



Таким образом, на примере реакции окисления МДФАСК периодат-ионами в слабощелочной среде проведена оценка синергетического эффекта иридия (IV) и родия (III), установлены вероятные его причины. Рассчитана величина отклонения оптической плотности, вызванного синергетическим эффектом, учет которой позволяет улучшить результаты дифференциального кинетического определения иридия (IV) и родия (III).

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (грант 2007-3-1.3-28-01-229).*

УДК 543.54:547

## НЕКОТОРЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОМУ РАЗДЕЛЕНИЮ $\alpha$ -АМИНОКИСЛОТ

Р.К. Чернова, Е.И. Селифонова, И.В. Косырева

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: ChernovaRK@info.sgu.ru

Приведены области применения незаменимых  $\alpha$ -аминокислот, в том числе в составе питательных сред для культивирования кератиноцитов в комбустиологии. Рассмотрены подходы к разделению  $\alpha$ -аминокислот методом зонального электрофореза на целлюлозной матрице, основанные на различии: молекулярных масс (аланин – фенилаланин, аланин – триптофан); изоэлектрических точек (лизин – аспарагиновая кислота) и ионной ассоциации с ПАВ. Показана возможность цветометрического определения разделенных аминокислот после проявления пятен нингидрином. Методом «введено – найдено» оценена правильность результатов.

### Some Methodological Approaches to Electrophoretical Separation of Alpha-Amino Acids

R.K. Chernova, E. I. Seliphonova, I.V. Kosyreva

The field of application of indispensable alpha-amino acids, including nutrient media for cultivating keratinocytes in combustiology, is outlined. Considered are some approaches to separation of alpha-amino acids with the aid of zonal electrophoresis on a cellulose matrix in terms of differences between: molecular masses (alanine – phenylalanine, alanine – tryptophan); isoelectric points (lysine – asparagine acid), and ionic association with surfactants. The possibility of colorimetric determination of separated amino acids after the spot having been developed with ninhydrine is shown. The validity of results was estimated by the introduced-found technique.

Аминокислоты – обширный класс органических соединений с различной природой кислотной функции, насчитывающий более

### Библиографический список

1. Перес-Бендито Д., Сильва М. Кинетические методы в аналитической химии. М.: Мир, 1991. 395 с.
2. Капустина Е.В., Бурмистрова Н.А., Муштакова С.П. Дифференциальное каталитическое определение иридия(IV) и родия(III) по реакции окисления N-метилдифениламин-4-сульфоуксусной кислоты // Журн. аналит. химии. 2006. Т.61, №3. С.305–309.
3. Золотов Ю.А., Варшав М.Г., Иванов В.М. Аналитическая химия металлов платиновой группы. М.: Едиториал УРСС, 2003. 592 с.
4. Wang J., He R. The mutual catalytic in catalytic reactions effects and its application to simultaneous determination of binary components // Microchim. Acta. 1994. V.117. P.23–30.



300 представителей. Особое место среди этих соединений принадлежит 20  $\alpha$ -аминокислотам, входящим в состав белковых молекул (табл.1). Индивидуальные  $\alpha$ -аминокислоты, а также их смеси применяют в медицине для парэнтерального питания больных при нарушениях обмена веществ. Одно из ведущих направлений в комбустиологии основано на использовании культивированных клеток кожи, выращенных в лабораторных условиях и нанесенных на пленочные микропористые покрытия. Для культивирования кератиноцитов больного человека используются питательные среды, содержащие широкий набор  $\alpha$ -аминокислот, их производных, витаминов, коферментов, углеводов. Практически отсутствуют работы, посвященные разделению и определению  $\alpha$ -аминокислот в таких смесях. Аналогичная задача стоит и при использовании смесей  $\alpha$ -аминокислот в качестве фармпрепаратов, в животноводстве для обогащения кормов, в качестве пищевых добавок, в органическом синтезе и других областях науки и производства [1–4]. Аминокислоты можно классифицировать по разным признакам:





