

Стан мітохондріального дихання та окислювального фосфорилування у нирках білих щурів за умов гемічної гіпоксії та при застосуванні різного шовного матеріалу

В эксперименте на белых крысах изучали процессы митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования в почках после имплантации в них модифицированной янтарной кислотой хирургической нити - биофила, изготовленного из твердой оболочки спинного мозга крупного рогатого скота, и других биологических рассасывающихся шовных материалов (кетгута и немодифицированного биофила). Через 12 ч после операции моделировали острую кровопотерю в объеме 2 % от массы животного. Установлено, что использование кетгута приводит к быстрому истощению биоэнергетических ресурсов, значительному снижению на 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода активности окислительного фосфорилирования, что особенно четко проявляется после острой кровопотери и не характерно при имплантации нитей из твердой мозговой оболочки. При применении биофила, модифицированного янтарной кислотой, отмечается существенный стимулирующий эффект на процессы окислительного фосфорилирования в шитой ткани, в том числе при острой гемической гипоксии. Сделан вывод, о целесообразности исследований влияния шовных материалов с резорбтивным эффектом на процессы метаболизма в шитых тканях в условиях моделирования патологических процессов, в частности гипоксии, что более четко отражает биологические качества исследуемых нитей.

Вступ

Розробка нових резорбтивних шовних матеріалів (РШМ) стала важливою проблемою експериментальної медицини. Новою вимогою для створення РШМ є наявність властивості стимулювати процеси репаративної регенерації у зшитих тканинах [5]. Найбільш важливо це для хірургічних ниток, що використовуються при накладанні швів на органи та тканини, які відрізняються великою функціонально-метаболічною активністю (наприклад, нирки). Значне підвищення кількості рибонуклеїнових кислот у фібробластах і гладеньком'язових клітинах зшитих тканин відзначається при використанні нової хірургічної нитки «Біофіл», виготовленої з твердої оболонки спинного мозку великої рогатої худоби [1]. У місці запалення фрагменти твердої мозкової оболонки тривалий час не зазнають протеолізу, не просякають гноем, не розплавляються [3, 14]. Викликає інтерес дослідження впливу біофілу на процеси тканинного дихання та окислювального фосфорилування, які значною мірою визначають активність внутрішньоклітинної регене-

рації [10], гіпоксії ане при різних та може відносяться підвищення модифікація Вибір остан умов гостро того відомо дихання л підсиленням пенсаторних Метою процесів мі ня у ни імплантації відомих біс при моделк

Методика

Дослідження статі масою (1 мг/кг) в рок з насту - контроль імплантації полірований третій - біо вертій - біо кий м'ясок умови були випадках го вовтрату ві минно-перер що призводи тяжкості [8 0,5 мл 0,5 через 7 і ефірним на

Функціон та Williams кова та Кр вали швидк та контроль хальний ко

рації [10], у динаміці післяопераційного періоду за умов гемічної гіпоксії анемічного генезу. Відомо, що цей стан нерідко розвивається при різній патології, яка потребує термінового операційного втручання та може траплятися безпосередньо під час останнього [2]. Нирки відносяться до числа органів особливо чутливих до гіпоксії [4]. Для підвищення біостимулюючого ефекту біофілу нами запропонована його модифікація, а саме: введення до структури РШМ янтарної кислоти. Вибір останньої речовини був пов'язаний з її здатністю проявляти за умов гострого стресу адаптогенну дію на організм ссавців [6]. Крім того відомо, що сукцинат відіграє важливу роль у відновленні функції дихання ланцюга на ранніх етапах гіпоксії, що пов'язано з підсиленням альтернативних НАДН-оксидазному шляху окислення компенсаторних шляхів утворення АФФ [17].

Метою нашого дослідження було порівняльне вивчення динаміки процесів мітохондріального дихання та окислювального фосфорилування у нирках білих щурів у післяопераційному періоді після імплантації модифікованого янтарною кислотою біофілу та раніше відомих біологічних РШМ (кетгуту та немодифікованого біофілу та при моделюванні гострої гемічної гіпоксії.

