

ŽALIOJO DUMBLIO *CHLORELLA VULGARIS* IFR-111 POVEIKIS STRUKTŪRINĖMS IR BIOCHEMINĖMS TRIUŠIŲ AKIŲ SAVYBĖMS

Marija Paunksnienė¹, Vida Babrauskienė¹, Leonidas Ivanovas², Ilona Sadauskienė²

¹Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-3022 Kaunas; el. paštas: oftalmolog@lva.lt

²Kauno medicinos universiteto Biomedicininų tyrimų institutas, Eivenių g. 4, LT-3022 Kaunas
el. paštas: ilona_sad@med.kmu.lt

Santrauka. Žaliasis dumbelis *Chlorella vulgaris* naudojamas žmonių ir gyvūnų mityboje. Darbo tikslas buvo nustatyti *Chlorella vulgaris* padermė IFR-111 poveikį akies struktūriniams elementams, palyginti tirpių baltymų kiekį kontrolinių ir pašaro papildą gavusių triušių akies lęšyje bei įvertinti šių baltymų pasiskirstymą skirtingos molekulinės masės frakcijose. Taikant kontaktinį A tipo ultragarsinį akies struktūrinių elementų matavimo būdą, išmatuota sagitalinė akies ašis, priekinės kameros gylis, lęšio ir stiklakūnio storis. Palyginus kontrolinės ir eksperimentinės triušių grupių akių matmenų duomenis nustatyta, kad akies ašies ilgio, priekinės kameros gylio ir stiklakūnio storio skirtumai labai nežymūs, išskyrus lęšio storį – eksperimentinės grupės triušių jis yra 12,49 proc. plonesnis. Nustatyta, kad tirpių baltymų kiekio vidutinė reikšmė kontrolinės grupės triušių akies lęšiuose yra 15 proc. didesnė, nei pašaro papildą gavusių triušių akies lęšiuose. Įvertinus kiekybinį tirpių akies lęšio baltymų pasiskirstymą skirtingos molekulinės masės frakcijose nustatyta, kad didelės molekulinės masės frakcijoje pašaro papildu šertų triušių akies lęšyje baltymų yra 27 proc. daugiau palyginti su kontrole, o visose kitose frakcijose šis rodiklis yra kontrolės dydžio.

Raktažodžiai: *Chlorella vulgaris* IFR-111, akis, ultragarsinė biometrija, lęšio baltymai.

THE INFLUENCE OF *CHLORELLA VULGARIS* IFR-111 ON STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF RABBITS EYES

Marija Paunksnienė¹, Vida Babrauskienė¹, Leonidas Ivanovas², Ilona Sadauskienė²

¹Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės str. 18, LT-3022 Kaunas, Lithuania; e-mail: oftalmolog@lva.lt;

²Institute for Biomedical Research, Kaunas Medical University, Eivenių g. 4, LT-3022, Kaunas, Lithuania;
e-mail: ilona_sad@med.kmu.lt

Summary. *Chlorella vulgaris* (green algae) is used in the field of human and animal nutrition. The aims of performed study were to investigate the effects of *Chlorella vulgaris* strain IFR-111 on eyes structural elements, to compare the amount of water soluble lens proteins in control and experimental groups and to evaluate the distribution of these proteins between fractions of different molecular mass. A-mode ultrasonography was used to determine globe axial length, anterior chamber depth, axial lens thickness and axial vitreous length. Globe axial length, anterior chamber depth and axial vitreous length were not statistically different between the groups, apart from lens thickness. Lens thickness of rabbits in experimental group was reduced on 12.49 % compared to the controls. It was determined that amount of soluble proteins was on 15 % higher in the lens of control group compared with this parameter in experimental group. The evaluation of distribution of soluble lens proteins between different molecular mass fractions showed that in high molecular mass fraction in experimental group there was 27 % increase compared to the control group.

Key words: *Chlorella vulgaris*, eye, ultrasonic biometry, lens proteins.

