

Гипоаммониемийный эффект хлорметилированного полимера, покрытого полиортовинилбензойной кислотой

М.С. Мацюян, В.С. Григорян, М.И. Агаджанов

ЕрГМУ им. М. Герацци, кафедра биохимии

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипераммониемия, полимерный сорбент, стирол, дивинилбензол, полиортовинилбензойная кислота, гемосорбция, связывание аммония, селективность

Основной причиной гипераммониемии служит нарушение процесса образования из аммиака мочевины вследствие поражения печеночной клетки при одновременном усиленном поступлении аммиака. Являясь высокотоксичным соединением, аммиак в виде иона аммония, накапливаясь в организме больного, приводит к развитию печеночной комы. Обладая нейротоксическим действием, аммиак вызывает подавление тканевого дыхания мозга в результате выключения α -кетоглутаровой кислоты из цикла трикарбоновых кислот Кребса [4, 9, 12]. У детей с врожденными пороками мочевой системы и нарушением орнитинового цикла отмечается стойкая гипераммониемия, сопровождающаяся ступором [11].

В настоящее время все виды лечения печеночной энцефалопатии направлены на борьбу с гипераммониемией. Большие надежды возлагают на хирургические методы детоксикации: обменные переливания крови, плазмозерез, гемодиализ, гемосорбция.

Первые экспериментальные и клинические попытки использования ионообменных смол показали перспективность гемосорбционного метода борьбы с гипераммониемией. По сводным литературным данным, применение гемотрансфузии привело к выздоровлению 26,4% больных, гемодиализа – 30,6%, а гемосорбции при печеночной коме – 31,8% больных [10].

Целью настоящей работы являлось создание нерастворимого полимерного сорбента на основе хлорметилированного сополимера стирола и дивинилбензола (ХМС), покрытого полиортовинилбензойной кислотой (ВБК), для избирательного связывания аммония из биологических жидкостей.

Материал и методы

Исходным материалом для получения сорбента служил ХМС (стирол – 98%, дивинилбензол – 2%) производства Новокемеровского химического комбината

АВ-17-8 (ГОСТ 20301-74). ХМС подвергли очистке дистиллированной водой и этанолом до чистоты, пригодной для применения в медицине. ХМС является основой для получения ряда сорбентов, используемых нами для сорбции желчьной и мочевой кислот, холестерина [7,8]. Используемый ХМС относится к числу малотоксичных соединений, LD_{50} составляет 5–10 тыс. мг/кг.

I. Покрытие ХМС полиортовинилбензойной кислотой

Предварительно промытый и высушенный ХМС погружали в 10% раствор ВБК [6] в диэтиловом эфире и выдерживали в нем сутки. После этого удаляли растворитель под вакуумом, отфильтровывали и сушили на воздухе, выдерживали 3 ч при 120°C и тщательно промывали горячей водой до pH=7. При этом получали сорбент, полимерное покрытие которого составляло 8–10%.

II. Сорбционную активность определяли:

1) в статическом режиме при комнатной температуре из изотонического раствора хлорида натрия по методике [5];

2) в статическом режиме из водного раствора при 37°C. Для этого в плоскодонную колбу, содержащую 20 мл раствора хлорида аммония 900 мкмоль/л, помещали 2 г сорбента и при непрерывном перемешивании посредством магнитной мешалки термостатировали при 37°C. Пробу отбирали через 15, 30 и 60 минут после начала сорбции. Затем пробу тщательно отфильтровывали и определяли в ней аммоний по методике [3].

3) в динамическом режиме из плазмы крови. Для этого посредством роликового насоса через микролонку, содержащую 5 г сорбента, пропускали 100 мл плазмы крови со скоростью 60 мл/мин при $t=20^{\circ}\text{C}$ в течение часа. Концентрацию иона аммония определяли по известной методике [2] реактивом Несслера. Остальные биохимические показатели крови до и после сорбции определяли на автоанализаторе "Olli",

FR-9 (фирма "КОНЕ", Финляндия).