Таблица 1

Исследованные аминокислоты,  
классифицированные по полярности радикалов

| Аминокислоты                               | Принятые сокращенные обозначения | M/pI     |
|--------------------------------------------|----------------------------------|----------|
| <i>1. Неполярные R-группы</i>              |                                  |          |
| Аланин                                     | Ala, (A)*                        | 89/6,00  |
| Валин                                      | Val, (V)                         | 117/5,96 |
| Изолейцин                                  | Ile, (I)                         | 113/5,94 |
| <i>2. Полярные, незаряженные R-группы</i>  |                                  |          |
| Треонин                                    | Thr, (T)                         | 119/5,64 |
| Метионин                                   | Met, (M)                         | 149/5,74 |
| Аспарагин                                  | Asn, (N)                         | 132/5,41 |
| Глутамин                                   | Gln, (Q)                         | 146/5,65 |
| <i>3. Ароматические R-группы</i>           |                                  |          |
| Фенилаланин                                | Phe, (F)                         | 165/5,48 |
| Триптофан                                  | Trp, (W)                         | 204/5,89 |
| <i>4. Отрицательно заряженные R-группы</i> |                                  |          |
| Аспарагиновая кислота                      | Asp, (D)                         | 133/2,77 |
| <i>5. Положительно заряженные R-группы</i> |                                  |          |
| Лизин                                      | Lys, (K)                         | 146/9,59 |

\* В скобках дается однобуквенное обозначение аминокислот, рекомендуемое ИЮПАК.

- по положению изоэлектрической точки pI, т.е. преобладающему количеству кислотных или основных групп;

- по химическому строению радикалов (ароматические, алифатические, гетероциклические, а также аминокислоты серу- или гидроксил-содержащие);

- по строению соединений, получающихся при расщеплении углеродной цепи протеиногенных аминокислот (глюкогенные, кетогенные);

- по биологическому значению (заменимые, полужаменимые и незаменимые) [1, 5].

Современная рациональная классификация аминокислот основана на полярности радикалов, т.е. способности их к взаимодействию с водой при физиологических значениях pH [4, 6].

В настоящей работе исследовались представители  $\alpha$ -аминокислот всех указанных групп.

В связи с широким применением  $\alpha$ -аминокислот, востребованы эффективные методы их выделения и определения в различных

объектах. В настоящее время для разделения и определения смесей  $\alpha$ -аминокислот и пептидов применяют автоматические анализаторы-хроматографы [7–9], а также спектрофотометрию [10, 11], полярографию [12–14], проточно-инжекционный анализ [15]. Сравнительная характеристика указанных методов дана на рис.1.

Как видно из рис.1, к настоящему времени известно более 30 работ, посвященных данной проблеме. Эффективные, но трудоемкие и сложные хроматомасспектроскопические [16, 17], капиллярно-электрофоретические [18–26], хроматографические (вариант ВЭЖХ) [27–29] методы разделения и определения  $\alpha$ -аминокислот мало доступны рядовым клиническим и производственным лабораториям, и применимы для решения специальных задач. В настоящее время востребованы простые и быстрые способы селективного тестирования наличия отдельных аминокислот при установлении аминокислотного состава белковых гидролизатов, диагностике нарушений аминокислотного и белкового обмена, а также при аналитическом контроле пептидного синтеза, что важно для изучения механизмов, лежащих в основе различных патологий и в поисках новых, более эффективных методов лечения.

Эффективным методом разделения органических молекул является электрофорез [30–33]. Различные его варианты (зонный, изотахофорез, капиллярный, в свободном потоке и др.) широко применяются в биологии, медицине, биохимии для разделения белков, алкалоидов, сахаров, органических кислот и т.п. Электрофоретическое поведение  $\alpha$ -аминокислот изучено весьма мало.

В данной работе рассмотрены некоторые методологические подходы к разделению  $\alpha$ -аминокислот с помощью зонного электрофореза на целлюлозной матрице с последующим цветометрическим тестированием.

Основными достоинствами бумажных носителей являются доступность, простота, дешевизна. В то же время высокая адсорбционная способность, неоднородность, наличие существенных электроосмотических потоков являются негативными факторами. Электрофоретическому поведению  $\alpha$ -аминокислот на бумажных носителях посвящены единичные работы [34].



