

УДК 617.713–001.37:617.764.1–008.8:615.355

Активность ферментов в слезной жидкости у больных с тяжелыми последствиями ожогов глаз

С. А. Якименко, д. мед. наук, проф., Амжад Альбин, аспирант, Г. В. Пархоменко, ст. лаборант

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса (Украина)

E-mail: ojogiglaz@te.net.ua

Ключові слова: опік, рогівка, ферменти, слезна рідина

Ключевые слова: ожог, роговица, ферменты, слезная жидкость

Вступ. Опікова травма веде до порушення ферментних систем, що веде до розладу рівноваги в системі протеази-інгібітора протеолізу. Підвищення активності ряду протеолітичних ферментів свідчить про додатковий ушкоджуючий вплив на обпечені та навколишні тканини, що сприяє сповільненню регенеративних процесів.

Мета дослідження: вивчення активності ферментів в слезній рідині у хворих з опіками ока.

Матеріал та методи. Клінічні дослідження проведені у 24 хворих із тяжкими опіками ока. Контрольну групу склали 12 здорових осіб. В комплексну терапію 14 хворих з опіками було включено препарати «Штучні слези» та «Рестасіс». В слезній рідині вивчали активність кислій фосфатази, сукцинатдегідрогенази, лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Результати. В умовах комплексного лікування в значній мірі попереджуються метаболічні порушення і таким чином покращується процес стабілізації мембранних структур тканин переднього відділу ока.

Висновок. Використання препаратів «Штучні слези» та «Рестасіс» сприяло зниженню активності кислій фосфатази і сукцинатдегідрогенази в слезній рідині в порівнянні з групою співставлення.

Study of enzyme activity in the tear fluid of patients with severe consequences of eye burns

S. A. Yakimenko, Amjad Albin, T. V. Parkhomenko

State Institution The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine, Odessa, (Ukraine)

Key words: cornea, burn, activity of the enzymes, tear fluid

Introduction. Urgency of the work is determination of the action of preparations «Artificial tear» and «Restasis» in treatment of eye burns.

Purpose. To investigate activity of enzymes in the tear fluid of patients with burns of the eyes.

Material and methods. Clinical studies were made in 24 patients with burns of the eye. The control studies were made in 12 healthy persons. Complex therapy was given to 14 patients and included preparations of «Artificial tear» and «Restasis». Activity of acid phosphatase, succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase were determined in the tear fluid of patients.

Results. In conditions of application of preparations «Artificial tear» and Restasis» metabolic disturbances are prevented considerably resulting in stabilization of the membrane structures of the tissue of the anterior section of the eye.

Conclusions. The use of preparations of «Artificial tear» and Restasis» promoted reduction in activity of acid phosphatase and Restasis» in the tear fluid of patients of the basic group, in relation to the group of comparison.

Введение. Ожоги глаз — тяжелое повреждение органа зрения как по характеру изменений тканей глаза, так и потому, что при ожоге нередко повреждаются оба глаза [18].

Повышение эффективности лечения данного заболевания в значительной мере определяется знанием его патогенеза, своевременностью и правильностью формирования лечения с учетом патогенетических механизмов. До настоящего времени ожоги глаз в

силу тяжелого течения и неблагоприятных исходов требуют как изучения механизмов их развития, так и поиска новых средств лечения [1, 2, 5].

Ведущую роль в патогенезе ожогов глаз и их последствий большинство авторов отводят роговице, что связано с особенностями ее строения и оптической функцией [19].

© С. А. Якименко, Амжад Альбин, Г. В. Пархоменко, 2014

Изменения в роговице при ожогах глаз являются следствием нарушения процессов белкового, жирового, углеводного обменов. Отмечается снижение содержания гликогена, что сопровождается резким угнетением тканевого дыхания в роговице и, как следствие — накоплением в тканях недоокисленных продуктов обмена — молочной кислоты [7].

Известно, что в условиях нормального функционирования клетки происходят процессы ферментативного и неферментативного перекисного окисления. Интенсивность процессов свободно-радикального окисления, которые постоянно протекают в клеточных мембранах, изменяя липидный состав, влияют на их проницаемость, находясь под контролем физиологической антиоксидантной системы и в норме находятся в состоянии динамического равновесия. Некомпенсированное усиление этих процессов ведет к накоплению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клетках, что приводит к нарушению трансмембранных процессов, происходит выход из клеток ионов, ферментов, антигенов, развиваются дистрофические изменения и повреждается клеточный генетический аппарат [2].

