

УДК 617.711+617.764–008.8:612.015.11–085–092.19

## Влияние бензалкония хлорида на активность окислительно-восстановительных ферментов в тканях переднего отдела глаза

Т. Б. Гайдамака<sup>1</sup>, д-р мед. наук, старший научный сотрудник, В. И. Сенишин<sup>2</sup>, врач-ординатор

<sup>1</sup>ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины», отдел патологии роговицы

<sup>2</sup>Львовская областная клиническая больница

E-mail: oko\_science@mail.ru

**Вступ.** Наявність як позитивних, так і негативних властивостей консерванту очних крапель бензалконію хлориду (БАК) визначає актуальність і необхідність проведення досліджень з вивчення патогенетичних механізмів його дії.

**Мета дослідження.** Вивчення впливу БАК на активність окислювально-відновних ферментів лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази рогової оболонки, кон'юнктиви і слюзної рідини в експерименті.

**Матеріал і методи.** В експерименті на тваринах (17 кроликів) визначали активність лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в рогівці, кон'юнктиві і слюзній рідині після інстиляції 0,02 % розчину консерванту бензалконію хлориду (БАК), виготовленого на ізотонічному фосфатному буфері (рН 7,3–7,4).

**Результати.** Встановлено, що БАК істотно знижує активність окислювально-відновних ферментів в рогівці і кон'юнктиві і підвищує їх активність в слюзній рідині ока.

**Висновок.** Застосування БАК суттєво порушує перебіг окислювально-відновних процесів в поверхневих структурах очного яблука, що, у свою чергу, призводить до зниження захисно-приспосувальних можливостей тканин переднього відділу ока і порушенню структурно-функціональних властивостей рогівки і кон'юнктиви ока.

**Ключевые слова:** передний отдел глаза, глазные капли, консерванты, окислительно-восстановительные ферменты

**Ключові слова:** передній відділ ока, очні краплі, консерванти, окисно-відновні ферменти

## Influence of the benzalkonium chloride on the oxidative-restored enzymes in the tissues of the anterior section of the eye

Gaidamaka TB<sup>1</sup>, Senishin VI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMS of Ukraine», Odessa

<sup>2</sup>Lviv Regional Hospital, Odessa, Ukraine

E-mail: oko\_science@mail.ru

**Introduction.** Presence of both positive and negative properties of the eye drops preservative of benzalconia chloride (BAC) determines importance and necessity of the study of the pathogenic mechanisms of the effect of this widely used preservative in ophthalmology.

**Aim of the study.** To investigate the influence of BAC on the activity of the oxidation-reduction enzymes — lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase of the cornea, conjunctiva and tear fluid in experiment.

**Materials and methods.** Activity of lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase of the cornea, conjunctiva and tear fluid was determined in experiment on animals (17 rabbits) after instillations of 0.02 % solution of the preservative benzalconia chloride made on the isotonic phosphate buffer (pH 7.3–7.4).

**Results.** It was established that BAC reduced significantly the activity of the oxidation-reduction enzymes in the cornea and conjunctiva and increased their activity in the eye tear fluid.

**Key words:** anterior part of the eye, activity of the oxidation-reduction enzymes

**Введение.** До настоящего времени существуют проблемы в лечении воспалительных заболеваний роговой оболочки [1, 7, 28].

Проведенные исследования применения глазных капель, в том числе и антиглаукоматозных, включающих в качестве консерванта антисептик бензалкония хлорид (БАК) свидетельствуют о наличии выраженных побочных эффектов этого консерванта [5, 8, 13, 19, 21, 26].

Установлено, что значительная часть БАК накапливается в роговично-конъюнктивальном эпителии и строме, в меньшей степени — в радужной оболочке, хрусталике, сосудистой оболочке и сетчатке глаза [6, 9, 15, 22, 27].

Изучение антиглаукоматозных капель, содержащих БАК, показало, что именно он оказывает выраженное негативное действие на поверхностные структуры глаза, а именно — на физиологические свойства конъюнктивы, роговицы и физико-химические свойства слезной жидкости. В то же время, в офтальмологической литературе освещены не только негативные, но и позитивные свойства БАК [16, 20, 23, 30, 32].

Ранее в наших экспериментальных исследованиях на кроликах было показано выраженное нарушение детоксикационной системы глутатиона при применении БАК, что сопровождалось существенным снижением восстановленной формы глутатиона и повышением уровня окисленного глутатиона. Отмеченные изменения восстановительного статуса глутатиона могут способствовать снижению защитных возможностей тканей переднего отдела глаза [2].

