

УДК 617.711/.713/.764.1–008.8:615.451–07+577.11

## Влияние гиалуроната натрия на патохимические показатели в тканях переднего отдела глаза после применения консерванта бензалкония хлорида

В. И. Сенишин, врач-ординатор

Львовская областная  
клиническая больница; Львов  
(Украина)

E-mail: oko\_science@mail.ru

*Актуальність роботи визначається з'ясуванням дії гиалуроната натрію на патохімічні показники переднього відділу ока у тварин, які отримували інстиляції крапель консерванту бензалконію хлориду (БАХ).*

*Мета.* Вивчити вплив гиалуроната натрію на патохімічні показники в тканинах переднього відділу ока після застосування консерванту бензалконію хлориду в експерименті у кроликів.

*Методи дослідження.* Для проведення експерименту використовували 22 кролика. Всі лабораторні тварини були розділені на 2 групи: 1 — група порівняння — 12 тварин — отримували інстиляції БАХ; 2 група — 10 тварин — отримували інстиляції БАХ і гіалуроната натрію. В екстрактах з гомогенатів рогівки, кон'юнктиви і в слізній рідині визначали активність цитоплазматичних, мітохондріальних і лізосомальних ферментів, а також вміст відновленого і окисленого глутатіону.

*Результати.* За допомогою гиалуроната вдалося послабити негативний вплив коїсерванту очних крапель БАХ на метаболічні процеси в тканинах переднього відділу ока. Активність ферментів знижувалася під впливом БАХ, а в умовах застосування інстиляцій гиалуроната натрію активність ферментів відновлювалася: лактатдегідрогенази на 24,9 %, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази на 22,1 %, малатдегідрогенази на 23,9 %, глутаматдегідрогенази на 23,5 %, сукцинатдегідрогенази на 20,5 %, цитохромоксидази на 27,3 %.

*Висновки.* Гіалуронат запобігає порушенням ферментативної активності, що викликаються консервантом, в клітинах тканин переднього відділу ока.

**Ключевые слова:** бензалкония хлорид, гиалуронат натрия, передний отдел глаза

**Ключові слова:** бензалконій хлорид, гіалуронат натрію; передній відділ ока

## Effect of sodium hyaluronate on pathochemical indicators in the tissues of the anterior eye after a preservative benzalkonium chloride application

V. Senishin

Lvov Regional Hospital; (Ukraine)

*Introduction.* Importance of work is determined by clarification of the sodium hyaluronate effect on the pathochemical anterior eye tissue changes of animals treated with the instillation of preservative benzalkonium chloride (BAC).

*Purpose.* To study the effect of hyaluronate on the pathochemical indicators in the tissues of the anterior eye after application of the preservative benzalkonium chloride.

*Methods.* 22 rabbits were used for the experiment. All laboratory animals were divided into 2 groups: Group 1 — a control group (12 animals), the animals received the instillation of BAC, Group 2 — an experimental one (10 animals), the animals received the instillation of BAC and sodium hyaluronate. The activity of cytoplasmic, mitochondrial and lysosomal enzymes as well as reduced and oxidized glutathione were determined in the extracts obtained from the cornea, conjunctiva homogenates and lacrimal fluid.

*Results.* It was possible to weaken the negative effect of preservative BAC eye drops on the metabolic processes in the tissues of the anterior eye with hyaluronate. Enzyme activity was reduced under the influence of BAC, and the use of sodium hyaluronate instillation restored enzyme activity: lactate dehydrogenase — 24.9 %, glucose-6phosphate dehydrogenase — 22.1 %, malate dehydrogenase — 23.9 %, cytochrome oxidase — 27.3 %.

**Key words:** the anterior eye, benzalkonium chloride, sodium hyaluronate

**Введение.** Анализ многочисленных клинических наблюдений свидетельствует о выраженных побочных эффектах консервантов при применении различных офтальмологических препаратов, в первую очередь, антиглаукоматозных капель. Последние, как на основе аналогов простагландинов, так и других гипотензивных средств, наиболее часто в качестве консерванта включают антисептик бензалконий хлорид (БАХ) [8, 17, 20].