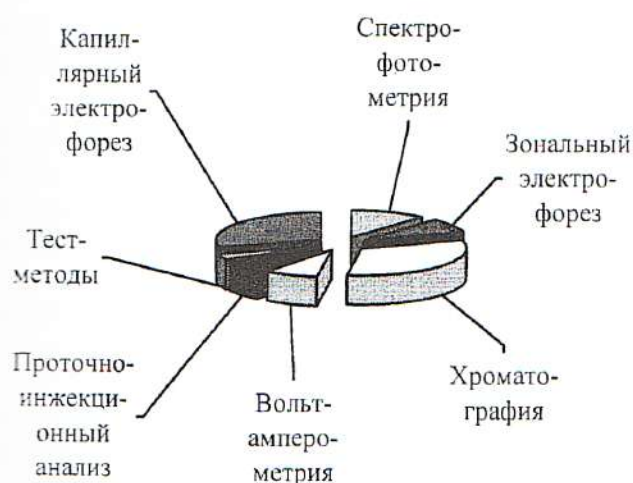


Рис. 1. Относительное количество работ по методам разделения и определения  $\alpha$ -аминокислот

Для проведения электрофореза полоски фильтровальной бумаги размером  $1,5 \times 30 \text{ см}^2$  смачивали буферным раствором (электролитом), предварительно отметив линию старта, удаляли избыток электролита фильтровальной бумагой и помещали в электрофоретическую камеру (рис. 2) так, чтобы их концы были опущены в электролит. Графитовые электроды опускали в электрофоретическую камеру так, чтобы они были погружены в электролит, закрывали камеру крышкой и подключали к источнику постоянного тока ( $I = 2,0\text{--}2,5 \text{ мА}$ ,  $U = 520 \text{ В}$ ), время экспозиции –  $1,5\text{--}2$  часа. Затем бумагу сушили при  $100\text{--}105^\circ\text{C}$  в сушильном шкафу. Для проявления зон электрофореграммы опрыскивали  $0,1\%$ -ным водным раствором нингидрина и сушили при той же температуре. Через 10 мин наблюдали фиолетовое окрашивание зон. Измеряли расстояние, пройденное исследуемым веществом от линии старта до начала пятна ( $R$ ).

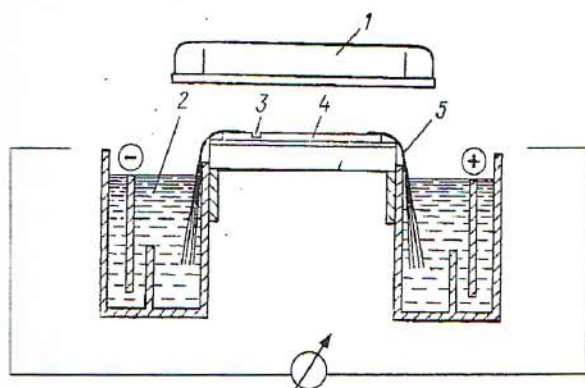


Рис. 2. Прибор для зонального электрофореза: 1 – крышка электрофоретической камеры; 2 – электродный резервуар; 3 – полоски бумаги, пропитанные буферным раствором; 4 – стеклянные мостики; 5 – электроды

В основу электрофоретического разделения  $\alpha$ -аминокислот может быть положен ряд подходов, базирующихся на различии: в молекулярных массах, значениях изоэлектрических точек, специфике образования и поведения  $\alpha$ -аминокислот при образовании ионных пар с ПАВ. Представляло интерес исследовать влияние указанных факторов на электрофоретическое поведение  $\alpha$ -аминокислот в заданных условиях эксперимента ( $30\% \text{ CH}_3\text{COOH}$ ; буферный раствор с  $\text{pH} = 8\text{--}9$ ;  $I = 2,0\text{--}2,5 \text{ мА}$ ;  $U = 500\text{--}550 \text{ В}$ ; время экспозиции  $1,0\text{--}2,0$  часа).

