрастромального введения антибиотика в строму роговицы с инстилляцией аутоплазмы, богатой тромбоцитами.

Инстиляция плазмы производилась со 2-го дня после интрастромального введения антибиотика. Определяя день, на который мы присоединяли к лечению плазму, обогащенную тромбоцитами, мы ориентировались на уменьшение клинических признаков воспаления. Мы использовали методику Geerling (2004) [39]: цельную кровь отбирали с использованием 1,5-дюймовой иглы без латекса 21 калибра и пробирок для технологии Plasmolifting объемом 9,0 мл, содержащих 0,45 мл антикоагулянта гепарин натрия (9:1). Для каждого эксперимента одну пробирку Vacutainer использовали для определения исходного значения тромбоцитов в цельной крови. Пробирки для технологии Plasmolifting центрифугировали 15 минут при скорости 3000 g с использованием центрифуги EMI Centrifuge CM-

6M. В результате содержимое пробирки условно делили тремя линиями.

Верхний плазменный слой (плазма с низким содержанием тромбоцитов, PPP) аспирировали до отметки 3 мм (верхняя сплошная линия) с использованием стерильной иглы, прикрепленной к 5-миллилитровому шприцу без латекса. ОТП собирали между верхней 3-миллиметровой меткой и нижней 2-миллиметровой меткой, используя стерильную иглу, прикрепленную к 5-миллилитровому шприцу без латекса. Состав плазмы (количество тромбоцитов и лейкоцитов) в нижнем слое определялся на полуавтоматическом гематологическом анализаторе. Полученную плазму инстиллировали непосредственно на язвенный дефект роговицы и выдерживали 30 секунд по 1 капле 6 р/день. Согласно методике Geerling используются 20-процентные глазные капли, приготовленные из ОТП (аутоплазма разбавляется сбалансированным солевым раствором (BSS)). Мы в своем исследовании инстиллировали 100-процентную аутоплазму.

Плазму хранили при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ в стерильном флаконе.

Пациентам 3-й группы проводили дополнительные исследования в виде тестирования на гепатит В и С, сифилис и серологию на ВИЧ перед сдачей крови для производства ОТП. Положительный серологический результат был критерием исключения данных пациентов из группы исследования.

Эффективность лечения оценивали по срокам завершения эпителизации, исчезновению гнойного отделяемого, уменьшением воспалительной реакции (клинически), улучшению остроты зрения, восстановлению слезопродукции, стабильности слезной пленки.

Учитывалось возникновение осложнений: перфорации роговицы, эндофтальмита, паноптальмита, развития кератопатии.

Срок наблюдения пациентов – 6 месяцев.

При статистической обработке рассчитывали частоту встречаемости в процентах и ошибку репрезентативности. Формат представления данных: частота в процентах, Р в процентах \pm ошибка репрезентативности.

Для сравнения групп по частоте встречаемости использовали критерий t Стьюдента. В случае, когда $n < 5$, использовали критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Этиологическим фактором поражения роговой оболочки являлась бактериальная инфекция. В $44,2 \pm 4,4\%$ случаев (57 глаз) – *Staphylococcus aureus*; в $19,4 \pm 3,4\%$ случаев (25 глаз) – *Streptococcus influenza*; в $12,4 \pm 2,9\%$ случаев (16 глаз) – *Haemophilus influenza*; в $8,5 \pm 2,5\%$ случаев (11

глаз) – *Enterobacter spp.*; и в 3,9±1,7% (5 глаз) – *Streptococcus pyogenes*.

Не выделено возбудителя в 11,6±2,8% случаев (15 глаз), что объясняется лечением больных по месту жительства до поступления в стационар, самостоятельным неконтролируемым применением различных антибактериальных средств без предварительной идентификации возбудителя.

При поступлении среди больных с язвами роговицы 48,8% (21 человек) составили пациенты с легкой степенью тяжести в первой группе, 46,6% (20 человек) во второй и 48,8% (21 человек) – в третьей группе; со средней степенью тяжести 37,2% (16 человек) – в первой группе, 37,2% (16 человек) – во второй и 30,2% (13 человек) – в третьей; с тяжелой степенью 13,9% (6 человек) – в первой группе, 16,3% (7 человек) – во второй и 21% (9 человек) – в третьей.