Сравнительные исследования антиглаукоматозных капель, содержащих указанный консервант и без такового, отчетливо показали, что именно БАХ обладает выраженным негативным влиянием на поверхностные структуры органа зрения. Так, в ряде исследований выявлено действие БАХ на физиологические параметры конъюнктивы, роговицы и физико-химические свойства слезной жидкости. В то же время, в офтальмологической литературе достаточно широко освещены негативные и позитивные свойства БАХ, которые свидетельствуют, что полностью отказаться от консервантов и перейти на глазные капли без таковых не всегда представляется благоразумным [10, 18].

Имеются доказательства того, что консерванты изменяют сократительную способность фибробластов роговицы, что может оказать заметное влияние на ее форму и снизить надежность измерения ВГД, хотя клиническая значимость этих данных остается под вопросом. Тем не менее, токсическое воздействие консервантов на поверхность роговицы намного более полно и интенсивно исследовалось в экспериментальных условиях на животных [3, 7, 19].

Даже малые концентрации БАХ (0,01 %) вызывали разрушение эпителиального барьера в роговой оболочке. Такая же концентрация БАХ или 0,1 % концентрация этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) приводили к задержке заживления роговицы, а БАХ в концентрации 0,02 % подавлял процесс заживления после экспериментальной кератотомии на глазах кроликов [15, 16, 21].

Длительное ежедневное применение консервантов оказывает прямое и опосредованное негативное влияние на переднюю поверхность глаза, включающую конъюнктиву, роговицу и слезную пленку, что проявляется субъективными и объективными признаками синдрома сухого глаза [11, 13].

Таким образом можно наметить два пути уменьшения токсического действия: применять препараты гиалуроновой кислоты или переходить на бесконсервантные или менее токсичные препараты. А

*glutamate dehydrogenase — 23.5 %, succinate dehydrogenase — 20.5 %, cytochrome oxidase — 27.3 %.*

**Conclusions.** *Sodium hyaluronate significantly prevents the breakdown of enzymatic activity caused by the preservative BAC in the tissues of the anterior eye.*

это важно, поскольку результаты многих исследований относительно менее токсичного консерванта, такого как SofZia, содержащегося в составе нового Траватана, показали положительное влияние в исследованиях *in vitro*. Результатом исследования, в котором сравнивалась безопасность и переносимость Травопроста с БАХ и Травопроста с консервантом SofZia, явилось отсутствие статистически достоверной разницы в степени риска развития побочных эффектов [6, 12, 14].

В предыдущих исследованиях нами было установлено, что в условиях применения инстилляций раствора 0,02 % БАХ в тканях роговицы, слезистой оболочки и слезной жидкости отмечается значимое снижение уровня восстановленной формы глутатиона и существенное падение восстановительного потенциала тиоловой системы. Также было выявлено, что консервант глазных капель БАХ в концентрациях 0,02 и 0,1 % вызывает выраженные повреждения окислительных функций митохондрий и значительную лабильзацию лизосомальных мембран тканей роговицы и конъюнктивы, степень которых зависит от концентрации консерванта в инстилляционном растворе [1, 2].

**Цель.** Изучить влияние гиалуроната натрия на патохимические показатели в тканях переднего отдела глаза после применения консерванта бензалкония хлорида в эксперименте у кроликов.

### Материал и методы

Для проведения эксперимента использовали 22 кролика массой 2,2–2,7 кг.

Все лабораторные животные были разделены на две группы: 1 группа — группа сравнения (12 животных), получала инстилляцию БАХ, 2 группа — опытная (10 животных), получала инстилляцию БА в 0,02 % растворе, приготовленном на изотоническом фосфатном буфере (рН 7,3–7,4), и гиалуронат натрия. Инстилляции проводили ежедневно (2 раза в день) на протяжении 2 недель. Животные группы сравнения получали консервант БАХ без гиалуроната натрия.

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

В конце эксперимента все животные были выведены из эксперимента с помощью летальной дозы пентобарбитола натрия (100 мг на кг вводимого в маргинальную ушную вену).

