

Ю.З. Габидуллин¹, А.Ю. Лазарева¹, М. Ю. Градусова¹,
Н.Н. Гибазов², Р.С. Суфияров¹, М.М. Туйгунов¹

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТЕРМОЛАБИЛЬНОГО
ЭНТЕРОТОКСИНА МОНОКУЛЬТУР ENTEROBACTER SPP., CITROBACTER
SPP., SERRATIA SPP., E.COLI, PROTEUS SPP. И ИХ СОКУЛЬТИВИРУЕМЫХ
ВАРИАЦИЙ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЙ
МЕТАБОЛИЗМ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ МЫШЕЙ**

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ГБУЗ РБ «Городская детская клиническая больница №17», г. Уфа

В данной статье охарактеризовано влияние термоллабильного энтеротоксина монокультур *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp. и их сокультивируемых вариаций: *Enterobacter* spp.+*Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.+*Serratia* spp., *Citrobacter* spp.+*Serratia* spp., *Enterobacter* spp.+*E.coli*, *Citrobacter* spp.+*E.coli*, *Serratia* spp.+*E.coli*, *Proteus* spp.+*Enterobacter* spp., *Proteus* spp.+*Citrobacter* spp., *Proteus* spp.+*Serratia* spp., *Proteus* spp.+*E.coli* – на внутриклеточный кислородзависимый метаболизм перитонеальных макрофагов мышей. Генерация макрофагами активных форм кислорода в ходе респираторного «взрыва» является одним из звеньев фагоцитоза, который необходим для обеспечения неспецифического иммунитета. Одним из инструментов изучения респираторного «взрыва» макрофагов *in vitro* является реакция восстановления ими нитросинего тетразолия (НСТ-тест). Данный тест позволяет оценить степень антигенной реактивности перитонеальных макрофагов мышей и охарактеризовать степень активации внутриклеточных антибактериальных систем.

Эксперименты проводились на белых мышках-самцах линии СВА в количестве 100 животных в контрольной группе и по 100 животных в каждой экспериментальной группе. Оценку всех тестируемых параметров проводили через 12, 36, 72 часа после инокуляции монокультур и сокультивируемых вариаций.

В результате было выявлено, что в перитонеальных макрофагах мышей, инфицированных сокультивируемыми вариациями, происходит более выраженная способность к восстановлению нитросинего тетразолия, чем при инфицировании их монокультурами.

Ключевые слова: *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp., нитросиний тетразолий, перитонеальные макрофаги, респираторный «взрыв», энтеротоксин, кислород, метаболические реакции.

Yu.Z. Gabidullin, A.Yu. Lazareva, M.Yu. Gradusova,
N.N. Gibazov, R.S. Sufiyarov, M.M. Tuigunov

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF THE THERMOLABIAL
ENTEROTOXIN ENTEROBACTER SPP., CITROBACTER SPP., SERRATIA SPP.,
E.COLI, PROTEUS SPP. MONOCULTURES AND THEIR CO – CULTIVATED
VARIATIONS ON THE INTRACELLULAR OXYGEN DEPENDENT METABOLISM
OF PERITONEAL MACROPHAGES IN MICE**

This paper presents comparative characteristic of the effect of thermolabial enterotoxin *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp. and their co-cultivated variations *Enterobacter* spp.+*Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.+*Serratia* spp., *Citrobacter* spp.+*Serratia* spp., *Enterobacter* spp.+*E.coli*, *Citrobacter* spp.+*E.coli*, *Serratia* spp.+*E.coli*, *Proteus* spp.+*Enterobacter* spp., *Proteus* spp.+*Citrobacter* spp., *Proteus* spp.+*Serratia* spp., *Proteus* spp.+*E.coli* on the intracellular oxygen dependent metabolism of peritoneal macrophages in mice. Production of active oxygen species by macrophages during the respiratory «explosion» is one of stages of phagocytosis that is necessary for the development of non-specific immunity. One of the ways of studying the respiratory «explosion» *in vitro* is the reaction of restoration of nitroblue tetrazolium (NBT – test) by macrophages. This test allows us to assess the level of antigen irritability of peritoneal macrophages in mice that characterizes the activation level of intracellular antibacterial systems.