Что касается клинической картины, то у пациентов 1-й группы очищение язвы (отсутствие гнойного отделяемого на дне язвы) роговицы происходило на 7-й день лечения в (32,6±7,1)% случаев – 14 глаз, у пациентов 2-й группы – у (58,1±7,5)% – 25 глаз, тогда как у пациентов 3-й группы – у (67,4±7,1)% – 29 глаз. (p<0,05 по отношению к пациентам 1-й группы).

Воспалительная реакция (перифокальный отек роговицы, перикорнеальная инъекция глаза, светобоязнь, слезотечение, гипопион, признаки увеита) в 1-й группе уменьшалась до 10-го дня у (41,9 ±7,5)% – 18 глаз, у пациентов 2-й группы – у (62,8±7,4)% – 27 глаз, а у пациентов 3-й группы у (76,7±6,4)% – 33 глаза (p<0,05 по отношению к пациентам 1-й группы).

Сроки эпителизации язвы в первой группе ускорились до 14-го дня лечения у (44,2±7,6)% – 19 глаз, у пациентов второй группы – у (51,2±7,6)% – 22 глаза, тогда как у пациентов 3-й группы наблюдалось начало эпителизации уже на 5-й день лечения, а к 14-му дню у (62,8±7,4)% случаев – 27 глаз (p<0,05 по отношению к пациентам 1-й группы) наступала практически полная эпителизация язвенного дефекта.

При поступлении у всех пациентов статистически значимой разницы в остроте зрения выявлено не было. Остроту зрения определяли с помощью проектора знаков с расстояния 5 метров.

После лечения острота зрения у пациентов 1-й группы составляла 0,01-0,09 у (41,5±7,7)% – 17 глаз, 0,1-0,2- у (43,9±7,7)% – 18 глаз, выше 0,2- у (14,6±5,)% – 6 глаз. После лечения острота зрения у пациентов 2-й группы составляла 0,01-0,1 у (34,9±7,3)% – 15 глаз, 0,1-0,2 – у (41,9±7,5)% – 18 глаз, 0,2 и выше – у (23,2±6,4)% – 10 глаз. После лечения острота зрения у пациентов 3-й группы составляла 0,01-0,1 у (16,3±5,6)% – 7 глаз, 0,1-0,2 – у (34,9±7,3)% – 15 глаз, 0,2 и выше – у (48,8±7,6)% – 21 глаз (p<0,05 по отношению к пациентам 1-й группы).

При поступлении проба Ширмера с предварительной инстилляцией анестетика у пациентов всех групп была больше нормы, что, по нашему мнению, связано со слезотечением как показателем местной реакции на язвенный дефект роговицы.

На 7-й день лечения (данный срок мы сопоставляли с началом купирования воспалительного процесса) у пациентов 1-й группы про-

Таблица.

Динамика показателей уровня слезопродукции и стабильности слезной пленки (абс./P±m) в%

Группы	Параметры	Показатели уровня слезопродукции и стабильности слезной пленки			
		Проба Ширмера (мм) за 5 минут		Проба Норма (секунды)	
		До 15 мм	Выше 15 мм	Менее 10 сек	10 сек и выше
1-я группа (43 глаза)	7-й день лечения	38/ 88,4±4,9	5/ 11,6±4,9	39/ 90,7±4,4	4/ 9,3±4,4
	14-й день лечения	33/ 76,7±6,4	10/ 23,3±6,4	34/ 79,1±6,2	9/ 20,9±6,2
	1 месяц после лечения	28/ 68,3±7,3	15/ 36,6±7,5	28/ 68,3±7,3	15/ 36,6±7,5
2-я группа (43 глаза)	7-й день лечения	35/ 81,4±5,9	8/ 18,6±5,9	36/ 83,7±5,6	7/ 16,3±5,6
	14-й день лечения	31/ 72,1±6,8	12/ 27,9±6,8	32/ 74,4±6,6	11/25,6±6,6
	1 месяц после лечения	24/ 55,8±7,6	19/ 44,2±7,6	23/ 53,5±7,6	20/46,5±7,6
3-я группа (43 глаза)	7-й день лечения	33/ 76,7±6,4	10/ 23,3±6,4	34/ 79,1±6,2	9/ 20,9±6,2
	14-й день лечения	8/ 18,6±5,9	35/ 81,4±5,9	9/ 20,9±6,2	34/79,1±6,2
	1 месяц после лечения	6/ 14,0±5,3	37/86,04±5,3	6/ 14,0±5,3	37/86,04±5,3

ба Ширмера в $(88,4 \pm 4,9)\%$ случаев – 38 глаз – была менее 15 мм, а на 14-й день те же показатели наблюдались в $(76,7 \pm 6,4)\%$ случаев – 33 глаза, и только спустя 1 месяц проба Ширмера в $(36,6 \pm 7,5)\%$ случаев – 15 глаз – достигла нормы (15 мм и выше).