Для исследования производили забор экспериментального материала: роговицы, конъюнктивы и слезной

жидкости, которые суспендировались в буфере, содержащем 20 мМ HEPES-KOH (pH=7,5), 1,5 М MgCl<sub>2</sub>, 0,5 мМ EGTA и 250 мМ сахарозы, содержащей поливинилпиролон.

После гомогенизации осадок лизосом получали с помощью центрифугирования при 6 000 g в течение 15 мин, а митохондрии осаждались при 10 000 g в течение 15 мин.

В полученных экстрактах из гомогенатов указанных тканей и в слезной жидкости в обеих группах определяли активность цитоплазматических, митохондриальных и лизосомальных ферментов, а также содержание восстановленного и окисленного глутатиона.

**Определение активности лактатдегидрогеназы** основано на оценке скорости ферментативного окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) при образовании лактата из пирувата по уменьшению оптической плотности исследуемого раствора при длине волны 340 нм [5].

**Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы** базируется на измерении скорости восстановления НАДФ в инкубационной среде при насыщающих концентрациях глюкозо-6-фосфата и НАДФ, оптимальном значении pH и при длине волны 340 нм [5].

**Определение активности малатдегидрогеназы** основано на реакции, в которой количество окисленного малата эквивалентно количеству восстановленного пиридиннуклеотида, а скорость изменения уровня восстановленного никотинамидадениндинуклеотида регистрировали при длине волны 340 нм [9].

При изучении активности кислой фосфатазы определяется концентрация свободного органического компонента субстрата — паранитрофенилфосфата, образующегося в результате действия фермента. Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре «Specol — 210» в 1- см кювете и длине волны 410 нм [5].

**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. Надосадочную жидкость фотометрировали в 1 см на спектрофотометре Спекол-210 при 420 нм [5].

**Принцип метода определения цитохромоксидазы** заключается в окислении N-диметилпарафенилендиамина ферментом, в результате чего образуется пигмент с максимумом поглощения при длине волны 510 нм, в количестве, пропорциональном цитохромоксидазной активности [5].

**Принцип метода определения восстановленного глутатиона.** В результате реакции между глутатионом и метилглиоксалем в присутствии фермента глиоксалазы происходит образование конъюгата S-лактоилглутатиона, имеющего максимум поглощения при длине волны 240 нм [9].

**Принцип метода определения окисленной формы глутатиона** состоит в том, что в результате ферментативного восстановления глутатиона глутатионредуктазой происходит окисление восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН<sub>2</sub>), убыль которого регистрируют спектрофотометрически при длине волны 340 нм [9].

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

### Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических и митохондриальных ферментов в роговой оболочке представлены в таблице 1.

В роговой оболочке активность лактатдегидрогеназы при применении БАХ и гиалуроната была выше, чем в группе сравнения (45,58±2,42) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup> и составила — (54,06±3,18) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 118,6 % (p<0,05).

При применении БАХ и гиалуроната активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в роговой оболочке была повышена по сравнению с группой животных с применением БАХ (26,23±1,10) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup> и составила — (30,48±1,52) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 116,2 % (p<0,05).

Как видно из представленных данных, активность малатдегидрогеназы в роговой оболочке после инстиляции БАХ и применения гиалуроната повысилась на 17,1 % и составила (42,49±21,76) нкат/г по отношению к группе сравнения (36,28±2,32) нкат/г (p<0,05).

**Таблица 1.** Влияние гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических и митохондриальных ферментов в роговой оболочке

Исследуемые показатели	Статистические показатели	БАХ (n=12)	БАХ+ гиалуронат (n=10)
Лактатдегидрогеназа, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	M±m %	45,58±2,42 100,0	54,06±3,18* 118,6
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	M±m %	26,23±1,10 100,0	30,48±1,52* 116,2
Малатдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	36,28±2,32 100,0	42,49±1,76* 117,1
Глутаматдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	10,45±0,80 100,0	12,65±0,64* 121,1
Сукцинатдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	19,76±1,14 100	23,25±1,12* 117,7
Цитохромоксидаза, нкат/г ткани	M±m %	75,42±5,32 100	93,59±6,40* 124,1

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «БАХ» (\* — p < 0,05)

При изучении активности глутаматдегидрогеназы в роговице кроликов необходимо отметить, что она была повышена после инстилляций БАХ и применения гиалуроната на 21,1 %, что составило (12,65±0,64) нкат/г по отношению к группе сравнения (10,45±0,80) нкат/г (p<0,05).

