

АНТИТОКСИЧНИЙ ФЕНОМЕН КРІОЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТУ

Антитоксичну спроможність подрібненого субстрату кріоліофілізованої ксеношкіри розглядають за критерієм резистентності еритроцитарних мембран у гемолітичній тест-системі як прояв адсорбційної властивості її часточок та аналізують з позицій перспективності для вирішення актуальних завдань керованої регенерації тканин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кріоліофілізована ксеношкіра, подрібнений ксенодермальний субстрат, гемолітична тест-система, резистентність еритроцитарних мембран.

ВСТУП. Практика застосування в Україні ксеноімплантатів для місцевого лікування опечених хворих постійно поповнюється новими позитивними ефектами, що ставить на порядок денний завдання вивчення ініціальних механізмів впливу ксеногенної шкіри на процеси тканинної регенерації. Засіб медичного призначення – ксенодермальний імплантат, виготовлений із шкіри свині за технологією кріоконсервування в рідкому азоті з наступною ліофілізацією, забезпечує низку біологічних ефектів, системний характер яких вимагає поглибленого аналізу [1, 3, 7]. Так, притаманний ксеношкірі високий окисно-відновний потенціал, пов'язаний із вмістом сірковмісних амінокислот цистеїну і метіоніну, окиснювальних ферментів, наприклад пероксидази, цитохромоксидази тощо, нівелює первинні механізми взаємодії ксеноімплантата з молекулами токсичних продуктів опеченого організму, попри те, що саме вказані механізми є визначальними в розвитку наступних системних реакцій адаптивного спрямування. З огляду на наведені міркування, аналіз фізико-хімічного підґрунтя антитоксичного ефекту ксеноімплантата набуває особливого значення як для розуміння його природи, так і для подальшої розробки методичних підходів до його направленої корекції [4].

Метою даної роботи було дослідити антитоксичну здатність ксенодермального субстрату за тестом на резистентність мембран еритроцитів і вивчити взаємозв'язок антитоксичного ефекту ксенодермального субстрату з його адсорбційною спроможністю.

© А. В. Цимбалюк, 2012.

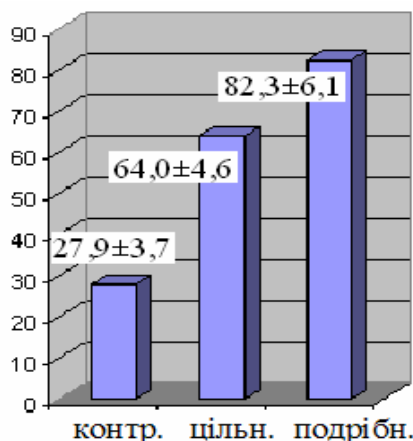
МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Адсорбційну здатність субстрату ксеногенної шкіри вивчали за впливом на резистентність мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу. За основу вказаного методичного підходу взяли властивість клітинних мембран руйнуватися під впливом соляної кислоти у вигляді гемолізу, кінетика якого істотно залежить від вихідного рівня мембранної резистентності, який реєструють фотометричним способом за зміною екстинкції суміші внаслідок вивільнення внутрішньоклітинного гемоглобіну з утворенням солянокислого гематину. Індукований кислотою гемоліз *in vitro* відображає ініціальні механізми мембранної резистентності конкретно взятої клітинної тест-системи. Внесення до неї додаткового модулятора гемолізу, зокрема токсичної гіперметаболізованої плазми донорської крові (ГМП), позначається прискоренням гемолітичного процесу, що в цілому достатньо коректно відображає функціональний стан мембранопротекторної спроможності ізольованих клітин крові, з одного боку, характеризуючи при цьому мембранотропний вплив будь-якого іншого чинника з властивістю стабілізатора або деструктора цитомембранної резистентності – з іншого.

Конкретно тестову пробу ставили таким чином. Гемолітичною системою слугував робочий розчин нативної крові пацієнта на ізотонічному розчині натрію хлориду в розведенні 1:100 з наступною стандартизацією до рівня 0,70 за оптичною густиною при червоному світлофільтрі. Як додатковий модулятор – індуктор гемолізу використовували ГМП крові донора, попередньо витриману у відкритому

флакони при 37 °С впродовж 2 діб. Окремо готували дослідні проби адсорбенту у вигляді рівних за масою цільних клаптиків і подрібненого субстрату (20 мг).