Проба Норна у пациентов 1-й группы через 1 месяц по показателям практически была сопоставима с результатами пробы Ширмера: у $(36,6 \pm 7,5)\%$ пациентов – 15 глаз – достигла нормы (10 сек и выше).

У пациентов 2-й группы проба проба Ширмера на 7-е сутки менее 15 мм составляла у $(81,4 \pm 5,9)\%$ пациентов – 35 глаз, на 14-е сутки лечения аналогичные показания наблюдались в $(72,1 \pm 6,8)\%$ случаев – 31 глаз, а через 1 месяц после лечения в $(44,2 \pm 7,6)\%$ случаев – 19 глаз – данная проба достигла нормы.

Проба Норна на 7-е сутки лечения у $(83,7 \pm 5,6)\%$ пациентов 2-й группы – 36 глаз – составляла менее 10-ти сек, а через 1 месяц после лечения в $(46,5 \pm 7,6)\%$ случаев – 120 глаз – данная проба достигла нормы.

У пациентов 3-й группы уже на 7-е сутки лечения проба Ширмера в $(23,3 \pm 6,4)\%$ случаев – 10 глаз – составляла 15 мм и более, что на 11,7% выше, чем у пациентов 1-й группы, и на 4,7% выше, чем у пациентов 2-й группы ($p < 0,05$).

Через 1 месяц после лечения данная проба показала нормальные результаты у $(86,04 \pm 5,3)\%$ пациентов – 37 глаз ($p < 0,05$), что на 49,44% больше, чем у пациентов 1-й группы, и на 41,84% больше, чем у пациентов 2-й группы. Проба Норна у пациентов 3-й группы через 1 месяц после лечения показала аналогичные результаты (см. табл.).

Развитие кератопатии наблюдалось у 15-ти пациентов 1-й группы, у 5-ти пациентов 2-й группы, тогда как в 3-ей группе данного явления не наблюдалось. По нашему мнению, этот результат может быть связан с развитием транзитного роговичного ксероза.

Осложнений язвы роговицы у пациентов 2-й и 3-й групп не было, тогда как у 2-х пациентов 1-й группы язва роговой оболочки осложнилась перфорацией роговицы и панфтальмитом, в связи с чем произведено срочное хирургическое вмешательство.

ВЫВОДЫ

Применение плазмы, обогащенной тромбоцитами, в сочетании с интрастромальным введением антибиотика позволяет повысить эффективность лечения язв роговой оболочки путем ускорения сроков эпителизации на 18,6% по отношению к пациентам первой группы и на 11,6% по отношению к пациентам второй группы, позволяет снизить проявления признаков воспаления на 10-й день лечения на 34,8% по отношению к пациентам первой группы и на 13,9% по отношению к пациентам второй группы. Данные результаты сочетались с увеличением слезопродукции и стабильности слезной пленки на фоне ее первичного снижения, тем самым предупреждая развитие кератопатии.

Простота использования, высокая клиническая эффективность, минимальная травматичность дают возможность применять в офтальмологических клиниках разработанный нами метод.

Е.А. Михальченко

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЛИЯНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ, В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЯЗВ РОГОВИЦЫ

Роговица относится к фиброзной оболочке глаза, которая постоянно подвергается воздействию факторов внешней среды. В последние годы внимание офтальмологов привлекает технология, связанная с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) для лечения больных с заболеваниями роговицы. Традиционные методы лечения язв роговицы включают в себя местное применение противовоспалительных препаратов, содержащих консерванты, которые могут усиливать симптомы воспалительных заболеваний поверхности глаза и увеличивать нестабильность слезной пленки.

Под наблюдением находились 129 пациентов с язвой роговой оболочки. Первая группа больных полу-

чала традиционное лечение. Второй группе пациентов к традиционному лечению добавлено интрастромальное введение антибиотика в роговицу. Третья группа больных получала комплексное лечение с добавлением инстилляций плазмы, обогащенной тромбоцитами.

