

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАУКОВО - ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ

На правах рукопису

КНАВА ОЛЬГА ЕДУАРДІВНА

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ДІЇ ІОНІВ НЕБЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ -
КОМПОНЕНТІВ СТОМАТОЛОГІЧНИХ СПЛАВІВ НА ПРОЦЕСИ ОКИСЛЮ-
ВАЛЬНОГО ТА ГЛІКОЛІТИЧНОГО ФОСФОРИЛЮВАННЯ В ТКАНИНАХ
ОРГАНІЗМУ

Спеціальність

03.00.02 - біофізика

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття вченого ступеня
кандидата біологічних наук

Одеса - 1993

Аз 28.013

Робота виконана в лабораторії біофізики та радіоізотопних досліджень Одеського науково-дослідного інституту стоматології

Науковий керівник - кандидат біологічних наук с.н.с. ПЕШКОВА Л.В.

Науковий консультант - доктор медичних наук доцент СЮЛЯР В.Є.

Офіційні оцінювачі - доктор медичних наук професор БЕРЕЗОВСЬКИЙ В.Я.
- кандидат біологічних наук с.н.с. РОГОВСЬКИЙ С.П.

Ведуча установа - Київський державний університет ім. Т.Г.Шевченка

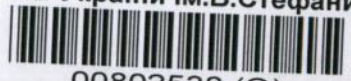
Захист дисертації відбудеться "13" січня 1993р. о "___" годині на засіданні Спеціалізованої ради Д.016. ІБ.01 в Інституті фізіології ім. О.О.Богомольця АН України за адресою: 252024, м.Київ, вул. Богомольця, 4.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця АН України.

Автореферат розісланий "13" січня 1993 р.

Вчений секретар Спеціалізованої ради доктор біологічних наук З.О.Сорокіна-Маріна

ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00802538 (Q)

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ДВ-28, 0.13

І. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Іони металів, які мають високу біологічну активність, приймають безпосередню участь у ході метаболічних процесів організму.

Разом з тим, при їх надмірному проникненні спостерігається інгібування переносу іонів через клітинні мембрани, інактивация ферментів циклу Кребса, цитохромів дихального ланцюга мітохондрій, процесів гліколітичного фосфорилування, в зв'язку з чим відбувається гальмування процесів трансформації енергії в організмі /Бурханов А.І., Пічхадзе Г.М., 1987; Скулачев В.П. 1969; Ribarov S. et al., 1982; Ligeti et al., 1981; Wiegand H., 1988/.

Надмірне накопичення іонів металів у клітинах печінки, яка є органом - мішенню для багатьох з них /Sabbioni E., 1987/, порушує процеси енергетичного обміну мітохондрій, у внутрішній мембрані котрих локалізовані механізми основного засобу трансформації енергії в аеробних умовах - процеси окислювального фосфорилування.

При транспортуванні іонів металів з кров'ю відбувається зв'язування їх та накопичення в еритроцитах, в решті чого вони починають справляти модифікований вплив на процеси альтернативного засобу енергообміну в анаеробних умовах - реакції гліколітичного фосфорилування, які з'являються єдиним джерелом енергії для еритроцитів /Ноздрюхіна Л.В., 1987; Ізтлецов М.К. та інші, 1984; Шкрібнева І.І., 1982/.

Проявлення дії та ступінь змін, які викликані надходженням в організм іонів металів, будуть залежати від їх кількості, ступеня окислення, форми і засобу уведення, а також від віку та фізіологічного стану організму /Морозова В.В., Векленко В.П., 1969; Авдич А.П. та інші, 1991/.

Металеві конструкції, які використовують у стоматології для усунення дефектів зубо-щелепної системи, несучи фізіологічну функцію, з'являються, проте, постійним джерелом іонів, які, накопичуючись в організмі, викликають цілий ряд метаболічних порушень /Дойніков А.І. та інші, 1988; Пухачев В.І., 1986; Седов С.Е., 1983; Гожає Л.Д., 1988/.

Дослідження, посвячені вивченню механізмів впливу іонів металів - компонентів стоматологічних сплавів на процеси трансформації енергії в організмі, нечисленні і в більшості випадків мають суперечний характер.

