

Определение токсичности растворов для контактных линз методом биолюминесценции

Левченко Юлия С.^{1,*}, Степанова Людмила В.²

¹ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России,

660022, Российская Федерация, Красноярский край, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

² ФГБОУ ВО «Сибирский федеральный университет»,

660041, Российская Федерация, Красноярский край, Красноярск, пр. Свободный, д. 79

Резюме

Цель. Выявление возможности использования биолюминесцентного биотеста для определения токсичности растворов для ухода за контактными линзами (КЛ). **Методы.** Исследуемые растворы тестировали сразу после вскрытия (стерильные) и после промывания в них КЛ «PureVision 2» (использованные). В качестве тест-системы использовали бактериальную биоферментную систему NADH: FMN-оксидоредуктаза+люцифераза, входящую в комплект реактивов КРАБ (ИБФ СО РАН, Красноярск), который содержал лиофилизированные препараты высокоочищенных ферментов люциферазы EC 1.14.14.3 (0,4 мг/мл) из рекомбинантного штамма *E.coli* и NADH: FMN-оксидоредуктазы EC 1.5.1.29 (*Ph. leiognathi*) (0,18 ед. активности). Биолюминесцентное тестирование проводили на планшетном люминиметре «TriStar LB 941» (Германия). Измерение интенсивности свечения проводили в 2 повторениях. В качестве интегрального показателя использовали остаточное свечение (Т, %), вычисляемое как отношение средних максимальных интенсивностей свечения экспериментального измерения (раствора) и контрольного измерения, умноженного на 100%. **Результаты.** Результаты биолюминесцентного тестирования стерильных растворов показали, что наибольшее ингибирование биолюминесцентного свечения оказывал раствор «Maxima», наименьшее – российский раствор «Оптимед» и растворы «AVIZOR Aquasoft comfort», не оказывал влияния на свечение раствор «Bausch + Lomb Biotrue». Результаты биолюминесцентного тестирования использованных растворов после погружения и нахождения в них КЛ, использованных пациентами в течение 10 часов ношения, показали сильное ингибирование биолюминесцентного свечения во всех растворах. **Заключение.** Результаты исследования токсичности растворов дают возможность прогнозировать отдаленные последствия использования тех или иных образцов у пациентов – пользователей контактных линз из групп риска, а также позволяют получить понимание механизмов развития дискомфорта и других причин отказа от ношения линз и оптимизировать способы их профилактики.

Ключевые слова: раствор, токсичность раствора, биосовместимость, биолюминесцентное тестирование, контактные линзы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование профинансировано ООО «Bausch Health».

Для цитирования: Левченко Ю.С., Степанова Л.В. Определение токсичности растворов для контактных линз методом биолюминесценции. The EYE ГЛАЗ. 2021;23(4):37–42. <https://doi.org/10.33791/2222-4408-2021-4-37-42>

Поступила: 24.04.2021

Принята после доработки: 12.11.2021

Опубликована: 20.12.2021

© Левченко Ю.С., Степанова Л.В., 2021.

Contact Lens Solutions Toxicity Evaluation by the Bioluminescence Method

Yulia S. Levchenko^{1,*}, Lyudmila V. Stepanova²

¹ Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky,

1, Partisan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Krasnoyarsk Territory, 660022, Russian Federation

² Siberian Federal University,

79, Svobodny Ave., Krasnoyarsk, Krasnoyarsk Territory, 660041, Russian Federation

Abstract

Purpose. To study the possibility of using bioluminescence biotesting to evaluate the toxicity of contact lens care solutions. **Methods.** The examined solutions were tested both immediately upon unpacking (i.e. sterile) and after rinsing "Pure Vision 2" lenses in them (i.e. after use). As a test system, NADH:FMN oxidoreductase and luciferase bacterial bio enzyme system was used. It contained lyophilized highly purified ferments of EC 1.14.14.3 bacterial luciferase (0.4 mg/ml) from *E.coli* recombinant variant and EC 1.5.1.29 NADH:FMN oxidoreductase (*Ph. leiognathi*) (0.18 enzyme units). The bioluminescent testing was carried out with TriStar LB 941 microplate luminometer (Germany). The measurement of the luminescence intensity was carried out in two repetitions. Residual luminescence (T, %), calculated as the ratio of the average maximum luminescence intensities of the experimental measurement (solution) and the control measurement, multiplied by 100%, was used as an integral indicator. **Results.** The results of bioluminescent testing of sterile solutions showed that "Maxima" solution exhibited the greatest inhibition of bioluminescence, while "Optimed" (Russia) and "AVIZOR Aqua Soft Comfort" solutions demonstrated the least effect. "Bausch + Lomb Biotrue" solution did not affect the bioluminescence. The results