Методика

Дослідження були проведені на 128 білих щурах лінії Вістар різної статі масою 180-250 г у 8 серіях. Тваринам під кетаміновим наркозом (1 мг/кг) виконували стандартний розріз у межах коркового шару нирок з наступним накладанням вузлових швів (у першій серії дослідів - контрольній - проводили всі етапи операції без нефротомії та імплантації нитки). У другій серії в якості РШМ застосовували кетгут полірований (традиційний шовний матеріал з баранячої сировини), у третій - біофіл, виготовлений КП «Полтавський м'ясокомбінат», у четвертій - біофіл, модифікований у заводських умовах (КП «Полтавський м'ясокомбінат») янтарною кислотою, в останніх серіях дослідів умови були однакові з зазначеними вище крім моделювання в цих випадках гострої крововтрати через 12 год після операції. Гостру крововтрату відтворювали кровопусканням з правої яремної вени струминно-переривчастим методом в об'ємі 2 % від маси тварини [10], що призводить до розвитку гострої гемічної гіпоксії середнього ступеня тяжкості [8]. Попередньо у місце оголення вени в тканини вводили 0,5 мл 0,5 %-го розчину новокаїну. Білих щурів виводили з дослідів через 7 і 14 діб після імплантації РШМ декапітацією під легким ефірним наркозом.

Функціональний стан мітохондрій досліджували за методом Chance та Williams [12]. Середовище інкубації готували за вказівками Чумакова та Крупенікової [11]. За отриманими полярограмами розраховували швидкості фосфорилуючого (в метаболічному стані 3 за Чансом) та контрольованого (в метаболічному стані 4) дихання мітохондрій, дихальний контроль [12] і коефіцієнт ефективності фосфорилування

АДФ/О [13]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Через 7 діб після операції відзначається підвищення швидкості фосфорилуючого дихання в нирках білих щурів при застосуванні всіх РШМ, які вивчали (табл. 1). Це, очевидно, пов'язано з активацією біоенергетичних процесів як прояв адаптації організму до заподіяного пошкодження [4]. Проте, найбільше значення вказаного показника мало місце при використанні для шва біофілу, модифікованого янтарною кислотою. При цьому швидкість фосфорилуючого дихання перевершувала результат першої серії на 21,8 % та серії, де використовували традиційний кетгут, на 10,5 %. Поряд зі збільшенням швидкості дихання в метаболічному стані 3 мітохондрій нирок при застосуванні модифікованого біофілу відзначається достовірне підвищення дихального контролю (табл. 2).

При використанні для шву нирок кетгуту фаза підвищення біоенергетичних процесів швидко змінюється на фазу їхнього виснаження. Так, через 14 діб після імплантації цього РШМ швидкість фосфорилуючого та контрольованого дихання знижується на 17,7 та 20,0 % відповідно, при цьому поступаючись на 17,3 та 25,7 % результатам серії, де використовували біофіл (див. табл. 1). Відомо, що кетгут має найбільшу гістотоксичність порівняно з біофілом і синтетичними РШМ, похідними гліколевої та молочної кислот і полієфіру полі (п-диоксанону) [9, 16]. У процесі біодеградації кетгуту утворюються активні форми кисню та цитотоксичні речовини, які пошкоджують мембрани клітин і субклітинних структур, у тому числі мітохондрій [7, 15].

Найбільші значення вказаних вище полярографічних показників відзначаються при застосуванні модифікованого янтарною кислотою біофілу. Так, швидкість фосфорилуючого дихання в останньому випадку достовірно перевищує значення контрольної групи і третьої серії ($P < 0,01$). Стимуляція процесів окислювального фосфорилування при використанні модифікованого сукцинатом біофілу, очевидно, пов'язана з тим, що янтарна кислота є найбільш потужним активатором процесу мітохондріального окислення [4].

Проведене кровопускання, можливо, є потужним стресом для організму, який призводить до виснаження адаптаційних ресурсів. Так, через 7 і 14 діб у тварин, яким операцію проводили без нефротомії з наступною крововтратою, швидкість фосфорилуючого дихання була зменшеною порівняно з даними першої серії на 32,2 та 17,0 % відповідно (див. табл. 1). На 7-му добу відзначається зменшення дихального контролю та коефіцієнта ефективності фосфорилування АДФ/О (див. табл. 2). При використанні кетгуту для зшивання нирок з наступним кровопусканням фаза активації біоенергетичних процесів, яка мала місце на 7-му добу післяопераційного періоду в другій серії дослідів, не визначалася (див. табл. 1).