В роговой оболочке активность сукцинатдегидрогеназы после инстилляций БАХ и применения гиалуроната повысилась на 17,7 % — (23,25±1,12) нкат/г по сравнению с животными в группе с инстилляциями БАХ (19,76±1,14) нкат/г (p<0,05).

Активность цитохромоксидазы в роговой оболочке после инстилляций растворов БАХ и применения гиалуроната была повышена на 24,1 %, составляя (93,59±6,40) нкат/г по сравнению с группой сравнения (75,42±5,32) нкат/г (p<0,05).

Данные о влиянии гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических и митохондриальных ферментов в конъюнктиве представлены в таблице 2.

В конъюнктиве активность лактатдегидрогеназы при применении БАХ и гиалуроната составила (40,91±2,16) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 124,9 % по сравнению с группой животных с применением БАХ — (32,75±1,90) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

При применении БАХ и гиалуроната активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в конъюнктиве была повышена до (25,48±1,64) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup>, т. е. до 122,1 % по сравнению с группой животных, которые получали инстилляцию только БАХ — (20,86±1,37) мкмоль/мин/г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

Активность малатдегидрогеназы в тканях конъюнктивы экспериментальных животных после инстилляций БАХ и гиалуроната была повышена на 23,9 %, составляя (52,98±3,40) нкат/г по сравнению с группой с применением БАХ (42,74±3,34) нкат/г (p<0,05).

Можно отметить, что активность глутаматдегидрогеназы в тканях конъюнктивы в условиях инстилляций растворов БАХ и применения гиалуроната повысилась на 23,5 %, что составило (23,67±1,43) нкат/г относительно группы животных с инстилляциями БАХ (19,16±1,58) нкат/г (p<0,05).

В конъюнктиве активность сукцинатдегидрогеназы при применении растворов БАХ и гиалуроната была повышена на 20,5 %, что составило (29,70±1,56) нкат/г относительно группы сравнения (24,65±1,68) нкат/г (p<0,05).

Активность цитохромоксидазы в тканях конъюнктивы экспериментальных животных после инстилляций растворов БАХ и применения гиалуроната повысилась на 27,3 %, что составило (129,26±8,75) нкат/г по сравнению с группой животных в условиях применения БАХ (101,54±7,83) нкат/г (p<0,05).

Данные о влиянии гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических ферментов в слезной жидкости представлены в таблице 3.

Активность лактатдегидрогеназы в слезной жидкости в условиях применения БАХ и гиалуроната была понижена до (3,63±0,25) мкмоль/мин/л<sup>-1</sup>, что составило — 78,9 % по сравнению с группой животных с применением БАХ (4,60±0,21) мкмоль/мин/л<sup>-1</sup> (p<0,05).

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в слезной жидкости в условиях применения БАХ и гиалуроната снизилась до (10,27±0,60) мкмоль/мин/л<sup>-1</sup>, что составило — 84,6 % по отношению к группе сравнения (12,14±0,64) мкмоль/мин/л<sup>-1</sup> (p<0,05).

Активность малатдегидрогеназы в слезной жидкости исследуемых животных при применении БАХ и гиалуроната была понижена на 16,5 % — (39,87±2,30) нкат/мл по отношению к группе сравнения (47,73±2,92) нкат/мл (p<0,05).