of bioluminescence testing of the solutions after contact lenses that had previously been worn for 10 hours were stored in them, showed a strong inhibition of bioluminescence in all solutions. **Conclusion.** The results of the toxicity evaluation allow for a more reliable prognosis of the long-term consequences of using certain solutions by contact lens wearers from risk groups. The findings also provide more insight into the mechanisms of development of discomfort and other reasons for refusing to wear lenses, as well as to suggest more effective prevention measures.

Key words: solution, solution toxicity, biocompatibility, bioluminescence testing, contact lenses

Conflict of interest: the authors declare that there is no conflict of interest.

Funding: "Bausch Health" LLC.

For citation: Levchenko Yu.S., Stepanova L.V. Contact lens solutions toxicity evaluation by the bioluminescence method. The EYE GLAZ. 2021;23(4):37–42. <https://doi.org/10.33791/2222-4408-2021-4-37-42>

Received: 24.04.2021

Accepted: 12.11.2021

Published: 20.12.2021

© Levchenko Yu.S., Stepanova L.V., 2021.

На сегодняшний день более 140 млн человек во всем мире применяют контактные линзы для коррекции рефракционных нарушений [1]. Преимущества контактной коррекции, по сравнению с очковой, очевидны – линзы незаметны, не изменяют размеры предметов, не ограничивают поле зрения, не запотевают. Однако каждый, кто носит линзы, хотел бы быть уверенным в них не только как в полноценном средстве коррекции зрения, но и как в изделии, не несущем дополнительных рисков для здоровья глаз. Необходимо отметить, что при их применении возможно развитие осложнений, которые могут быть связаны как с самими линзами, характеристиками их материалов, структурными и поверхностными свойствами, так и с соблюдением пациентом рекомендаций специалиста, а также с применением тех или иных растворов по уходу за линзами и другими причинами. Одним из осложнений у пользователей контактных линз (КЛ) часто выступают токсико-аллергические явления, которые могут провоцироваться растворами для ухода за линзами [2].

В связи с этим встает вопрос, можем ли мы с нашей стороны повлиять на риск возникновения этих осложнений как специалисты, рекомендуя пациентам систему ухода за линзами. Например, в нашей стране не существует общепринятых методик по определению качества дезинфицирующих свойств растворов для линз и уровня нежелательных явлений, связанных с этими свойствами. Тем не менее простым и информативным способом тестирования раствора для линз может служить качественный биолуминесцентный метод, основанный на фиксировании свечения от ферментативной реакции светящихся бактерий [3].

Биолуминесцентный метод достаточно хорошо зарекомендовал себя в оценке потенциальной токсичности. Основными областями применения люминесцентного бактериального теста являются: постоянный мониторинг питьевой воды, водоемов, почв, воздуха, материалов и изделий на предмет токсического эффекта; определение уровня токсичности новой продукции; медицина и фармацевтика – экспресс-контроль токсических эффектов материалов и лекарственных веществ; пищевая индустрия. Например, иногда методика используется

для подтверждения гарантии безопасности продуктов питания. Мы полагаем, что, помимо всего вышеперечисленного, биолуминесцентный биотест может быть также применим и для выявления токсических свойств растворов, используемых для ухода за контактными линзами.

Биолуминесценция – это процесс свечения живых организмов, связанный с их жизнедеятельностью и происходящий практически без выделения тепла. В его основе лежит катализируемая специфическим ферментом реакция светоизлучения. Для всех биолуминесцентных систем характерен высокий квантовый выход: от 0,01 до 1, и свечение их необычайно яркое. Это объясняется тем, что практически каждая молекула продукта реакции образуется в электронно-возбужденном состоянии [3].

Для биотестирования растворов нами предложен новый подход – биолуминесцентный биотест, основанный на тушении биолуминесцентного свечения бактериальной ферментативной тест-системы в ответ на добавление анализируемого раствора. По изменению уровня свечения можно выявить интегральный показатель токсичности анализируемого раствора. Такой подход имеет преимущества в экспрессной оценке, воспроизводимости и объективности за счет приборной регистрации [3]. Использование биолуминесцентного свечения в качестве диагностического интегрального показателя дезинфицирующих свойств растворов может являться перспективным направлением в клинической офтальмологии для изучения причин осложнений в контактной коррекции зрения.