Таблиця 1.
мітохондрій
імплантації різ

Вид матеріалу	
Без імплантатії РШМ	70,
Кетгут	77,
Біофіл	80,
Біофіл, модифікований янтарною кислотою	85,

Примітка: Т РШМ не застос був імплантован моделювання кр

При вико фосфорилюва без попередн дифікованого 7-му добу пі ня порівняно тури РШМ с зшитий ткани функціональн роблених з т умов моделю також вірогід чення процес

Таблиця 1. Зміни швидкості фосфорилуючого (V3) та контрольованого (V4) дихання мітохондрій нирок білих щурів (натом O/хв · мг білку) в післяопераційному періоді після імплантації різних резорбтивних шовних матеріалів (РШМ)

Вид матеріалу	Без крововтрати				Після крововтрати			
	Через 7 діб		Через 14 діб		Через 7 діб		Через 14 діб	
	V3	V4	V3	V4	V3	V4	V3	V4
Без імплантатії								
РШМ	70,2±2,1	36,6±1,1	73,6±2,9	37,9±1,5	47,6±2,3	32,82±1,58	58,3±2,1	36,4±1,3
					P ₃ <0,001	P ₃ >0,05	P ₃ <0,01	P ₃ >0,05
Кетгут	77,4±2,4	37,0±1,1	60,6±2,3	30,3±1,1	31,7±2,9	27,8±2,53	44,8±3,3	34,5±2,5
	P ₁ <0,05	P ₁ >0,05	P ₁ <0,01	P ₁ <0,01	P ₁ >0,01	P ₁ >0,05	P ₁ <0,01	P ₁ >0,05
					P ₃ <0,001	P ₃ >0,01	P ₃ <0,01	P ₃ >0,05
Біофіл	80,7±4,3	37,5±2,0	71,1±1,8	38,1±0,8	52,1±3,2	28,6±1,8	73,9±2,6	38,5±1,3
	P ₁ <0,05	P ₁ >0,05	P ₁ >0,05	P ₁ >0,05	P ₁ >0,05	P ₁ >0,05	P ₁ <0,001	P ₁ >0,05
	P ₂ >0,05	P ₂ >0,05	P ₂ <0,01	P ₂ <0,001	P ₂ <0,001	P ₂ >0,05	P ₂ <0,001	P ₂ >0,05
					P ₃ <0,001	P ₃ <0,01	P ₃ <0,05	P ₃ >0,05
Біофіл, модифікований янтарною кислотою	85,5±1,6	38,1±0,7	83,5±2,4	36,9±1,1	62,6±2,8	38,4±1,7	83,4±3,0	42,3±1,6
	P ₁ <0,001	P ₁ >0,05	P ₁ <0,05	P ₁ >0,05	P ₁ <0,01	P ₁ <0,05	P ₁ <0,001	P ₁ <0,02
	P ₂ <0,02	P ₂ >0,05	P ₂ <0,001	P ₂ <0,01	P ₂ <0,001	P ₂ <0,01	P ₂ <0,001	P ₂ <0,02
					P ₃ <0,001	P ₃ >0,05	P ₃ >0,05	P ₃ <0,02

Примітка: Тут і в табл. 2 P₁ - ймовірність помилки порівняно з результатами серій, де РШМ не застосовували; P₂ - ймовірність помилки порівняно з результатами тварин, яким був імплантований кетгут; P₃ - ймовірність помилки порівняно з результатами дослідів без моделювання крововтрати.

При використанні біофілу достовірного зниження окислювального фосфорилування порівняно з серією, де крововтрата відтворювалася без попередньої нефротомії, не відзначається, проте застосування модифікованого янтарною кислотою біофілу призводить до підвищення на 7-му добу післяопераційного періоду швидкості фосфорилуючого дихання порівняно з указаною серією. Це свідчить, що введення до структури РШМ сукцинату обмежує виснаження біоенергетичних ресурсів у зшитій тканині нирок. Привертає увагу той факт, що різниця у функціональному стані мітохондрій нирок при застосуванні РШМ, вироблених з твердої мозкової оболонки та кетгуту більше виражена за умов моделювання гострої гемічної гіпоксії. При цьому очевидним стає також вірогідно більше значення показників, що свідчать про сполучення процесів окислення та фосфорилування АДФ, - дихального

Таблиця 2. Зміни показників, які характеризують сполучення окислення та фосфорилування в мітохондріях нирок білих щурів в післяопераційному періоді після імплантації різних резорбтивних шовних матеріалів (РШМ)