**Таблица 2.** Влияние гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических и митохондриальных ферментов в конъюнктиве

Исследуемые показатели	Статистические показатели	БАХ (n=12)	БАХ+ гиалуронат (n=10)
Лактатдегидрогеназа, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	M±m %	32,75±1,90 100,0	40,91±2,16* 124,9
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	M±m %	20,86±1,37 100,0	25,48±1,64* 122,1
Малатдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	42,74±3,34 100,0	52,98±3,40* 123,9
Глутаматдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	19,16±1,58 100,0	23,67±1,43* 123,5
Сукцинатдегидрогеназа, нкат/г ткани	M±m %	24,65±1,68 100	29,70±1,56* 120,5
Цитохромоксидаза, нкат/г ткани	M±m %	101,54±7,83 100	129,26±8,75* 127,3

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «БАХ» (\* — p < 0,05)

**Таблица 3.** Влияние гиалуроната и консерванта (БАХ) на активность цитоплазматических ферментов в слезной жидкости

Исследуемые показатели	Статистические показатели	БАХ (n=12)	БАХ+ гиалуронат (n=10)
Лактатдегидрогеназа, мкмоль/мин · л <sup>-1</sup>	M±m %	4,60±0,21 100,0	3,63±0,25* 78,9
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/мин · л <sup>-1</sup>	M±m %	12,14±0,64 100,0	10,27±0,60* 84,6
Малатдегидрогеназа, нкат/мл	M±m %	47,73 2,92 100,0	39,87* 2,30 83,5
Глутаматдегидрогеназа, нкат/мл	M±m %	10,42±0,68 100,0	8,71±0,40* 84,5
Сукцинатдегидрогеназа, нкат/мл	M±m %	22,40±1,28 100	18,92±1,02* 84,5
Цитохромоксидаза, нкат/мл	M±m %	18,15±1,32 100	14,97±0,65* 82,5

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «БАХ» (\* — p < 0,05)

Активность глутаматдегидрогеназы в слезной жидкости кроликов при применении БАХ и гиалуроната понизилась на 15,5 %, составляя (8,71±0,40) нкат/мл относительно группы сравнения (10,42±0,68) нкат/мл (p < 0,05).

В слезной жидкости исследуемых животных активность сукцинатдегидрогеназы при применении растворов БАХ и гиалуроната была понижена на 15,5 % — (18,92±1,02) нкат/мл по отношению к группе с применением БАХ (22,40±1,28) нкат/мл (p < 0,05).

При применении растворов БАХ и гиалуроната в слезной жидкости кроликов активность цитохромоксидазы понизилась на 17,5 % — (14,97±0,65) нкат/мл относительно группы сравнения (18,15±1,32) нкат/мл (p < 0,05).

Данные о влиянии гиалуроната и консерванта (БАХ) на показатели лабильности лизосом (неседиментируемая активность кислой фосфатазы) в тканях роговой оболочки, конъюнктивы и слезной жидкости представлены в таблице 4.

Активность неседиментируемой формы кислой фосфатазы в роговой оболочке после инстилляций растворов БАХ и применения гиалуроната понизилась на 11 % (70,16±5,14) нкат/г по сравнению с группой сравнения (применение только БАХ) (78,85±5,72) нкат/г.

Можно отметить, что активность неседиментируемой формы кислой фосфатазы в тканях конъюнктивы в условиях инстилляций растворов БАХ и применения гиалуроната понизилась на 15,5 % (86,08±5,34) нкат/г относительно группы с применением БАХ (101,90±5,23) нкат/г (p < 0,05).

В слезной жидкости исследуемых животных активность седиментируемой формы кислой фосфатазы при применении растворов БАХ и гиалуроната понизилась на 13,9 % (7,72±0,38) нкат/мл по отношению к группе с инстилляциями БАХ (8,97±0,45) нкат/мл (p < 0,05).

Данные о влиянии гиалуроната и консерванта (БАХ) на уровень восстановленного и окисленного глутатиона в тканях роговой оболочки, конъюнктивы и слезной жидкости представлены в таблице 5.

В роговой оболочке уровень восстановленного глутатиона при применении БАХ и гиалуроната был выше, чем в группе с применением БАХ (12,24±0,73) мкмоль/г и составил (14,16±0,84) мкмоль/г, т. е. 115,7 %. Уровень окисленного глутатиона в этих же условиях был понижен до (1,30±0,10) мкмоль/г, что составило 77,4 % относительно группы сравнения — (1,68±0,08) мкмоль/г (p < 0,05).