Ожоговая болезнь характеризуется нарушением гомеостатических механизмов транспорта и утилизации кислорода вследствие возникновения циркуляторной, гипоксической, тканевой форм гипоксии. Активация процессов ПОЛ при ожоговой болезни происходит не только за счет усиленного образования кислородных радикалов, но и вследствие нарушения функционирования ферментативных механизмов антирадикальной защиты с участием супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы [15].

Ожоговая травма приводит к нарушению деятельности ферментных систем. Дезинтеграция ферментативных процессов является важнейшим звеном патогенеза ожоговой болезни глаз. Этот фактор является одной из основных причин прогрессирования изъязвления роговицы. Ведущая роль принадлежит здесь расстройству равновесия в системе протеазы-ингибиторы протеолиза [8,10].

Ферменты участвуют в регуляции сосудистого тонуса и артериального давления, свертывания крови и фибринолизе, активации и инактивации ряда гормонов, в образовании медиаторов воспаления, в процессах регенерации. Происходящая под их влиянием ферментативная деградация всех компонентов клетки затрагивает как некротически измененные ткани, очищая зону ожога, так и неповрежденные нативные белки, приводя к истончению роговицы [11, 13].

Повышение активности ряда протеолитических ферментов свидетельствует о дополнительном повреждающем действии ферментов на обожженные и окружающие их ткани, усугубляющем течение патологического процесса, вызывающем усиление аутоинтоксикации, аутосенсibilизации, а также

способствующем замедлению регенераторных процессов и поддержанию длительно незаживающих и рецидивирующих дефектов ткани [14, 17].

Установлено, что при нарушениях клеточных и субклеточных структур эпителия роговицы отмечается угнетение активности внутриклеточных ферментов в слезной жидкости (маркерные ферменты — кислая фосфатаза, лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа — цитозольный фермент, сукцинатдегидрогеназа — митохондриальный фермент) [6,12,16].

Цель работы: изучить активность ферментов в слезной жидкости у больных с тяжелыми последствиями ожогов глаз до и после лечения.

Материал и методы

Клинические исследования проведены у больных с тяжелыми последствиями ожогов глаз.

Для контроля исследования проведены у 12 здоровых лиц.

В процессе лечения выделено две группы больных: первая группа (10 больных) — пациенты с тяжелыми последствиями ожогов, находящиеся на стационарном лечении в ожоговом отделении ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» и получавшие стандартное комплексное лечение, и вторая — основная группа (14 больных) — пациенты с тяжелыми последствиями ожогов глаз, с синдромом сухого глаза, в комплексную терапию которых были включены препараты «Искусственной слезы» и «Рестасис».

В слезной жидкости больных определяли активность кислой фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы.

Принцип метода изучения активности кислой фосфатазы основан на определении концентрации свободного органического компонента субстрата — паранитрофенилфосфата, образующегося в результате действия фермента.

Для определения активности кислой фосфатазы в пробирках последовательно смешивали 0,1 мл исследуемой жидкости или экстракта ткани и 1,0 мл субстратно-буферного раствора (0,127 % раствор паранитрофенилфосфата в ацетатном буфере, pH 5,0). Пробирки с реакционным раствором инкубировали в течение 30 мин при $(37,0 \pm 0,5)$ °C. Реакцию останавливали добавлением 1,0 мл охлажденного до 0 °C 1 N раствора гидроксида натрия.

Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре «Specol — 210» (Карл Цейс, Германия) в 1- см кювете и длине волны 410 нм.

Активность кислой фосфатазы рассчитывали с использованием молярного коэффициента экстинкции, найденного путем экстраполяции по предварительно построенному калибровочному графику и выражали в нкат/мл исследуемой жидкости или нкат/г ткани.

Коэффициент вариации — 7,8 % [9].

Принцип метода определения активности сукцинатдегидрогеназы заключается в восстановлении феррицианида калия, раствор которого имеет желтую окраску, до бесцветного ферроцианида калия сукцинатом под действием сукцинатдегидрогеназы. Активность фермента пропорциональна количеству восстановленного феррицианида.