Кислотні еритрограми визначали таким чином. До 2,5 мл робочого розчину крові у пробірці додавали 100 мкл водного екстракту ГМП, перемішували і вносили дослідні проби адсорбенту: в одній серії – у вигляді цільних клаптиків ксеношкіри масою 20 мг, в іншій – по 20 мг подрібненого ксенодермального субстрату. Після інкубації впродовж 45 хв обережно мікропіпеткою переносили по 2,0 мл отриманого інкубату до вимірювальної кювети, додавали стандартний індуктор гемолізу у вигляді 2 мл $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л соляної кислоти на ізотонічному розчині натрію хлориду, після чого зміни екстинкції гемолітичної системи реєстрували фотометричним способом на самописці [5, 9], а мембранопротекторний ефект ксенодермального субстрату оцінювали програмним способом за індексом резистентності еритроцитарних мембран [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті дослідження встановлено, що антитоксична здатність подрібненого субстрату ксеношкіри істотно перевищує аналогічну цільного клаптя. Так, якщо індекс резистентності інкубованих в токсичній плазмі еритроцитів у контролі складав $27,9 \pm 3,7$ (100 %), то при попередній інкубації в ній цільної ксеношкіри та подрібненого субстрату ксеношкіри досягав рівня $64,0 \pm 4,6$ (229 %) та $82,3 \pm 6,1$ (295 %) відповідно ($p < 0,05$). Наведені на діаграмі отримані результати наглядно демонструють значно вищу (на 28,6 %) адсорбційну здатність подрібненого субстрату порівняно з аналогічною властивістю цільного клаптя ($p < 0,05$).



Діаграма. Порівняльна характеристика антитоксичного ефекту цільної і подрібненої ксеношкіри за індексом резистентності клітинних мембран.

Подрібнення субстрату кріоліофілізованої ксеношкіри зумовило появу нових фізико-хімічних і біофізичних властивостей, які в той чи інший спосіб визначають біологічні властивості ксеногенної шкіри як виробу медичного призначення, зокрема для лікування ран переважно термічної природи.

Серед властивостей подрібненої ксеношкіри особливу увагу привертають антиоксичні властивості як такі, що безпосередньо визначаються адсорбцією, дисперсністю і неоднорідністю часточок відповідно до фізичних закономірностей взаємодії їх поверхонь [2, 8]. Крім того, адсорбційна спроможність ксеношкіри набуває особливого значення з урахуванням посилення явищ адсорбції у тріщинах і порах, із чим, власне, пов'язаний значний інтерес до рівня дисперсності частинок саме подрібненого субстрату.

На це вказують результати дослідження адсорбційної здатності цільної ксеношкіри та її подрібнених субстратів трьох рівнів здрибнення, зокрема з розміром частинок до 1 мм, а також 2 і 3 мм. Так, якщо індекс резистентності мембран еритроцитів при інкубації цільного клаптя складав у середньому $66,2 \pm 2,3$ (100 %), то при інкубації подрібненого субстрату резистентність мембран клітин гемолітичної тест-системи становила $107,4 \pm 4,3$ (162,6 %) для частинок розміром менше 1 мм, $89,1 \pm 3,5$ (134,6 %) і $85,6 \pm 4,1$ (129,3 %) – для частинок розміром 2 і 3 мм відповідно ($p < 0,05$). Отримані дані підтверджують закономірне посилення адсорбційної залежності часточок адсорбенту зі збільшенням рівня їх дисперсності.

Отже, взаємозв'язок антитоксичного ефекту ксеношкіри з притаманними їй адсорбційними властивостями набуває ознак важливої складової саногенетичного процесу, сутність якого полягає в тому, що адсорбовані поверхнею субстрату токсичні фрагменти молекул метаболітів легше піддаються наступній елімінації з організму, що супроводжується поліпшенням перебігу опікової хвороби, а відтак формуванням передумов для наступної ефективної регенерації пошкоджених тканин.