Цель

Оценить возможности использования биолуминесцентного биотеста для определения токсичности растворов для ухода за контактными линзами.

Задачи исследования

1. Выявить токсические свойства многофункциональных стерильных растворов по уходу за КЛ.
2. Проанализировать изменение свойств растворов после промывания в них КЛ.

Материалы и методы

В работе использованы растворы для КЛ российского и зарубежного производства: «Aquasoft comfort», Испания; «Оптимед», Россия; «Maxima», Англия; «Biotrue», США. Растворы тестировали сразу после вскрытия (стерильные) и после промывания в них КЛ «PureVision 2» (использованные) после ношения их пациентами в течение одного дня.

В качестве тест-системы использовали бактериальную биоферментную систему NADH: FMN-оксидоредуктаза+люцифераза, входящую в комплект реактивов КРАБ (ИБФ СО РАН, Красноярск), который содержал лиофилизированные препараты высокоочищенных ферментов люциферазы EC 1.14.14.3 (0,4 мг/мл) из рекомбинантного штамма *E.coli* и NADH: FMN-оксидоредуктазы EC 1.5.1.29 (*Ph. leiognathi*) (0,18 ед. активности).

Билюминесцентное тестирование проводили на планшетном люминометре «TriStarLB 941» (Германия) (рис. 1).

Измерение интенсивности свечения проводили в 2 повторениях. В качестве интегрального показателя использовали остаточное свечение (Т, %), вычисляемое как отношение средних максимальных интенсивностей свечения экспериментального измерения (раствора) и контрольного измерения, умноженного на 100%.

TECHNOLOGIES



Рис. 1. Планшетный люминометр «TriStarLB 941» (Германия)

Fig. 1. TriStar LB 941 multimode plate luminometer (Germany)

Результаты и обсуждение

Результаты билюминесцентного тестирования стерильных растворов показали, что наибольшее ингибирование билюминесцентного свечения оказывал раствор «Maxima», наименьшее – российский раствор