Ход определения. В центрифужные пробирки вносили по 1 мл 0,1 М фосфатного буфера (pH 7,8) и по 0,1 мл растворов янтарной кислоты (0,1 М), ЭДТА (25 мМ), азида натрия

(150 мМ) и дистиллированной воды. К пробам добавляли 0,5 мл биологического материала и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин для ингибирования цитохромоксидазы азидом натрия. Реакцию начинали добавлением 0,1 мл 25 мМ раствора феррицианида калия. Пробы инкубировали в течение 10–15 мин при 30°С.

После инкубации реакцию останавливали погружением пробирок в ледяную воду и добавлением по 2 мл 20 % трихлоруксусной кислоты. В контрольные пробирки, содержащие все компоненты инкубационной смеси, трихлоруксусная кислота добавлялась перед добавлением биологического материала.

После остановки реакции и охлаждения пробирки центрифугировали при 2000 об/мин в течение 15 мин для осаждения денатурированного белка. Надосадочную жидкость фотометрировали в 1-см на спектрофотометре «Спекол 210» при 420 нм.

Активность сукцинатдегидрогеназы выражали в ммолях / мг час.

Коэффициент вариации — 4,7 % [4].

Определение активности лактатдегидрогеназы основано на оценке скорости ферментативного окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида и восстановления пирувата по уменьшению оптической плотности исследуемого раствора при длине волны 340 нм.

Ход определения. В кювету наливали 0,1 мл 0,1 М раствора трис-НСl буфера (рН 8,0), 0,1 мл 2 мМ раствора НАДН, 0,1 мл пробы, 0,6 мл дистиллированной воды. Перемешивали и регистрировали изменение оптической плотности реакционного раствора после добавления 0,1 мл 10 М раствора пирувата натрия в течение 3 мин с интервалом в 1 мин. В контрольную кювету вместо раствора пирувата натрия добавляли соответствующий объем дистиллированной воды.

Измерения проводили с использованием спектрофотометра «Спекол-210» в 1 см кюветках при 37°С и длине волны 340 нм. Активность фермента выражали в мкмоль / мг час. Коэффициент вариации 4,8 % [4].

Принцип метода определения активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы основан на измерении скорости восстановления НАДФ в инкубационной среде при насыщающих концентрациях глюкозо-6-фосфата и НАДФ и оптимальном значении рН. $V=4.6\%$.

Ход определения. В кювету последовательно приливали 0,7 мл 0,01 М раствора трис-НСl буфера (рН 7,6), 0,1 мл 0,1 М раствора хлорида магния, 0,1 мл 0,025 М раствора НАДФ, 0,5 мл тканевого экстракта. Перемешивали содержимое кюветы и начинали реакцию добавлением 0,1 мл 0,05 М раствора глюкозо-6-фосфата. Увеличение оптической плотности раствора в ходе реакции в результате восстановления НАДФ регистрировали через 1 минуту в течении 5 минут. В контрольную кювету вместо НАДФ добавляли соответствующий объем дистиллированной воды.

Измерения оптической плотности исследуемого раствора проводили на спектрофотометре «Spekol-210» («Карл Цейс», Германия) в 1-см кювете при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и длине волны 340 нм.

Полученные результаты использовали для вычисления активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в пробах крови и тканях по формуле:

$$A = \Delta E \cdot V \cdot K / \Delta t \cdot v \cdot 6,22,$$

где А — активность фермента, выраженная в нкат/г ткани или в мккат/л плазмы крови, $\Delta E/\Delta t$ — изменение оптиче-

ской плотности раствора за минуту, V — общий объем реакционного раствора в кювете, v — вносимый объем тканевого экстракта, 6,22 — молярный коэффициент экстинкции НАДФН, К — коэффициент пересчета активности фермента в нкат на г ткани или в мккат на 1 л гемолизата крови, с учетом фактора разведения тканевого экстракта. Коэффициент вариации — 4,6 % [4].

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [3].

Результаты и их обсуждение

Данные об активности ферментов в слезной жидкости больных с ожогами глаз представлены в таблице 1 и на диаграммах (рис. 1 и 2).