Результаты показали, что применение плазмы, обогащенной тромбоцитами, в сочетании с интрастромальным введением антибиотика позволяет повысить эффективность лечения язв роговой оболочки путем ускорения сроков эпителизации на 18,6% по отношению к пациентам первой группы и на 11,6% по отношению к пациентам второй группы, позволяет снизить проявления признаков воспаления на

10-й день лечения на 34,8% по отношению к пациентам первой группы и на 13,9% по отношению к пациентам второй группы. Данные результаты сочетались с увеличением слезопродукции и стабильности слез-

ной пленки на фоне ее первичного снижения, тем самым предупреждая развитие кератопатии.

Ключевые слова: плазма, обогащенная тромбоцитами, язва роговицы, слезопродукция.

E.A. Mikhalchenko

SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk

STUDY OF THE REGULARITIES OF THE INFLUENCE OF PLATELET-RICH PLASMA IN THE COMPLEX TREATMENT OF CORNEAL ULCERS

The cornea refers to the fibrous membrane of the eye, which is constantly exposed to environmental factors. In recent years, the attention of ophthalmologists has been attracted by the technology associated with the use of platelet-rich autoplasm (PRP) for the treatment of patients with corneal diseases. Traditional treatments for corneal ulcers include topical application of anti-inflammatory drugs containing preservatives, which can aggravate the symptoms of inflammatory diseases of the ocular surface and increase tear film instability.

The study included 129 patients with corneal ulcers. The first group of patients received traditional treatment. In the second group of patients, intrastromal administration of an antibiotic into the cornea was added to the traditional treatment. The third group of patients received complex treatment with the addition of platelet-rich plasma instillations.

The results showed that the use of platelet-rich plasma in combination with intrastromal administration of an antibiotic can increase the effectiveness of the treatment of corneal ulcers by accelerating the epithelialization time by 18.6% in relation to patients of the first group and by 11.6% in relation to patients of the second group. ... Allows to reduce the manifestations of signs of inflammation on the 10th day of treatment by 34.8% in relation to patients of the first group and by 13.9% in relation to patients of the second group. These results were combined with an increase in tear production and stability of the tear film against the background of its primary decrease, thereby preventing the development of keratopathy.

Key words: platelet-rich plasma, corneal ulcers, tear production.

ЛИТЕРАТУРА

1. Buzard K.A. Introduction to biomechanics of the cornea. *Refract Corneal Surg.* 1992; 8 (2): 127-138.
2. The Eye. Davson H. (Ed.) AcademicPress; 1984. 614.
3. Маслова-Хорошилова И.П. Травматическое поражение глаз. В книге: Многотомное руководство по патологической анатомии. Т. 1. М: Медгиз; 1963: 575-589.
4. Dische Z. Biochemistry of connective tissue of the vertebrate eye. *Int Rev Connect Tissue Res.* 1970; 5: 209-279. doi:10.1016/b978-0-12-363705-5.50010-5
5. Hassan A.U., Hassan G., Rasool Z., Hassan S. Clinical Outcomes of Elastin Fibre Defects. *J Cytol Histol.* 2013; 4: 166. doi: 10.4172/2157-7099.1000166
6. Gumbiner B.M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell.* 1996; 84: 345-357.
7. Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci.* 2012; 125 (Pt 19): 4417-4422. doi: 10.1242/jcs.099697
8. Аяутдин Р.Н., Иежица И.Н. Транспорт лекарственных средств через роговицу глаза: перспективы применения липосомальных лекарственных форм. *Вестник офтальмологии.* 2014; 4: 117-122.
9. Багров С.Н. Источники регенерации роговой оболочки глаза. *Офтальмологический журнал* 1980; 1: 231-233.
10. Arshdeep, Kumaran M.S. Platelet-rich plasma in dermatology: boon or a bane?. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2014; 80 (1): 5-14. doi: 10.4103/0378-6323.125467
11. Ачкасов Е.Е., Безуглов Э.Н., Ульянов А.А. и соавт. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике. *Биомедицина.* 2013; 4: 46-59.
12. Ахмеров Р., Зарудий Р., Рычкова И. с соавт. Плазмолифтинг (Plasmolifting).- Лечение возрастной атрофии кожи богатой тромбоцитами аутоплазмой. *Эстетиче-*

