

Эволюция препаратов искусственной слезы на основе гиалуроновой кислоты

В.В. Бржеский[✉], <https://orcid.org/0000-0001-7361-0270>, vvbrzh@yandex.ru

В.А. Бобрышев, <https://orcid.org/0000-0002-3999-7173>, vsevolod753@mail.ru

Г.Г. Ким, <https://orcid.org/0000-0002-7621-4019>, kim_06011998_69@mail.ru

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Резюме

В последние годы возрос интерес к использованию в лечении синдрома сухого глаза слезозаменителей на основе природных полисахаридов, лидером среди которых является гиалуроновая кислота (ГК). Она обладает достаточной биосовместимостью, неиммуногенностью, высокой псевдопластичностью (тиксотропностью), гигроскопичностью, мукоадгезивностью и хорошими увлажняющими свойствами. Вместе с тем в целях совершенствования препаратов искусственной слезы испытывается потребность в улучшении механических и реологических свойств ГК, ее гигроскопичности, набухании в водной среде и снижении скорости биodeградации. Одним из путей решения этой задачи явилась химическая модификация ГК путем сшивания ее цепочек двумя или более ковалентными связями при участии различных полифункциональных молекул: мочевины, этилового эфира ГК-цистеина, полифункциональных диэпоксидов, глутарового альдегида, карбодиимида и многих других. При этом возрастает жесткость трехмерной полимерной сетки, повышающая ее устойчивость к ферментативному разложению в месте закапывания. Сшитая (перекрестно-связанная) ГК обладает большей вязкостью по сравнению с нативной (линейной) ГК за счет связывания ее цепочек, что определяет более длительное удержание на эпителии роговицы и закономерно позволяет уменьшить частоту инстилляций препарата. Имеются убедительные данные об эффективности полученного сшитого гидрогеля с неньютоновскими свойствами *in vitro* на культурах клеток эпителия роговицы и *in vivo* на моделях механической травмы и химического ожога роговицы, а также у животных с торпидной язвой роговицы. Также установлена клиническая эффективность сшитой (перекрестно-связанной) ГК в лечении пациентов с синдромом сухого глаза различной тяжести, в том числе на почве синдрома Шёгрена. Убедительно доказана более высокая эффективность перекрестно-связанной ГК относительно препаратов нативной (линейной) ГК. С учетом имеющихся сведений разработан официальный препарат, основанный на перекрестно-связанной ГК 0,2%, – Окутиарз® Гидро+ (Santen).

Ключевые слова: синдром сухого глаза, сшитый натрия гиалуронат, слезозаменяющая терапия, клинико-экспериментальная эффективность, частота инстилляций

Для цитирования: Бржеский ВВ, Бобрышев ВА, Ким ГГ. Эволюция препаратов искусственной слезы на основе гиалуроновой кислоты. *Медицинский совет*. 2023;17(23):303–309. <https://doi.org/10.21518/ms2023-430>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The evolution of artificial tears based on hyaluronic acid

Vladimir V. Brzhesky[✉], <https://orcid.org/0000-0001-7361-0270>, vvbrzh@yandex.ru

Vsevolod A. Bobryshev, <https://orcid.org/0000-0002-3999-7173>, vsevolod753@mail.ru

German G. Kim, <https://orcid.org/0000-0002-7621-4019>, kim_06011998_69@mail.ru

St Petersburg State Pediatric Medical University; 2, Litovskaya St., St Petersburg, 194100, Russia

Abstract

In recent years, there has been growing interest in the use of tear substitutes, based on natural polysaccharides in the treatment of dry eye syndrome, the leader of which is hyaluronic acid (HA). It has sufficient biocompatibility, non-immunogenicity, high viscoelasticity, hydrophilic, mucus-adhesive and good moisturizing properties. At the same time, in order to improve artificial tear preparations, there is a need to improve the mechanical and rheological properties of HA, its hygroscopicity, swelling in an aqueous environment and reducing the rate of biodegradation. One of the ways to solve this problem was the chemical modification of HA, by cross-linking its chains with two or more covalent bonds, with the participation of various polyfunctional molecules: urea, HA-cysteine ethyl ester, polyfunctional diepoxides, glutaraldehyde, carbodiimide, and many others. At the same time, the rigidity of the three-dimensional polymer network increases, increasing its resistance to enzymatic decomposition at the site of burial. Cross-linked HA has a higher viscosity compared to native hyaluronic acid due to the binding of its chains, which determines longer retention on the corneal epithelium and naturally makes it possible to reduce the frequency of drug instillations. Convincing data were obtained on the effectiveness of the resulting cross-linked hydrogel with non-Newtonian properties *in vitro* – on cultures of corneal epithelial cells and *in vivo* – on models of mechanical trauma and chemical burns of the cornea, as well as in animals with torpid corneal ulcers. The clinical effectiveness of cross-linked hyaluronic acid in the treatment of patients with dry eye syndrome of varying severity, including those due to Sjögren's syndrome, has also been established. The higher effectiveness of cross-linked HA compared to native HA preparations has been convincingly proven. Taking into account the available information, an official drug has been developed based on cross-linked 0.2% hyaluronic acid Ocutears® Hydro+ (Santen).