Įvadas. Šiuo metu daugelyje valstybių gyvūnų ir žmonių mityboje organizmo funkcijoms gerinti naudojamas žaliasis dumbelis *Chlorella vulgaris* (Spolaore, 2006). Teigiama, kad chlorelės iš organizmo gali pašalinti toksinus ir sunkiuosius metalus, stiprina imuninę sistemą, gerina virškinimą, fermentinius procesus, kepenų, tulžies veiklą bei normalizuoja kraujospūdį. Be to, jos turi antioksidacinių savybių, yra natūralus beta karotino, vitaminų, mineralų ir nukleorūgščių šaltinis (Stašonienė, 2003). Chlorelės greitai dauginasi, sudarydamos didelę biomasę. Jų sudėtyje yra jodo, bromo, kobalto, kalio, fosforo, 23 aminorūgštys, vitaminų K, A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, E. Jaunose chlorelių ląstelėse yra daugiau vitamino B₂ ir C. Chlorelių biomasės sausojoje medžiagoje yra 60 proc. baltymų, 7–10 proc. lipidų, 30 proc. angliavandenių, 12

proc. pelenų, kuriuose gausu fosforo, magnio, sieros, kalio, natrio, kalcio, boro, geležies, vario, cinko, nikelio, chromo, molibdeno (Morita et al., 1999).

Žinoma, kad kai kurie gyvūnų akių struktūros elementai labai jautriai reaguoja į aplinkos veiksnius, mitybos pokyčius, vaistus ar pašarinius priedus, tačiau nėra ištirtas žaliojo dumblio poveikis regos aparatui. Pastebėta, kad lęšis yra vienas jautriausių akies elementų, pirmiausia ir greičiausiai pažeidžiamas įvairių veiksmų. Pagrindiniai akies lęšio struktūriniai komponentai yra baltymai, kurių 90 proc. sudaro vandenyje tirpūs kristalinai. Likusią baltymų dalį sudaro baltymai ir fermentai, kurie dalyvauja medžiagų apykaitos procesuose (Eperjesi, Beatly, 2006). Akies lęšis išlieka skaidrus, kol kristalinai yra natyvios ir tirpios būsenos, tačiau ne laisvi, o organizuoti į viršmolekulinę struktūrą

(Benedek, 1997). Pagal sudaromų baltymų kompleksų molekulinę masę skiriami alfa-kristalinai (daugiau kaip 200 kDa) ir beta-kristalinai (40–160 kDa). Gamakristalinai (apie 20 kDa) viršmolekulinių struktūrų nesudaro (Ma et al., 1998). Alfa-kristalinai pasižymi šaperonų (angl. *chaperone*) aktyvumu (Lin et al., 1997) ir priklauso streso (angl. *heat shock*) baltymų grupei (Clark, Muchowski, 2000; Haley et al., 2000). Šios jų savybės užtikrina kitų lęšio baltymų tirpumą ir apsaugo juos nuo neigiamo išorinio poveikio. Pvz., alfa-kristalinai sumažina ultravioletinių spindulių sukeltą gamakristalinų agregavimą (Lee et al., 1997).

Darbo tikslas – nustatyti žaliojo dumblio *Chlorella vulgaris* IFR-111 poveikį triušių akies struktūrinių elementų matmenims; palyginti tirpių baltymų kiekį kontrolinių ir pašaro papildą gavusių triušių akies lęšyje bei įvertinti šių baltymų pasiskirstymą skirtingos molekulinės masės frakcijose, gautose chromatografijos gelyje metodu.

Medžiagos ir metodai. Tyrimai atlikti su Naujosios Zelandijos triušiais, laikytais Veterinarijos akademijos vivariume, vadovaujantis laboratorinių gyvūnų naudojimo etikos reikalavimais, laikantis „Gyvūnų skirtų eksperimentams ir kitiems mokslo tikslams, laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų“, patvirtintų Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktoriaus 2008-12-18 įsakymu Nr. B1-639. (Žin., 2009, Nr. 287). Dvejų metų triušiai buvo suskirstyti į dvi grupes – kontrolinę (n=11) ir eksperimentinę (n=6). Abiejų grupių triušiai gavo visavertį pašarą, eksperimentinės grupės triušiai su vandeniu 30 dienų kasdien gaudavo po 50 ml chlorelių tirpalo.

Po enukleacijos triušių akys laikytos inde su fiziologiniu tirpalu ant sudrėkintos vatos 4°C temperatūroje. Triušių akių anatominį elementų matavimai atlikti ultragarsiniu biometriniu metodu OTJ-1000 aparatu, naudojant 12 MHz keitiklį. Taikytas kontaktinis A tipo ultragarsinis matavimo būdas, kai keitiklis tiesiogiai glaudžiamas prie ragenos, statmenai jos paviršiui. Išmatuota sagitalinė akies ašis, priekinės kameros gylis, lęšio ir stiklakūnio storis.