Засіб введення в організм (в експерименті) іонів металів - компонентів сплавів, який моделює би реальні електрохімічні та фізіологічні процеси, які відбуваються в порожнині рота у протезоносіїв, ми не знайшли.

Разом з тим, знання реальних механізмів участі іонів металів в метаболізмі клітин є одною з необхідних умов створення біологічно індиферентних сплавів для ортопедичної стоматології.

М е т а і з а д а ч і д о с л і д ж е н н я .

Метою цього дослідження є вивчення механізмів впливу іонів - компонентів сплавів з неблагородних металів на основні шляхи трансформації енергії в клітинах.

Відповідно поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Вивчити механізм дії іонів металів, які елімінують із сплавів неблагородних металів (кобальто-хромового і нержавіючої сталі), на процеси окислювального і гліколітичного фосфорилування.
2. Вивчити вплив іонів хрому, які елімінують з хромованого покриття сплавів, на процеси енергообміну в клітинах.
3. Розробити засіб введення (в експерименті) іонів металів - компонентів сплавів, який моделює процес їх проникнення в організм з ротою рідиною, з метою оцінки їх впливу на клітинний метаболізм.

Н а у к о в а н о в и з н а . Виявлено, що елімінуючі з кобальто-хромового сплаву іони пригнічують процеси гліколізу в еритроцитах і активують аеробний шлях трансформації енергії в клітині (збільшують ступінь спотягання процесів дихання з фосфорилуванням). Останнє розглядається нами як компенсаторний ефект клітинного метаболізму.

Встановлено, що іони металів, які надходять з нержавіючої сталі, не справляють вираженої інгібуючої дії на аеробний та анаеробний енергообміни у клітинах.

Доведено, що інгібуючий вплив іонів хрому, які надходять з хромованого покриття, виражається в зниженні швидкості реакцій гліколітичного фосфорилування, в збільшенні протонної провідності мітохондріальних мембран, в шунтуванні другого пункту спрягання дихального ланцюга.

Показано, що інгібуючий вплив іонів хрому, які елімінують з хромованого покриття, на процеси клітинного енергообміну зумовлений дією іонів Cr^{3+} .

Практична цінність роботи.

1. Розроблено засіб введення в організм іонів металів (компонентів сплавів) з метою оцінки їх впливу на клітинний метаболізм.

2. Показана необхідність урахування фізіологічного статусу пацієнта при протезуванні сплавами неблагородних металів.

3. Обґрунтована недоцільність подальшого використання в стоматології хромованія ортопедичних конструкцій.

А п р о б а ц і я р о б о т и. Основні матеріали дисертації доповідались та були обговорені на Всесоюзному симпозиумі "Молекулярні механізми і регуляція енергетического обмену" (Цуціно, 1986), на XII з'язді Українського фізіологічного товариства (Львів, 1986), на підсумковій науковій сесії Одеського науково-дослідного інституту стоматології (1987), на засіданні обласного науково-практичного товариства стоматологів (1987), на конференціях молодих вчених Одеського науково-дослідного інституту стоматології (1986, 1988).

Об'єм і структура дисертації.

Дисертація складається із вступу, аналітичного огляду літератури, глави з описом матеріалів та методів дослідження, трьох глав особистих досліджень, заключної частини, висновків, списку літератури, який містить у собі 145 джерел (вітчизняних 73, іноземних 72).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

П. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження характеру впливу на організм іонів металів, які вивільняються із стоматологічних сплавів в слину, з якою вони контактують, було проведено на експериментальних тваринах по розробленому нами засобу (А.с. №1309962) який моделює реальні умови порожнини рота. При цьому ураховувалась площа поверхні сплавів, які знаходяться в порожнині рота, об'єм уживаної рідини та періодичність ковтання слини. Ступінь впливу введених в організм іонів металів оцінювалась по характеру їх впливу на клітинний метаболізм.

Експерименти проводили на білих щурах-самцях стадного розплодження різних вікових груп (від 1,5 до 22 місяців), кожна з

котрих була розподілена на дослідну та контрольну. Дослідні тварини пили воду з судин, в яких знаходились зразки сплавів. Тварини контрольних груп знаходились на звичайному питному режимі.