REFERENCES

1. Buzard K.A. Introduction to biomechanics of the cornea. *Refract Corneal Surg.* 1992; 8 (2): 127-138.
2. The Eye. Davson H. (Ed.) AcademicPress; 1984. 614.
3. Maslova-Khoroshilova I.P. *Travmaticheskoe porazhenie glaz. V knige: Mnogotomnoe rukovodstvo po patologicheskoi anatomii. T. 1. M: Medgiz; 1963: 575-589 (in Russian).*
4. Dische Z. Biochemistry of connective tissue of the vertebrate eye. *Int Rev Connect Tissue Res.* 1970; 5: 209-279. doi:10.1016/b978-0-12-363705-5.50010-5
5. Hassan A.U., Hassan G., Rasool Z., Hassan S. Clinical Outcomes of Elastin Fibre Defects. *J Cytol Histol.* 2013; 4: 166. doi: 10.4172/2157-7099.1000166
6. Gumbiner B.M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell.* 1996; 84: 345-357.
7. Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci.* 2012; 125 (Pt 19): 4417-4422. doi: 10.1242/jcs.099697
8. Ayautdin R.N., Iezhitsa I.N. Transport lekarstvennykh sredstv cherez rogovitsu glaza: perspektivy primeneniya liposomal'nykh lekarstvennykh form. *Vestnik oftal'mologii.* 2014; 4: 117-122 (in Russian).
9. Bagrov S.N. Istochniki regeneratsii rogovoi obolochki glaza. *Oftal'mologicheskii zhurnal* 1980; 1: 231-233 (in Russian).
10. Arshdeep, Kumaran M.S. Platelet-rich plasma in dermatology: boon or a bane?. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2014; 80 (1): 5-14. doi: 10.4103/0378-6323.125467
11. Achkasov E.E., Bezuglov E.N., Ul'yanov A.A. i soavt. Primenenie autoplazmy, obogashchennoi trombotsitami, v klinicheskoi praktike. *Biomeditsina.* 2013; 4: 46-59 (in Russian).