В конъюнктиве уровень восстановленного глутатиона при применении БАХ и гиалуроната составил (9,92±0,67) мкмоль/г, т. е. 116,4 % по отно-

**Таблица 4.** Влияние гиалуроната и консерванта (БАХ) на показатели лабильности лизосом (неседиментируемая активность кислой фосфатазы) в тканях роговой оболочки, конъюнктивы и слезной жидкости

Исследуемые ткани	Статистические показатели	БАХ (n=12)	БАХ+ гиалуронат (n=10)
Роговая оболочка, нкат/г ткани	M±m %	78,85±5,72 100,0	70,16±5,14 89,0
Конъюнктивa, нкат/г ткани	M±m %	101,90±5,23 100,0	86,08±5,34* 84,5
Слезная жидкость, нкат/мл	M±m %	8,97±0,45 100,0	7,72±0,38* 86,1

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «БАХ» (\* — p < 0,05)

**Таблица 5.** Влияние гиалуроната и консерванта (БАХ) на уровень восстановленного и окисленного глутатиона в тканях роговой оболочки, конъюнктивы и слезной жидкости

Исследуемая ткань	Статистические показатели	БАХ (n=12)	БАХ+ гиалуронат (n=10)
Роговая оболочка, мкмоль/г ткани	Восстановленный глутатион		
	M±m	12,24±0,73	14,16±0,84
	%	100,0	115,7
	Окисленный глутатион		
M±m	1,68±0,08	1,30±0,10*	
%	100,0	77,4	
Конъюнктура, мкмоль/г ткани	Восстановленный глутатион		
	M±m	8,52±0,58	9,92±0,67
	%	100,0	116,4
	Окисленный глутатион		
M±m	1,29±0,08	1,05±0,07*	
%	100,0	81,4	
Слезная жидкость, мкмоль/л	Восстановленный глутатион		
	M±m	84,47±5,40	98,85±6,42
	%	100,0	117,0
	Окисленный глутатион		
M±m	46,68±2,15	35,54±2,78*	
%	100,0	76,1	

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «БАХ» (\* — p < 0,05)

шению к группе сравнения (8,52±0,58) мкмоль/г, а уровень окисленного глутатиона был понижен до (1,05±0,07) мкмоль/г, что составило 81,4 % по сравнению с группой животных с применением БАХ (1,29±0,08) мкмоль/г (p<0,05).

Уровень восстановленного глутатиона в слезной жидкости в условиях применения БАХ и гиалуроната был повышен до (98,85±6,42) мкмоль/л, что составило — 117,0 % по сравнению с группой животных «БАХ» (84,47±5,40) мкмоль/л. Уровень окисленного глутатиона при идентичных условиях понизился до (35,54±2,78) мкмоль/л, что составило 76,1 % относительно группы сравнения (46,68±2,15) мкмоль/л (p<0,05).

Обобщая полученные результаты экспериментальных исследований о влиянии гиалуроната на состояние маркерных ферментов различных структурных элементов клеток и уровень глутатиона в тканях переднего отдела глаза животных, получавших инстилляцию 0,02 % раствора БАХ, необходимо отметить следующие моменты. Гиалуронат заметно предотвращает нарушения ферментативной активности, вызываемые консервантом в клетках тканей переднего отдела глаза. На основании данных об изменении активности ферментов в тканях (роговице и конъюнктиве) и слезной жидкости в различных условиях эксперимента, можно заключить, что позитивное влияние гиалуроната при

использовании консерванта глазных капель БАХ, прежде всего, связано с мембраностабилизирующим действием гиалуроната, что снижает детергирующее влияние консерванта на клеточные и субклеточные мембраны.