Дослідження впливу іонів металів на тварин різних вікових груп було продиктовано тим, що стоматологічне протезування проводять в широкому віковому діапазоні, а як відомо швидкість метаболічних реакцій з віком зменшується / Пешкова Л.В. та інші, 1984/.

Особливе зацікавлення викликали дослідження впливу іонів металів на клітинний енергообмін при такому широко поширеному стоматологічному захворюванні як пародонтит, яким уражено більш 75% дорослого населення планети /Іванов В.С., 1989/. Отож моделлю для дослідження були вибрані щурі зі спонтанною атрофією відростка щелеп, яка розвивається в умовах віварію. Ступінь ураження тканин пародонта оцінювали в Φ за методом Л.В.Ніколаєвої, О.С.Розовської /1965/.

Об'єктами досліджень були еритроцити та суспензії ізольованих мітохондрій печінки експериментальних тварин.

Мітохондрії виділяли за методом W. Schneider у невеликій модифікації /Скулачов В.П., 1989/. Для визначення швидкості окислення субстратів мітохондріями використовували полярографічний метод з застосуванням кларківського електроду.

Інкубаційне середовище вмістило в (М): 0,1 сахарози; 0,1 KCl; $2,0 \cdot 10^{-3}$ тріс (оксіметіл)-амінометану; $1,0 \cdot 10^{-3}$ H_2PO_4 ; pH інкубаційного середовища первісних розчинів АДР ($5 \cdot 10^{-3}$ М) та янтарної кислоти ($5 \cdot 10^{-2}$ М) довели до величини 7,5.

В ході експерименту до 2 мл інкубаційного середовища додавали мітохондрії в кількості 6-8 мг/мл середовища, rotenon - 0,5 мкг/мг білку, АДР - від $0,05 \cdot 10^{-3}$ до $0,2 \cdot 10^{-3}$ М, янтарну кислоту - від $0,4 \cdot 10^{-3}$ до $5,0 \cdot 10^{-3}$ М.

Кількість білку визначали по загальноприйнятому методу Лоурі - Лотса.

Швидкість гліколізу в еритроцитах реєстрували за допомогою установки, яка дозволяє проводити дослідження в вузькому діапазоні pH і, таким чином, виключити вплив на активність ферментів гліколізу іонів H^+ , які надходять в інкубаційне середовище у ході утворення молочної кислоти /Атауллаханов Ф.І. та інші, 1979/. Кількість еритроцитів підраховували в камері Горяєва /Мартінова М.А., Козловська Л.В., 1975/.

Було досліджено механізм впливу на клітинний метаболізм іонів металів, які надходять з кобальто-хромового сплаву (КХС), нержавіючої сталі, а також з хромованого покриття (електролітично осаджений хром на поверхні зразків з КХС).

Кількісне визначення іонів хрому в аналізованих рідинах проводили за методикою А.Д.Семенова /1977/.

При статистичному оброблюванні стриманих даних використовували критерій Ст'юдента.

Ш. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як відомо, при занурюванні металу (сплаву) у розчин електроду або в дистильовану воду іони цього металу (металів - компонентів сплаву) будуть переходити у рідку фазу до установлення рівноважного електрохімічного потенціалу, коли настає стан рухомої рівноваги і кількість іонів, які вийшли із металу та перейшли із розчину в метал буде приблизно однаковим.

В реальних умовах ця система частіш усього не досягає стану рівноваги. Тоді настає стаціонарний стан, коли рівень електрохімічного потенціалу збільшується на таку малу величину, що практично потенціал (а також концентрація іонів в рідкій фазі) можна вважати незмінюваним. Рівень стаціонарного потенціалу буде нижче рівноважного, розраховуваного відповідно до формули Нернста. Рівень рівноважного та стаціонарного потенціалів визначається природою металів, а швидкість їх установлення і наближення значення стаціонарного потенціалу до рівноважного (тобто максимально можливого відповідно до формули Нернста) - площею поверхні зразка та співвідношенням площі поверхні до об'єму.