Experiments were carried out on 100 white male mice of CBA line in the control group and 100 mice in each experimental group. The assessment of all indicators in the test was made after 12, 36, 72 hours following the inoculations of monocultures and co – cultivated variations.

It has been found out that a more marked ability for restoration of nitroblue tetrazolium is observed in peritoneal macrophages in mice infected by co – cultivated variations compared to their inoculation by monocultures.

Key words: *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp., nitroblue tetrazolium, peritoneal macrophages, respiratory «explosion», enterotoxin, oxygen, metabolic reactions.

Условно-патогенные энтеробактерии характеризуются наличием ряда свойств, определяющих их способность выживать во внутренней среде макроорганизма и противостоять факторам специфической резистентности организма хозяина [4]. Механизм взаимодействия различных патогенных микроорганизмов с клетками хозяина разнообразен и неспецифичен, что предопределяет многообразие клинических проявлений инфекционных процессов

[9]. Следовательно, актуальным на сегодняшний день является изучение взаимодействий в системе «патоген – хозяин».

В патогенезе инфекционного процесса ключевым моментом является изменение реактивных фагоцитов [1,10]. Фагоцитоз сопряжен с серией метаболических реакций, типичными чертами которых являются быстрое увеличение потребления кислорода с превращением его в первичные (супероксиданион –

O₂, перекись водорода – H₂O₂, гидроксильный радикал – OH, синглетный кислород – $\uparrow$ O₂, озон – O₃) и вторичные (гипохлорная кислота – HOCl, хлорамин, продукты перекисного окисления липидов) метаболиты активированного кислорода в системе НАДФ·Н-оксидазы [8,2].

Главная роль в развитии респираторного «взрыва» принадлежит НАДФ·Н-оксидазе, которая является непосредственным транспортером электронов НАДФ от цитозоля к молекулярному кислороду. Стимуляторами НАДФ·Н-оксидазы являются фагоцитированные бактерии, иммунные комплексы, цитокины, опсонизированные частицы, продукты комплемента [6,7]. Однако кислородзависимая микробицидная активность фагоцитов может меняться под действием факторов патогенности бактерий и их ассоциированных вариаций. Установлено, что экзотоксины токсического шока *S.aureus* подавляют продукцию биоцидных соединений фагоцитами. Т.Г. Смирнова с соавт. показали, что ассоциации штаммов *S.aureus* и *L.monocitogenes* устойчивы к действию кислородзависимых и нитроксидзависимых ферментных систем макрофагов [7,5].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования явилось сравнительное изучение влияния термолабильного энтеротоксина монокультур *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.* и их сокультивируемых вариаций на внутриклеточный кислородзависимый метаболизм перитонеальных макрофагов мышей.

Материал и методы

Эксперименты проводились на белых мышах-самцах линии СВА в количестве 100 животных в контрольной группе и по 100 животных в каждой экспериментальной группе.

В группе I моделирование экспериментальной инфекции осуществляли внутрибрюшинным введением бульонных монокультур *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.*, содержащих LT-энтеротоксин в дозе LD₅₀ – 5×10⁸ КОЕ/мл;

В группе II – внутрибрюшинным введением сокультивируемых вариаций: *Enterobacter spp.* + *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.* + *E.coli*, *Citrobacter spp.* + *E.coli*, *Serratia spp.* + *E.coli*, *Proteus spp.* + *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Serratia spp.*, *Proteus spp.* + *E.coli*, штаммов, содержащих LT-энтеротоксин в дозе LD₅₀ – 5×10⁸ КОЕ/мл.

Животным группы III (контрольная) внутрибрюшинно вводился стерильный бульон Хоттингера для исключения влияния внешних и внутренних факторов на характеристики оцениваемых иммунологических параметров.

В качестве объектов для исследований нами были использованы эталонные штаммы *E.coli* ГИСК №280 (патент № 2293765), *E.coli* ГИСК №281 (патент № 2293764), которые были депонированы в Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича и запатентованы.