Keywords: dry eye syndrome, cross-linked sodium hyaluronate, tear replacement therapy, experimental and clinical effectiveness, frequency of instillations

For citation: Brzhesky VV, Bobryshev VA, Kim GG. The evolution of artificial tears based on hyaluronic acid. *Meditsinskiy Sovet.* 2023;17(23):303–309. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2023-430>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Сегодня лечение пациентов с синдромом сухого глаза состоит из местного применения медикаментозных средств, имеющих следующую направленность [1–3]:

- дополнительное увлажнение глазной поверхности и стабилизация прероговичной слезной пленки, нормализация ее объема и осмолярности;
- медикаментозная стимуляция выработки компонентов прероговичной слезной пленки;
- борьба с воспалительным процессом в тканях роговицы, конъюнктивы и желез, секретирующих влагу конъюнктивальной полости;
- коррекция местного и системного иммунитета;
- лечение сопутствующих ксерозу (аллергических, дегенеративных и пр.) изменений эпителия глазной поверхности.

Из числа перечисленных направлений основное развитие получило увлажнение глазной поверхности. Уже на протяжении многих лет оно реализуется систематическими инстилляциями препаратов искусственной слезы (слезозаменителями), получившими широкое клиническое применение благодаря эффективности и доступности.

Фармакологическое действие этих препаратов обусловлено их замещением всех (или по отдельности) слоев прероговичной слезной пленки. Входящие в качестве полимерной основы большинства из них искусственные гидрофильные полимеры (производные метилцеллюлозы, полиакриловой кислоты, поливинилового спирта, поливинилпирролидон и др.), природные полисахариды (гиалуроновая кислота (ГК), гидроксипропилгуар, декстран), дисахарид трегалоза и другие смешиваются с нативной слезой (или ее остатками) и стабилизируют слезную пленку. Рассматриваемые препараты обладают достаточно высокой вязкостью, низкой осмолярностью, а также совместимостью с нативной слезой по кислотности и электролитному составу.

СВОЙСТВА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

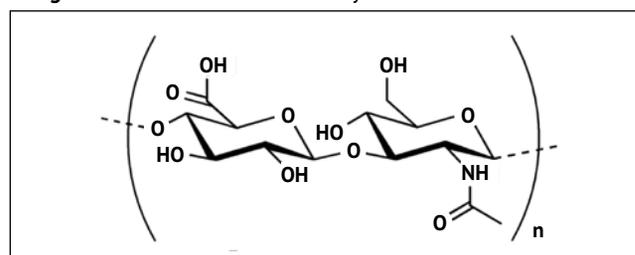
В последние годы возрос интерес к использованию в качестве основы слезозаменителей природных полисахаридов, лидером среди которых в рассматриваемом отношении является ГК [1, 4, 5]. Она была выделена в 1934 г. К. Меуег и J.W. Palmer из стекловидного тела бычьего глаза в составе аминоксахарида и уроновой кислоты, закономерно получив свое название от терминов «гиалоид» и «уроновая кислота» [6]. В 1930–1950-х гг. ГК была выделена также из пуповины человека, петушиного гребня и стрептококков [7, 8].

Первая ГК фармацевтического класса была получена в 1979 г. Е.А. Balazs, который разработал эффективный метод извлечения и очистки полимера из петушиных гребней и человеческой пуповины. В 1990-х и 2000-х гг. особое внимание уделялось идентификации ферментов, участвующих в метаболизме ГК, а также разработке методов бактериальной ферментации для получения ГК с контролируемым размером и полидисперсностью (*рис. 1*) [9, 10].

Молекулы ГК образуют конгломераты – разветвленные сети за счет наличия гидрофобных и водородных связей [11, 12]. Количество повторных дисахаридов в них может достигать 10 000 или более, молекулярная масса – 4 млн Да, а средняя длина полимерной цепи – 10 мкм [11]. При этом молекулы ГК способны обеспечить устойчивый контакт с муцинами слезной пленки благодаря силам адгезии: такие мукоадгезивные свойства ГК дополнительно способствуют повышению смачиваемости глазной поверхности за счет ее удержания на гликокаликсе эпителиальных клеток роговицы и конъюнктивы. Так, в исследованиях G.R. Snibson et al. с помощью количественной гамма-сцинтиграфии было изучено время контакта с поверхностью глаза различных полимеров-слезозаменителей. Период полувыведения раствора ГК 0,2% составил 321 сек, в то время как гидроксипропилметилцеллюлозы 0,3% – 44 сек, а раствора поливинилового спирта 1,4% – 39 сек [9, 13]. Выбор ГК в указанных целях обусловлен биосовместимостью, биоразлагаемостью, неиммуногенностью, тиксотропностью, гигроскопичностью, мукоадгезивностью и хорошими увлажняющими свойствами этого полимера [14].

Наличие в полимерной цепочке полностью ионизированных карбоксильных групп придает молекуле ГК высокую полярность и, следовательно, способность образовывать комплекс одновременно со многими молекулами воды с достижением высокой степени гидратации. Как известно, 1 г ГК способен удерживать до 6 л воды, что превышает соответствующие возможности любой другой натуральной или синтетической основы искусственной слезы [15, 16]. При этом особого внимания

- **Рисунок 1.** Химическая формула гиалуроновой кислоты
- **Figure 1.** Chemical formula of hyaluronic acid



заслуживают вязкоэластические свойства (так называемая тиксотропность) ГК: в статичном состоянии (между миганиями) на открытом глазу цепочки высокомолекулярной ГК образуют запутанную сеть – матрицу, и раствор полимера имеет высокую вязкость, обеспечивая хорошую смачиваемость глазной поверхности и стабилизируя слезную пленку.