### Выводы

1. Применение инстилляций гиалуроната натрия позволило нормализовать нарушения метаболических процессов в тканях переднего отдела глаза, возникшие под влиянием консерванта глазных капель БАХ. Под влиянием БАХ активность ферментов снижалась, а под влиянием гиалуроната натрия активность ферментов восстанавливалась: лактатдегидрогеназы на 24,9 %, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на 22,1 %, малатдегидрогеназы на 23,9 %, глутаматдегидрогеназы на 23,5 %, сукцинатдегидрогеназы на 20,5 %, цитохромоксидазы на 27,3 %.

2. В основе механизма защитного действия гиалуроната на функциональный метаболический статус тканей глаза, нарушаемый при применении БАХ, лежит его выраженное антиоксидантное действие на мембранные структуры, о чем свидетельствует выявленное в этих условиях снижение уровня окисленной формы глутатиона — в роговице на 22,6 %, конъюнктиве на 18,6 %, в слезной жидкости на 23,9 % под влиянием гиалуроната натрия.

*Литература*

1. **Гайдамака Т. Б., Сенишин В. И.** Влияние бензалкония хлорида на активность окислительно-восстановительных ферментов в тканях переднего отдела глаза // *Офтальмол. журн.* — 2013. — № 5. — С. 62–67.
2. **Гайдамака Т. Б., Сенишин В. И.** Влияние консервантов глазных капель на восстановительный потенциал глутатиона в тканях переднего отдела глаза // *Офтальмол. журн.* — 2012. — № 6. — С. 96–100.
3. **Иванова Н. В.** Консерванты в топической терапии глазных заболеваний: преимущества и недостатки // *Офтальмология. Вост. Европа.* — 2013. — Т.1. — № 16. — С.2–7.
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. **Ammar D. A., Noecker R. J., Kahook M. Y.** Effects of benzalkonium chloride— preserved, polyquad—preserved, and sofZia—preserved topical glaucoma medications on human ocular epithelial cells // *Adv. Ther.* — 2010. — Vol. 27. — P. 1–9.
7. **Ayaki M., Yaguchi S., Iwasawa A.** Cytotoxicity of ophthalmic solution with and without preservatives to human corneal endothelial cells, epithelial cells and conjunctival epithelial cells // *Clin. Exp. Ophthalmol.* — 2008. — Vol. 36. — P. 553–559.
8. **Barki W. H., Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium // *Biomedica.* — 2007. — Vol. 23. — P. 65–70.
9. **Bergmeyer H. V.** Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — 2220 p.
10. **Hopes M., Broadway D. C.** Preservative— free Treatment in Glaucoma Is a Sensible and Realistic Aim for the Future // *Europ. Ophthalmic. Review.* — 2010. — Vol. 4. — P.23– 28.
11. **Hughes E. H., Pretorius M., Eleftheriadis H.** Long— term recovery of the human corneal endothelium after toxic injury by benzalkonium chloride // *Br. J. Ophthalmol.* — 2007. — Vol. 91. — P. 1460–1463.
12. **Kahook M. Y., Noecker R. J.** Comparison of corneal and conjunctival changes after dosing of travoprost preserved with sofZia, latanoprost with 0,02 % benzalkonium chloride, and preservative— free artificial tears // *Cornea.* — 2008. — Vol. 27. — P. 339–343.
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. **Kozobolis V. P., Detorakis E. T., Maskaleris G.** Corneal sensitivity changes following the instillation of latanoprost, bitamoprost, and travoprost eyedrops // *Am. J. Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 139. — P. 742–743.
15. **Liang H., Baudouin C., Pauly A.** Conjunctival and corneal reactions in rabbits following short— and repeated exposure to preservative— free tafluprost, commercially available latanoprost and 0,02 % benzalkonium chloride // *Br. J. Ophthalmol.* — 2008. — Vol. 92. — P. 1275–1282.
16. **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.
17. **McCarey B., Edelgauser H.** In Vivo corneal epithelial permeability following treatment with prostaglandin analogues with or without benzalkonium chloride // *J. Ocul. Pharm. Ther.* — 2007. — Vol. 23. — P. 445–447.
18. **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.
19. **Whitson J. T., Cavanagh H. D., Lakshman N.** Assessment of corneal epithelial integrity after acute exposure to ocular hypotensive agents preserved with and without benzalkonium chloride // *Adv. Ther.* — 2006. — Vol. 23. — P. 663–671.
20. **Wilson F. M.** Adverse external ocular effects of topical ophthalmic therapy: an epidemiologic, laboratory, and clinical study // *Tr. Am. Ophth. Soc.* — 1983. — Vol. 19. — P. 854–858.
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. — Vol. 49. — P. 1850–1856.