Вид матеріалу	Без крововтрати				Після крововтрати			
	Через 7 діб		Через 14 діб		Через 7 діб		Через 14 діб	
	АДФ/О, нмоль ДФ/натом О	Дихальний контроль	АДФ/О, нмоль АДФ/натом О	Дихальний контроль	АДФ/О, нмоль АДФ/натом О	Дихальний контроль	АДФ/О, нмоль АДФ/натом О	Дихальний контроль
Без імплантації								
РШМ	1,82±0,11	1,92±0,09	1,85±0,17	1,94±0,14	1,27±0,17	1,45±0,15	1,44±0,15	1,6±0,13
					$P_1 > 0,05$	$P_3 > 0,05$	$P_3 < 0,02$	$P_{3д} < 0,02$
Кетгут	2,10±0,13	2,09±0,11	1,78±0,31	2,00±0,26	0,92±0,24	1,14±0,22	1,13±0,23	1,3±0,2
	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$
					$P_3 < 0,001$	$P_3 < 0,01$	$P_3 > 0,05$	$P_3 > 0,05$
Біофил	1,96±0,27	2,15±0,22	1,96±0,11	1,87±0,09	1,63±0,21	1,82±0,18	1,7±0,17	1,92±0,15
	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$
	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 < 0,05$	$P_2 < 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 < 0,05$
					$P_3 > 0,05$	$P_3 > 0,05$	$P_3 > 0,05$	$P_3 > 0,05$
Біофил, модифікований янтарною кислотою	2,07±0,11	2,24±0,09	2,12±0,17	2,26±0,14	1,43±0,18	1,63±0,16	1,79±0,18	1,97±0,15
	$P_1 > 0,05$	$P_1 < 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$
	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 < 0,05$	$P_2 < 0,05$
					$P_3 < 0,02$	$P_3 < 0,01$	$P_3 > 0,05$	$P_3 > 0,05$

контролю та коефіцієнту ефективності фосфорилування АДФ/О при імплантації біофілу та його модифікованого варіанту (див. табл. 2).

Таким чином, дослідження впливу РШМ на процеси метаболізму у тканинах при медико-біологічних випробуваннях хірургічних ниток доцільно проводити за умов моделювання типових патологічних станів, наприклад, після відтворення гострої гемічної гіпоксії. В ході цього дослідження встановлено, що використання традиційного РШМ - кетгуту - призводить до швидкого виснаження біоенергетичних ресурсів, особливо після гострої крововтрати, що проявляється у зниженні про-

цесів окис-
який пози-
нирок, у
кислотою,
лювальної
гіпоксії.

V.A.Kostenko

INFLUENCE
OF DURA MA
ON PROCESS
AND OXYDA
OF WHITE R

The activit
phosphoryla
which had
such absorb
spinalis of
proves the
effectiveness
postoperative
The use of
increase of
Following
absorbable
condition of
reflects the
kidneys.

Medical Stomat
Ministry of Pub

СПИСОК ЛІТЕ

1. Бабанин А.
«Біофил».
тивних пер
1995. - С. 3
2. Вайнберг З.
С. 7-11.
3. Иванов А.І.
материала
гической п
4. Казуева Т.Б.
после остро
С. 30-32.
5. Калнберз В.
рургический
- № 11. - С
6. Кондрашов
метаболизм
ные резервы

ня та фосфорилю-
після імплантації

втррати

Через 14 діб

ДФ/О, нмоль	Дихаль- ний кон- троль
ДФ/на- том О	

44±0,15 1,6±0,13

P₃<0,02 P_{зд}<0,02

13±0,23 1,3±0,2

P₁>0,05 P₁>0,05

P₃>0,05 P₃>0,05

7±0,17 1,92±0,15

P₁>0,05 P₁>0,05

P₂>0,05 P₂<0,05

P₃>0,05 P₃>0,05

79±0,18 1,97±0,15

P₁>0,05 P₁>0,05

P₂<0,05 P₂<0,05

P₃>0,05 P₃>0,05

ДФ/О при

ив. табл. 2).

метаболізму у

ргічних ниток

огічних станів,

В ході цього

РШМ - кет-

чних ресурсів,

зниженні про-

1998. Т. 44, № 1-2

цесів окислювального фосфорилювання. Використання біофілу має деякий позитивний вплив на процеси енергоутворення у мітохондріях нирок, у той час як імплантація біофілу, модифікованого янтарною кислотою, викликає істотний стимулюючий ефект на процеси окислювального фосфорилювання, в тому числі при гострій гемічній гіпоксії.

V.A.Kostenko

INFLUENCE OF SURGICAL THREAD OF DURA MATER SPINALIS MODIFIED WITH SUCCINATE ON PROCESSES OF MITOCHONDRIAL RESPIRATION AND OXYDATIVE PHOSPHORYLATION IN KIDNEYS OF WHITE RATS UNDER BLOOD HYPOXIA

The activity of processes of mitochondrial respiration and oxydative phosphorylation has been stadied in the experiment with white rats, which had been carried out nephrotomia with following use for suture such absorbable surgical threads as catgut plain biofil (of dura mater spinalis of the cattle) and biofil modified with succinate. The research proves the use of catgut plain decreases of biosynthetical processes and effectiveness of oxydative phosphorylation in 7 and 14 days of postoperative period shown more distinctively in condition of blood loss. The use of biofil modified with succinate results in the significant increase of oxidative phosphorylation in the sutured renal tissue. Following thing can be interred the investigation of influence of absorbable suture matirials in metabolic processes in sutured tissues in condition of modelling of pathological processes, in particular of hypoxia, reflects the biological qualities of studied threads more distinctively, kidneys.