#### Электрофоретическое поведение $\alpha$ -аминокислот с разной молекулярной массой

Известно, что скорость миграции частиц в постоянном электрическом поле зависит от величины заряда, молекулярной массы, формы частиц, напряженности электрического поля, а также от степени взаимодействия частицы с буферным раствором. Учитывая, что в выбранной среде ( $30\%$ -ная  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) заряд всех исследованных частиц  $\alpha$ -аминокислот одинаков и положителен, а молекулярные массы существенно отличаются, было изучено электрофоретическое поведение одиннадцати  $\alpha$ -аминокислот (см. табл. 1) в идентичных условиях и построена зависимость величин  $R$  от молекулярных масс (рис. 3). Как следует из рис. 3, в исследуемом ряду наблюдается отчетливая зависимость: чем больше молекулярная масса кислоты, тем меньше пройдено расстояние от линии старта.

Анализируя полученную зависимость, можно прогнозировать возможность электрофоретического разделения  $\alpha$ -аминокислот

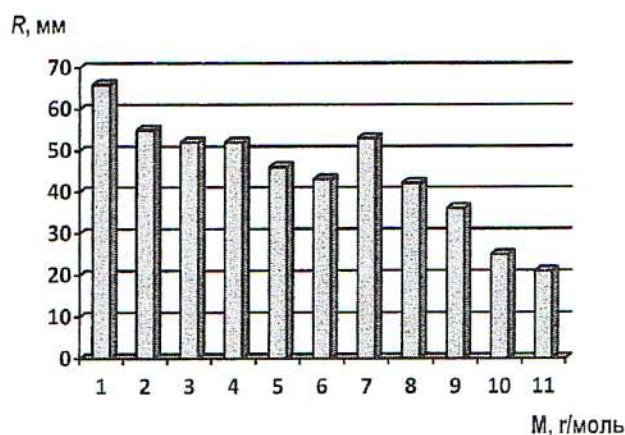


Рис. 3. Зависимость расстояний, пройденных аминокислотами, от их молекулярных масс





при условии, что разница в молекулярных массах разделяемых кислот ( $\Delta M$ ) должна находиться в интервале 80–100 г/М, а расстояние между разделенными зонами ( $\Delta R$ ) должно составлять 30–40 мм.

Для доказательства справедливости высказанных соображений проведено электрофоретическое разделение смесей аланин – фенилаланин и аланин – триптофан. Аминокислоты резко отличаются по величинам молекулярных масс и очень близки по величинам изоэлектрических точек ( $pI = 6,0$ ).

На рис. 4 представлена зависимость расстояния между окрашенными зонами от концентрации уксусной кислоты.

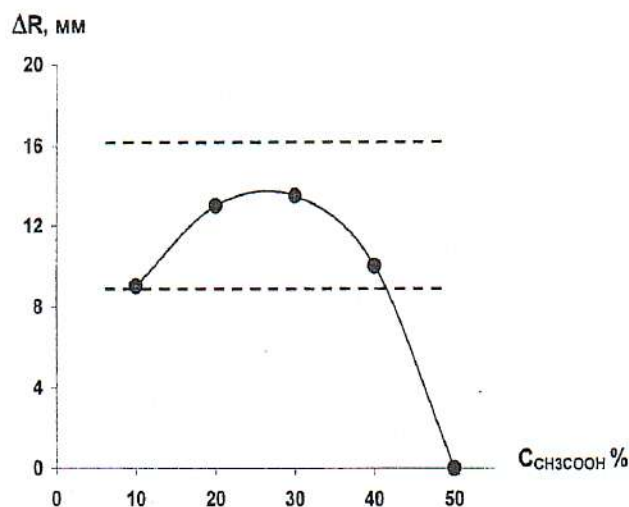


Рис. 4. Зависимость расстояния между окрашенными зонами от концентрации уксусной кислоты (смесь аланин – фенилаланин)

Из полученных данных видно, что оптимальной средой для разделения указанных смесей могут быть 20%-ная и 30%-ная  $CH_3COOH$ . Предпочтение следует отдать 30%  $CH_3COOH$ , поскольку в этой среде удастся получить более четкие зоны с более интенсивным окрашиванием.

Для оценки электрофоретически разделенных аминокислот в смесях аланин – фенилаланин и аланин – триптофан применен метод цветометрии [35–36].