Величина електрохімічного потенціалу та швидкість його установлення визначають кількість та швидкість вихода іонів у контактуючу з металом (сплавом) рідку фазу. В порожнині рота створюються умови для безперервного з макімальною швидкістю переходу іонів із сплаву у слину (періодичне ковтання слини і з'явлення її свіжої порції, яка не містить цих іонів) з подальшим їх потраплянням у шлунково-кишковий трект.

В зв'язку з чим нами були проведені дослідження швидкості установлення та реєстрація рівня стаціонарних електрохімічних потенціалів зразків сплавів та покриттів, які застосовуються у вітчизняній стоматології, з метою моделювання у експерименті реальних умов потрапляння зазначених іонів в організм.

Нами виявлено, що стаціонарний електрохімічний потенціал зразка нержавіючої сталі ІХІВН9Т (гладка нерозвинена поверхня) встановлюється на 120 хвилині і досягає величини $(+0,26 \pm 0,03)$ В.

Електрохімічний потенціал зразка КХС встановлюється на протязі 50 хвилин і становить величину $(+0,17 \pm 0,03)$ В. Електрохімічний потенціал хромованого зразка нержавіючої сталі (ІХІВН9Т) (електролітично осаджений хром) встановлюється на 80 хвилині і становить $(-0,201 \pm 0,05)$ В.

При покритті зразка нітридом титану (вакуум-плазмове напилення) величина електрохімічного потенціалу обумовлюється матеріалом, з якого виготовлений зразок. Так, коли основу складає нержавіюча сталь (рівень потенціалу $(+0,26 \pm 0,03)$ В), то величина стаціонарного потенціалу нітрид-титанового покриття становить $(+0,30 \pm 0,05)$ В, а якщо покриття нанесено на хромований зразок нержавіючої сталі, стаціонарний потенціал нітрид-титанового покриття встановлюється на 120 хвилині і досягає $(-0,108 \pm 0,02)$ В, тобто також обумовлюється природою основи, що свідчить про пористість нітрид-титанового покриття.

Як свідчать отримані результати, встановлення стаціонарних електрохімічних потенціалів аналізованих сплавів стається на протязі 1-2 годин та обумовлюється природою металів (компонентів сплавів), які складають контактуючий з рідкою фазою поверхневий шар.

Отримані дані дозволили розробити засіб введення в організм досліджуваних іонів, моделюючи реальні процеси, які проходять в порожнині рота (А.с. №1309962) та оцінити характер впливу цих іонів на метаболічні процеси.

У зв'язку з наявними відомостями про змінення активності іонів металів при їх спільному надходженні внаслідок конкурентних взаємодій /Расудов М.М., 1979; Казімов М.А., 1985; Ribarov S. et al., 1987; Ноговітц С.Р., 1985 /, нами були проведені дослідження комплексної дії усіх іонів металів, які виходять з аналізованих сплавів, на клітинний метаболізм.

Як показали наші дослідження, у експериментальних тварин спостерігаються зміни показників процесів метаболізму як при збільшенні віку, так і при збільшенні ступеня ураження тканин пародонта.

Так зі збільшення віку від 10 до 22 місяців відбувається зниження ступеня сполучення процесів окислювання з фосфорилуванням

від $3,6 \pm 0,3$ до $2,1 \pm 0,1$, $p < 0,001$, що можна пояснити віковим зростанням провідності мітохондріальних мембран.

При змінюванні ступеня атрофії кістки альвеолярного відростка щелеп від $(34,0 \pm 0,1) \%$ до $(39,3 \pm 1,3) \%$, $p < 0,001$ стається зниження дихального контролю (ДК) від $3,6 \pm 0,3$ до $2,5 \pm 0,2$, $p < 0,02$, що можна пояснити наявністю гіпоксії, яка супроводжує патологічні процеси в тканинах пародонта /Пешкова Л.В., Орлова О.Л., 1986/.

У зв'язку з цим для адекватної оцінки отриманих результатів експериментальні дані оцінювали у порівнянні з контрольною групою тварин того ж віку, що і дослідна, та з аналогічним ступенем ураження пародонта.

