

УДК 617.713–002–092.9:617.711–004.1–07+577.11

Влияние наличия синдрома сухого глаза на состояние тиоловой системы при эндотоксин–индуцированном кератите в эксперименте

Т. Б. Гайдамака¹, д-р мед. наук, С. Я. Рафалюк², ассистент кафедры офтальмологии

¹ ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

² Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого; Львов (Украина)

E-mail: drgaydamaka@list.ru

Вступ. Сучасні методи лікування кератитів не завжди є ефективними. Особливі труднощі виникають при лікуванні кератитів у пацієнтів з симптомами сухого ока.

Мета роботи: визначити ступінь порушення тиолової системи в тканинах переднього відділу ока при розвитку кератиту у тварин з моделлю синдрому.

Матеріал і методи. В експерименті було використано 36 кроликів породи шиншила масою 2,2–2,9 кг, розділених на 4 групи: 1 група — контрольна (7 кроликів), 2 група — дослідна (6 кроликів), тварини з синдромом сухого ока, 3 група — дослідна (12 кроликів), тварини з кератитом, 4 група — дослідна (11 кроликів), тварини з кератитом і синдромом сухого ока. Експериментальний кератит викликали інтрастромальною ін'єкцією 50 мкл 0,2 % розчину ендотоксину — липополісахариду на фосфатному буфері. Для розвитку синдрому сухого ока використовували 0,1 % розчин БАХ, виготовленого на ізотонічному фосфатному буфері (рН 7,3–7,4). Інстиляції проводили щоденно (2 рази на день) протягом двох тижнів. Концентрація відновленого і окисленого глутатіону в рогівці і слюзній рідині визначалась спектрофотометрично методами ферментативного аналізу. Отримані дані піддавалися статистичній обробці за допомогою пакета SPSS 11.0.

Результати. Розвиток кератиту у тварин з синдромом сухого ока супроводжується більш різким достовірним зниженням відновленого глутатіону порівняно з даними при кератиті без синдрому сухого ока. Так, на 7 і 14 добу спостереження концентрація відновленого глутатіону в рогівці була знижена на 23,8 % і 21,8 % відповідно.

Наявність синдрому сухого ока при розвитку запального процесу в рогівці ока викликає більш високий ступінь окислювального стресу в ній, про що свідчить достовірне підвищення окисленої форми глутатіону — як в роговій оболонці (на 21,8 % — на 7 добу, на 19,8 % — на 14 добу), так і слюзі (на 7 добу — на 26,3 %, на 14 добу — на 46,0 %).

Висновок. Узагальнюючи результати вивчення тиолового статусу рогівки при розвитку в ній запального процесу в умовах синдрому сухого ока, можна зробити висновок, що різке зниження детоксикаційного та відновлювального потенціалу системи відновленого/окисленого глутатіону необхідно враховувати при визначенні патогенетичної спрямованості терапії цього патологічного стану органа зору.

Ключевые слова: кератит, синдром сухого глаза, тиоловая система, эксперимент

Ключові слова: кератит, синдром сухого ока, тиолова система, експеримент

Influence of endotoxin-induced keratitis on the reducing potential of glutathione in the cornea of animals with experimental syndrome of the dry eye

Gaydamaka T. B.¹, Rafalyuk S. Ya.²

¹ State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of National Medical Academy of Ukraine»; Odessa (Ukraine)

² Danylo Halytsky Lviv National Medical University; Lviv (Ukraine)

Introduction. Modern methods of treatment of keratitis are not always effective. Particular difficulties arise when treating keratitis in patients with symptoms of the dry eye.

Objective: To determine the degree of disturbances in the thiol system in the tissues of the anterior eye in the development of keratitis in animal models of dry eye syndrome.

Material and methods. In the experiment 36 Chinchilla rabbits weighing 2.2–2.9 kg were divided into 4 groups: Group 1 — control (7 rabbits), group 2 — under the experiment (6 rabbits), animals with the dry eye syndrome, Group 3 — experimental (12 rabbits), animals with keratitis, Group 4 — experimental (11 rabbits), animals with keratitis and dry eye syndrome.