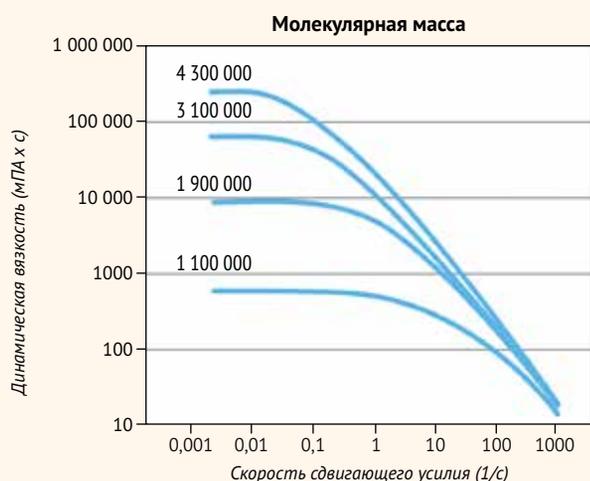
Вместе с тем при возрастании скорости сдвига происходит разрушение межмолекулярных водородных связей и гидрофобных взаимодействий: цепочки ГК деформируются и выравниваются по линиям течения (сдвига). Это происходит, в частности, на фоне мигательных движений, когда скорость сдвига составляет около 20 000 в 1 сек, а вязкость ГК на мгновение резко снижается и ГК легко растекается по поверхности роговицы (рис. 2) [17]. При этом пациенты не наблюдают затуманивания зрения, характерного для вязких растворов и гелей [1, 2, 14, 18]. По мере же уменьшения скорости сдвига сетка ГК восстанавливает свою структуру в слезной пленке [18].

Следует отметить, что тиксотропность изначально свойственна также натуральной (физиологической) слезе, имеющей, как известно, сложный молекулярный состав, вязкость которого точно так же резко снижается при миганиях [19, 20]. При этом высокомолекулярная ГК по рассматриваемому показателю оказалась максимальной близкой к физиологической слезе.

И, наконец, ГК стимулирует миграцию клеток эпителия роговицы, активирует процессы репаративной регенерации, уменьшает продукцию и активность провоспалительных медиаторов и матриксных металлопротеиназ, обладает антиоксидантными свойствами и изменяет поведение иммунных клеток (иммуносупрессия). Эти функции проявляются в элиминации свободных радикалов кислорода, ингибировании миграции и агрегации лейкоцитов, макрофагов и др. [21]. Как известно, ГК является лигандом молекулы клеточной поверхностной адгезии (CD44), экспрессируемым нормальным эпителием роговицы. В процессе

● **Рисунок 2.** Динамика вязкости 1%-х растворов гиалуроновой кислоты различной молекулярной массы в зависимости от скорости сдвига [17]

● **Figure 2.** Changes in viscosity of 1% hyaluronic acid solutions with different molecular weights according to the shear rate [17]



заживления ран взаимодействие между CD44 на клетках и ГК могут способствовать быстрой миграции клеток и, как следствие, быстрому заживлению раны роговицы [22].

В водном растворе ГК заряжена отрицательно и образует соли (гиалуронаты) [23], которые обладают высокой гидрофильностью и, следовательно, окружены молекулами воды. В частности, ГК используется в фармацевтической промышленности в виде водорастворимого гиалуроната натрия, что позволяет увеличить стабильность молекулы к окислению и снизить риск реакций на биологические примеси, остающиеся при производстве ГК из живых тканей [21]. Натрия гиалуронат имеет меньшую молекулярную массу, позволяющую повысить проницаемость тканей и биодоступность, при этом обладает практически теми же свойствами, что и нативная ГК [21]. Отмечена роль натрия гиалуроната в репаративной регенерации в качестве переносчика фактора роста и других структурных белков к месту повреждения ткани [21].

В силу изложенных обстоятельств натриевая соль ГК в концентрации, соответствующей растворам 0,1–0,4% ГК молекулярной массы 0,8–1,4 МДа, сегодня является основной 28 (57,1%) слезозаменителей из 49 зарегистрированных в России.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕРЕКРЕСТНО-СВЯЗАННОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

В интересах совершенствования препаратов искусственной слезы испытывается потребность в улучшении механических и реологических свойств ГК, ее гигроскопичности, набухании в водной среде и снижении скорости ее биодеградации с целью получения производных с более длительным временем пребывания в конъюнктивной полости и возможностью высвобождения конъюгированных с ГК лекарственных препаратов [24, 25]. В указанных целях производят сшивание (перекрестное связывание) молекул ГК, в ходе которого используются полифункциональные молекулы для соединения различных цепей нативной или конъюгированной ГК с помощью двух или более ковалентных связей [26]. При этом возрастает жесткость трехмерной полимерной сетки (вязкоупругости гидрогеля), повышающая его устойчивость к ферментативному разложению в месте закапывания [25]. К тому же перекрестно-связанная ГК обладает большей вязкостью по сравнению с линейной ГК за счет связывания ее цепочек, что определяет более длительное удержание на эпителии роговицы, более интенсивное увлажнение и закономерно позволяет уменьшить частоту инстилляций препарата [25]. Степень сшивки определяется средней массой полимерной цепи между узлами сшивки, выбором сшивающего агента и др.

