

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА В ЛЕЧЕНИИ МОДЕЛИРОВАННОГО ЩЕЛОЧНОГО ОЖОГА ГЛАЗ

Р.И. Чаланова, И.И. Романовская, С.С. Декина,
О.Н. Михайлов

*ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии
им. В.П.Филатова" НАМН Украины (Одесса)
Физико-химический институт им. О.В. Богатского
НАН Украины (Одесса)*

Введение

Развитие патогенеза ожоговой болезни глаз связано с образованием некротических тканей вследствие воздействия альтерирующего агента на биологические структуры переднего отдела органа зрения. Всасывание продуктов дезорганизации соединительной ткани конъюнктивы и роговицы при ожогах глаз является причиной интоксикации, что осложняет течение ожогового процесса. В связи с этим, актуальным является поиск новых эффективных препаратов и методов для проведения местной дезинтоксикационной терапии в комплексном лечении ожогов глаз.

Среди возможных средств для проведения сорбционной терапии наше внимание привлек сывороточный альбумин человека (САЧ), благодаря высокой способности к комплексообразованию. Этот белковый препарат является представителем транспортных систем крови, в медицине САЧ широко применяется в инфузионной терапии. Известна его способность к связыванию различных соединений: н-пропанола, толуола, производных родамина, твина-80, йода, алкилпроизводных 2,4-динитрофенола, эпихлоргидрина и др [1-6]. Ранее на модели щелочного ожога нами показана его способность сорбировать кислоты и щелочи, которые являются основными этиологическими факторами ожоговых повреждений глаз [7]. Интерес

предлагает изучение способности САЧ к связыванию белковых компонентов, которые образуются в тканях вследствие ожога и являются субстратами воспалительной реакции.

Целью исследований явилось изучение сорбционной способности сывороточного альбумина человека в отношении белка при моделированном изолированном тяжелом щелочном ожоге роговицы.

Материал и методы исследования

Изолированный химический ожог роговицы воспроизводили на обоих глазах 12 кроликов фильтровальной бумагой, смоченной 10 % NaOH с экспозицией 10 секунд. После альтерации глазное яблоко орошалось 5,0 мл физиологического раствора. В процессе исследований один глаз оставался контрольным, а на контрлатеральном глазу проводилось лечение в виде однократной аппликации 2,0 мл 2 % раствора САЧ. Аппликации альбумина проводились ежедневно на протяжении 11 суток с момента ожога. Для проведения лечения в конъюнктивальную полость опытного глаза после трехкратной инстилляцией Sol. Alkaini вставлялась ванночка-векорасширитель, которая наполнялась 2,0 мл 2 % раствора САЧ. В конъюнктивальной полости ванночка удерживалась 10 минут. После выведения ванночки из конъюнктивальной полости глазное яблоко промывали физиологическим раствором. До и после лечения производили забор раствора альбумина в качестве пробы на содержание свободного белка.

На 1-е, 3, 7 и 11 сутки в состоянии этиминал-натриевого наркоза животных выводили из эксперимента методом воздушной эмболии для проведения гистохимических исследований *in vitro*.

Для определения общего содержания белка в ожоговом струпе роговицы навеску исследуемой ткани помещали в стеклянный гомогенизатор, добавляли 1,0 см³ дистиллированной воды и гомогенизировали в течение 20 мин. Полученный гомогенат переносили количественно в мерную колбу на 25 см³.

Общее содержание белка в исследуемых растворах определяли по методу Лоури в модификации Хартри [8].

Полученные результаты и их обсуждение

При проведении экспериментальных исследований было установлено, что содержание растворимого белка в рабочем раство-

ре 2 % САЧ после выполнения лечебной аппликации по сравнению с контрольными пробами, взятыми до лечения, было достоверно увеличено на 1 и 3 сутки с момента ожога (табл.1).