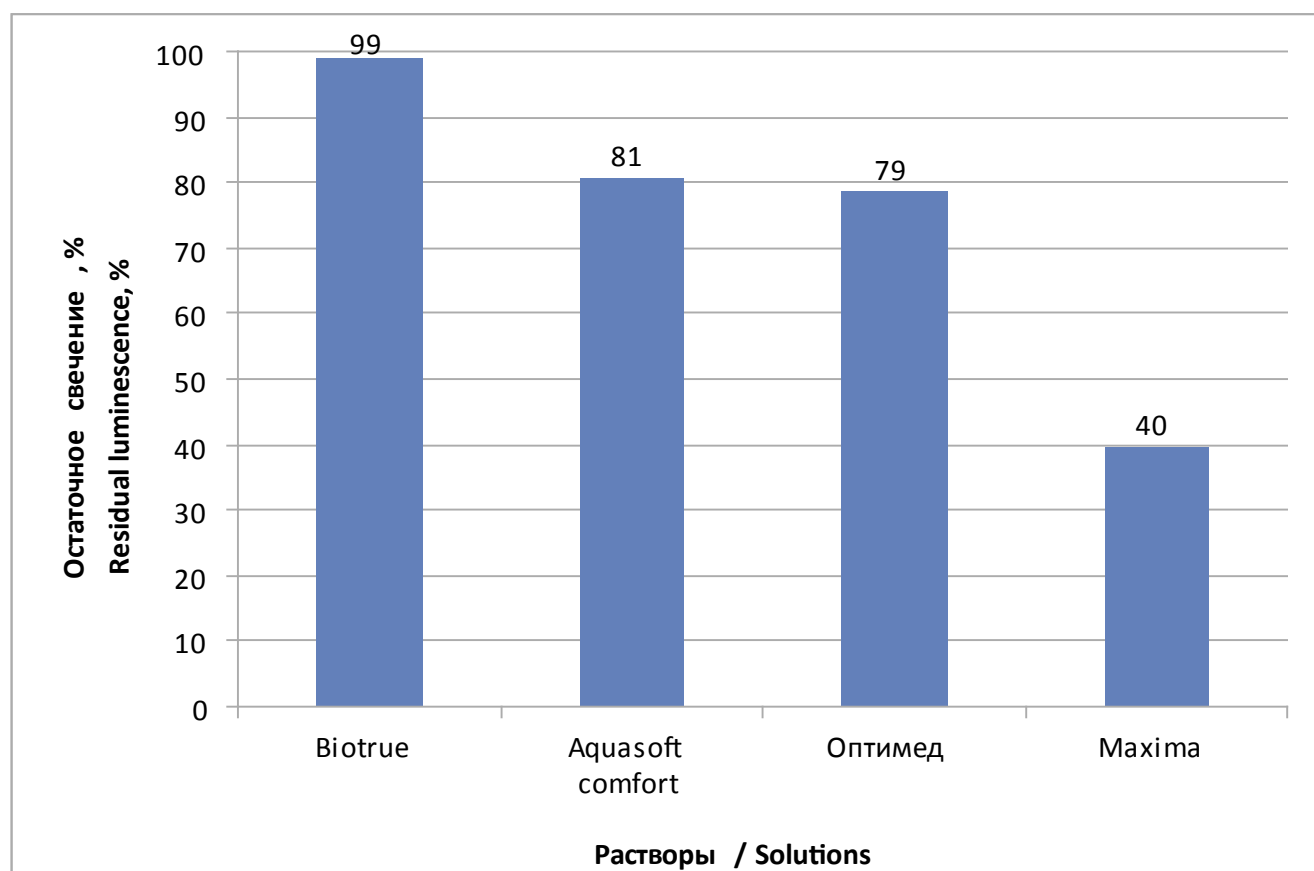


Рис. 2. Изменение остаточного свечения ферментативной тест-системы при тестировании стерильных растворов разных производителей

Fig. 2. Change in the residual luminescence of the enzymatic test system in sterile solutions from different manufacturers

«Оптимед» и растворы «Aquasoft comfort», не оказывал влияния на свечение раствор «Biotrue» (рис. 2).

Компонентный состав раствора «Biotrue» отличается содержанием сурфактантов и природного полимера – гиалуронана (гиалуроната натрия), который, вероятно, и защищал биолюминесцентную систему от токсического воздействия дезинфицирующих компонентов раствора, вследствие чего свечение не менялось. Также неизменное свечение могло быть следствием изначально сниженной концентрации дезинфектантов в формуле раствора «Biotrue», которая предназначалась для снижения токсичности, а также для достижения гипоаллергенного эффекта.

Биолюминесцентное тестирование перечисленных растворов после использования показало возрастание биолюминесцентного свечения во всех исследуемых жидкостях для хранения линз.

Высокий процент ингибирования биолюминесцентного свечения, например в растворе «Maxima», свидетельствовал о ликвидации белков, входящих в ферментативную тест-систему, что в свою очередь указывало на возможные токсичные свойства стерильного раствора. Слабое ингибирование свечения использованных растворов указывало на минимальное токсическое воздействие очищающего агента раствора на белки, входящие в ферментативную тест-систему. Отсутствие ингибирующего эффекта для стерильного раствора свидетельствовало об отсутствии токсического воздействия. Дополнительную роль в этом процессе играет содержание в растворе «Biotrue» сульфобетаина, препятствующего денатурации белка, также это оказало влияние и на сохра-

нение белков ферментативной тест-системы, и в результате не было отмечено влияния на свечение.

Вопрос токсичности растворов долгое время занимал специалистов-контактологов, и не так давно была раскрыта его роль в числе причин, провоцирующих дискомфорт у пользователей линз [4]. В последующем дискомфорт, как правило, приводит к отказу от ношения, если вовремя не предпринять спасительные меры [5].

Результаты биолюминесцентного тестирования использованных растворов после погружения и нахождения в них КЛ, использованных пациентами в течение 10 часов ношения, показали сильное ингибирование биолюминесцентного свечения во всех растворах (рис. 3).

Это может быть связано с воздействием на тест-систему денатурированных белков и других веществ из слезы, которые были смыты раствором с линзы, и еще раз подчеркивает важность ежедневной замены раствора в контейнере для профилактики дополнительного токсического воздействия на глазную поверхность.