Experimental keratitis was caused by intrastromal injection of 50 µl of a 0.2 % solution of endotoxin — lipopolysaccharide phosphate buffer.

For the development of the dry eye syndrome, there was used 0.1 % BAC solution prepared on the isotonic phosphate buffer (pH 7.3–7.4). Instillation was made daily (twice a day) for two weeks.

The concentration of reduced and oxidized glutathione in the cornea and lacrimal fluid was determined spectrophotometrically by the methods of enzymatic analysis. The data obtained were subjected to statistical analysis using the package SPSS 11.0.

Results. The development of keratitis in animals with the dry eye syndrome is accompanied by a sharp reliable drop in reduced glutathione compared with keratitis without dry eye syndrome. Thus, on the 7th and 14th day of the observation the concentration of reduced glutathione in the cornea was reduced by 23.8 % and 21.8 % respectively.

The presence of the dry eye syndrome in the development of inflammation in the cornea causes a high degree of oxidative stress in it, as evidenced by the significant increase of the oxidized form of glutathione both in the cornea (21.8 %) — 7 days, 19.8 % — 14 hours), and tear (7 day — 26.3 % on day 14–46.0 %).

Conclusion. Summarizing the data obtained in the study of the thiol status of the cornea in the development of inflammation in it in the conditions of the dry eye syndrome, it can be concluded that the sharp decline in the detoxification and reduction potential of the reduced/oxidized glutathione must be considered when determining the orientation of pathogenetic therapy of the pathological condition of the body.

Key words: keratitis, dry eye syndrome, a thiol system, experiment

Введение. Одна из наиболее частых причин низкого зрения — стойкие помутнения роговицы, являющиеся исходом кератитов различной этиологии, особенно, при отсутствии своевременно начатого лечения имеющегося воспалительного заболевания [1, 20]. Тяжелые рецидивирующие кератиты характеризуются затяжным течением и приводят к длительной потере трудоспособности и инвалидизации. Они требуют длительного медикаментозного, а в некоторых случаях и хирургического лечения. В последнее время резко увеличилось число вирусных заболеваний, в том числе и органа зрения, что в значительной степени обусловлено ухудшающейся экологической обстановкой [10, 14].

Современные методы лечения кератитов не всегда являются эффективными. Использование традиционных медикаментозных средств не всегда приводит к излечению больного и предупреждению возникновения рецидивов [16, 22].

Особые трудности возникают при лечении кератитов у пациентов с симптомами сухого глаза. Несомненно, прогресс в этом направлении может быть достигнут только на основании углубленного изучения патогенетических механизмов, определяющих возникновение и течение патологических

процессов в роговице и тканях поверхностных структур глаза [11, 12, 19].

В данное время выяснены некоторые патохимические изменения в роговице при моделировании синдрома сухого глаза. Так, в частности, было установлено, что под влиянием бензалкония хлорида (БАХ) в слезной жидкости повышается не только концентрация цитозольных дегидрогеназ, свидетельствующих о повреждении клеточных мембран, но и изменяется активность маркерных митохондриальных ферментов. Эти факты свидетельствуют о значительной степени повреждения консервантом не только клеточных, но и субклеточных структур роговицы и конъюнктивы [8, 13, 15].

В предыдущем исследовании нами было показано, что консервант глазных капель БАХ в концентрации 0,02 и 0,1 % вызывает выраженные нарушения окислительных функций митохондрий в поверхностных тканях переднего отдела глаза: роговице и конъюнктиве [7].

При этом был выявлен отчетливый дозозависимый ингибирующий эффект БАХ на фермент внутренней митохондриальной мембраны — цитохромоксидазу. Активность фермента в условиях применения более высокой концентрации БАХ

в роговице и конъюнктиве понижается на 39,6 и 46,5 % соответственно [2,7].