Іони металів, які вивільнюються в процесі установалення стаціонарного електрохімічного потенціалу з кобальтс-хромового сплаву (Cr, Co, Ni, Fe до концентрації $3,9 \cdot 10^{-7}$; $2,1 \cdot 10^{-8}$; $4,0 \cdot 10^{-7}$; $4,0 \cdot 10^{-7}$ г/л, відповідно) впливають на процеси аеробної трансформації енергії. Ступінь цього впливу може залежати як від віку тварин, так і від ступеня ураження пародонта /Седов С.Е., 1983; Авшин А.П. та інші, 1991/.

Так у щурів з високим ступенем атрофії $(42,0 \pm 0,5) \%$ - $(42,6 \pm 0,5) \%$ вплив ІХС на процеси мітохондріального дихання виражається сильніше, ніж у щурів того ж віку, але з меншим ступенем ураження пародонта $(33,8 \pm 0,3) \%$ - $(34,0 \pm 0,4) \%$. При цьому у дослідних тварин з низьким ступенем атрофії спостерігається достовірне збільшення швидкості окислення у 3-му стані по Чансу та збільшення ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилуванням тільки при концентрації янтарної кислоти 4 мМ , тоді як у тварин з підвищеним ступенем атрофії при усіх навантаженнях субстратом окислення (I - 5 мМ янтарної кислоти) швидкість утилізації кисню достовірно вище, ніж у відповідних контрольних групах. Ступінь спрягання значно збільшувалась з побільшенням навантаження субстратом окислення (до концентрації янтарної кислоти 5 мМ).

У старих дослідних тварин (вік 22 місяці, ступінь атрофії $(46,4 \pm 1,4) \%$ - $(48,0 \pm 1,6) \%$) має місце зниження швидкості окислення субстрату у 3-му стані $(0,089 \pm 0,015) \cdot 10^{-7}$ - $(0,146 \pm 0,019) \cdot 10^{-7}$ відносно контрольної групи $(0,174 \pm 0,022) \cdot 10^{-7}$ - $(0,213 \pm 0,018) \cdot 10^{-7} \text{ мО}_2/\text{хвилини, мг білку}$ при відповідних навантаженнях субстратом від $0,4$ до $1,7 \text{ мМ}$ янтарної кислоти).

Показники ступеня спрягання процесів окислення з фосфорилуванням не відрізняються від контрольних груп при відповідних концентраціях янтарної кислоти.

У тварин за віком 4 місяці (ступінь атрофії $(47,3 \pm 0,6)\%$ - $(49,8 \pm 1,4)\%$) не було знайдено залежності показників мітохондріального дихання від величини навантаження субстратом окислення як в контрольній, так і в дослідній групах. Показники мітохондріального дихання у тварин цього віку обумовлені впливом двох факторів: молодого віку, якому чинні високі показники окислювального фосфорилування, та наявності у цих тварин високого ступеня ураження пародонта, яке супроводжується зниженням показників мітохондріального дихання. У цьому випадку зазначені іони металів не викликали змін таких показників мітохондріального дихання, як швидкість окислення у третьому стані та ДК, однак показник ефективності процесів фосфорилування (відношення АДР:О) в дослідній групі був знижений при усіх концентраціях субстратів (1 - 1,5 мМ янтарної кислоти та 0,15 - 0,30 мМ АДР) ($1,61 \pm 0,08$ - $1,68 \pm 0,08$ в дослідній та $2,04 \pm 0,08$ - $2,30 \pm 0,08$ в контрольній), що може свідчити про шунтування іонами металів одного з пунктів спрягання процесів окислення з фосфорилуванням. Незмінне значення показника дихального контролю при цих обставинах свідчить про міцне спрягання у залишковому пункті дихального ланцюга.

Дослідження впливу іонів металів, які виходять в процесі установаження стаціонарного електрохімічного потенціалу з ККС, на процеси гліколізу були проведені на еритроцитах, для яких цей механізм є єдиним джерелом енергії.