- ская медицина. 2011; 2: 181-187.
13. Dragonas P., Katsaros T., Avila-Ortiz G., Chambrone L., Schiavo J.H., Palaiologou A. Effects of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2019; 48 (2): 250-262. doi: 10.1016/j.ijom.2018.06.003
 14. Somabhai K.R., Dhanjibhai P.N., Sinha M. A clinical microbiological study of corneal ulcer patients at western Gujarat, India. *Acta Med Iran.* 2013; 51 (6): 399-403.
 15. Park J.B., Matsuura M., Han K.Y. et al. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol.* 1995; 66 (6): 462-477. doi: 10.1902/jop.1995.66.6.462
 16. Giannobile W.V. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone.* 1996; 19 (1 Suppl): 23S-37S. doi: 10.1016/s8756-3282(96)00127-5
 17. Attisano L., Wrana J.L. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. *Science.* 2002; 296 (5573): 1646-1647. doi:10.1126/science.1071809
 18. Wang J-Y, Xie L-X, Song X-S, Zhao J. Trends in the indications for penetrating keratoplasty in Shandong, 2005-2010. *Int J Ophthalmol.* 2011; 4 (5): 492-497.
 19. Oladigbolu K., Rafindadi A., Abah E., Samaila E. Corneal ulcers in a tertiary hospital in Northern Nigeria. *Ann Afr Med.* 2013; 12 (3): 165-170. doi:10.4103/1596-3519.117626
 20. Panda A., Satpathy G., Nayak N., Kumar S., Kumar A. Demographic pattern, predisposing factors and management of ulcerative keratitis: evaluation of one thousand unilateral cases at a tertiary care centre. *Clin Exp Ophthalmol.* 2007; 35 (1): 44-50. doi:10.1111/j.1442-9071.2007.01417.x
 21. Suárez-Barrio C., Etxebarria J., Hernández-Moya R. et al. Hyaluronic Acid Combined with Serum Rich in Growth Factors in Corneal Epithelial Defects. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (7): 1655. doi: 10.3390/ijms20071655
 22. Dohan Ehrenfest D.M., Bielecki T., Del Corso M., Inchin-golo F., Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 95 (4): 1280-1282. doi: 10.1002/jbm.a.32894
 23. He L., Lin Y., Hu X., Zhang Y., Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108 (5): 707-713. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.06.044
 24. Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009; 27 (3): 158-167. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009
 25. Дрожжина Г. И., Тройченко Л. Ф., Драгомیرهцкая Е. И. Эффективность применения аутоыворотки крови в комплексном консервативном лечении персистирующих эпителиальных дефектов и торпидных язв роговицы постинфекционной нейропаралитической этиологии. *Офтальмологический журнал.* 2012; 5: 6-12.
 26. Yamada C., King K.E., Ness P.M. Autologous serum eye-drops: literature review and implications for transfusion medicine specialists. *Transfusion.* 2008; 48 (6): 1245-1255. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01665.x
 27. Lambiase A., Rama P., Bonini S., Caprioglio G., Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med.* 1998; 338 (17): 1174-1180. doi: 10.1056/NEJM199804233381702
 28. López-Plandolit S., Morales M.C., Freire V., Etxebarria J., Durán J.A. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea.* 2010; 29 (8): 843-848. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181a81820
 29. Quinto G.G., Campos M., Behrens A. Autologous serum for ocular surface diseases. *Arq Bras Oftalmol.* 2008; 71 (6 Suppl): 47-54.
 30. Kojima T., Higuchi A., Goto E., Matsumoto Y., Dogru M., Akhmerov R., Zarudii R., Rychkova I. s soavt. Plazmolifting (Plasmolifting).- Lechenie vozrastnoi atrofii kozhi bogatoi trombositami autoplazmoi. *Esteticheskaya meditsina.* 2011; 2: 181-187 (in Russian).
 13. Dragonas P., Katsaros T., Avila-Ortiz G., Chambrone L., Schiavo J.H., Palaiologou A. Effects of leukocyte-platelet-rich fibrin (L-PRF) in different intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2019; 48 (2): 250-262. doi: 10.1016/j.ijom.2018.06.003
 14. Somabhai K.R., Dhanjibhai P.N., Sinha M. A clinical microbiological study of corneal ulcer patients at western Gujarat, India. *Acta Med Iran.* 2013; 51 (6): 399-403.
 15. Park J.B., Matsuura M., Han K.Y. et al. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol.* 1995; 66 (6): 462-477. doi: 10.1902/jop.1995.66.6.462
 16. Giannobile W.V. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone.* 1996; 19 (1 Suppl): 23S-37S. doi: 10.1016/s8756-3282(96)00127-5
 17. Attisano L., Wrana J.L. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. *Science.* 2002; 296 (5573): 1646-1647. doi:10.1126/science.1071809
 18. Wang J-Y, Xie L-X, Song X-S, Zhao J. Trends in the indications for penetrating keratoplasty in Shandong, 2005-2010. *Int J Ophthalmol.* 2011; 4 (5): 492-497.
 19. Oladigbolu K., Rafindadi A., Abah E., Samaila E. Corneal ulcers in a tertiary hospital in Northern Nigeria. *Ann Afr Med.* 2013; 12 (3): 165-170. doi:10.4103/1596-3519.117626
 20. Panda A., Satpathy G., Nayak N., Kumar S., Kumar A. Demographic pattern, predisposing factors and management of ulcerative keratitis: evaluation of one thousand unilateral cases at a tertiary care centre. *Clin Exp Ophthalmol.* 2007; 35 (1): 44-50. doi:10.1111/j.1442-9071.2007.01417.x
 21. Suárez-Barrio C., Etxebarria J., Hernández-Moya R. et al. Hyaluronic Acid Combined with Serum Rich in Growth Factors in Corneal Epithelial Defects. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (7): 1655. doi: 10.3390/ijms20071655
 22. Dohan Ehrenfest D.M., Bielecki T., Del Corso M., Inchin-golo F., Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 95 (4): 1280-1282. doi: 10.1002/jbm.a.32894
 23. He L., Lin Y., Hu X., Zhang Y., Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108 (5): 707-713. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.06.044
 24. Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009; 27 (3): 158-167. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009
 25. Drozhzhina G. I., Troichenko L. F., Dragomiretskaya E. I. Effektivnost' primeneniya autosityvorotki krovi v kompleksnom konservativnom lechenii persistiruyushchikh epitelial'nykh defektov i torpidnykh yavz rogovitsy postinfektsionnoi neiroparalitcheskoi etiologii. *Oftal'mologicheskii zhurnal.* 2012; 5: 6-12 (in Russian).
 26. Yamada C., King K.E., Ness P.M. Autologous serum eye-drops: literature review and implications for transfusion medicine specialists. *Transfusion.* 2008; 48 (6): 1245-1255. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01665.x
 27. Lambiase A., Rama P., Bonini S., Caprioglio G., Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med.* 1998; 338 (17): 1174-1180. doi: 10.1056/NEJM199804233381702
 28. López-Plandolit S., Morales M.C., Freire V., Etxebarria J., Durán J.A. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea.* 2010; 29 (8): 843-848. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181a81820
 29. Quinto G.G., Campos M., Behrens A. Autologous serum