В то же время при кератите обнаружено резкое нарушение глутатионного статуса в тканях роговицы.

В результате экспериментальных исследований выявлено, что при развитии кератита нарушение глутатионного статуса в тканях роговицы более значительно выражено у животных с аллергическим конъюнктивитом, уровень восстановленного глутатиона у них был понижен по сравнению с нормой на 25 %. При этом кератит у животных с аллергическим конъюнктивитом сопровождался более значительным повреждением окислительно-восстановительных процессов в роговице. Активность цитозольного фермента — лактатдегидрогеназы снижается на 14,3 % — в 1 срок наблюдения, а показатели активности митохондриального фермента (малатдегидрогеназы) — на 17,6 % — во 2 срок наблюдения у животных с кератитом на фоне конъюнктивита по сравнению с группой, где кератит развивался без моделирования конъюнктивита. При моделировании стромального кератита у животных с аллергическим конъюнктивитом отмечается также более значительная степень нарушения мембранных структур роговицы, о чем свидетельствует более высокий уровень активности маркерных ферментов в слезной жидкости по сравнению с опытами, когда кератит моделировали у животных без аллергического конъюнктивита [3,6].

Однако состояние тиоловой системы в роговице при кератите в условиях синдрома сухого глаза до настоящего времени не изучалось.

Цель работы: определить степень нарушения тиоловой системы в тканях переднего отдела глаза при развитии кератита у животных с моделью сухого глаза.

Материал и методы

Для проведения экспериментов было использовано 36 кроликов породы шиншилла массой 2,2–2,9 кг.

Работа с животными проводилась с учетом требований Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с экспериментальными животными, предложенных на Совете международных медицинских организаций (1985 г.) «О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием экспериментальных животных».

Животные выводились из эксперимента с помощью летальной дозы пентобарбитола натрия (100 мг на кг), вводимого в маргинальную ушную вену.

Все лабораторные животные были разделены на 4 группы: 1 группа — контрольная (7 кроликов), 2 группа — опытная (6 кроликов), животные с синдромом сухого глаза, 3 группа — опытная (12 кроликов), животные с кератитом, 4 группа — опытная (11 кроликов), животные с кератитом и синдромом сухого глаза.

Экспериментальный кератит у животных вызывали интрастромальной инъекцией 50 мкл 0,2 % раствора эндотоксина — липополисахарида на фосфатном буфере [17,18].

Оценка состояния роговой оболочки проводилась с помощью Draize-критерия (степень помутнения роговицы, степень отека роговицы, степень инфильтрации роговицы, флюоресцеиновый тест — площадь окрашивания поверхности роговицы флюоресцеином).

Признаки оценивались в баллах по следующей условной шкале:

1. Отделяемое в конъюнктивальной полости
 - 0 — отсутствует
 - 1 — слизистое скудное
 - 2 — слизистое обильное
 - 3 — слизистое гнойное
2. Степень гиперемии конъюнктивы
 - 0 — бледно-розовая, соответствующая физиологической норме
 - 1 — слабая гиперемия конъюнктивы глазного яблока
 - 2 — умеренно-выраженная гиперемия конъюнктивы глазного яблока
 - 3 — выраженная гиперемия конъюнктивы глазного яблока
3. Отек роговицы
 - 0 — отек роговицы отсутствует, роговица прозрачная на всем протяжении
 - 1 — локальный отек эпителия роговицы в зоне воспаления
 - 2 — локальный отек эпителия с переходом на поверхностные слои стромы
 - 3 — локальный отек в поверхностных и средних слоях стромы
- Воспалительная инфильтрация
 - 0 — инфильтрация отсутствует
 - 1 — точечные единичные (не более трех) субэпителиальные инфильтраты
 - 2 — точечные множественные (более трех) субэпителиальные инфильтраты
 - 3 — множественные субэпителиальные инфильтраты размером более 1 мм
 - 4 — локальная инфильтрация в поверхностных и средних слоях стромы
4. Флюоресцеиновый тест
 - 0 — отсутствует
 - 1 — точечное окрашивание роговицы
 - 2 — площадь окрашивания < 3 мм²
 - 3 — площадь окрашивания > 3 мм²
5. Помутнение роговицы
 - 0 — отсутствует
 - 1 — есть
6. Локализация воспалительного очага в роговице
 - 1 — центральная
 - 2 — парацентральная