Medical Stomatological Academy,
Ministry of Public Health of the Ukraine, Poltava

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабанин А.А., Коротко А.Ш., Гумеров Р.Х. Новая рассасывающаяся хирургическая нить «Биофил». - В кн.: Мат. II Междунар. конф. «Современные подходы к разработке эффективных перевязочных средств, шовных материалов и полимерных имплантатов». - М., 1995. - С. 305-306.
2. Вайнберг З.С., Гимпельсон Я.Э. Закрытые повреждения почек // Хирургия. - 1981. - № 6. - С. 7-11.
3. Иванов А.Г., Иванов Г.И. К обоснованию выбора наиболее оптимального биологического материала для операций у детей раннего возраста. - В кн.: Современные проблемы хирургической помощи детям раннего возраста. - М., 1981. - С. 177-178.
4. Казуева Т.В., Селезнев С.А. Энергетический обмен в печени и почках крыс в первые сутки после острой кровопотери // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1980. - 90, № 7. - С. 30-32.
5. Калнберз В.С., Кузмина И.В., Домбровска Л.Э. Реакция тканей на рассасывающиеся хирургические шовные материалы и ее практическое значение // Вестн. хирургии. - 1988. - № 11. - С. 130-131.
6. Кондрашова М.Н. Функциональный резерв адаптации энукрикеточного энергетического метаболизма к активной деятельности. - В кн.: Мат. Всесоюз. науч. конф. «Функциональные резервы и адаптация». - К., 1990. - С. 68-71.

7. Костенко В.А. Роль азота в нарушении репаративно-регенераторных процессов в почках в послеоперационном периоде после применения различных рассасывающихся шовных материалов. - В кн.: Мат. доп. наук. конф. «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини на сучасному рівні». - Полтава, 1996. - С. 193-194.
8. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии / Под ред. М.М.Середенко. - К.: Наук. думка, 1987. - 200 с.
9. Скрипников Н.С., Костенко В.А., Бабанин А.А. и др. Перспективы создания и применения новых хирургических рассасывающихся шовных материалов в Украине // Вестн. проблем биологии и медицины. - 1997. - № 15. - С. 9-17.
10. Тыртышиников И.М. Адаптивные реакции в тканях и крови в условиях применения гипербарической оксигенации после острой массивной кровопотери: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Ростов-на-Дону, 1986. - 40 с.
11. Чумаков В.Н., Крупеникова Л.И. Изменения и фармакологическая коррекция окислительного фосфорилирования при региональной ишемии почек // Вопр. мед. химии. - 1986. - № 4. - С. 86-90.
12. Chance B., Williams G.R. The respiratory chain and oxydative phosphorylation // Adv. Enzymol. - 1956. - 17, № 2. - P. 65-134.
13. Estabrook R.W. Mitochondrial respiratory control and polarographic measurement of ADP: O ratios // Methods in Enzymol. - 1967. - Vol. 10. - P. 41-48.
14. Medings N., Scott R., Bullock R. et al. Collagen vicryl - a new dural prosthesis // Acta Neurochir. Wien. - 1992. - Vol. 117, № 1-2. - P. 53-58.
15. Pulpura S., Kohn J. Trends in the development of bioresorbable polymers for medical applications // J.Biomater. Appl. - 1992. - 6, № 3. - P. 216-250.
16. Smit I.B., Witte E., Brand R., Trimbois J.B. Tissue reaction to suture materials revisited: in there srgument to change our views? // Eur. Surg. Res. - 1991. - 23, № 5-6. - P. 347-354.
17. Zhang T.M., Rasschaert J., Malaisse W.J. Metabolism of succinic acid methyl esters in neural cells // Biochem. Molec. Med. - 1995. - 54, № 2. - P. 112-116.

Укр. мед. стомат. академія
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 18.09.97

Вплив гіпоксії

В опытах эритроцитарных мер и ко эритроцитом чем плазматическим/орадренальным

Вступ

При гіпоксії яка підвищується з ними (Е), депонується регуляції ензимів ситуації [6], цитарного д

Методика

Проведено дослідження контрольними групами під впливом гіпоксії [10] камері з протіканням крові, тварин крові і за дозою адреналіну (шурів викликають скляним ковпачком крові тварин готували магістрів КА в Е гісті

Результати та

Як видно з плазми крові співвідношення Е вміст А співвідношення Сумарні К методом стан