Окрашенные вещества на адсорбенте представляют собой систему, в которой каждая ее точка может быть представлена не только в координатах  $X, Y, Z$ , но и в координатах основных цветов  $R, G, B$ . Эти индивидуальные параметры позволяют построить градуировочную зависимость усредненных

цветометрических характеристик  $R, G, B$  от логарифма концентрации исследуемого вещества.

Нами апробирована данная методика оценки интенсивности окраски полученных электрофореграмм по программе Photoshop 6.0 с применением сканера фирмы «Acet Scan Prisa 340 P».

Необходимую часть изображения усредняли до 1 пикселя и оценивали его цветность в стандартных единицах цветности  $R, G, B$ .

Для каждой  $\alpha$ -аминокислоты выбирался наиболее яркий канал. Выбор наиболее яркого параметра осуществляли в соответствии с коэффициентом корреляции градуировочного графика. Ниже приведены градуировочные зависимости в координатах основных цветов ( $R, B$ ) – логарифм концентрации исследуемой  $\alpha$ -аминокислоты, на основании которых возможно их определение в смеси (рис. 5). Оценка правильности разработанной методики проводилась способом «введено – найдено». Относительная погрешность составила 10–15%.

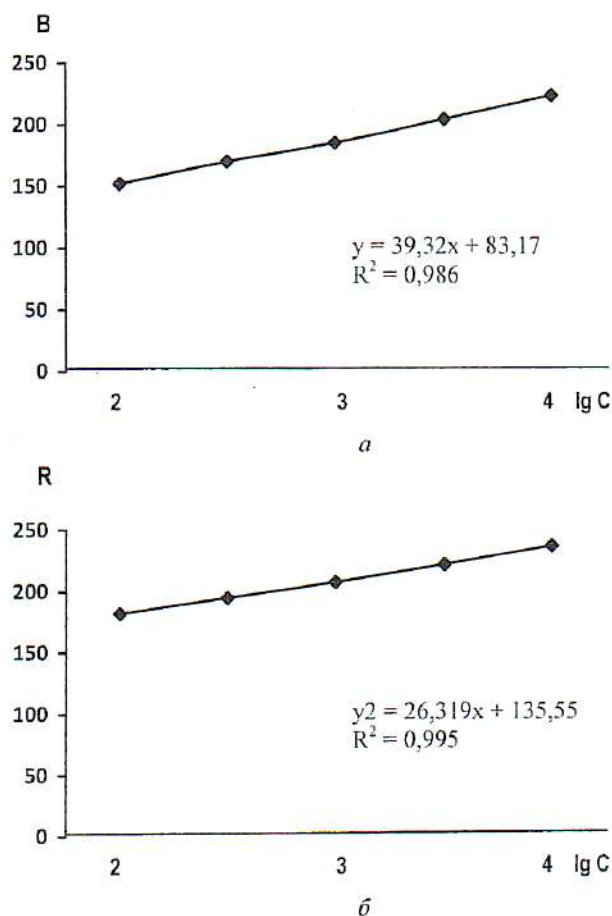


Рис. 5. Зависимость цветовых параметров: а –  $B$  от логарифма концентрации лизина; б –  $R$  от логарифма концентрации аспарагиновой кислоты





Электрофоретическое разделение  $\alpha$ -аминокислот по величинам  $pI$

Характерной особенностью  $\alpha$ -аминокис-

лот является способность в зависимости от  $pH$  среды выступать в роли катиона, аниона или цвиттериона:



С помощью соответствующей буферной среды можно подобрать такое значение  $pH$ , при котором одна  $\alpha$ -аминокислота будет существовать преимущественно в катионной форме (низкое значение  $pI$ ), другая – преимущественно в анионной. В результате возможно электрофоретическое разделение таких противоположно заряженных ионов. Рассмотрим эту возможность на примере разделения смеси лизин ( $pI = 9,44$ ) – аспарагиновая кислота ( $pI = 2,97$ ) в хлоридно-боратном буферном растворе ( $pH\ 8-9$ ) (молекулярные массы лизина и аспарагиновой кислоты близки и равны соответственно 146,19 и 133,12).