Для развития синдрома сухого глаза использовали 0,1 % раствор БАХ, приготовленный на изотоническом фосфатном буфере (рН 7,3–7,4). Инстилляцию проводили ежедневно (2 раза в день) на протяжении двух недель [21].

Для исследования в сроки 7 и 14 суток производили забор экспериментального материала: роговицы и слезной жидкости. В полученном нейтральном экстракте определяли содержание восстановленного и окисленного глутатиона.

Концентрация восстановленного и окисленного глутатиона определялась спектрофотометрически с помощью методов ферментативного анализа [5,9].

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [4].

Результаты и их обсуждение

Данные о содержании восстановленного и окисленного глутатиона у животных в роговице и слезной жидкости в различных условиях эксперимента при моделировании сухого глаза и эндотоксин–индуцируемого кератита представлены в таблице 1.

При определении уровня восстановленной формы глутатиона в роговице животных с синдромом сухого глаза было установлено, что его показатели понизились до (11,8±0,51) мкмоль/г по сравнению с нормой (15,8±0,65) мкмоль/г. Содержание восстановленного глутатиона в слезной жидкости животных с синдромом сухого глаза было снижено по сравнению с нормой (109,3±3,70) мкмоль/л и составило (75,9±2,80) мкмоль/л.

На 7 сутки наблюдения у животных с кератитом концентрация восстановленной формы глутатиона в роговице была снижена до — (9,45±0,64) мкмоль/г по сравнению с нормой, а в слезной жидкости до (77,8±1,40) мкмоль/л.

На 14 сутки наблюдения содержание восстановленного глутатиона в роговице животных с кератитом уменьшилось до (11,0±0,42) мкмоль/г по сравнению с нормой, а в слезной жидкости до (83,5±2,39) мкмоль/л.

Следует отметить, что в группе животных с кератитом в сочетании с синдромом сухого глаза на 7 сутки значительно снижается концентрация восстановленного глутатиона в роговице до (7,20±0,32) мкмоль/г по сравнению с группой «кератит» (p<0,05), а в слезной жидкости до (55,8±2,42) мкмоль/л (p<0,05).

Уровень восстановленной формы глутатиона в роговице животных с кератитом в сочетании с синдромом сухого глаза на 14 сутки наблюдения снизился до (8,6±0,36) мкмоль/г по сравнению с

группой «кератит» (p<0,05), а в слезной жидкости до (64,3±2,80) мкмоль/л (p<0,05).

При изучении уровня окисленного глутатиона в роговице экспериментальных животных отмечались следующие изменения.

У животных с синдромом сухого глаза уровень окисленного глутатиона в роговице был повышен до (1,95±0,07) мкмоль/г по сравнению с нормой (1,27±0,09) мкмоль/г. Содержание окисленного глутатиона в слезной жидкости животных с синдромом сухого глаза увеличилось по сравнению с нормой (32,6±1,28) мкмоль/л и составило (44,6±1,91) мкмоль/л.

У животных с кератитом на 7 сутки исследования концентрация окисленной формы глутатиона в роговице возросла до (1,97±0,08) мкмоль/г по сравнению с нормой, а в слезной жидкости — до (41,5±1,82) мкмоль/л.

На 14 сутки эксперимента содержание окисленного глутатиона в роговице животных с кератитом повысилось до (1,82±0,09) мкмоль/г по сравнению с нормой, а в слезной жидкости до (39,6±1,65) мкмоль/л.