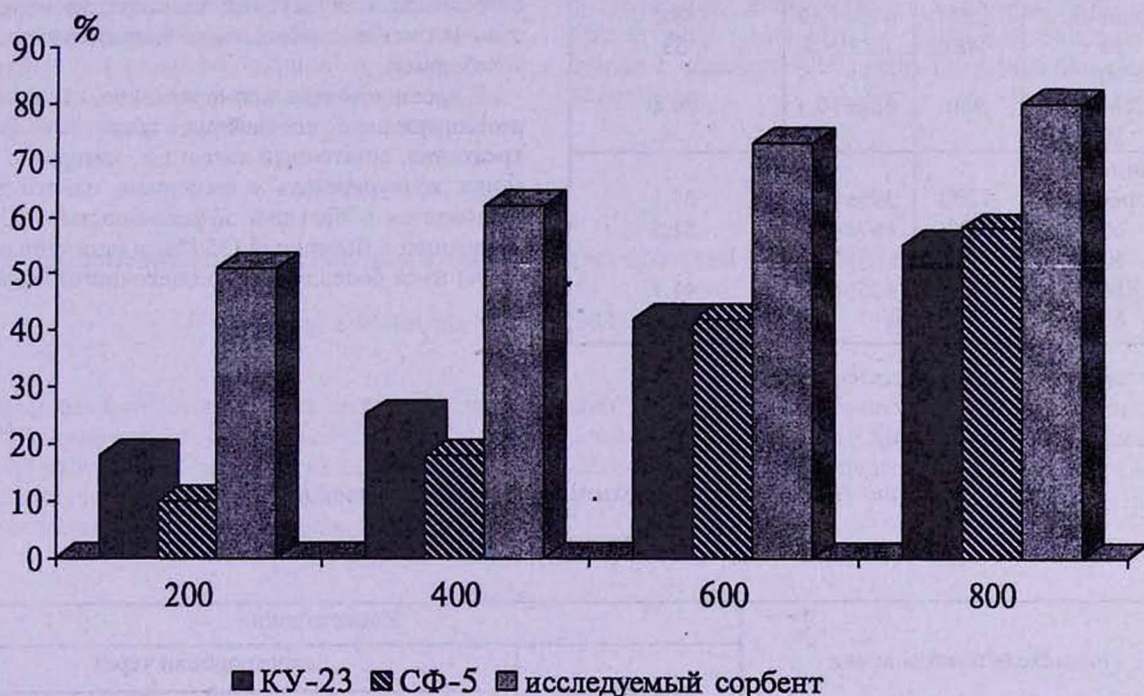
ИК-спектры сняты на приборе UR-10 в вазелиновом масле. В спектре полоса поглощения — COOH (сопряженная) смещена на 20 см^{-1} по сравнению с исходным полимером ВБК. В области низких частот не обнаружено характерных частот аммония, что обусловлено солеобразованием за счет атома азота и — COOH группы ВБК.

Опыты в статическом режиме повторяли 3 раза. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия p .

Результаты и обсуждение

Как показали результаты проведенных экспериментов, полимерный сорбент может снизить концентрацию аммония в водном растворе на 80% по сравнению с исходным. Для гемосорбционного извлечения микроколичеств аммония можно использовать различные полимерные иониты, однако в области реальной гипераммониемии используются: сульфокатионит КУ-23 и фосфоновокислотный катионит СФ-5 [1].

Количественную оценку средства полимерного сорбента по аммонии проводили в статическом режиме при комнатной температуре из изотонического раствора хлорида натрия (рис).



Равновесная концентрация аммония в растворе, мкмоль/л .

Сравнительная характеристика содержания ионов аммония через час после начала сорбции

При сравнительном анализе полученных результатов видно, что полимерный сорбент, покрытый ВБК, в области концентрации аммония в пределах 200–800 мкмоль/л более эффективен, чем известные КУ-23 и СФ-5.

Исходя из полученных данных, было интересно провести эксперимент не только в условиях реальной гипераммониемии, но и глубокой комы, когда уровень

аммония в крови составляет 900–1100 мкмоль/л . Была определена активность сорбента по извлечению аммония при 37°C . Определяли исходное количество аммония до сорбции, остаточное содержание после сорбции, а также процент снижения (табл. 1).

Из приведенных данных видно, что полимерный сорбент за 30 минут снижает концентрацию аммония в растворе почти вдвое, а через час связывает от 67,1

Таблица 1

Относительные изменения уровня аммония после сорбции по сравнению с показателями исходного раствора*

Время проведения сорбции, мин	Концентрация аммония, мкмоль/л		Эффективность сорбции, %
	до сорбции	после сорбции	
Полимерный сорбент	1200	825±11,1	31,25
15	900	610±13,2	32,2
15			
ХМС	900	800±8,78	11,1
15			
Полимерный сорбент	1200	618±12,2	48,5
30	900	423±9,8	53
30			
ХМС	900	680±10,1	24,4
30			
Полимерный сорбент	1200	395±7,75	67,1
60	900	167±6,41	81,5
60			
ХМС	900	525±6,33	41,7
60			

* Все изменения в пределах достоверности

до 81,5% исходного аммония. Интересно отметить, что ХМС сам также является гипоаммониемым веществом. Способность ХМС к амминированию азотсодержащих веществ, таких как имидазол, бензимидазол, 3(5) метилпиразол, была исследована в ранее опубликованных наших работах [7,8]. Эффективность сорбции ХМС иона аммония составляет 41,7%.

Для более детального изучения процесса сорбции иона аммония полимерным сорбентом, были проведены испытания в динамическом режиме. Через микроколону, содержащую сорбент, пропускали плазму крови с введенным в нее хлоридом аммония. Концентрацию аммония и остальных биохимических показателей определяли до и через 15, 30, 60 мин после начала сорбции (табл. 2).