Цветометрическая обработка результатов проводилась аналогично вышеописанному. Зависимость цветометрических параметров  $B$  от логарифма концентрации лизина и  $R$  от логарифма концентрации аспарагиновой кислоты приведены на рис.5. Оценка правильности определения представлена в табл.2.

Таблица 2

Результаты определения  $\alpha$ -аминокислот после электрофоретического разделения смесей

| Аминокислота | Цветовой параметр | Значение цветового параметра | Введено, г/л | Найдено, г/л | $\Delta$ , % |
|--------------|-------------------|------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Аланин       | B                 | 160                          | 0,89         | 0,98         | 10           |
| Фенилаланин  | R                 | 190                          | 1,65         | 1,41         | 15           |
| Триптофан    | B                 | 178                          | 2,04         | 2,28         | 12           |

#### Влияние поверхностно-активных веществ

Нами были проведены исследования влияния кПАВ, аПАВ и нПАВ на электрофоретическое разделение смеси аланин–фенилаланин.

В качестве катионного ПАВ применяли N-цетилпиридиний хлорид (ЦПХ). В качестве анионного ПАВ нами был выбран додецилсульфат натрия (ДДС), в качестве неионного ПАВ – ОП-10 (полиоксиэтилированный алкилфенол с 10-ю оксиэтильными группами).

Готовили серию растворов ПАВ с концентрацией  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  М. Далее обрабатывали полоски бумаги соответствующим раствором ПАВ определенной концентрации и сушили при комнатной температуре. Затем каплю исследуемой смеси аминокислот с концентрацией  $10^{-2}$  М наносили на середину полоски бумаги и проводили электрофорез. По окончании эксперимента измеряли расстояние, пройденное каждой аминокислотой в отдельности от линии старта до начала пятна, и интервал между окрашенными зонами (рис.6). Наблюдали также, что границы окрашенных зон сильно размыты, а сами пятна вытянуты в поперечном направлении.

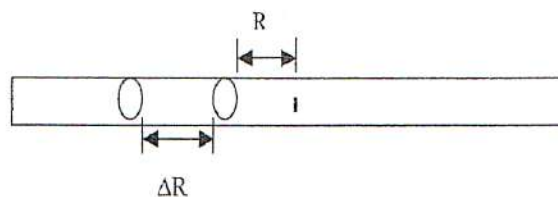


Рис.6. Измеряемые параметры пятен на электрофореграмме

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что в выбранном примере присутствие ПАВ в основном отрицательно сказывается на электрофоретическом разделении смеси аланин–фенилаланин в исследованных условиях. Однако полученные данные о влиянии ПАВ не являются исчерпывающими. Поиск условий разделения в





присутствии ПАВ следует продолжить как в направлении изменения кислотности сред, так и в направлении изменения их ионного состава.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 06-08-00892).*