В роговице животных с кератитом и синдромом сухого глаза на 7 сутки уровень окисленного глутатиона был достоверно повышен до (2,40±0,09) мкмоль/г по сравнению с группой «кератит» (p<0,05), а в слезной жидкости до (52,4±2,63) мкмоль/л (p<0,05).

Необходимо указать, что концентрация окисленного глутатиона в роговице животных с кератитом и синдромом сухого глаза на 14 сутки значительно возрастала до (2,18±0,10) мкмоль/г по сравнению с группой «кератит» (p<0,05), а в слезной жидкости до (57,8±2,82) мкмоль/л (p<0,05).

В целом, анализируя представленные результаты экспериментальных исследований, можно по-

Таблица 1. Содержание восстановленного и окисленного глутатиона у животных в роговице и слезной жидкости при моделировании эндотоксин–индуцируемого кератита

Исследуемые ткани глаза		Роговица		Слезная жидкость	
		Восстановленный глутатион мкмоль/г	Окисленный глутатион мкмоль/г	Восстановленный глутатион мкмоль/л	Окисленный глутатион мкмоль/л
Условия эксперимента					
Норма n=7	M	15,8	1,27	109,3	32,6
	m	0,65	0,09	3,70	1,28
Сухой глаз n=6	M	11,8	1,95	75,9	44,6
	m	0,51	0,07	2,80	1,91
Кератит (7 суток) n=5	M	9,45	1,97	77,8	41,5
	m	0,64	0,08	1,40	1,82
Кератит (14 суток) n=7	M	11,0	1,82	83,5	39,6
	m	0,42	0,09	2,39	1,65
Сухой глаз + Кератит (7 суток) n=6	M	7,20*	2,40*	55,8*	52,4*
	m	0,32	0,09	2,42	2,63
Сухой глаз + Кератит (14 суток) n=5	M	8,6*	2,18*	64,3*	57,8*
	m	0,36	0,10	2,80	2,82

Примечание: * — различия между биохимическими показателями у группы животных с кератитом достоверны по отношению к таковым в группе животных с кератитом и синдромом сухого глаза.

лагать, что защитно—приспособительные функции органа зрения при синдроме сухого глаза в заметной степени снижены. Основой для этого являются данные фундаментальных исследований об исключительной роли глутатиона в обеспечении защитных механизмов роговицы, включая активирующую и антимикробную устойчивость [3,6].

Обобщая данные, полученные при изучении тиолового статуса роговицы при развитии воспалительного процесса в ней в условиях синдрома сухого глаза, можно заключить, что резкое снижение детоксикационного и восстановительного потенциала системы восстановленного/окисленного глутатиона необходимо учитывать при определении патогенетической направленности терапии этого патологического состояния органа зрения.

Выводы

1. Установлено, что при моделировании синдрома сухого глаза в роговице и слезной жидкости

существенно понижается восстановительный потенциал тиоловых соединений. При этом наиболее значительно снижается уровень восстановленной формы глутатиона: в роговице на 4 мкмоль/г, а в слезе — на 34 мкмоль/л.

2. Развитие кератита у животных с синдромом сухого глаза вызывает более резкое достоверное падение восстановленного глутатиона по сравнению с данными при кератите без синдрома сухого глаза. Так, на 7 и 14 сутки наблюдения концентрация восстановленного глутатиона в роговице была снижена на 23,8 % и 21,8 % соответственно.

3. Наличие синдрома сухого глаза при развитии воспалительного процесса в роговице глаза вызывает более высокую степень окислительного стресса в ней, о чем свидетельствует достоверное повышение окисленной формы глутатиона, как в роговой оболочке (на 21,8 % — на 7 сутки, на 19,8 % — на 14 сутки), так и слезе (на 7 сутки — на 26,3 %, на 14 сутки — на 46,0 %).