В качестве химических соединений, используемых для сшивки ГК, нашли применение мочевины [25], этиловый эфир ГК-цистеина [27], полифункциональные диэпоксиды, глутаровый альдегид, водорастворимый карбодимид, дивинилсульфон и многие другие [28, 29]. В указанных целях известны возможности применения N-винилпирролидода, а также фотосшивки ГК под

воздействием ультрафиолета или тиол-еновой реакции, индуцированной видимым светом [30–33].

Некоторые сшивающие агенты обладают дополнительными свойствами, например, мочевины (рис. 3), которая не только связывает нативную ГК, увеличивая ее вязкость, но и обладает собственной биологической активностью [25]. Так, известно, что она является самостоятельным увлажняющим агентом благодаря гигроскопичности, а также способна стимулировать клеточную регенерацию и репарацию эпителия роговицы после ее повреждения [25, 34].

Первые исследования в офтальмологии (*in vitro*) по применению ГК, сшитой мочевиной, продемонстрировали ее эффективность в концентрациях 0,02% и 0,4%: оба раствора ускоряли процессы тканевой пролиферации, связанной с реэпителизацией после ранения как на 2D-клетках роговицы, так и на 3D-реконструированных тканях эпителия роговицы человека. Разработанные прототипы глазных капель характеризовались хорошей химико-физической стабильностью и безопасностью для местного применения [35]. В исследованиях на моделях кроликов с механической и химической (обусловленной щелочным ожогом) травмой эпителия роговицы G. Yang et al. доказали высокую эффективность различных вариантов тиол-модифицированной ГК с дисульфидными сшивками. При этом эпителизация на фоне инстилляций перекрестно-связанного гиалуроната натрия 4 раза в день в течение 1 нед. наступала практически в два раза быстрее, чем в контрольных группах (фосфатный буфер) [36].

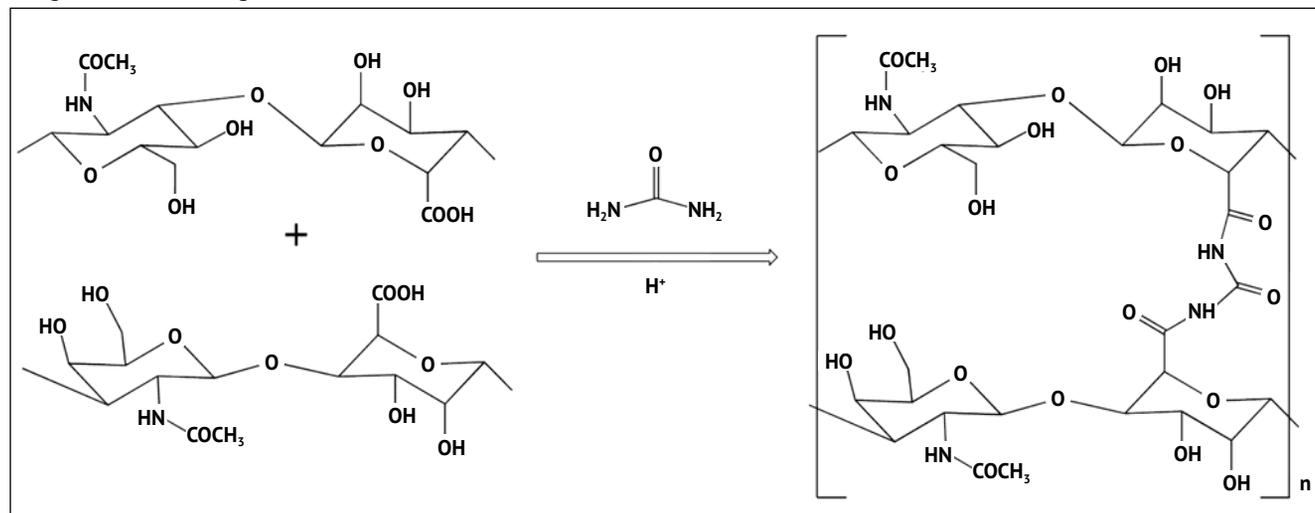
Сходные результаты также получили D.L. Williams и B.K. Mann на кроликах и собаках с моделями сухого кератоконъюнктивита: эффективность перекрестно-связанной тиол-модифицированной ГК уже через 2 нед. терапии оказалась заметно выше, чем нативной ГК [37, 38]. В дальнейшем D.L. Williams et al. опубликовали еще одно исследование [39], посвященное безопасности и эффективности местного применения того же гидрогеля сшитой ГК (в концентрациях 0,33% и 0,75%) по сравнению с несшитой в лечении острых и торпидных язв роговицы

у собак и кошек. Авторы пришли к выводу, что сшитая (перекрестно-связанная) ГК оказывает более выраженный репаративный эффект, чем линейная ГК. Заслуживает также внимание работа S.K. Park et al., изучивших терапевтический эффект гидрогелей ГК, сшитых с помощью тиол-еновой реакции (индуцированной синим светом), в эксперименте на крысах с моделью щелочного ожога роговицы [40]. Отмечено ускорение эпителизации роговицы и купирования воспалительной реакции на глазах, обработанных глазным гидрогелем сшитой ГК 0,1%. Авторы объясняют эффект препарата повышенной гигроскопичностью гидрогеля, его устойчивостью к биодegradации и продолжительностью его пребывания на роговице. Закономерно рассматривается возможность применения сшитой ГК в качестве носителя лекарственных веществ в глазных каплях, инстиллируемых в конъюнктивальную полость при лечении различной глазной патологии [40].