Известно, что консерванты могут влиять на свойства роговицы, увеличение концентрации БАК коррелирует со степенью эпителиопатии роговицы и уровнем концентрации лактатдегидрогеназы и альбумина — маркеров поражения роговицы, высвобождаемых в слезную жидкость, что может негативно отражаться на процессах заживления роговицы [14, 17, 18, 31]. Установлено, что малые концентрации БАК (0,01 %) вызвали разрушение эпителиального барьера роговой оболочки. БАК в концентрации 0,01 % и этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) в концентрации 0,1 % приводили к задержке заживления роговицы, а БАК в концентрации 0,02 % полностью подавлял процесс заживления после экспериментальной кератэктомии на глазах кроликов [12, 26]. В исследовании, выполненном на собаках, 0,0025 % раствора БАК

***Conclusions.** The application of BAC affects significantly the course of the oxidation-reduction processes of the superficial structures of the eyeball, which in its turn results in reduction of the protective-adjustive potential of the anterior eye tissues and disturbance of the structural-functional properties of the eye cornea and conjunctiva.*

или 0,025 % раствора тиомеросала подавляли рост псевдоподиев эпителиальных клеток и препятствовали регенерации эпителия роговицы [27].

Есть сведения о токсическом воздействии БАК в составе глазных капель на роговицу при ношении контактных линз, а также у пациентов в раннем послеоперационном периоде после экстракции катаракты и у лиц с синдромом «сухого глаза» [5, 6].

В ряде работ выявлена функциональная особенность конъюнктивы, связанная с транспортом глутатиона, который имеет выраженные детоксикационные и антиоксидантные свойства. Известно также, что глутатион принимает активное участие в регуляции воспалительных и иммунных процессов, что связано с его противовирусным действием [10, 11, 24, 25, 29].

Учитывая детоксикационные и мембраностабилизирующие свойства глутатиона, играющего важную роль в защитно-приспособительных механизмах роговицы глаза, а также выявленное нами снижение его уровня в тканях глаза при действии БАК [2], необходимость поддержания его уровня становится очевидной.

Таким образом, наличие как положительных, так и отрицательных свойств БАК определяет актуальность и необходимость проведения исследований по выяснению патогенетических механизмов действия широко применяемого в офтальмологии консерванта на ткани глаза и выработки методов его коррекции.

**Целью исследования** было изучение влияния БАК на активность окислительно-восстановительных ферментов лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы роговой оболочки, конъюнктивы и слезной жидкости в эксперименте.

### Материал и методы

Для проведения эксперимента использовали 17 кроликов породы шиншилла массой 2,2–2,7 кг.

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

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

Животные были разделены на две группы: 1 группа — контрольная (8 животных), 2 группа — опытная (9 жи-

вотных), получавшая инстилляцию 0,02 % раствора БАК, приготовленного на изотоническом фосфатном буфере (рН 7,3–7,4). Животные контрольной группы получали этот же раствор без БАК. Инстилляции проводили ежедневно (2 раза в день) на протяжении двух недель.

Для исследования производили забор экспериментального материала через 2 недели инстилляций БАК: роговицы, конъюнктивы и слезной жидкости. В полученных экстрактах из гомогенатов указанных тканей и в слезной жидкости определяли активность окислительно-восстановительных ферментов лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [4].

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.

Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы предполагает измерение скорости восстановления НАДФ в инкубационной среде при насыщающих концентрациях глюкозо-6-фосфата и НАДФ, оптимальном значении рН и при длине волны 340 нм.

При определении активности НАД-малатдегидрогеназы образование восстановленной формы НАД, которое эквивалентно количеству окисленного малата, регистрируют спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

Измерения оптической плотности растворов проводили с использованием спектрофотометра «Спекол-210».

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

### Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии инстилляций БАК на активность лактатдегидрогеназы в роговой оболочке, конъюнктиве и слезной жидкости представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Влияние инстилляций БАК на активность лактатдегидрогеназы в роговой оболочке, конъюнктиве и слезной жидкости кроликов

Исследуемая ткань, единицы измерения	Статистические показатели	Контрольная группа	Опытная группы
Роговая оболочка, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 56,47±4,43 12,54 – 100,0	9 45,86±2,45 7,35 <0,05 81,2
Конъюнктивa, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 41,49±3,67 10,39 – 100,0	9 32,78±1,94 5,81 <0,05 79,0
Слезная жидкость, мкмоль/мин · л <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 3,48±0,23 0,65 – 100,0	9 4,53±0,20 0,61 <0,01 130,2

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к контролю.