Triušio akies lęšis pasvertas ir smulkintas 5 A tirpaluose (20 mM natrio fosfatas, pH 7,0; 1,0 mM etilenglikol-bis-(2-amino-etileterio)-N,N'-tetraocto

rūgštis). Tirpūs lęšio baltymai išskirti 10 min. gautą tirpalą maišant stikline lazdele 4°C temperatūroje. Netirpūs lęšio komponentai atskirti 30 min. centrifuguojant 10000 × g pagreičiu.

Lęšio baltymus išskirstyti pagal molekulinę masę taikyta chromatografija Sefarozės CL-6B kolonėlėje. Centrifugavimo metu gautas skystis praskiestas B tirpalu (50 mM natrio fosfatas, pH 7,0; 150 mM NaCl) iki galutinės baltymo koncentracijos 10 mg/ml. 0,1 ml praskiesto tirpalo (1 mg baltymo) užlašinta ant kolonėlės (0,7 × 30 cm), praplautos B tirpalu. Lęšio baltymai išskirstyti pagal molekulinę masę naudojant B tirpalą. Nuo užlašavimo pradžios rinktos 0,5 ml frakcijos. Sefarozės CL-6B kolonėlė kalibruota žinomos molekulinės masės baltymais: feritinu – 440 kDa, aldolaze – 158 kDa, jaučio serumo albuminu – 67 kDa, chimotripsinogenu – 25 kDa.

Baltymų koncentracija nustatyta Lowry metodu, standartiniu baltymu naudojant jaučio serumo albuminą (Waterborg, Matthews, 1984).

Rezultatai matematiškai apdoroti „MS Excel“ programa ir statistine programa „SAS versija 13“, vidurkių skaičiavimui taikytas Studento (t) kriterijus.

Tyrimų rezultatai. Pradiniame darbo etape nustatyti kontrolinės ir eksperimentinės grupės triušių akies anatominį elementų (sagitalinė akies ašis, priekinės kameros gylis, lęšio ir stiklakūnio storis) matmenys. 1 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad žymaus skirtumo tarp kontrolinės ir eksperimentinės grupių triušių akies anatominį elementų matmenų nebuvo, išskyrus statistiškai patikimai sumažėjusį lęšio storį. Kontrolinės grupės triušių akies ašies ilgis buvo 21,71±1,43 mm, o eksperimentinės – 22,03±1,30 mm, stiklakūnio ašies ilgis kontrolinės grupės – 10,14±1,04 mm, o eksperimentinės – 10,59±1,11 mm. Šių rezultatų analizė rodo, kad kontrolinės grupės triušių akies ašies ilgis buvo 1,47 proc., o stiklakūnio ašies ilgis – 4,43 proc. mažesni palyginti su eksperimentinės grupės atitinkamais akių parametrais (p>0,05). Tačiau lęšio storio matmenų skirtumas tarp abiejų grupių triušių akių buvo ryškesnis ir statistiškai patikimas (p<0,05), eksperimentinės grupės triušių lęšis 12,49 proc. plonesnis nei kontrolinės grupės triušių.

1 lentelė. Negavusių pašaro papildo (kontrolinė grupė) ir šertų žaliuoju dumbliu *Chlorella vulgaris* IFR-111 (eksperimentinė grupė) triušių akies anatominį elementų matmenys

| Grupė | Triušio akies elementai | | | |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|
| | Ašies ilgis, mm | Priekinės kameros gylis, mm | Lęšio storis, mm | Stiklakūnio ašies ilgis, mm |
| Kontrolinė n=11 | 21,71±1,43 | 2,96±0,39 | 8,49±0,72 | 10,14±1,04 |
| Eksperimentinė n=6 | 22,03±1,31 | 2,89±0,36 | 7,43±0,69 | 10,59±1,11 |
| p | >0,05 | >0,05 | <0,05 | >0,05 |

Tolimesniame darbo etape nustatytas tirpių baltymų kiekis kontrolinės ir eksperimentinės grupės triušių akies lęšiuose. Tirpių baltymų kiekio vidutinė reikšmė

kontrolinės grupės triušių akies lęšiuose yra 0,306±0,017, o pašaro papildą gavusių triušių akies lęšiuose – 0,259±0,033 mg 1mg lęšio audinio (2 lentelė). Šių

rezultatų analizė rodo, kad palyginti su kontrole eksperimentinės grupės triušių akių lęšiuose tirpių baltymų yra 15 proc. mažiau ($p < 0,2$) (2 lentelė).