Литература

1. **Анина Е. И.** Распространенность заболеваний роговой оболочки глаза у населения Украины // Тезисы доп. II Міжнародної наук. конф. офтальмологів Причорномор'я. — Одеса, 2004. — С. 14.
2. **Гайдамака Т. Б., Сенишин В. И., Рафалюк С. Я.** Влияние консерванта глазных капель бензалкония хлорида на состояние лизосомальных мембран тканей переднего отдела глаза // Междунар. научн.-практ. журн. Офтальмология Восточная Европа. — 2014. — Т. 3(24). — С. 86—90.
3. **Каменская Е. В.** Эффективность медикаментозной коррекции нарушений тиолового статуса при поверхностных формах герпетического кератита: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.01.18 «Офтальмология». — Одесса, 2008. — 20 с.
4. **Наследов А.** SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках / Наследов А. — СПб.: Питер, 2005. — 416 с.
5. Новые методы биохимического анализа. // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.
6. **Петруня А. М., Мухамед Абдульрахман Кутайни.** Изучение обменных процессов в роговице при экспериментальном кератите и конъюнктивите // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. — 2012. — № 3. — С. 45—48.
7. **Сенишин В. И., Рафалюк С. Я.** Влияние консерванта глазных капель бензалкония хлорида на состояние митохондриальных ферментов тканей переднего отдела глаза // Офтальмол. журн. — 2014. — № 4. — С. 35—37.
8. **Barki W. H., Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium // Biomedica. — 2007. — Vol. 23. — P. 65—70.
9. **Bergmeyer H. U.** Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — S. 2198—2203.
10. **Blanton C. L.** Initial treatment of microbial keratitis / C. L. Blanton, C. J. Rapuano, E. J. Cohen et al. // CLAO J. — 1996. — Vol. 22, № 2. — P. 136—140.
11. **Bourcier T., Thomas F., Borderie V.** Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases // Br. J. Ophthalmol. — 2003. — Vol. 87. — P. 834—838.
12. **Hazlett L. D.** Role of innate and adaptive immunity in the pathogenesis of keratitis // Ocul. Immunol. Inflammat. — 2005. — Vol. 13. — P. 133—138.
13. **Kim J. R., Oh T. H., Kim H. S.** Effect of benzalkonium chloride on the ocular surface of the rabbit // Jpn. J. Ophthalmol. — 2011. — Vol. 55. — P. 283—293.
14. **Limberg MB.** A review of bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis. // Am J Ophthalmol. — 1991. — Vol. 112 (4 Suppl). — P. 2S — 9S.
15. **Lin Z., Liu X., Zhou T.** A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride // Mol. Vis. — 2011. — Vol. 17. — P. 257—264.
16. **Norina T. J., Raihan S., Bakiah S.** Microbial keratitis: aetiological diagnosis and clinical features in patients admitted to hospital universiti sains malaysia // Singapore Med. J. — 2008. — Vol. 49. — P. 67—71.
17. **Schultz C. L.** Lipopolysaccharide induced acute red eye and corneal ulcers / Schultz C. L., Morck D. W., McKay S. G. // Exp. Eye Res. — 1997. — Vol. 64. — P. 3—9.
18. **Schultz C. L.** Lipopolysaccharide entry in the damaged cornea and specific uptake by polymorphonuclear neutrophils / Schultz C. L., Buret A. G., Olson M. E. // Infect. Immunity. — 2000. — Vol. 68. — № 3. — P. 1731—1734.
19. **Trocme S., Hwang L.-J., Bean G. W.** The role of benzalkonium chloride in the occurrence of punctate keratitis: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials // Ann. Pharmacother. — 2010. — Vol. 44. — P. 1914—1921.
20. **Wilson S. E., Netto M., Ambrosio R.** Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease // Am. J. Ophthalmol. — 2003. — Vol. 136. — P. 530—536.

21. **Xiong C.** A rabbit dry eye model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride / Xiong C., Chen D., Liu J. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2008. — Vol. 49. — P. 1850–1856.
22. **Yuan X., Wilhelmus K. R., Matoba A. Y.** Pathogenesis and outcome of paecilomyces Keratitis // *Am. J. Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 147. — P. 691–696.