В роговой оболочке активность лактатдегидрогеназы при применении БАК была ниже, чем в контрольной группе (56,47±4,43) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> и составила — (45,86±2,45) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 81,2 % (p<0,05).

В конъюнктиве активность лактатдегидрогеназы при применении БАК составила — (32,78±1,94) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 79,0 % по сравнению с контролем — (41,49±3,67) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

Активность лактатдегидрогеназы в слезной жидкости в условиях применения БАК была повышена до (4,53±0,20) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup>, что составило — 130,2 % по сравнению с контролем (3,48±0,23) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup> (p<0,01).

Данные о влиянии инстилляций БАК на активность малатдегидрогеназы в роговой оболочке, конъюнктиве и слезной жидкости представлены в таблице 2.

Активность малатдегидрогеназы в роговой оболочке при применении БАК была снижена до (38,49±1,89) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, что составило 85,2 % по сравнению с контролем — (45,18±2,43) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

В конъюнктиве активность малатдегидрогеназы в условиях применения БАК была также снижена до (29,89±2,13) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, что составило 82,3 % по сравнению с контролем — (36,32±2,05) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

В слезной жидкости активность малатдегидрогеназы при применении БАК повысилась до (47,56±2,38) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup>, что составило 120,2 % по сравнению с контролем — (39,56±2,50) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup>, (p<0,05).

**Таблица 2.** Влияние инстилляций БАК на активность малатдегидрогеназы в роговой оболочке, конъюнктиве и слезной жидкости

Исследуемая ткань, единицы измерения	Статистические показатели	Контрольная группа	Опытная группы
Роговая оболочка, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 45,18±2,43 6,86 – 100,0	9 38,49±1,89 5,66 <0,05 85,2
Конъюнктивa, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 36,32±2,05 5,80 – 100,0	9 29,89±2,13 6,39 <0,05 82,3
Слезная жидкость, мкмоль/мин · л <sup>-1</sup>	n M±m SD p %	8 39,56±2,50 7,07 – 100,0	9 47,56±2,38 7,14 <0,05 120,2

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к контролю.

**Таблица 3.** Влияние инстилляций БАК на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в роговой оболочке, конъюнктиве и слезной жидкости

Исследуемая ткань, единицы измерения	Статистические показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Роговая оболочка, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n	8	9
	M±m	31,30±1,98	26,27±1,11
	SD	5,61	3,34
	p	–	<0,05
Конъюнктура, мкмоль/мин · г ткани <sup>-1</sup>	n	8	9
	M±m	26,06±2,05	20,88±1,38
	SD	5,79	4,15
	p	–	<0,05
Слезная жидкость, мкмоль/мин · л <sup>-1</sup>	n	8	9
	M±m	9,76±0,60	12,07±0,68
	SD	1,70	2,05
	p	–	<0,05
	%	100,0	123,7

Примечание. p — уровень значимости различий данных по отношению к контролю.

При применении БАК активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в роговой оболочке была снижена по сравнению с контрольной группой (31,30±1,98) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> и составила — (26,27±1,11) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, т. е. 83,9 % (p<0,05) (табл. 3).

При применении БАК активность фермента в конъюнктиве была снижена до (20,88±1,38) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup>, т. е. до 80,1 % по сравнению с контролем — (26,06±2,05) мкмоль/мин · г ткани<sup>-1</sup> (p<0,05).

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в слезной жидкости в условиях применения БАК была повышена до (12,07±0,68) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup>, что составило — 123,7 % по сравнению с контролем (9,76±0,60) мкмоль/мин · л<sup>-1</sup> (p<0,05).

Таким образом, полученные нами данные выявили, что при применении инстилляций БАК в тканях роговицы и конъюнктивы отмечается снижение активности окислительно-восстановительных

ферментов и выраженное повышение активности лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в слезной жидкости на 30,2 %, 20,2 % и 23,7 % соответственно, что может быть обусловлено действием оксидативного стресса [2], приводящего к нарушению проницаемости мембранных структур эпителия роговицы и конъюнктивы.

Анализ полученных результатов свидетельствует, что применение данного консерванта глазных капель существенно нарушает дезинтоксикационную систему глутатиона [2], а также протекание окислительно-восстановительных процессов в поверхностных структурах глазного яблока, что, в свою очередь, приводит к нарушению структурно-функциональных свойств роговицы и конъюнктивы глаза и снижению защитно-приспособительных возможностей тканей переднего отдела глаза.