Сепарацию фагоцитирующих клеток проводили следующим образом: резидентные ПМф у мышей получали промыванием брюшной полости охлажденной средой 199 с гепарином в концентрации 10 ед/мл. Клетки после отмывания разводили до концентрации 10⁶ клеток на 1 мл средой 199, содержащей 200 мг/л L – глутамина и вносили по 1 мл в «сапжки», на дне которых помещались покровные стекла. Инкубированные в течение часа при температуре 37°C Мф прочно прикреплялись к поверхности стекла. Монослойную культуру 3 раза промывали раствором Хенкса. В полученной популяции клеток Мф составляли 25-35%, лимфоциты 60-70%. Примесь гранулоцитов не превышала 5%. Селезенку после извлечения и взвешивания разрезали ножницами на несколько частей, помещали в стеклянный гомогенизатор Поттера с неплотно притертым пестиком и путем 2-3 тракций выдавливали клеточную массу в охлажденную среду 199. Кровь у животных забирали из ретроорбитального синуса в силиконизированные пробирки с 50 Ед гепарина [5].

Мононуклеарные клетки периферической крови получали путем градиентного центрифугирования в плотности феколла-верографина (q = 1,077) в течение 30 минут при 1500 об/мин. Клетки белого кольца отсасывали в силиконовые пробирки [5].

Полученные суспензии клеток фильтровали через слой капроновой сетки, отмывали средой 199 посредством центрифугирования в течение 10 минут при 1000 об/мин. Осадок ресуспензировали в необходимом количестве охлажденной среды 199 и определяли число клеток в камере Горяева. С помощью 0,1% раствора трепанового синего подсчитывали количество живых клеток. Полученные точные взвеси разводили средой 199 до нужной концентрации и использовали для постановки реакций.

Для оценки кислородного «взрыва» существуют различные методы, среди которых наиболее доступным является НСТ-тест. Метод основан на способности макрофагов поглощать нитросиний тетразолий и восстанавливать его в гранулы нерастворимого диформазана синего цвета. Этот тест отражает степень активации НАДФ-оксидазы и гексозо-монофосфатного шунта.

Спонтанный НСТ-тест характеризует спонтанную активность макрофагов, а стимулированный пирогеналом НСТ-тест – индуцированную активность. Для постановки НСТ-теста к 0,1 мл перитонеальных макрофагов мышей добавляли 0,1 мл 0,2 % нитросинего тетразолия. Смесь инкубировали на

водяной бане при температуре 37°C в течение 25 минут и при комнатной температуре в течение 15 минут. Далее клетки трижды отмывали средой 199 и готовили мазки. Высушенные препараты фиксировали метанолом и окрашивали 2 % водным раствором метилового зеленого в течение 2-5 минут.

В каждом мазке подсчитывали 100 перитонеальных макрофагов, среди которых определяли процент клеток, содержащих отложения диформазана (рис. 1).

Статистическая обработка результатов проводилась общепринятыми методами вариационной статистики, а также с помощью компьютерной программы для статистических расчетов «StatBase» [3].

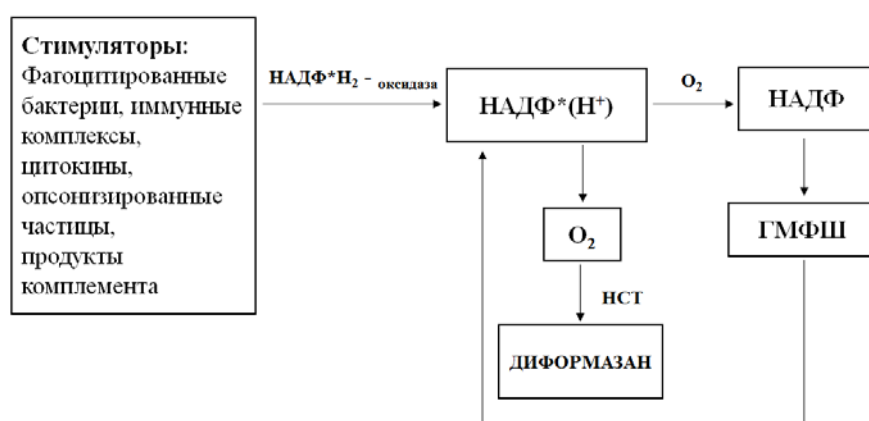


Рис. 1. Схема реакций, приводящих к образованию диформазана

Результаты и обсуждение

Оценка активности спонтанной НСТ-реакции перитонеальных макрофагов показала увеличение их НСТ-редуцирующей способности. Обращает на себя внимание тот факт, что в перитонеальных макрофагах мышей I группы активность процессов образова-