ВИСНОВКИ. Встановлено залежність адсорбційної активності й пов'язаної з нею антитоксичної спроможності подрібненого субстрату ксеношкіри від рівня його здрибнення як такого. Встановлені особливості ксенодермального субстрату зможуть отримати інноваційну реалізацію для вирішення актуальних завдань направленої корекції пошкоджених патологічним процесом тканин та інших функціональних систем організму.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бігуняк В. В. Можливості використання субстрату консервованої ксеногенної шкіри: проблеми і перспективи / В. В. Бігуняк, В. В. Дем'яненко, Н. В. Гуда // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції. – Тернопіль : ТДМУ, 2007. – С. 34–36.
2. Введение в физику поверхности [К. Оура, В. Г. Лифшиц, А. А. Саранин и др.]. – М. : Наука, 2006. – 492 с.
3. Дем'яненко В. В. Кріотехнологія виготовлення біотрансплантата з позицій сучасних уявлень про електронно-ядрову тунелізацію в біологічних макромолекулах / В. В. Дем'яненко, Н. В. Гуда, Т. В. Бігуняк // Современные вопросы лечения термических поражений и их последствий : материалы Международной научно-практической конференции. – Донецк : Nord Press, 2005. – С. 93–94.
4. Использование лиофилизированных ксенодермотрансплантатов в ожоговых отделениях Украины / Т. В. Бигуняк, В. И. Нагайчук, В. В. Демяненко, Н. В. Гуда // Актуальные проблемы лечения термических поражений и их последствий : материалы респ. науч.-практ. конф., г. Минск, 3 октября 2008 года. – Минск : Доктор-Дизайн, 2008. – С. 87–89.
5. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму : методичні рекомендації / [М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко та ін.]. – К., 1998. – 32 с.
6. Пат. 7241 Україна. Спосіб оцінки активності аденілицклази клітин ізольованої крові / Бігуняк Т. В., Дем'яненко В. В., Нагайчук В. І. – № 2004110938 ; заявл. 08.11.04 ; опубл. 15.06.05, Бюл. № 6.
7. Подрібнений субстрат кріоконсервованої ксеношкіри: новий технологічний етап системної тканинної терапії / В. В. Бігуняк, В. В. Дем'яненко, І. М. Кліщ, Ю. С. П'ятницький // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : збірник матеріалів конф., 4 червня 2009 року. – Тернопіль : ТДМУ, 2009. – С. 52–53.
8. Праттон М. Введение в физику поверхности / М. Праттон. – Удмуртский Государственный Университет : Регулярная и хаотическая динамика, 2000. – 251 с.
9. Терсков И. А. Метод кислотных эритрограмм / И. А. Терсков, И. И. Гительзон // Биофизика. – 1957. – 2, вып. 2. – С. 259–266.

А. В. Цимбалюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

АНТИТОКСИЧЕСКИЙ ФЕНОМЕН КРИОЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМАЛЬНОГО СУБСТРАТА

Резюме

Антитоксическая активность измельченного субстрата криолиофилизированной ксенокожи рассматривается по критерию резистентности эритроцитарных мембран в гемолитической тест-системе как проявление адсорбционных свойств ее частиц и анализируется с позиций перспективности для решения актуальных задач управляемой регенерации тканей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: криолиофилизированная ксенокожа, измельченный ксенодермальный субстрат, гемолитическая тест-система, резистентность эритроцитарных мембран.

A. V. Tsybaliuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

ANTITOXIC PHENOMENON OF THE CLIOLIOFILIZED XENOGRAFT SUBSTRATE

Summary

Antitoxic ability of the crioliofilized xenograft crushed substrate is considered by the criterion of erythrocyte membranes resistance in hemolytic test system as a manifestation of adsorption properties of its particles and is analyzed from the standpoint of its effectiveness for tissue regeneration.

KEY WORDS: crioliofilized xenograft, crushed xenograft substrate, hemolytic test system, the resistance of erythrocyte membranes.

Отримано 11.04.12

Адреса для листування: А. В. Цимбалюк, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.