2 lentelė. Tirpių baltymų kiekis negavusių pašaro papildo (kontrolinė grupė) ir šertų žaliuoju dumbliu *Chlorella vulgaris* IFR-111 (eksperimentinė grupė) triušių akių lęšyje

| Grupė | Akies lęšio tirpūs baltymai mg/mg lęšio svorio, $S \pm S_x$ |
|-----------------------|---|
| Kontrolinė n=11 | 0,306±0,017 |
| Eksperimentinė n=6 | 0,259±0,033 |
| % | 85 |
| p | <0,2 |

Po morfologinių tyrimų kontrolinės ir eksperimentinės grupės triušių akių lęšio tirpūs baltymai buvo išskirstyti

3 lentelė. Negavusių pašaro papildo (kontrolinė grupė) ir šertų žaliuoju dumbliu *Chlorella vulgaris* IFR-111 (eksperimentinė grupė) triušių akių lęšio tirpių baltymų pasiskirstymas skirtingos molekulinės masės frakcijose

| Grupė | Santykinis baltymų kiekis, proc., $S \pm S_x$ | | | | | |
|-----------------------|---|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|
| | I frakcija | II frakcija | III frakcija | IV frakcija | V frakcija | VI frakcija |
| Kontrolinė n=11 | 4,65±1,29 | 5,82±0,63 | 7,11±0,29 | 19,51±0,94 | 34,43±0,71 | 28,43±2,28 |
| Eksperimentinė n=6 | 5,92±1,37 | 5,86±0,59 | 6,93±0,37 | 20,21±1,83 | 31,19±1,78 | 29,90±4,18 |
| % | 127 | 101 | 97 | 104 | 91 | 105 |
| p | ≤0,8 | ≤0,8 | ≤0,8 | ≤0,8 | ≤0,2 | ≤0,2 |

100 proc. yra kiekvienos grupės akių lęšio tirpių baltymų kiekis. I frakcija apima baltymus, kurie chromatografijos Sefarozės CL-6B metu skirstosi 400–700 kDa, II frakcija – 200–400 kDa, III frakcija – 100–200 kDa, IV frakcija – 50–100 kDa, V frakcija – 20–50 kDa, VI frakcija – 10–20 kDa molekulinės masės srityse

Aptarimas ir išvados. Kai kurie gyvūnų akių struktūros elementai labai jautriai reaguoja į aplinkos veiksnius, mitybos pokyčius, vaistus ar pašarinius priedus, kai dar nėra kraujo rodiklių ar atskirų organų struktūros pokyčių. Ne visada vienas ar kitas maisto ar pašarų papildas teigiamai veikia visas organizmo funkcijas. Pastebėta, kad net ir ilgai vartojant natūralių priedų preparatus, aktyvuojama daugelio organizmo funkcijų veikla, tačiau pakinta regėjimo aštrumas. Todėl duomenys apie akių anatominių elementų būklę, jų matmenis yra reikšmingi ir reikalingi sprendžiant ir mokslines, ir kliniškes regėjimo problemas. Svarbiausias akių akomodacijos elementas yra lęšis – labai jautrus elementas, pažeidžiamas pirmiausia ir greičiausiai, pvz., radioaktyvios spinduliuotės, įvairių cheminių medžiagų, baltymų sudėčiai darančių įtaką veiksnių (Yao et al., 2004; Barbazetto et al., 2004). Biometriniai lęšio tyrimai leidžia nustatyti lęšio būklę – ar lęšis yra sveikas, ar pakitęs (pvz., besivystanti katarakta). Kataraktos pažeistas akių lęšis iš pradžių yra plonesnis už sveikos akių lęšį, nors jų svoris gali būti toks pat (Williams, 2004; Paunksnienė ir kt., 2006). Mūsų tyrimai patvirtina D. L. Williams teiginį, kad lęšis plonėja tiek esant nesubrendusiai kataraktai, tiek esant nežymiam akių lęšio