### Выводы

1. Установлено, что при применении в течение двух недель инстилляций 0,02 % раствора БАК в ткани роговицы отмечается значимое снижение активности лактатдегидрогеназы (на 19 %), малатдегидрогеназы (на 15 %) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 16 %), что можно рассматривать как важное звено в механизме повреждающего действия БАК на роговую оболочку глаза.

2. В тканях слизистой оболочки глаза при инстилляциях в течение двух недель 0,02 % раствора БАК снижается активность лактатдегидрогеназы (на 21 %), малатдегидрогеназы (на 18 %) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 20 %), что свидетельствует о нарушении окислительно-восстановительных процессов в тканях глаза при действии БАК.

3. Повышение активности лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 30,2 %, 20,2 % и 23,7 % соответственно) в слезной жидкости экспериментальных животных свидетельствует о нарушении структурно-функциональных свойств клеток эпителия роговицы и конъюнктивы глаза при инстилляциях 0,02 % раствора БАК.

### Литература

1. **Анина Е. И.** Распространенность заболеваний роговой оболочки глаза у населения Украины / Анина Е. И., Мартопляс К. В. // Тези доп. II Міжнародної наук. конф. офтальмологів Причорномор'я. — Одеса, 2004.
2. **Гайдамака Т. Б., Сенишин В. И.** Влияние консервантов глазных капель на восстановительный потенциал глутатиона в тканях переднего отдела глаза // Офтальмолог. журн. — 2012. — № 6. — С. 96–100.
3. **Наследов А.** SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках / Наследов А. — СПб.: Питер, 2005. — 416 с.
4. Новые методы биохимического анализа // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.
5. **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.
6. **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.

7. **Ayaki M., Shimada K., Yaguchi S.** Corneal and conjunctival toxicity of disinfectants — assessing safety for use with ophthalmic surgical instruments // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 48. — P. 292–295.
8. **Barki W. H., Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium // *Biomedica.* — 2007. — Vol. 23. — P. 65–70.
9. **Baudouin C., Labbe A., Liang H.** Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly // *Prog. Retin. Eye Res.* — 2010. — Vol. 29. — P. 312–334.
10. **Debbasch C., Pisella P.-J., Magda De Saint Jean.** Mitochondrial activity and glutathione injury in apoptosis induced by upreserved and preserved  $\beta$ -blockers on chag conjunctival cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2001. — Vol. 42. — P. 2525–2533.
11. **Dickinson D. A., Forman H. J.** Cellular glutathione and thiols metabolism // *Biochem. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 64. — P. 1019–1026.
12. **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.
13. **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.
14. **Kahook M. Y., Ammar D. A.** In vitro toxicity of topical ocular prostaglandin analogs and preservatives on corneal epithelial cells // *J. Ocul. Pharm. Ther.* — 2010. — Vol. 26. — P. 259–263.
15. **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.
16. **Khot-Reiter S., Jessen B. A.** Evaluation of the cytotoxic effects of ophthalmic solutions containing benzalkonium chloride on corneal epithelium using an organotypic 3-D model // *BMC Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 1471–1475.
17. **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.
18. **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.
19. **Leonardi A., Jose P. J., Zhan H.** Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis // *Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 110. — P. 487–492.
20. **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.
21. **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.
22. **Majumdera S., Hippalgaonkara K., Repka M. A.** Effect of chitosan, benzalkonium chloride and ethylenediamine-tetraacetic acid on permeation of acyclovir across isolated rabbit cornea // *Int. J. Pharm.* — 2008. — Vol. 348. — P. 175–178.
23. **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.
24. **Pauly A., Meloni M., Brignole-Baudouin F.** Multiple endpoint analysis of the 3D-reconstituted corneal epithelium after treatment with benzalkonium chloride: early detection of toxic damage // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2009. — Vol. 50. — P. 1644–1652.
25. **Reim M., Weidenfeld E., Budi Santoso A. W.** Oxidized and reduced glutathione levels of the cornea in vivo // *Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* — 1979. — Vol. 211. — P. 165–175.
26. **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.
27. **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.
28. **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.
29. **Wu G., Fanf Y.-Z., Yang S.** Glutathione metabolism and its implication for health // *J. Nutrition.* — 2004. — Vol. 134. — P. 489–492.
30. **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.
31. **Ye J., Wu H., Zhang H.** Role of benzalkonium chloride in DNA strand breaks in human corneal epithelial cells // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* — 2011. — Vol. 249. — P. 1681–1687.
32. **Zhivov A., Kraak R., Bergter H.** Influence of benzalkonium chloride on langerhans cells in corneal epithelium and development of dry eye in healthy volunteers // *Curr. Eye Res.* — 2010. — Vol. 35. — P. 762–769.