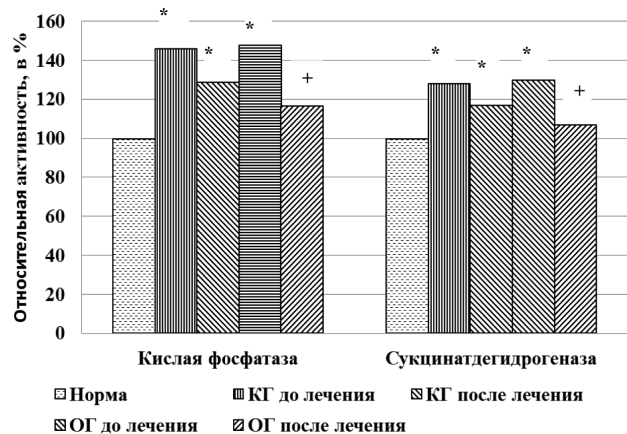


Рис. 1. Относительная активность кислой фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы в слезной жидкости больных после ожога в контрольной (КГ) и основной (ОГ) группах до и после лечения. * — уровень значимости различий данных по отношению к норме $p < 0,05$; + — уровень значимости различий данных группы «после лечения» по отношению к группе «до лечения» $p < 0,05$.

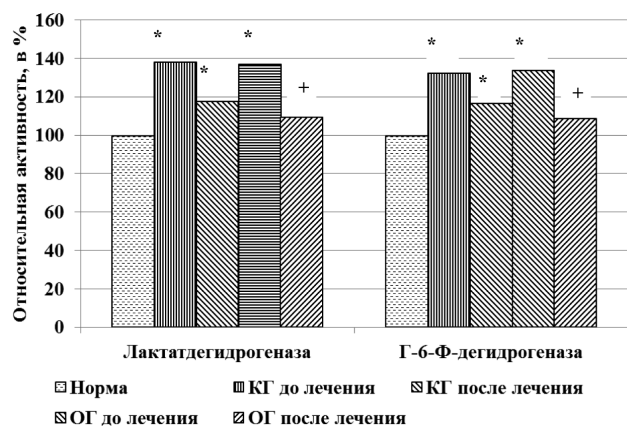


Рис. 2. Относительная активность лактатдегидрогеназы и глюкозо — 6 — фосфатдегидрогеназы в слезной жидкости больных после ожога в контрольной (КГ) и основной (ОГ) группах до и после лечения. * — уровень значимости различий данных по отношению к норме $p < 0,05$; + — уровень значимости различий данных группы «после лечения» по отношению к группе «до лечения» $p < 0,05$.

Активность кислой фосфатазы в I группе больных с тяжелыми последствиями ожогов глаз до лечения была повышена до 146,2 %, а после традиционного лечения составила 128,9 % по сравнению с контролем. Таким образом, после лечения активность кислой фосфатазы понизилась на 11,8 % по отношению к уровню до лечения.

В основной — II группе больных активность кислой фосфатазы до лечения была повышена до 147,5 %, а после лечения составила — 116,8 % по сравнению с контрольными данными. Таким образом, при применении препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» активность кислой фосфатазы снизилась на 20,8 % по отношению к данным до лечения.

Активность сукцинатдегидрогеназы в I группе больных до лечения составляла 128,2 %, а после лечения — 117,1 % по сравнению с контролем. Таким образом, после традиционного лечения активность сукцинатдегидрогеназы понизилась на 8,4 % по отношению к показателю до лечения.

Во второй — основной группе больных активность сукцинатдегидрогеназы до лечения была повышена до 130,0 %, а после лечения составила — 107,1 % по сравнению с контрольными данными. Таким образом, после применения препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» активность сукцинатдегидрогеназы снизилась на 17,6 % по отношению к данным до лечения.

Активность лактатдегидрогеназы в первой группе больных до лечения была повышена до 138,3 %, а после лечения до 117,7 % по сравнению с контролем. Следовательно, применение традиционной терапии снижает активность лактатдегидрогеназы на 14,9 % по отношению к группе больных до лечения.

В основной группе больных активность лактатдегидрогеназы до лечения составляла до 137,0 %, а после лечения — 109,6 % по сравнению с контрольными данными. Таким образом, применение препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» снижает активность лактатдегидрогеназы на 20 % по отношению к группе больных до лечения.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в первой группе больных с ожогами глаз до лечения была повышена до 132,4 %, а после лечения — до 116,5 % по сравнению с контролем. Таким образом, традиционное лечение привело к понижению

активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на 12,1 % по отношению к группе больных до лечения.

Во второй группе больных активность фермента до лечения была повышена до 133,7 %, а после лечения составила 108,9 % по сравнению с контрольными данными. Таким образом, после применения препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы снизилась на 18,5 % по отношению к группе больных до лечения.