ния активных форм кислорода несколько ниже по сравнению со II экспериментальной группой, причем увеличение образования супероксидного аниона относительно контроля наблюдается уже через 12 часов эксперимента при введении сокультивируемых вариаций (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1

Спонтанная НСТ-активность при исследовании монокультур и сокультивируемых вариаций бактерий родов *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *E.coli*, *Proteus spp.*, %

Культуры бактерий	Сроки исследования после введения культур		
	12 часов	36 часов	72 часа
<i>Enterobacter spp. (LT+)</i>	30,9±9,5	46,4±2,8	58,3±9,5
<i>Citrobacter spp. (LT+)</i>	33,6±4,5	40,8±3,7	59,9±8,5
<i>Serratia spp. (LT+)</i>	33,0±3,1	44,2±1,9	55,4±11,1
<i>E.coli (LT+)</i>	29,2±2,3	40,2±7,3	50,3±4,6
<i>Proteus spp. (LT+)</i>	34,3±18,2	46,0±6,1	56,0±6,1
<i>Ent.(LT+) + Citr. (LT+)</i>	50,3±0,3	67,8±7,8	77,8±7,8
<i>Ent.(LT+) + Ser. (LT+)</i>	55,5±0,7	63,1±3,8	77,3±1,7
<i>Citr. (LT+) + Ser. (LT+)</i>	59,9±0,9	68,8±1,1	80,1±1,8
<i>Ent. (LT+) + E.coli (LT+)</i>	53,3±1,3	67,1±1,1	79,9±2,1
<i>Citr.(LT+) + E.coli (LT+)</i>	59,3±1,3	66,8±2,6	78,1±2,8
<i>Serr.(LT+) + E.coli (LT+)</i>	55,5±0,7	69,5±2,7	75,5±2,4
<i>Prot.(LT+) + Ent.(LT+)</i>	53,3±0,3	68,8±2,6	75,1±2,8
<i>Prot.(LT+) + Citr.(LT+)</i>	55,5±0,7	67,7±2,7	74,4±2,6
<i>Prot.(LT+) + Serr. (LT+)</i>	54,4±0,7	67,8±2,2	74,2±2,8
<i>Prot.(LT+) + E.coli (LT+)</i>	51,3±0,7	66,6±2,4	85,4±2,5
Контроль	21,3±0,7	20,6±2,4	20,5±2,5

В другой серии экспериментов установлено, что индуцированная НСТ-реакция макро-

фагов была ниже, чем спонтанная. Следует отметить, что во II группе мышей показатели

спонтанной НСТ-реакции имели достоверно высокие значения по сравнению с контролем и I группой соответственно. Сравнительный анализ

индуцированной НСТ-восстанавливающей способности относительно II группы показал статистически значимые различия (табл. 2, рис. 3).

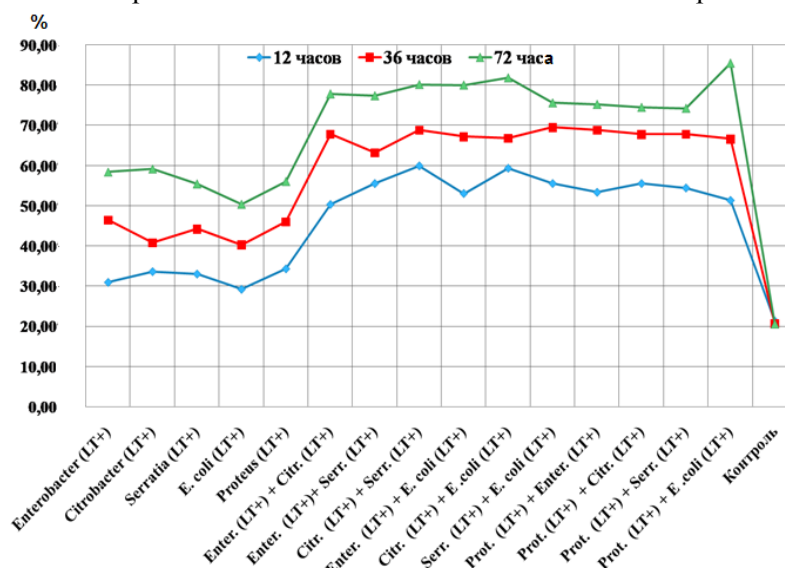


Рис. 2. Спонтанная НСТ-активность перитонеальных макрофагов у мышей, зараженных монокультурами и сокультивируемыми вариациями *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp.