#### Библиографический список

1. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. М., 1985. 456 с.
2. Садовникова М.С., Беликов В.М. Пути применения аминокислот в промышленности // Журн. аналит. химии. 1978. Т.47, №2. С.357–379.
3. Шаронова Е.А., Островский Н.В., Бодун Р.Д. Клинические и фундаментальные аспекты тканевой терапии: Материалы 2 Всерос. симпозиума. Самара, 2004. С.154–157.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М., 1998. 704 с.
5. Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия. М., 1991. 327 с.
6. Юинг Г. Инструментальные методы химического анализа. М., 1989. 608 с.
7. Уильямс Б., Уилсон К. Методы практической биохимии. М., 1978. 272 с.
8. Кухта В.К., Морозкина Т.С., Таганович А.Д., Олецкий Э.И. Основы биохимии. М., 1999. 416 с.
9. Вахобова Р.У., Рачинская Г.Ф., Лыкова Ф.П. Определение аланина по полярографическому каталитическому току в растворах молибдена (VI) и гидроксиламина // Журн. аналит. химии. 1992. Т.47, №2. С.403–405.
10. Фицева Н.А., Стойков И.И., Фицев И.М., Антитин И.С., Коновалов А.И. Определение некоторых  $\alpha$ -аминокислот методами проточно-инжекционного и непрерывного проточного анализа с использованием мембранной экстракции // Журн. аналит. химии. 1998. Т.53, №7. С.729–733.
11. Li Hao-lie, Guo Yin-Long, Liang Bing, Ou Qing-Yu. Применение капиллярного электрофореза для определения возбужденных аминокислот в спинномозговой жидкости после повреждения мозга // Acta chim.sin. 2002. V.60, №9. С.1677–1681.
12. Шнак А.В., Пирогов А.В., Штигун О.А. Электрофоретические методы определения аминокислот // Междунар. форум «Аналитика и аналитики». Воронеж, 2003. С.192.
13. Shen Zuojun, Sun Zimin, Wu Lin, Wu Kui et al. Rapid method for the determination of amino acids in serum by capillary electrophoresis // J. Chromatogr. A. 2002. V.979, №1–2. P.227–232.
14. Tsukagoshi Kazuhiko, Nakahama Koji, Nakajima Riichiro.  $\alpha$ -Amino acids analysis by capillary electrophoresis with chemiluminescence detector using luminol-hydrogen peroxide-Cu(II) system // Chem. Lett. 2003. V.32, №7. С.634–635.
15. Чернобровкин М.Г., Ананьева И.А., Шаповалова Е.Н., Штигун О.А. Определение энантиомеров аминокислот в фармацевтических препаратах методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2004. Т.59, №1. С.128–130.
16. Проскурина И.К. Биохимия. Вологда, 2003. 240 с.
17. Шнак А.В., Пирогов А.В., Штигун О.А. Определение аминокислот методом капиллярного электрофореза без предварительной дериватизации // Журн. аналит. химии. 2003. Т.58, №7. С.317–319.
18. Краснова И.Н., Колмакова И.В., Карцова Л.А. Анализ нейромедиаторных аминокислот и биогенных аминов в спинномозговой жидкости методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 1997. Т.52, №7. С.767–772.
19. Басюк В.А. Разделение энантиомеров аминокислот на сорбенте с обращенными фазами, покрытом N-октил-L-пролином // Журн. аналит. химии. 1990. Т.45, №11. С.2166–2169.
20. Витт С.В., Воробьев М.М., Пасконова Е.А. и др. Определение N-тринитрофенилпроизводных некоторых аминокислот и пептидов методом жидкостной хроматографии высокого давления // Журн. аналит. химии. 1983. Т.38, №8. С.1538–1539.
21. Рыжова Г.Л., Братчиков А.В. Определение аминокислот в рапе и лечебной грязи методом газожидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 1980. Т.35, №4. С.803–805.
22. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. М., 1980. Т.2. 624 с.
23. Эгерт В.Э., Богуславский А.Н. Хроматографирование  $\alpha$ -аминокислот на пластинках силуфол // Журн. аналит. химии. 1986. Т.41, №8. С.1405–1410.
24. Эгерт В.Э., Богуславский А.Н. Определение цистина и цистеина в присутствии других аминокислот методом тонкослойной хроматографии на пластинках силуфол // Журн. аналит. химии. 1982. Т.37, №10. С.1865–1868.
25. Рожнова О.И., Котова Д.Л., Селеменев В.Ф., Крысанова Т.А. Спектрофотометрическое определение цистеина в водном растворе // Журн. аналит. химии. 1999. Т.54, №12. С.1265–1267.
26. Селеменев В.Ф., Хохлов В.Ю., Коренман Н.Я., Ловчинская Е.В. Спектрофотометрическое определение фенилаланина и тирозина // Журн. аналит. химии. 1994. Т.49, №4. С.446–447.
27. Мискиджьян С.П., Кравченко Л.П. Полярография лекарственных препаратов. Киев, 1976. 232 с.
28. Шайдарова Л.Г., Федорова И.Л., Улахович Н.А., Будников Г.К. Инверсионно-вольтамперометрическое определение некоторых аминокислот на модифицированных краун-эфирами угольно-пастовых электродах // Журн. аналит. химии. 1997. Т.52, №3. С.268–272.
29. Feng Lei, Johnson Mitchell E. Selective fluorescence derivatization and capillary electrophoretic separation of amidated aminoacids // J. Chromatogr. A. 1999. V.832, №1–2. P.211–224.
30. Huang Huiling, Luo Guoan, Zhi Dashi, Jin Youngheng. Определение аминокислот в виде производных с 3-(4-карбоксібенозил)-2-хинолинкарбокс-альдегидом методом капиллярного электрофореза с индуцированным лазером флуоресцентным детектированием Fenxi huaxue // Anal. Chem. 2000. V.28, №1. P.125.
31. Soga Tomoyoshi, Heiger David N. Amino acid analysis by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry // Anal. Chem. 2000. V.72, №6. P.1236–1241.
32. Wenzhe Lu, Yang G., Cole R.B. On-line capillary electrophoresis – electrospray mass spectrometry using acetic acid electrolytes // Anal. Chem. and Appl. Spectrosc. Book Abstr. New Orleans, 1995. P.196.