Общий анализ представленных результатов свидетельствует о том, что при ожогах глаза отмечается повреждение целостности клеточных и субклеточных мембранных структур роговой оболочки и слизистой конъюнктивы, в результате чего происходит повышение концентрации маркерных ферментов (кислой фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы).

После применения препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» вследствие значительного снижения активности маркерных ферментов степень метаболических нарушений уменьшается, что способствует стабилизации мембранных структур ткани переднего отдела глаза.

Выводы

1. В тканях переднего отдела глаза у больных с тяжелыми последствиями ожогов выявлено значительное нарушение целостности клеточных и субклеточных мембранных структур роговой оболочки и слизистой конъюнктивы, это подтверждается существенным повышением концентрации маркерных ферментов таких как: кислая фосфатаза — на 46,2–47,5 %, сукцинатдегидрогеназа — на 28,2–30,0 %, лактатдегидрогеназа — на 37,0–38,3 % и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа — на 32,4–33,7 %.

2. Использование в составе комплексной терапии препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» способствовало более заметной стабилизации мембранных структур ткани переднего отдела, в частности, лизосом и митохондрий, о чем свидетельствует выраженное снижение активности кислой фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы (лизосомального и митохондриального ферментов) в слезной жидкости пациентов основной группы, по отношению к группе сравнения.

Литература

1. Андрушкова О. А., Буглакова Т. Ю. К вопросу о поиске новых средств лечения ожогов глаз // Научная конф. офтальмологов, посвященной 90-летию акад. Н. А. Пучковской: Тезисы докл. — Одесса, 1998. — С. 112.
2. Гусева О. Г. Роль структурно-функционального состояния лизосом роговиц в патогенезе и лечении химических ожогов глаз: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.08

- «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» / Гусева О. Г. — Одесса, 1990. — 155 с.
3. Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // Спб.: Питер, 2005. — 416 с.
 4. Новые методы биохимического анализа. // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.

5. **Панько О. М.** Обґрунтування та ефективність застосування нового антиоксидантного препарату «Ербісол» при важких опіках очей: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.18 «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» / **Панько О. М.** — Одесса, 2003. — 185 с.
6. **Петрович Ю. А., Гольдфельд Н. Г.** Дегидрогеназы эпителиа и стромы роговицы человека при тяжелом герпетическом кератите // Офтальмол. журн. — 1986. — № 1. — С. 52–55.
7. **Расин О. Г.** Эффе́ктивність поверхно́стно-активного препара́та мирамистин в ле́ченні хімі́чних о́жогів гла́з тяжело́ї степе́ні: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.18 «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского» / **Расин О. Г.** — Одесса, 2004. — 20 с.
8. **Терехина Н. А., Петрович Н. Г.** Прогнозирование рецидивов герпетического кератита с помощью определения активности дегидрогеназ слезной жидкости // Офтальмол. журн. — 1988. — № 5. — С. 42–44.
9. **Bergmeyer H. U.** Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — S. 2198–2203.
10. **Cochran A., Edelman L. S., Saffle J. R.** The relationship of serum lactate and base deficit in burn patients to mortality // *J. Burn Care Res.* — 2007. — Vol. 28. — P. 231–240.
11. **Falder S., Silla R., Phillips M.** Thiamine supplementation increases serum thiamine and reduces pyruvate and lactate levels in burn patients // *Burns.* — 2010. — Vol. 36. — P. 261–269.
12. **Kahan I. L., Ottovay E.** Lactate dehydrogenase of tears and corneal epithelium // *Exp. Eye Res.* — 1975. — Vol. 20. — P. 129–133.
13. **Karabeyoglu M., Kocer B., Ozel U.** The protective effect of ethyl pyruvate on lung injury after burn in rats // *Saudi Med. J.* — 2007. — Vol. 28. — P. 1489–1492.
14. **Klyce S. D.** Stromal lactate accumulation can account for corneal oedema osmotically following epithelial hypoxia in the rabbit // *J. Physiol.* — 1981. — Vol. 321. — P. 49–64.
15. **Kuckelkorn R., Schrage N., Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns // *Acta Ophthalmol. Scand.* — 2002. — Vol. 80. — P. 4–10.
16. **Mokline A., Charsallah L., Abdenneji A.** Lactate in burn patients: biomarker of sepsis and mortality // *Critical Care.* — 2012. — Vol. 16. — P. 258.
17. **Nasser S., Magdy A., El-Barbary A.** Relevance of blood lactate measurements as a marker of resuscitation in patients with severe burns // *Egypt. J. Plast. Reconstr. Surg.* — 2008. — Vol. 32. — P. 293–297.
18. **Seong M. C., Kim M. J., Tchah H. W.** Chemical burns of the cornea due to soda lime used for line marking on the playground // *J. Korean Ophthalmol. Soc.* — 2005. — Vol. 46. — P. 1737–1740.
19. **Shirzadeh E.** Bilateral Chemical Burns of the Cornea Due to Limewater: A Specific case // *Iran. Red Cresc. Med. J.* 2013. — Vol. 15. — P. 11–12.