Выводы

Результаты настоящего исследования позволяют нам задуматься в первую очередь над тем, насколько велика роль оценки потенциальных токсических эффектов раствора и их влияния на комфорт ношения линз. Учитывая это, выбор системы ухода наряду с контактными линзами всегда должен оставаться прерогативой именно специалиста по кон-

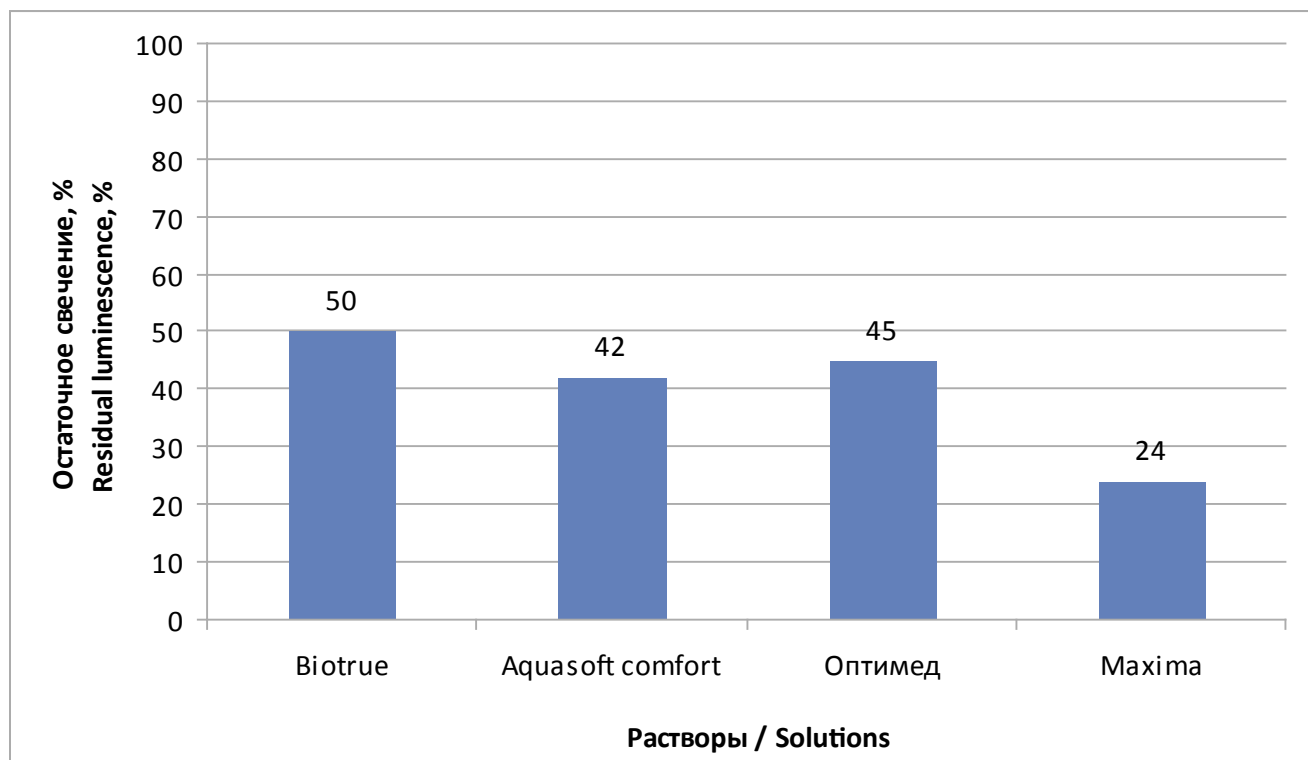


Рис. 3. Изменение остаточного свечения при тестировании растворов после погружения контактных линз
Fig. 3. Change in the residual luminescence of solutions after immersion of contact lenses

BAUSCH + LOMB

ЭКСПЕРТ В КОНТАКТНОЙ КОРРЕКЦИИ БОЛЕЕ 50 ЛЕТ³



Комфорт:

pH раствора
соответствует
pH слезы
здорового
глаза^{4,5,7}



Увлажнение:

гиалуронат
способствует
увлажнению
линзы
до 20 часов^{5,6,7}



Защита:

поддерживает
белки слезы
в активном
состоянии⁴

Biotrue®:

биовдохновение для
комфортного ношения
контактных линз^{1,2}



Biotrue® Медицинское изделие. Рег. Уд. № ФСЗ 2011/08903 от 19.10.2018 г. Раствор универсальный «Биотру» (Biotrue®) по уходу за мягкими контактными линзами во флаконах, в комплекте с контейнером для хранения контактных линз и без контейнера.