Первое исследование, касающееся успешного использования перекрестно-связанной ГК 0,2% в клинической практике (у 20 пациентов с синдромом Шёгрена), было опубликовано в 2017 г. С. Cagini et al. [41]. При этом перекрестно-связанная ГК оказалась эффективнее линейной ГК 0,2% у пациентов с тяжелым синдромом сухого глаза, однако не отличалась от линейной у здоровых людей. Позже, в 2018 г., E.I. Postorino et al. опубликовали результаты использования перекрестно-связанной ГК и коэнзима Q10 (в сравнении с линейной ГК 0,15%) в лечении пациентов с легким и среднетяжелым синдромом сухого глаза [42]. После лечения индекс заболевания глазной поверхности OSDI и степень прокрашивания роговицы значительно снизились в обеих группах, однако более выражено – на фоне инстилляций гидрогеля перекрестно-связанной ГК и коэнзима Q10. У этих же пациентов значительно улучшилась и функция мейбомиевых желез [43]. Также обнаружена способность гидрогеля перекрестно-связанной ГК ускорять реэпителизацию роговицы после фоторефракционной кератэктомии [44], что еще больше расширяет возможности ее применения в офтальмологии.

● **Рисунок 3.** Сшивание двух молекул гиалуроновой кислоты с помощью мочевины

● **Figure 3.** Crosslinking of two HA molecules with urea



Следует также отметить, что шшитая ГК максимально приближается к естественной слезе и по своим физико-коллоидным свойствам, что доказано результатами сравнительного кристаллографического исследования нативной слезы и различных полимерных слезозаменителей [45]. Как известно, образование структурированных папоротниковых узоров после испарения микрокапель слезы является характерной особенностью коллоидной системы слезной жидкости здорового человека и достаточно информативным показателем мукомиметичности и терапевтического потенциала исследуемых растворов полимеров [46, 47]. При этом образование структурированных кристаллитов после испарения шшитой ГК наблюдалось при ее использовании в концентрации, которая была даже на порядок ниже относительно прочих слезозаменителей [45]. Это служит косвенным доказательством влияния шшитой ГК не только на структуру водно-муцинового геля слезной пленки (ответственного за поверхностное натяжение слезной пленки при мигании в открытом глазу) [48], но и ее липидного слоя, в том числе и на его распределение на поверхности водно-муцинового геля [49]. Так, недавние исследования *in vitro* показали, что мукомиметические полимеры (в частности, ГК), содержащие длинные полианионные полисахаридные фрагменты, имитирующие остатки сиаловой кислоты секреторных гликопротеинов муцина [50], могут модулировать распространение пленок секрета мейбомиевых желез и липидов слезы на поверхности слезной пленки. Препараты ГК при этом могут играть ключевую роль во взаимосвязи и синхронизации между слоями слезной пленки, обеспечивая ее функцию.

В последние годы интерес к перекрестно-связанной ГК был реализован в разработке препарата искусственной слезы Окутиарз® Гидро+ (Santen), который

не содержит консервантов, предназначен для слезозаместительной терапии пациентов с синдромом сухого глаза (в том числе с компьютерным зрительным синдромом), в качестве увлажнителя при ношении контактных линз (включая период адаптации к ним) и для облегчения дискомфорта, защиты роговицы и ускорения заживления глазной поверхности в постоперационном периоде катарактальной и кераторефракционной хирургии. В качестве полимерной основы препарата использована уже неоднократно упомянутая перекрестно-связанная ГК (натрия гиалуронат). Оптимальная концентрация ГК 0,2% в препарате Окутиарз® Гидро+ обеспечивает комфорт и не вызывает ощущения склеивания, которое может возникать при применении ГК более высоких концентраций¹.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, перекрестно-связанная ГК представляет собой вязкоупругий гидрогель с неньютоновскими свойствами, обладающий тиксотропностью, максимально близкой по свойствам к естественной слезе. Она способствует интенсивному увлажнению, хорошо переносится *in vitro* и *in vivo* и проявляет более длительную (относительно линейной ГК) устойчивость на поверхности глаза, купируя выраженность роговично-конъюнктивального ксероза. Результаты предварительных исследований оптимизируют и вместе с тем стимулируют дальнейшее изучение возможностей клинического применения перекрестно-связанной ГК.



Поступила / Received 09.10.2023

Поступила после рецензирования / Revised 20.11.2023

Принята в печать / Accepted 21.11.2023

¹ Инструкция по применению раствора офтальмологического стерильного ОКУТИАРЗ® ГИДРО+.