Поступила 28.02.2014

References

1. **Andrushkova OA, Buglakova TYu.** On searching new facilities for eye burn treatment. Scientific conference of ophthalmologists, dedicated to 90 ann. Of acad. Puchkovskaia NA: Theses. Odessa; 1998: 112.
2. **Guseva OG** Role of structural and functional state of lysosomes in the cornea in pathogenesis and treatment of chemical eye burns: thesis for Candidate of Med. Science: 14.00.08. Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine. Odessa; 1990. 155 p.
3. **Nasledov A.** SPSS computer data analysis in psychology and social sciences. SPb: Piter; 2005. 416 p.
4. **New methods of biochemical analysis.** Izd. Leningradskogo universiteta. 1991. 395 p.
5. **Panko OM.** Rationale and effectiveness of application of new antioxidant drug Erbisol in severe eye burns: thesis for Candidate of Med. Science: 14.01.18. «Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine» Odessa. 2003. 185 p.
6. **Petrovich YuA, Goldfeld NG.** Dehydrogenase of epithelium and stroma of the human cornea in severe herpetic keratitis. *Oftalmol Zh.* 1986;1:52–5. Russian.
7. **Rasin OG.** Effectiveness of surfactant drug miramistin in the treatment of severe chemical eye burns: thesis for Candidate of Medical Science: 14.01.18: Crimean State Medical University n/a S. I. Georgievskii. Odessa, 2004. 20 p.
8. **Terekhina NA, Petrovich NG.** Predicting recurrence of herpetic keratitis by determining the activity of dehydrogenases of lacrimal fluid. *Oftalmol Zh.* 1988; 5:42–4. Russian.
9. **Bergmeyer HU.** Methoden der enzymatischen Analyse. Bergmeyer. Berlin. 1986. 2198–203.
10. **Cochran A, Edelman LS, Saffle JR.** The relationship of serum lactate and base deficit in burn patients to mortality. *J. Burn Care Res.* 2007;28:231–40.
11. **Falder S, Silla R, Phillips M.** Thiamine supplementation increases serum thiamine and reduces pyruvate and lactate levels in burn patients. *Burns.* 2010; 36:261–9.
12. **Kahan IL, Ottovay E.** Lactate dehydrogenase of tears and corneal epithelium. *Exp. Eye Res.* 1975;20:129–33.
13. **Karabeyoglu M, Kocer B, Ozel U.** The protective effect of ethyl pyruvate on lung injury after burn in rats. *Saudi Med. J.* 2007;28:1489–92.
14. **Klyce SD.** Stromal lactate accumulation can account for corneal oedema osmotically following epithelial hypoxia in the rabbit. *J. Physiol.* 1981;321:49–64.
15. **Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. *Acta Ophthalmol. Scand.* 2002;80:4–10.
16. **Mokline A, Charsallah L, Abdenneji A.** Lactate in burn patients: biomarker of sepsis and mortality. *Critical Care;*2012(16):258.
17. **Nasser S, Magdy A, El-Barbary A.** Relevance of blood lactate measurements as a marker of resuscitation in patients with severe burns. *Egypt. J. Plast. Reconstr. Surg.* 2008;32:293–7.
18. **Seong MC, Kim MJ, Tchah HW.** Chemical burns of the cornea due to soda lime used for line marking on the playground. *J. Korean Ophthalmol. Soc.* 2005; 46:1737–40.
19. **Shirzadeh E.** Bilateral Chemical Burns of the Cornea Due to Limewater: A Specific case. *Iran. Red Cresc. Med. J.* 2013;15:11–2.

Received 28.02.2014