Таблица 1

Содержание белка в растворах сывороточного альбумина человека до и после проведения аппликаций при моделированном щелочном изолированном ожоге роговицы

Время наблюдения (в сутках)	Содержание белка в растворах САЧ, мг, (M±m)	
	До аппликации	После аппликации
1	67,8 ± 3,9	82,1 ± 5,1 *
3	60,8 ± 4,1	80,9 ± 5,0 *
7	70,2 ± 3,4	70,7 ± 4,7
11	71,0 ± 3,5	70,2 ± 4,3

Примечание: * - достоверные различия показателя в исследуемых пробах.

Если в контрольных пробах на 1 и 3 сутки наблюдения содержание белка составило 67,8 ± 3,9 мг и 60,8 ± 4,1 мг, то после лечения содержание белка увеличилось до 82,1 ± 5,1 мг и 80,9 ± 5,0 мг соответственно (P < 0,05). Как видно из данных таблицы 1 на 7 и 11 сутки наблюдения содержание белка в пробах до и после лечения достоверно не различалось. Эти данные свидетельствуют об активной сорбции белка альбумином в ранние сроки с момента ожога, в период максимальной дезорганизации соединительной ткани роговицы, вызванной ожоговым повреждением глаза.

• Нами изучено суммарное содержание растворимого белка в струпе роговицы и в рабочем растворе в динамике ожогового процесса в опытных пробах при проведении лечения альбумином. Как видно из данных, представленных в таблице 2, содержание растворимого белка в контрольных пробах на первые сутки наблюдения составляло 5,3±0,5 мг и постепенно снижалось на 3,7 и 11 сутки наблюдения, составляя соответственно 2,7 ± 0,1 мг; 1,4 ± 0,05 мг и 1,0 ± 0,05 мг. Исследования, проведенные на опытных глазах с аппликациями альбумина, показали значительное увеличение высвобожденного растворимого белка, которое мы оценили по сумме его содержания в роговичном струпе и в рабочем растворе альбумина (табл. 2).

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Таблица 2

Содержание растворимого белка в обожженной роговице при применении аппликаций 2 % раствора сывороточного альбумина человека в динамике моделированного ожогового процесса

Время Наблюдения (сутки)	Содержание растворимого белка; мг, (M±m)	
	Контрольные пробы (растворимый белок в струпе)	Опытные пробы (растворимый белок в струпе и в рабочем растворе)
1 (n=6)	5,3 ± 0,5	16,9 ± 0,8
3 (n=6)	2,7±0,1	22,1 ± 1,0
7 (n=6)	1,4±0,05	3,5 ± 0,02
11 (n=6)	1,0±0,05	2,0 ± 0,01

Представленные данные экспериментальных исследований свидетельствуют об инициации высвобождения растворимых форм белка при применении аппликаций 2 % раствора альбумина. Как видно из данных таблицы 2 после первой аппликации САЧ содержание растворимого белка в 3 раза превышало содержание такового в контрольных пробах. На третьи сутки отмечено дальнейшее повышение этого показателя в 8,2 раза. На 7 и 11 сутки наблюдения содержание растворимых форм белка в опытных пробах было в 2,5 и 2 раза выше, чем в контрольных пробах. Эти показатели свидетельствуют о возможном продолжающемся процессе взаимодействия альбумина с белковыми субстратами обожженной роговицы.

Выводы

1. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой сорбционной способности 2 % сывороточного альбумина в отношении белковых субстратов обожженной роговицы.
2. Наиболее активно процессы сорбции белка 2 % альбумином выявлены на протяжении первых трех суток наблюдения.
3. На второй неделе наблюдения сорбционная способность альбумина в отношении белка еще сохраняется, но протекает на сниженном уровне (по сравнению с результатами наблюдений на первой неделе после ожога).

Травми органу зору

Литература

1. Сакодынская И.К. Ферментативная активность комплексов полимер-белок в смешивающихся с водой органических растворителях / И.К. Сакодынская, Е.М. Сорокина, Н.В. Ефремова // Биорган. химия. - 1999. - Т.25, № 6. - С.439-443.