pagal molekulinę masę Sefarozės CL-6B kolonėlėje. Šis metodas leidžia įvertinti, kaip baltymai pasiskirstė skirtingose molekulinės masės frakcijose. Tirpūs triušių akių lęšių baltymai chromatografijos gelyje metu išskirstomi į šešias frakcijas. Į I frakciją įeina baltymai, kurie chromatografijos Sefarozės CL-6B metu skirstosi 400–700 kDa, į II frakciją – 200–400 kDa, į III frakciją – 100–200 kDa, į IV frakciją – 50–100 kDa, į V frakciją – 20–50 kDa, į VI frakciją – 10–20 kDa molekulinės masės srityse. Rezultatai apskaičiuoti pagal kiekvieno akių lęšio baltymų elucijos profilį. Daugumą tirpių baltymų akių lęšyje sudaro kristalinai, todėl tikėtina, kad gautos frakcijos rodo santykį tarp atskirų kristalinų grupių. Kiekybinis tirpių akių lęšio baltymų pasiskirstymo tarp įvairios molekulinės masės frakcijų įvertinimas pateiktas 3 lentelėje. Nustatyta, kad I frakcijoje pašaro papildo šertų triušių akių lęšyje baltymų buvo 27 proc. daugiau ($p < 0,8$) palyginti su kontrole, o visose kitose frakcijose šis rodiklis yra kontrolės dydžio.

skaidrumo pokyčiams.

Bene svarbiausia biocheminė akių lęšio charakteristika yra jo baltymų gebėjimas išlikti tirpios būsenos gana koncentruotame tirpale (Eperjesi, Beatly, 2006). Vertindami tirpių baltymų kiekį kontrolinės ir eksperimentinės grupės triušių akių lęšiuose nustatėme: pašaro papildą gavusių triušių akių lęšiuose tirpių baltymų sumažėjo 15 proc. ($p < 0,2$). Šių rezultatų analizė rodo, kad žaliasis dumblius *Chlorella vulgaris* IFR-111 sukelia tam tikrus pokyčius triušio akių lęšyje. Šie duomenys atitinka lęšio suplonėjimą eksperimentinės grupės triušių akyse.

Tirpių baltymų analizė Sefarozės CL-6B kolonėlėje, vertinant jų pasiskirstymą skirtingose molekulinės masės frakcijose, taip pat rodo padidėjusį (27 proc.; $p < 0,8$) baltymų kiekį didelės molekulinės masės frakcijoje. Lęšio baltymų oksidaciniai pažeidimai yra pagrindinis veiksnys, lemiantis kataraktos formavimąsi (Marsili et al., 2004). Oksidacinio streso metu susidarę laisvieji radikalai sukelia negrįžtamus organizmo pokyčius, kurie yra viena pagrindinių organizmo senėjimo priežasčių (Truscott, 2000). Dėl šios priežasties padaugėja kristalinų potransliacinių modifikacijų: sutrumpėja jų polipeptidinė grandinė (Takemoto, 1995), vyksta deamininimas (Yang

et al., 1994), fosforilinimas (Miesbauer et al., 1994) ir kt. Kristalinų struktūros pokyčiai lemia padidėjusį jų agregavimą ir sumažėjusį tirpumą, o tai tampa padidėjusio šviesos išsklaidymo priežastimi ir prielaida kataraktai susiformuoti. Pvz., alfa-kristalinių modifikacijos sumažina šių baltymų tirpumą ir lemia jų atsiradimą netirpioje frakcijoje kataraktos metu (Chen et al., 1997). Alfa-kristalinių svarbą užtikrinant lęšio skaidrumą ir jų vaidmenį kataraktos patogenezėje patvirtina duomenys, rodantys, kad modifikacijos ši baltymą koduojančiame gene pagreitina lęšio drumstumą (Brady et al., 1997).

Triušių akių parametrų tyrimai parodė, kad pašarinis priedas *Chlorella vulgaris* IFR-111 sukelia morfologinius ir biocheminius pokyčius lęšyje, skatina jo drumstėjimą, todėl šie tyrimai oftalmologijai yra labai svarbūs ir bus tęsiami.