Список литературы / References

- Jones L, Downie LE, Korb D, Benitez-Del-Castillo JM, Dana R, Deng SX et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):575–628. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.006>.
- Бржецкий ВВ, Егорова ГБ, Егоров ЕА. *Синдром «сухого глаза» и заболевания глазной поверхности: клиника, диагностика, лечение*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. 464 с.
- Бржецкий ВВ, Голубев СЮ, Лебедев ОИ, Милудин ЕС, Апостолова АС, Суров АВ и др. Новые возможности комплексной терапии больных с синдромом сухого глаза различной этиологии. *Офтальмология*. 2020;17(3):481–489. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-3-481-489>. Brzhesky VV, Golubev SYu, Lebedev OI, Milyudin ES, Apostolova AS, Surov AV et al. New Opportunities for Complex Therapy in Patients with Dry Eye Syndrome of Various Etiologies. *Ophthalmology in Russia*. 2020;17(3):481–489. (In Russ.) <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-3-481-489>.
- Корнеева АВ, Страхова СС, Лоскутов ИА. Особенности клинического течения синдрома сухого глаза и оценка эффективности слезозаместительной терапии у пациентов после катарактальной и кераторефракционной хирургии на фоне тревожного расстройства и депрессии. *Медицинский совет*. 2023;17(13):220–228. <https://doi.org/10.21518/ms2023-258>. Korneeva AV, Strakhova SS, Loskutov IA. Clinical features of dry eye syndrome and evaluation of the effectiveness of artificial tear therapy in patients with anxiety and depression after cataract and keratorefractive surgery. *Meditinskii Sovet*. 2023;17(13):220–228. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2023-258>.
- Бржецкий ВВ, Романова ЕА, Киреева ВА. Современные направления слезозаместительной терапии больных с синдромом «сухого глаза». *Медицинский совет*. 2022;16(23):255–261. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-23-255-261>.
- Brzhesky VV, Romanova EA, Kireeva VA. Modern trends in tear replacement therapy for patients with dry eye syndrome. *Meditinskii Sovet*. 2022;16(23):255–261. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-23-255-261>.
- Meyer K, Palmer JW. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem*. 1934;107:629–634. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)75338-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)75338-6).
- Kendall FE, Heidelberger M, Dawson MH. A serologically inactive polysaccharide elaborated by mucoid strains of group A hemolytic streptococcus. *J Biol Chem*. 1937;118:61–69. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)74517-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)74517-1).
- Boas NF. Isolation of hyaluronic acid from the cock's comb. *J Biol Chem*. 1949;181:573–575. <https://doi.org/10.1016/s0021-9258%2818%2956578-9>.
- Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers (Basel)*. 2018;10(7):701. <https://doi.org/10.3390/polym10070701>.
- Boeriu CG, Springer J, Kooy FK, van den Broek LAM, Eggink G. Production methods for hyaluronan. *Int J Carbohydr Chem*. 2013;2013:624967. <https://doi.org/10.1155/2013/624967>.
- Teping C, Bischoff G. *Drug Report. Hyaluronic acid. Treatment of Sicca Syndrome – Effective and well-tolerated also with contact lenses*. URSAPHARM; 2010. 15 p. Available at: https://elojoseco.com/wp-content/uploads/2015/01/Thieme-Drug-Report-2010_A4_en_LR.pdf.
- Matricardi P, Alhaise F, Coviello T (eds.). *Polysaccharide Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications*. New York: Jenny Stanford Publishing; 2015. 540 p. <https://doi.org/10.1201/b19751>.
- Snibson GR, Greaves JL, Soper ND, Prydal JJ, Wilson CG, Bron AJ. Precorneal residence times of sodium hyaluronate solutions studied by quantitative gamma scintigraphy. *Eye (Lond)*. 1990;4(Pt 4):594–602. <https://doi.org/10.1038/eye.1990.83>.