Таблица 2

Индукцированная НСТ-активность при исследовании монокультур и сокультивируемых вариаций бактерий родов *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp., %

Культуры бактерий	Сроки исследования после введения культур		
	12 часов	36 часов	72 часа
<i>Enterobacter</i> spp.(LT+)	37,1±4,8	44,2±5,7	54,2±5,7
<i>Citrobacter</i> spp.(LT+)	39,3±8,6	45,2±6,7	55,5±6,4
<i>Serratia</i> spp. (LT+)	41,9±5,8	46,3±5,5	56,1±7,8
<i>E.coli</i> (LT+)	36,2±2,9	43,5±6,4	53,5±6,4
<i>Proteus</i> spp. (LT+)	42,6±6,3	48,1±7,8	56,1±7,8
<i>Ent.</i> (LT+) + <i>Citr.</i> (LT+)	50,2±5,8	56,4±5,5	68,5±6,4
<i>Ent.</i> (LT+) + <i>Ser.</i> (LT+)	50,5±6,4	55,4±6,5	66,4±5,5
<i>Citr.</i> (LT+) + <i>Ser.</i> (LT+)	51,2±7,7	55,3±4,6	69,3±5,6
<i>Ent.</i> (LT+) + <i>E.coli</i> (LT+)	49,9±7,7	54,1±5,8	65,2±4,7
<i>Citr.</i> (LT+) + <i>E.coli</i> (LT+)	50,2±5,7	56,5±6,4	66,3±4,6
<i>Serr.</i> (LT+) + <i>E.coli</i> (LT+)	51,4±6,5	55,2±6,7	65,2±4,7
<i>Prot.</i> (LT+) + <i>Ent.</i> (LT+)	52,6±6,3	59,3±5,6	68,3±7,8
<i>Prot.</i> (LT+) + <i>Citr.</i> (LT+)	53,5±6,4	60,3±6,6	70,5±6,4
<i>Prot.</i> (LT+) + <i>Serr.</i> (LT+)	54,2±5,7	61,2±7,7	71,3±8,6
<i>Prot.</i> (LT+) + <i>E.coli</i> (LT+)	55,4±6,5	63,1±6,8	79,1±6,8
Контроль	29,5±2,5	33,1±0,8	32,7±3,6

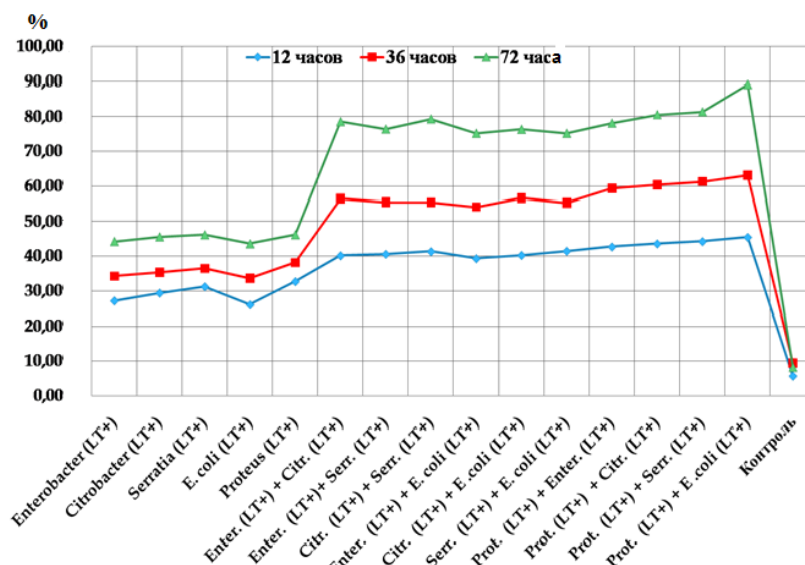


Рис. 3. Индуцированная НСТ-активность перитонеальных макрофагов у мышей, зараженных монокультурами и сокультивируемыми вариациями *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *E.coli*, *Proteus* spp.

Полученные данные свидетельствуют о предельных возможностях работы гексозоминофосфатного шунта клеток под действием токсических продуктов сокультивируемых вариаций поскольку показатели количества образования свободных радикалов без индукции были намного выше (рис. 2, 3).