Literatūra

1. Barbazetto I. A., Liang J., Chang S., Zheng L. Oxygen tension in the rabbit lens and vitreous before and after vitrectomy. *Experimental Eye Research*. 2004. Vol.78 (5). P. 917–924.
2. Benedek G. B. Cataract as protein condensation disease: The Proctor Lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 1997. V. 38. P. 1911–1921.
3. Brady J. P., Garland D., Douglas-Tabor Y. et al. Targeted disruption of the mouse alpha A-crystallin gene induces cataract and cytoplasmic inclusion bodies containing the small heat shock protein alpha B-crystallin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 884–889.
4. Chen Y. C., Reid G. E., Simpson R. J., Truscott J. W. Molecular evidence of the involvement of alpha crystallin in the colouration/crosslinking of crystallins in age-related nuclear cataract. *Exp. Eye Res*. 1997. V. 65. P. 835–840.
5. Clark J. I., Muchowski P. J. Small heat-shock proteins and their potential role in human diseases. *Current Opinion in Structural Biology*. 2000. V. 10. P. 52–59.
6. Eperjesi F., Beatly S. Nutrition and the eye: a practical approach. New York: Elsevier Butterworth-Heinemann, 2006. P. 50–52.
7. Haley D. A., Bova M. P., Huang Q.-L. et al. Small heat-shock protein structures reveal a continuum from symmetric to variable assemblies. *J mol Biol*. 2000. V. 298. P. 261–272.
8. Yang Z., Chamorro M., Smith D. L., Smith J. B. Identification of the major components of the high molecular weight crystallins from old human lenses. *Curr. Eye Res*. 1994. V. 13. P. 415–421.
9. Yao K., Wang K. J., Sun Z. H., Tan J., Xu W., Zhu L. J., Lu D. Q. Low power microwave radiation inhibits the proliferation of rabbits lens epithelial cells by upregulating P27^{Kip1} expression. *Molecular Vision*. 2004. Vol. 10. P. 168–143.
10. Lee J. S., Liao J. H., Wu S. H., Chiou S. H. Alpha-crystallin acting as a molecular chaperonin against photodamage by UV-radiation. *J. Protein Chem*. 1997. V. 16. P. 283–289.
11. Lin P., Smith D. L., Smith J. B. In vivo modification of the C-terminal lysine of human lens alpha B-crystallin. *Exp. Eye Res*. 1997. V. 65. P. 673–680.
12. Ma Z., Hanson S. R. A., Lampi K. J. et al. Age-related changes in human lens crystallins identified by HPLC and mass spectrometry. *Exp. Eye Res*. 1998. V. 67. P. 21–30.
13. Marsili S., Salganik R. I., Albright C. D. et al. Cataract formation in a strain of rats selected for high oxidative stress. *Exp. Eye Res*. 2004. V. 79. P. 595–612.
14. Miesbauer L. R., Zhou X., Yang Z. et al. Post-translational modifications of the water soluble human lens crystallins from young adults. *J. Biol. Chem*. 1994. V. 269. P. 12494–12502.
15. Morita K., Matsueda T., Ilida T., Hasegawa T. Chlorella accelerates dioxin excretion in rats. *Journal of Nutrition*. 1999. Vol. 129. P. 1731–1736.
16. Paunksnienė M., Babrauskienė V., Svaldienė E., Paunksnis A., Kurapkienė S. Ryšys tarp ultragarsinių ir mechaninių akies lęšio branduolio savybių. *Veterinarija ir zootechnika*. 2006. T. 34 (56). P. 36–39.
17. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. Vol. 101. No. 2. P. 87–96.
18. Stašonienė A. Chlorella CE. Vartojimo instrukcija. 2003. P. 1.
19. Takemoto L.J. Changes in the C-terminal region of alpha-A crystallin during human cataractogenesis. *Int. J. Biochem. Cell. Biol*. 1997. V. 29. P. 311–315.
20. Truscott R. Age-related nuclear cataract: a lens transport problem. *Ophthalmic Res*. 2000. V. 32. P. 185–194.
21. Waterborg J. H., Matthews H. R. The Lowry method for protein quantitation. *J. Meth. Mol. Biol*. 1984. V. 1. P. 1–3.
22. Williams D. L. Lens morphometry determined by B-mode ultrasonography of the normal and cataractous canine lens. *Veterinary Ophthalmology*. 2004. V.2. P. 91–95.

Gauta 2009 03 30

Priimta publikuoti 2009 12 07