14. Бржеский ВВ, Попов ВЮ. Современные возможности применения натрия гиалуроната в слезозаместительной терапии больных с синдромом «сухого глаза». *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2018;18(4):179–185. <https://doi.org/10.21689/2311-7729-2018-18-4-179-185>.
- Brzhesky VV, Popov VYu. Modern possibilities of sodium hyaluronate in tear substitutive therapy of patients with “dry eye” syndrome. *RMI. Clinical Ophthalmology*. 2018;18(4):179–185. (In Russ.) <https://doi.org/10.21689/2311-7729-2018-18-4-179-185>.
15. Becker LC, Bergfeld WF, Belsito DV, Klaassen CD, Marks JG Jr, Shank RC et al. Cosmetic Ingredient Review Expert Panel; Andersen FA. Final report of the safety assessment of hyaluronic acid, potassium hyaluronate, and sodium hyaluronate. *Int J Toxicol*. 2009;28(Suppl. 4):5–67. <https://doi.org/10.1177/1091581809337738>.
16. Prosdocimi M, Bevilacqua C. Exogenous hyaluronic acid and wound healing: an updated vision. *Panminerva Med*. 2012;54(2):129–135. Available at: <https://www.minervamedica.it/it/riviste/panminerva-medica/articolo.php?cod=R41Y2012N02A0129>.
17. Bothner H, Wik O. Rheology of hyaluronate. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1987;442:25–30. <https://doi.org/10.3109/00016488709102834>.
18. Lapcik L Jr, Lapcik L, De Smedt S, Demeester J, Chabreck P. Hyaluronan: Preparation, Structure, Properties, and Applications. *Chem Rev*. 1998;98(8):2663–2684. <https://doi.org/10.1021/cr941199z>.
19. Williams D. Improving Ophthalmic Tear Replacement Therapies: A Bioengineering Approach: Mini Review. *Curr Trends Biomedical Eng Biosci*. 2017;2(3):555589. <https://doi.org/10.19080/CTBEB.2017.02.555589>.
20. Yokoi N, Yamada H, Mizukusa Y, Bron AJ, Tiffany JM, Kato T, Kinoshita S. Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous tear-deficient dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(12):5319–5324. <https://doi.org/10.1167/iovs.07-1407>.
21. Becker LC, Bergfeld WF, Belsito DV, Klaassen CD, Marks JG Jr, Shank RC et al. Final report of the safety assessment of hyaluronic acid, potassium hyaluronate, and sodium hyaluronate. *Int J Toxicol*. 2009;28(Suppl. 4):5–67. <https://doi.org/10.1177/1091581809337738>.
22. Posarelli C, Passani A, Del Re M, Fogli S, Toro MD, Ferreras A, Figus M. Response to Wirotko et al. Re: “Cross-Linked Hyaluronic Acid as Tear Film Substitute” by Posarelli et al. (*J Ocul Pharmacol Ther*. 2019;35(7):381–387). *J Ocul Pharmacol Ther*. 2020;36(4):206–207. <https://doi.org/10.1089/jop.2020.29067.res>.
23. Laurent T. Introduction. In: Evered D, Whelan J (eds). *The biology of hyaluronan*. Chichester: Wiley & Sons Ltd; 1989. 289 p. Available at: <https://download.ebookshelf.de/download/0000/5742/10/L-G-0000574210-0002288091.pdf>.
24. Shimojo AA, Pires AM, Lichy R, Rodrigues AA, Santana MH. The crosslinking degree controls the mechanical, rheological, and swelling properties of hyaluronic acid microparticles. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(2):730–737. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35225>.
25. Fallacara A, Manfredini S, Durini E, Vertuani S. Hyaluronic Acid Fillers in Soft Tissue Regeneration. *Facial Plast Surg*. 2017;33(1):87–96. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1597685>.
26. Schanté CE, Zuber G, Herlin C, Vandamme TF. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications. *Carbohydr Polym*. 2011;85(3):469–489. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.019>.
27. Laffleur F, Dachs S. Development of novel mucoadhesive hyaluronic acid derivate as lubricant for the treatment of dry eye syndrome. *Ther Deliv*. 2015;6(10):1211–1219. <https://doi.org/10.4155/tde.15.55>.
28. Tomihata K, Ikada Y. Crosslinking of hyaluronic acid with water-soluble carbodiimide. *J Biomed Mater Res*. 1997;37(2):243–251. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(199711\)37:2<243::aid-jbm14>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199711)37:2<243::aid-jbm14>3.0.co;2-f).
29. Fallacara A, Vertuani S, Panozzo G, Pecorelli A, Valacchi G, Manfredini S. Novel Artificial Tears Containing Cross-Linked Hyaluronic Acid: An In Vitro Re-Epithelialization Study. *Molecules*. 2017;22(12):2104. <https://doi.org/10.3390/molecules22122104>.
30. Lai JY, Li YT. Influence of Cross-Linker Concentration on the Functionality of Carbodiimide Cross-Linked Gelatin Membranes for Retinal Sheet Carriers. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2011;22(1-3):277–295. <https://doi.org/10.1163/092050609X12603600753204>.
31. Lu PL, Lai JY, Ma DH, Hsue GH. Carbodiimide cross-linked hyaluronic acid hydrogels as cell sheet delivery vehicles: characterization and interaction with corneal endothelial cells. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2008;19(1):1–18. <https://doi.org/10.1163/156856208783227695>.
32. Leach JB, Bivens KA, Collins CN, Schmidt CE. Development of photocross-linkable hyaluronic acid-polyethylene glycol-peptide composite hydrogels for soft tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2004;70(1):74–82. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30063>.
33. Schramm C, Spitzer MS, Henke-Fahle S, Steinmetz G, Januschowski K, Heiduschka P et al. The cross-linked biopolymer hyaluronic acid as an artificial vitreous substitute. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(2):613–621. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7322>.
34. Charlton JF, Schwab IR, Stuchell R. Topical urea as a treatment for non-infectious keratopathy. *Acta Ophthalmol Scand*. 1996;74(4):391–394. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0420.1996.tb00715.x>.
35. Fallacara A, Vertuani S, Panozzo G, Pecorelli A, Valacchi G, Manfredini S. Novel Artificial Tears Containing Cross-Linked Hyaluronic Acid: An In Vitro Re-Epithelialization Study. *Molecules*. 2017;22(12):2104. <https://doi.org/10.3390/molecules22122104>.
36. Yang G, Espandar L, Mamalis N, Prestwich GD. A cross-linked hyaluronan gel accelerates healing of corneal epithelial abrasion and alkali burn injuries in rabbits. *Vet Ophthalmol*. 2010;13(3):144–150. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2010.00771.x>.
37. Williams DL, Mann BK. A Crosslinked HA-Based Hydrogel Ameliorates Dry Eye Symptoms in Dogs. *Int J Biomater*. 2013;460437. <https://doi.org/10.1155/2013/460437>.
38. Williams DL, Mann BK. Efficacy of a crosslinked hyaluronic acid-based hydrogel as a tear film supplement: a masked controlled study. *PLoS ONE*. 2014;9(6):e99766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099766>.
39. Williams DL, Wirotko BM, Gum G, Mann BK. Topical Cross-Linked HA-Based Hydrogel Accelerates Closure of Corneal Epithelial Defects and Repair of Stromal Ulceration in Companion Animals. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(11):4616–4622. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-20848>.
40. Park SK, Ha M, Kim EJ, Seo YA, Lee HJ, Myung D et al. Hyaluronic acid hydrogels crosslinked via blue light-induced thiol-ene reaction for the treatment of rat corneal alkali burn. *Regen Ther*. 2022;20:51–60. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2022.03.005>.
41. 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. <https://doi.org/10.1089/jop.2016.0149>.
42. Postorino EI, Rania L, Aragona E, Mannucci C, Alibrandi A, Calapai G et al. Efficacy of eyedrops containing cross-linked hyaluronic acid and coenzyme Q10 in treating patients with mild to moderate dry eye. *Eur J Ophthalmol*. 2018;28(1):25–31. <https://doi.org/10.5301/ejo.5001011>.
43. Posarelli C, Passani A, Del Re M, Fogli S, Toro MD, Ferreras A, Figus M. Cross-Linked Hyaluronic Acid as Tear Film Substitute. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2019;35(7):381–387. <https://doi.org/10.1089/jop.2018.0151>.
44. Durrie DS, Wolsey D, Thompson V, Assang C, Mann B, Wirotko B. Ability of a new crosslinked polymer ocular bandage gel to accelerate reepithelialization after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg*. 2018;44(3):369–375. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2018.01.018>.
45. Eftimov P, Yokoi N, Melo AM, Daulf P, Georgiev GA. Interactions of Meibum and Tears with Mucomimetic Polymers: A Hint towards the Interplay between the Layers of the Tear Film. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2747. <https://doi.org/10.3390/ijms22052747>.
46. Masmali AM, Purslow C, Murphy PJ. The tear ferning test: a simple clinical technique to evaluate the ocular tear film. *Clin Exp Optom*. 2014;97(5):399–406. <https://doi.org/10.1111/cxo.12160>.
47. Сомов ЕЕ, Бржеский ВВ. *Слез (физиология, методы исследования, клиника)*. СПб.: Наука; 1994. 156 с.
48. Fatt I. Observations of tear film break up on model eyes. *CLAO J*. 1991;17(4):267–281. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1764774/>.
49. Georgiev GA, Eftimov P, Yokoi N. Contribution of Mucins towards the Physical Properties of the Tear Film: A Modern Update. *Int J Mol Sci*. 2019;20(24):6132. <https://doi.org/10.3390/ijms20246132>.
50. Svitova TF, Lin MC. Dynamic interfacial properties of human tear-lipid films and their interactions with model-tear proteins in vitro. *Adv Colloid Interface Sci*. 2016;233:4–24. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.12.009>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – В.В. Бржеский