Заключение

Таким образом, результаты исследования показывают, что в перитонеальных макрофагах мышей, инфицированных сокультивируемыми вариациями, происходит более выраженная способность к восстановлению НСТ, чем при инфицировании их монокультурами, что отражает дефекты кислородзависимых механизмов бактерицидности ассоциаций условно-патогенных энтеробактерий.

Следовательно, это может служить предпосылкой к отнесению ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* к этиологически значимым. При воздействии монокультур не происходит подавление фагоцитоза, а при добавлении сокультивируемых вариаций идет его усиление, что наглядно показывает НСТ-тест. Это свидетельствует о том, что *Enterobacter spp.* + *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.* + *E.coli*, *Citrobacter spp.* + *E.coli*, *Serratia spp.* + *E.coli*, *Proteus spp.* + *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Serratia spp.*, *Proteus spp.* + *E.coli* не истощают резервные возможности фагоцитов.

Сведения об авторах статьи:

Габидуллин Юлай Зайнуллович – д.м.н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: guz010877@mail.ru.

Лазарева Анна Юрьевна – студентка ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: lazarevaayu@mail.ru.

Градусова Мария Юрьевна – студентка ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: gradusova.maria@mail.ru.

Гибзав Нуршат Нургаринович – к.м.н., врач ГБУЗ РБ ГДКБ №17. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Свободы, 29.

Суфияров Ринат Сабитович – д.м.н., профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: rinat_suf@mail.ru.

Туйгунов Марсель Маратович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: tuygunov@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

- Brinkman, V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkman // Science. – 2004. – Vol. 303. – P. 1532-1535.
- Tundidor-Bermudez, A.M. A xanthogranulomatous psoas abscess 4 years after nephrectomy for xanthogranulomatous pyelonephritis / A.M.Tundidor-Bermudez, D. Brene-Padron // Arch. Esp. Urol. – 1993. – Vol. 46. – P.428-429.
- Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. – СПб.: Изд-во Мед. литературы, 1962. – 180 с.
- Бухарин, О.В. Экологическая детерминированность внутривидового разнообразия патогенных бактерий / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко // Микробиология. – 2000. – №1. – С.103-105.
- Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург: УрОРАН, 2001. – С. 18-24.
- Долгушин, И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А.И. Рыжкова. – М., 2009. – С. 9-89.
- Маянский, А.Н. НАДФН-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 3-13.
- Сурикова, Е.В. Факторы персистенции клебсиелл / Е.В. Сурикова // Микробиология. – 1994. – № 5 (приложение). – С. 104-106.
- Хуснутдинова, Л.М. Межбактериальные взаимодействия на слизистой оболочке миндалин человека: дисс. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2004. – 144 с.
- Шишкова, Ю.С. Роль нейтрофилов в формировании колонизационной резистентности слизистых оболочек: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2010. – 38 с.

УДК 617.713

© Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова, 2017

Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова ПРЕПАРАТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа

Для исследования целостности корнеэпителия при травмах и повреждениях роговицы традиционно используют раствор флуоресцеина и реже бенгальский розовый. Однако эти препараты не всегда имеются в арсенале специалистов. Поэтому для выявления дефектов роговичного эпителия в качестве красителей стали применять колларгол или рибофлавин. Целью данного исследования стало изучение возможности применения раствора рибофлавина с гидроксипропилметилцеллюлозой для диагностики повреждений эпителия роговицы. В эксперименте изучено разработанное офтальмологическое средство, содержащее 1% раствор рибофлавина мононуклеотида с 1% гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ), в сравнении с 1% раствором флуоресцеина (контроль) и 1% раствором рибофлавина мононуклеотида с 20% декстраном.

Выявлена высокая окрашивающая способность полимерсодержащих растворов рибофлавина с декстраном и с ГПМЦ в сравнении с водным флуоресцеином, что связано с образованием устойчивой пленки на поверхности роговицы. Сравнительное изучение средств с рибофлавином / декстраном и рибофлавином / ГПМЦ показало более значимую эффективность последнего за счет стабильной прекорнеальной красящей пленки благодаря вязкости раствора и оптимальной концентрации рибофлавина мононуклеотида в слоях передней стромы. При этом отсутствовал дегидрирующий эффект роговицы,