Таким образом, нами было установлено, что полученный ВБК ХМС проявляет высокую активность по отношению к связыванию аммония, не изменяя при этом жизненно необходимых биохимических показателей крови.

В крови человека, кроме аммония, имеются другие азотсодержащие соединения, такие как мочевины, креатинин, остаточный азот и т.д., которые с успехом могут конкурировать с аммонием, однако аммоний связывается с большей эффективностью (73,3%) по сравнению с мочевиной (55,8%) и остаточным азотом (16%) из-за более высокого (щелочного) значения его рН.

Таблица 2

Динамика основных биохимических показателей плазмы крови в процессе сорбции ХМС

Показатель плазмы крови	Концентрация			
	до сорбции	после сорбции через		
		15 мин	30 мин	60 мин
Аммоний, мкмоль/л	900	712	508	240
Мочевина, ммоль/л	13,8	10,7	6,85	6,1
Общий белок, г/л	83,22	83,2	82,6	82,3
Общий билирубин ммоль/л	8,5	8,5	8,5	8,5
Свободный билирубин, ммоль/л	8,9	8,9	8,5	8,5
Глюкоза, ммоль/л	30,71	30,83	29,5	28,7
Холестерин, ммоль/л	4,56	4,49	4,37	4,31
Креатин, мкмоль/л	103	99,95	96,3	92,1
Остаточный азот, ммоль/л	21,4	20,1	18,3	18,0
Фосфолипиды, ммоль/л	9,34	8,88	8,23	8,21

Исходя из полученных данных, можно заключить, что синтезированный полимерный сорбент может быть рекомендован для испытаний в качестве селективного препарата при лечении гипераммониемии и других патологических состояний, сопровождаемых

избыточным накоплением аммиака и других азотсодержащих соединений в крови. Основными преимуществами сорбента являются: высокая эффективность, дешевизна получения, доступность сырья, селективность.

Поступила 14.03.03

Պոլիօրտովինիլիլրենգոյաթթվով ծածկված քլորմեթիլացված պոլիմերի հիպոամոնիումային էֆեկտը

Մ.Ս. Մատսոյան, Վ.Ս. Գրիգորյան, Մ.Ի. Աղաջանով

Աշխատանքում քննարկված են ստիռոլի և դիվինիլբենզոլի քլորմեթիլացված սոպոլիմերի ստեղծումը, որը ծածկված է պոլիօրտովինիլիլրենգոյաթթվով, ամոնիումի իոնի ընտրողական կապման նպատակով՝ հիպերամոնիումիային ժամանակ: Հետազոտությունների արդյունքների վերլուծությունը ցույց տվեց, որ պոլիմերը օժտ-

ված է բարձր սորբցիոն արդյունավետությամբ ջրային, իզոթոնիկ լուծույթներից, արյան պլազմայից ամոնիումի իոնի դուրս բերման համար, և հետագայում կարող է օգտագործվել որպես հիպերամոնիումիային դեղամիջոց:

Hypoammonemic effect of chlor-methylated polymers covered with polyortovinylbenzoic acid

M.S. Matsoyan, V.S. Grigorian, M.I. Aghadjanov

The researches were directed to the creation of chlor-methylated co-polymer of styrene and divinyl-benzol, covered with polyortovinyl-benzoic acid for selective liaison of ammonium ions under the hyperammoniation. The results of the researches showed that the polymer has high

sorbitive property for extermination ion ammonium from aquatic isothonic solutions, blood plasma, and in future it can be used as a hypoammonemic preparation.

Литература

1. Горчаков В.Д., Сергиенко В.И., Владимиров В.Г. Селективные гемосорбенты. М., 1989, с. 113.
2. Камышинов В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я. Справочное пособие. Минск, 1999, с. 38.
3. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М., 1983, с. 225.
4. Ленинджер А. Основы биохимии, т.2, М., 1985, с. 585.
5. Неронов А.Ю., Лейкин Ю.А., Машков О.А. и соавт. Применение ионитов для очистки крови от калия и аммония. Труды МХТИ, вып. 80, 1974, с. 106.
6. Погосян Г.М., Карапетян Т.Г., Мацоян С.Г. BMC, 12 Б, 1970, с. 463.
7. Чухаджян Г.А., Мацоян М.С. и соавт. AC СССР. №1577130, 1990.
8. Մազոյան Մ.Ս., Աղաջանով Մ.Ի. ՀՀ Արտոնագիր № 910, 2001.
9. Goetcheus J.S., Webster L.T. J. Lab. Clin. Med., 65, 1965, p. 621.
10. Ronco C., Ghezzi P.M., Morris A. et al. Int. J. Artif. Organs, 2000, Feb. 23(2), p. 125.
11. Schenker S., Breen K.J., Hoyumpa A.M. Hepatic encephalopathy: Current status, 66, 1974, p. 121.
12. Skou J.C. Biochim. Biophys. Acta, 58, 1962, p. 314.