*Biotrue (англ. язык) – Биотру (русс. язык)

1. Барр Д., Вукусич П. Биовдохновение и новые дизайны. Вестник оптометрии, 2010 №5. 2. Виглаш К., Хук Д. Обновление поверхности контактных линз. Современная оптометрия, 2017 №7. 3. Даниличев В.Ф., Новиков С.А., Ушаков Н.А. Контактные линзы. Санкт-Петербург, Веко, 2008, с. 12. 4. Райт Э.А., Пэйн К., Джвитт Т., Хвард Ф., Мальдонадо-Кодина К., Досон К. Сохранение структуры и функции белков слезы человека с помощью нового универсального раствора для контактных линз. Современная оптометрия, 2012. 5. Снайдер К. С раствором Biotrue не придется выбирать между комфортом и дезинфекцией. Вестник оптометрии, 2012, №1. 6. Scheuer C., Fridman K., Barniak V., Burke S., Venkatesh S. Retention of conditioning agent hyaluronan on hydrogel contact lenses. Contact Lens Anterior Eye, 2010; 33 (Шоер С., Фридман К., Барниак В., Брук С., Венкатеш С. Удержание увлажняющего компонента гиалуронана материалами гидрогелевых линз. Контактные линзы и Передний отрезок глаза, 2010; 33). 7. Scheuer C., Rah M., Reindel W. Increased concentration of hyaluronan in tears after soaking contact lenses in Biotrue multipurpose solution. Clinical Ophthalmology 2016;10 (Шоер С., Ра М., Рейндел В. Увеличение концентрации гиалуронана в слезе после замачивания контактных линз в многофункциональном растворе Биотру. Клиническая офтальмология 2016; 10)

Реклама RUS-VSC-BIO-NON-04-2021-2920

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМО ПРОКОНСУЛЬТИРОВАТЬСЯ СО СПЕЦИАЛИСТОМ

тактной коррекции и не осуществляться пациентом самостоятельно. Специалист обязан всегда контролировать состояние глаза для выявления токсико-аллергических реакций на средства ухода за КЛ.

Вклад авторов: авторы внесли равный вклад в эту работу.

Концепция и дизайн исследования, обзор литературы, сбор, анализ и интерпретация данных, написание статьи, финальное редактирование: Ю.С. Левченко (50%), Л.В. Степанова (50%).

Authors' contributions: authors contributed equally to this work.

Literature review, data collection, data analysis and interpretation, manuscript editing, final editing: Yu.S. Levchenko (50%) and L.V. Stepanova (50%).

Благодарности

Авторы выражают благодарность компании «Bausch Health» за спонсорскую поддержку в написании статьи, а также М.А. Корешеву, врачу-офтальмологу, специалисту по профессиональной поддержке компании за помощь в рецензировании статьи.

Информация об авторах

Левченко Юлия Сергеевна*, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры офтальмологии имени профессора М.А. Дмитриева с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России; e-mail: 2924469@gmail.com

Степанова Людмила Васильевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»; e-mail: slyudmila@mail.ru

Acknowledgments:

The authors would like to express their gratitude to “Bausch Health” LLC for the sponsorship of the article, as well as to M.A. Koreshev, ophthalmologist and professional support specialist for his help in reviewing the article.

Литература / References

1. Stapleton F., Keay L., Jalbert I. et al. The epidemiology of contact lens related infiltrates. *Optometry vision science*. 2007;84(4):257–272.
2. Alipour F., Khaheshi S., Soleimanzadeh M. et al. Contact lens-related complications: a review. *J. Ophthalmic. Vis. Res.* 2017;12(2):193–204.
3. Kratasyuk V., Esimbekova E. Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2015;18(10):952–959.
4. Caveta M.E., Van Der Meida K.R., Harrington K.L., Tchaob R., Warda K.W., Zhanga J.-Z. Effect of a novel multipurpose contact lens solution on human corneal epithelial barrier function. *Contact Lens & Anterior Eye*. 2010:18–23.
5. Rumpakis J. New data on contact lens drop-outs: an international perspective. *Review of Optometry*. 2010;147(1):37–42.

Information about the authors

Yulia S. Levchenko*, Cand. Sci. (Med.), assistant of the Department of Ophthalmology named after Professor M.A. Dmitriev with a course in the Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky; e-mail: 2924469@gmail.com

Lyudmila V. Stepanova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Biophysics, Siberian Federal University; e-mail: slyudmila@mail.ru