*Поступила 25.06.2014*

*References*

1. **Gaidamaka TB, Senishin VI.** Influence of the benzalkonium chloride on the oxidative-restored enzymes in the tissues of the anterior section of the eye. *Oftalmol Zh.* 2013; 5: 62–7..
2. **Gaidamaka TB.** Influence of preservatives of eye drops on the on the redox potential of glutathione in the tissues of the anterior eye. *Oftalmopol Zh.* 2012;6:96–100. Russian.
3. **Ivanova NV.** Preservatives in the topic therapy of eye diseases: advantages and disadvantages. *Oftalmologiya. Vostochnaia Evropa.* 2013;1(16):2–7. Russian.
4. **Nasledov A.** SPSS computer analysis of data in psychology and social sciences. Spb.: Piter; 2005. 416 p.
5. New methods of biochemical analysis. *Izd. Leningradskogo univer.* 1991. 395 p.
6. **Ammar DA, Noecker RJ, Kahook MY.** Effects of benzalkonium chloride— preserved, polyquad—preserved, and sofZia—preserved topical glaucoma medications on human ocular epithelial cells. *Adv. Ther.* 2010;27:1–9.
7. **Ayaki M, Yaguchi S, Iwasawa A.** Cytotoxicity of ophthalmic solution with and without preservatives to human corneal endothelial cells, epithelial cells and conjunctival epithelial cells. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2008;36:553–9.
8. **Barki WH, Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium. *Biomedica.* 2007;23:65–70.
9. **Bergmeyer HV.** Methoden der enzymatischen Analyse. Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. Berlin. 1986; 2220 p.
10. **Hopes M, Broadway DC.** Preservative— free Treatment in Glaucoma Is a Sensible and Realistic Aim for the Future. *Europ. Ophthalmic. Review.* 2010;4:23– 8.
11. **Hughes EH, Pretorius M, Eleftheriadis H.** Long— term recovery of the human corneal endothelium after toxic injury by benzalkonium chloride. *Br. J. Ophthalmol.* 2007;91:1460–3.
12. **Kahook MY, Noecker RJ.** Comparison of corneal and conjunctival changes after dosing of travoprost preserved

- with sofZia, latanoprost with 0,02 % benzalkonium chloride, and preservative– free artificial tears. *Cornea*. 2008;27:339–43.
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. **Kozobolis VP, Detorakis ET, Maskaleris G.** Corneal sensitivity changes following the instillation of latanoprost, bitamoprost, and travoprost eyedrops. *Am. J. Ophthalmol.* 2005;139:742–3.
  15. **Liang H, Baudouin C, Pauly A.** Conjunctival and corneal reactions in rabbits following short– and repeated exposure to preservative– free tafluprost, commercially available latanoprost and 0,02 % benzalkonium chloride. *Br. J. Ophthalmol.* 2008;92: 1275–82.
  16. **Lin Z, Liu X, Zhou T.** A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride. *Mol. Vis.* 2011;17:257–64.
  17. **McCarey B, Edelgauser H.** In Vivo corneal epithelial permeability following treatment with prostaglandin analogues with or without benzalkonium chloride. *J. Ocul. Pharm. Ther.* 2007;23:445–7.
  18. **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.
  19. **Whitson JT, Cavanagh HD, Lakshman N.** Assessment of corneal epithelial integrity after acute exposure to ocular hypotensive agents preserved with and without benzalkonium chloride. *Adv. Ther.* 2006;23:663–71.
  20. **Wilson FM.** Adverse external ocular effects of topical ophthalmic therapy: an epidemiologic, laboratory, and clinical study. *Tr. Am. Ophth. Soc.* 1983;19:854–8.
  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.

*Received 25.06.2014*