Поступила 09.10.2014

References

1. **Anina EI.** Prevalence of the cornea diseases among the population of Ukraine. Abstracts of II Black Sea International scientific conference of ophthalmologists. Odessa, 2004:14.
2. **Gaidamaka TB, Senishin VI, Rafalyuk SYa.** Influence of the benzalkonium chloride eye drop preservative on the state of lysosomal membranes of the anterior eye tissues. *Oftalmologiya. Vostochnaia Evropa.* 2014;3(24): 86–90. Russian.
3. **Kamenskaia EV.** The effectiveness of drug correction for the thiol status violations in the surface forms of herpetic keratitis: Author's thesis for Candidate of Med. Science: 14.01.10. Ophthalmology. Odessa; 2008. 20 p.
4. **Naslyedov A.** SPSS computer analysis of data in psychology and social sciences. Spb.: Piter; 2005. 416 p.
5. New methods of biochemical analysis. *Izd. Leningradskogo univ.*; 1991. 395 p.
6. **Petrunya AM, Mohamed Abdulrahman Kutayni. Petrunya AM, Mukhamed Abdulrahman Kutaini.** The study of metabolic processes in the cornea in experimental keratitis and conjunctivitis. *Problemy ekologichnoi ta medicnoi genetiki I klinichnoi imunologii.* 2012;3:45–48. Russian.
7. **Senishin VI, Rafalyuk SYa.** Effect of the preservative benzalkonium chloride eye drops on the state of mitochondrial enzymes tissues of the anterior eye. *Oftalmol Zh.* 2014;4:35–7. Russian.
8. **Barki WH, Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium. *Biomedica.* 2007;23:65–70.
9. **Bergmeyer HU.** Methoden der enzymatischen Analyse. Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. Berlin. 1986. 2198–203.
10. **Blanton CL, Rapuano CJ, Cohen EJ et al.** Initial treatment of microbial keratitis. *CLAO J.* 1996;22(2):136–10.
11. **Bourcier T, Thomas F, Borderie V.** Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br. J. Ophthalmol.* 2003;87:834–8.
12. **Hazlett LD.** Role of innate and adaptive immunity in the pathogenesis of keratitis. *Ocul. Immunol. Inflammat.* 2005;13:133–8.
13. **Kim JR, Oh TH, Kim HS.** Effect of benzalkonium chloride on the ocular surface of the rabbit. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2011;55:283–93.
14. **Limberg MB.** A review of bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis. *Am J Ophthalmol.* 1991;112 (4 Suppl):2S – 9S.
15. **Lin Z, Liu X, Zhou T.** A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride. *Mol. Vis.* 2011;17:257–64.
16. **Norina T J, Raihan S, Bakiah S.** Microbial keratitis: aetiological diagnosis and clinical features in patients admitted to hospital universiti sains Malaysia. *Singapore Med. J.* 2008;49:67–71.
17. **Schultz CL, Morck DW, McKay SG.** Lipopolysaccharide induced acute red eye and corneal ulcers. *Exp. Eye Res.* 1997;64:3–9.
18. **Schultz CL, Buret AG, Olson ME.** Lipopolysaccharide entry in the damaged cornea and specific uptake by polymorphonuclear neutrophils. *Infect. Immunity.* 2000;68(3):1731–4.
19. **Trocme S, Hwang L-J, Bean GW.** The role of benzalkonium chloride in the occurrence of punctate keratitis: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Ann. Pharmacother.* 2010;44:1914–21.
20. **Wilson SE, Netto M, Ambrosio R.** Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. *Am. J. Ophthalmol.* 2003;136:530–6.
21. **Xiong C, Chen D, Liu J.** A rabbit dry eye model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008;49:1850–6.
22. **Yuan X, Wilhelmus KR, Matoba AY.** Pathogenesis and outcome of paecilomyces Keratitis. *Am. J. Ophthalmol.* 2009;147:691–6.

Received 09.10.2014