33. Nabi S.A., Usmani S., Rahman N. Paper-electrophoretic studies of  $\alpha$ -amino acids in citrate-phosphate buffer and sodium dodecyl sulphate mixed systems // Acta chromatogr. 1998. №8. P.175–189.

34. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М., 2002. 302 с.

35. Иванов В.М., Морозко С.А. Тест-методы в аналитической химии. Определение емкости тест-форм, содержащих гетероциклические азосоединения // Журн. аналит. химии. 1996. Т.51, №10. С.1083–1086.

36. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т.70, №5. С.411–429.

УДК 616-001.17:576.535:615.46

## ХИМИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА И МАТЕРИАЛЫ В ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Р.К. Чернова, А.Б. Шиповская\*, Л.М. Козлова, Е.И. Селифонова

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии,  
\* кафедра полимеров

E-mail: ChernovaRK@chem.sgu.ru



Обобщены сведения последних лет о химических веществах и материалах в комбустиологии, применяемых при культивировании клеток кожи человека. Рассмотрен химический состав полимерных пленочных биоматериалов разного состава, термочувствительных субстратов, сложных клеточных матриксов.

**Chemical Substances and Materials in Treating Burns with the Usage of Cultivated Cells of Human Skin**

R.K. Chernova, A.B. Shipovskaya, L.M. Kozlova, Ye.I. Selifonova

Recent data on chemical substances and materials used in combustiology for cultivating human skin cells are summarized. The chemical composition of polymeric film biomaterials of various composition, thermosensible substrates, complex cell matrices is considered.

Ожоговая травма кожи приводит к утрате ее защитных свойств, ослаблению иммунитета, снижает устойчивость организма к внешней агрессии. Угроза развития различных осложнений и летального исхода тем выше, чем длительнее незакрыта обширная ожоговая рана. В связи с этим актуально решение вопроса о достижении полной эпителизации ожоговых ран у больных с дефицитом донорских ресурсов в наиболее короткие сроки [1].

Для лечения раневых поверхностей кожи применяются различные подходы: наложение повязок [2, 3], использование трансдермальных систем [4] и сравнительно новый подход – трансплантация культивированных клеток человека – кератиноцитов и фибробластов [5, 6].

Идея использования культуры клеток кожи человека для закрытия ожоговой поверхности сейчас занимает ведущее положение в комбустиологии и развивается в различных направлениях. В настоящее время этот метод широко используется в различных ожоговых центрах мира с достаточно хорошими результатами. Развивается он и в Саратовском ожоговом центре [6].

Например, в работе [5] показано, что одной из наиболее биологически активных клеток грануляционной ткани является фибробласт. В работе [7] описан метод лечения ожогов кожи путем трансплантации культивированных клеток, в которых в качестве главного элемента используются аллофибробласты человека.

Использование культивированных фибробластов для закрытия раневых поверхностей имеет ряд преимуществ по сравнению с культивированными кератиноцитами. В частности, получение фибробластов в культуре не требует дорогостоящих питательных сред и стимуляторов роста.

В настоящее время уже имеются достаточные предпосылки для того, чтобы считать задачу закрытия ожоговой поверхности полноценным кожным покровом вполне выполнимой. Это требует объединенных усилий специалистов различных профилей: клиницистов, трансплантологов, иммунологов, морфологов, химиков и др. Например, поиск