2. Низимов Н. Спектрально-люмигисцентные свойства производных родамина при связывании с сывороточным альбумином производных родамина / Н. Низимов, З.Ф. Исмаилов, Э.Н. Курталиев // Журн. прикл. спектроскопии. - 2006. - Т.73, № 3. - С. 380-384.

3. Ямпольская Г.П. Исследование взаимодействия неионного поверхностно-активного вещества (твин-80) с сывороточным альбумином оптическими методами / Г.П. Ямпольская, Н.М. Задымова, Б.Н. Тарасевич // Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2. Химия. - 2004. - Т.45, № 6. - С.371-375.

4. Гузенко Н.В. Адсорбция йода на поверхности кремнезема, модифицированного поливинилпирролидоном и белком / Н.В. Гузенко, О.Е. Воронина, Н.Н. Власова // Журн. прикл. спектроскопии. - 2004. - Т.71, № 2. - С.141-144.

5. Лукьянчук В.Д. Влияние силибора в комбинации с ацетатом α -токоферола на токсикокинетику динитроортокрезола в условиях острой интоксикации / В.Д. Лукьянчук, Д.С. Кравец // Современные проблемы токсикологии. - 2001. - № 2. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: http://www.medved.kiev.ua/archiv_mg/st_2001/01

6. Высоцкий И. Ю. Связывание эпихлоргидрина сывороточной крови и ее белковыми фракциями / И.Ю.Высоцкий // Современные проблемы токсикологии. - 1999. - № 2. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: http://www.medved.kiev.ua/archiv_mg/2_99.htm.

7. Розробка очних лікарських плівки з сироватковим альбуміном людини / І.І.Романовська, С.С.Декіна, Р.І.Чаланова, Г.В. Глушак // Медична хімія. - 2008. - Т.10, № 1. - С.15-19.

8. Hartree E.E. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response / E.E. Hartree // Anal. Biochem. - 1972. - V. 48, №.1. - P.422-427.

Резюме

Чаланова Р.И., Романовская И.И., Декина С.С., Михайлов О.Н. Изучение сорбционных свойств человеческого сывороточного альбумина в лечении моделированного щелочного ожога глаз.

Установлены высокие сорбционные свойства 2% человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) в отношении свободного белка. Применение однократных аппликаций ЧСА при моделированном изолированном щелочном ожоге способствует выходу растворимого белка из обожженных тканей переднего отдела глаза, чем обеспечивается дезинтоксикационный лечебный эффект. Сорбционный эффект установлен на протяжении 11-и суток наблюдения, однако, наиболее активно сорбция белка осуществляется в первые трое суток с момента ожога.

Ключевые слова: сывороточный альбумин, щелочной ожог.

Резюме

Чаланова Р.І., Романовська І.І., Декина С.С., Михайлов О.М. Вивчення сорбційних властивостей людського сироваткового альбуміну в лікуванні модельованого лужного опіку очей.

Встановлені високі сорбційні властивості 2% людського сироваткового альбуміну (ЛСА) відносно вільного білка. Застосування одноразових аппликацій ЛСА при моделірованому ізольованому лужному опіку сприяє виходу розчинної білка з обпалених тканин переднього відділу ока, чим забезпечується дезінтоксикаційний лікувальний ефект. Сорбційний ефект встановлений протягом 11-ти днів спостереження, однак, найбільш активно сорбція білка здійснюється в перші три доби з моменту опіку.

Ключові слова: сироватковий альбумін, лужний опік.

Summary

Chalanova R., Romanovskaya I., Dekina S., Mikhailov O. Study of sorption properties of human serum albumin in the treatment of a simulated alkali burns of the eyes.

Set high sorption properties of 2% of human serum albumin (HSA) in relation to the free protein. The use of single applications HSA at the modeled isolated alkaline burn contributes to the output of soluble proteins of burnt tissues of the anterior part of the eye, which is detoxification therapeutic effect. The sorption effect is set during the 11-day observation, however, the most actively sorption of protein is in the first three days from the moment of the burn.

Key words: serum albumin, simulated alkali burns.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Сергієнко