Поступила 16.07.2013

References

1. **Anina ES, Martoplyas KV.** Prevalence of the corneal diseases of the eye among the population in Ukraine. Theses of II International scientific conference of ophthalmologists of the Black Sea region. Odessa; 2004.
2. **Gaidamaka TB, Senishin VI.** Effect of preservative eye drops on the redox potential of glutathione in the tissues of the anterior eye. *Oftalmol Zh.* 2012; 6: 96–100.
3. **Nasledov A.** SPSS computer analysis of the data in psychology and social sciences. SPb.: Piter; 2005. 416 p.
4. New methods of biochemical analysis. Izd. Leningradskogo univer. 1991. 395 p.
5. **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.
6. **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.
7. **Ayaki M, Shimada K, Yaguchi S.** Corneal and conjunctival toxicity of disinfectants assessing safety for use with ophthalmic surgical instruments. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2007; 48: 292–5.
8. **Barki W. H., Tahir M.** Effects of topical benzalkonium chloride on corneal epithelium. *Biomedica.* 2007; 23: 65–70.
9. **Baudouin C, Labbe A, Liang H.** Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog. Retin. Eye Res.* 2010; 29: 312–34.
10. **Debbasch C, Pisella P-J, Magda De Saint Jean.** Mitochondrial activity and glutathione injury in apoptosis induced by upreserved and preserved  $\beta$ -blockers on Chang conjunctival cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001; 42: 2525–33.
11. **Dickinson DA, Forman HJ.** Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 64: 1019–26.
12. **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.
13. **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.
14. **Kahook MY, Ammar D. A.** In vitro toxicity of topical ocular prostaglandin analogs and preservatives on corneal epithelial cells. *J. Ocul. Pharm. Ther.* 2010; 26: 259–63.
15. **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.
16. **Khot-Reiter S, Jessen BA.** Evaluation of the cytotoxic effects of ophthalmic solutions containing benzalkonium chloride on corneal epithelium using an organotypic 3-D model. *BMC Ophthalmol.* 2009; 9: 1471–5.
17. **Kim JR, Oh TH, Kim HS.** Effect of benzalkonium chloride on the ocular surface of the rabbit. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2011; 55: 283–93.
18. **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.
19. **Leonardi A, Jose PJ, Zhan H.** Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis. *Ophthalmol.* 2003; 110: 487–92.
20. **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.
21. **Lin Z, Liu X, Zhou T.** A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride. *Mol. Vis.* 2011; 17: 257–64.
22. **Majumdera S, Hippalgaonkara K, Repka M. A.** Effect of chitosan, benzalkonium chloride and ethylenediaminetetraacetic acid on permeation of acyclovir across isolated rabbit cornea. *Int. J. Pharm.* 2008; 348: 175–8.
23. **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.
24. **Pauly A, Meloni M, Brignole-Baudouin F.** Multiple endpoint analysis of the 3D-reconstituted corneal epithelium after treatment with benzalkonium chloride: early detection of toxic damage. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009; 50: 1644–52.
25. **Reim M, Weidenfeld E, Budi Santoso A. W.** Oxidized and reduced glutathione levels of the cornea in vivo. *Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1979; 211: 165–75.
26. **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.
27. **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.
28. **Wilson F. M.** Adverse external ocular effects of topical ophthalmic therapy: an epidemiologic, laboratory, and clinical study. *Tr. Am. Ophth. Soc.* 1983; 19: 854–8.
29. **Wu G, Fanf Y-Z, Yang S.** Glutathione metabolism and its implication for health. *J. Nutrition.* 2004; 134: 489–92.
30. **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.
31. **Ye J, Wu H, Zhang H.** Role of benzalkonium chloride in DNA strand breaks in human corneal epithelial cells. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2011; 249: 1681–7.
32. **Zhivov A, Kraak R, Bergter H.** Influence of benzalkonium chloride on langerhans cells in corneal epithelium and development of dry eye in healthy volunteers. *Curr. Eye Res.* 2010; 35: 762–9.

Received 16.07.2013