Написание текста – В.А. Бобрышев

Сбор и обработка материала – В.А. Бобрышев, Г.Г. Ким

Обзор литературы – В.А. Бобрышев, Г.Г. Ким

Перевод на английский язык – В.А. Бобрышев

Анализ материала – В.А. Бобрышев, Г.Г. Ким

Редактирование – В.В. Бржеский

Утверждение окончательного варианта статьи – В.В. Бржеский

Contribution of authors:

Concept of the article – Vladimir V. Brzhesky

Text development – Vsevolod A. Bobryshev

Collection and processing of material – Vsevolod A. Bobryshev, German G. Kim

Literature review – Vsevolod A. Bobryshev, German G. Kim

Translation into English – Vsevolod A. Bobryshev

Material analysis – Vsevolod A. Bobryshev, German G. Kim

Editing – Vladimir V. Brzhesky

Approval of the final version of the article – Vladimir V. Brzhesky

Информация об авторах:

Бржеский Владимир Всеволодович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой офтальмологии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2; vvbrzh@yandex.ru

Бобрышев Всеволод Андреевич, ассистент кафедры офтальмологии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2; vsevolod753@mail.ru

Ким Герман Геннадьевич, аспирант кафедры офтальмологии, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2; kim_06011998_69@mail.ru

Information about the authors:

Vladimir V. Brzhesky, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Ophthalmology, St Petersburg State Pediatric Medical University; 2, Litovskaya St., St Petersburg, 194100, Russia; vvbrzh@yandex.ru

Vsevolod A. Bobryshev, Assistant of the Department of Ophthalmology, St Petersburg State Pediatric Medical University; 2, Litovskaya St., St Petersburg, 194100, Russia; vsevolod753@mail.ru

German G. Kim, Postgraduate Student of the Department of Ophthalmology, St Petersburg State Pediatric Medical University; 2, Litovskaya St., St Petersburg, 194100, Russia; kim_06011998_69@mail.ru