- Tsubota K. Autologous serum eye drops for the treatment of dry eye diseases. *Cornea*. 2008; 27 (Suppl 1): S25-S30. doi: 10.1097/ICO.0b013e31817f3a0e
31. Noble B.A., Loh R.S., MacLennan S. et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (5): 647-652. doi: 10.1136/bjo.2003.026211
32. Lagnado R., King A.J., Donald F., Dua H.S. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (4): 464-465. doi: 10.1136/bjo.2003.025528
33. Matsumoto Y., Dogru M., Goto E. et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology*. 2004; 111 (6): 1115-1120. doi: 10.1016/j.optha.2003.10.019
34. Akyol-Salman I. Effects of autologous serum eye drops on corneal wound healing after superficial keratectomy in rabbits. *Cornea*. 2006; 25 (10): 1178-1181. doi: 10.1097/01.icc.0000208817.40237.8c
35. Лебедев О.И., Калижникова Е.А., Яворский А.Е. Механизмы и результаты действия бензалкония хлорида на ткани глаза. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2013; 14 (2): 63-66.
36. Pisella P.J., Debbasch C., Hamard P. et al. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45 (5): 1360-1368. doi: 10.1167/iovs.03-1067
37. Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*. 1997; 326 (Pt 1): 1-16. doi: 10.1042/bj3260001
38. Li J., Eastman A. Apoptosis in an interleukin-2-dependent cytotoxic T lymphocyte cell line is associated with intracellular acidification. Role of the Na(+)/H(+)-antiport. *J Biol Chem*. 1995; 270 (7): 3203-3211. doi: 10.1074/jbc.270.7.3203
39. Geerling G., MacLennan S., Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (11): 1467-1474. doi: 10.1136/bjo.2004.044347
40. Ситник Г.В.. Современные подходы к лечению язв роговицы. *Медицинский журнал*. 2007; 4: 100-104.
- for ocular surface diseases. *Arq Bras Oftalmol*. 2008; 71 (6 Suppl): 47-54.
30. Kojima T., Higuchi A., Goto E., Matsumoto Y., Dogru M., Tsubota K. Autologous serum eye drops for the treatment of dry eye diseases. *Cornea*. 2008; 27 (Suppl 1): S25-S30. doi: 10.1097/ICO.0b013e31817f3a0e
31. Noble B.A., Loh R.S., MacLennan S. et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (5): 647-652. doi: 10.1136/bjo.2003.026211
32. Lagnado R., King A.J., Donald F., Dua H.S. A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (4): 464-465. doi: 10.1136/bjo.2003.025528
33. Matsumoto Y., Dogru M., Goto E. et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology*. 2004; 111 (6): 1115-1120. doi: 10.1016/j.optha.2003.10.019
34. Akyol-Salman I. Effects of autologous serum eye drops on corneal wound healing after superficial keratectomy in rabbits. *Cornea*. 2006; 25 (10): 1178-1181. doi: 10.1097/01.icc.0000208817.40237.8c
35. Lebedev O.I., Kalizhnikova E.A., Yavorskii A.E. Mekhanizmy i rezul'taty deistviya benzalkoniya khlorida na tkani glaza. *RMZh. Klinicheskaya oftal'mologiya*. 2013; 14 (2): 63-66 (in Russian).
36. Pisella P.J., Debbasch C., Hamard P. et al. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45 (5): 1360-1368. doi: 10.1167/iovs.03-1067
37. Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*. 1997; 326 (Pt 1): 1-16. doi: 10.1042/bj3260001
38. Li J., Eastman A. Apoptosis in an interleukin-2-dependent cytotoxic T lymphocyte cell line is associated with intracellular acidification. Role of the Na(+)/H(+)-antiport. *J Biol Chem*. 1995; 270 (7): 3203-3211. doi: 10.1074/jbc.270.7.3203
39. Geerling G., MacLennan S., Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88 (11): 1467-1474. doi: 10.1136/bjo.2004.044347
40. Sitnik G.V.. Sovremennye podkhody k lecheniyu yazv rogovitsy. *Meditinskii zhurnal*. 2007; 4: 100-104 (in Russian).