В усіх дослідних групах було знайдено зниження швидкості гліколізу порівняно з контрольними групами. Так, при прийманні питної води з означеними іонами протягом 6 днів спостерігали зниження швидкості гліколізу з $(6,9 \pm 1,7) \cdot 10^{-15}$ в контрольній групі до $(5,8 \pm 0,6) \cdot 10^{-15}$ мекв H^+ /хвилини.1 еритроцит в дослідній; 14 днів - з $(0,105 \pm 0,013) \cdot 10^{-13}$ до $(0,057 \pm 0,005) \cdot 10^{-13}$ мекв H^+ /хвилини.1 еритроцит, $p < 0,002$; 35 днів - з $(0,098 \pm 0,007) \cdot 10^{-13}$ до $(0,054 \pm 0,005) \cdot 10^{-13}$ мекв H^+ /хвилини.1 еритроцит, $p < 0,001$.

Як показали наші дослідження комплексна дія указаних іонів металів проявляється в подавленні процесів гліколізу, що призводить до зменшення внеска цієї енергетичних реакцій в загальний енергосбін. Збільшення ступеня спрягання процесів дихання з фос-

форилуванням з'ясовується нами як компенсаційний ефект клітинного метаболізму.

При дослідженні впливу іонів металів Fe, Si, Ni, Cr, Mn, які вивільнюються в рідку фазу в процесі установаження стаціонарного електрохімічного потенціалу нержавіючої сталі до величини $+0,26 \pm 0,03$ В, на процеси аеробного дихання нами не було знайдено змін показників дихального контролю при концентрації янтарної кислоти (5,6 мМ) ДК в дослідній групі зменшується відносно контрольної ($2,9 \pm 0,1$ і $3,2 \pm 0,1$, $p < 0,05$ відповідно). Зменшення постає за рахунок збільшення швидкості витрати кисню у четвертому стані по Чансу при зберіганні рівня швидкості в третьому стані. Значення показника ефективності фосфорилування при усіх досліджених концентраціях янтарної кислоти в дослідній групі не відрізнялись від контрольної.

Для з'ясування причин зниження ДК у тварин дослідної групи при концентрації янтарної кислоти 5,6 мМ було проведено шунтування за допомогою ТМД пункту спрягання, розміщеного між цитохромами в та с. Було знайдено, що швидкість утилізації кисню у третьому стані в дослідній групі не відрізнялась від контрольної. Ступінь спрягання процесів окислення з фосфорилуванням в дослідній групі виявилась зниженою відносно контрольної ($1,3 \pm 0,03$ та $1,5 \pm 0,05$, $p < 0,002$ відповідно) за рахунок збільшення швидкості окислення в четвертому стані по Чансу. Значення показника ефективності фосфорилування в дослідній групі не відрізнялося від контрольної.

Згідно з вищевикладеним можна зробити висновок, що іони Fe, Si, Ni, Cr, Mn з нержавіючої сталі при їх спільному надходженні в організм впливають на останній пункт спрягання дихального ланцюга, розташованого між цитохромами с та а. При використанні янтарної кислоти як субстрату окислення відбувається підключення другого пункту спрягання, розташованого між цитохромами в та с, завдяки чому значення дихального контролю в дослідній групі підвищується до значення контрольної, і тільки при значних навантаженнях субстратом окислення (5,6 мМ янтарної кислоти), починає відчуватися вплив вищезначених іонів металів, що виражається в зниженні дихального контролю. В зв'язку з цим, проявлення впливу цих іонів можна очікувати у людей при наявності у них різного роду гілоксії, які супроводжуються метаболічними порушеннями.

При дослідженні комплексної дії визначених іонів на другий

шлях накопичення енергії клітинами – гліколітичне фосфорилування, не було знайдено змін швидкості гліколізу в дослідній групі відносно контрольної. Отже, можна вивести, що ступінь впливу нержавіючої сталі на процеси метаболізму виявляється в значно меншій мірі, ніж ступінь впливу ІХС.

Іони хрому, які виходять з хромованого покриття в процесі встановлення стаціонарного електрохімічного потенціалу (до $-0,201 \pm 0,05$ В), присутні в рідкій фазі в двох станах Cr^{3+} та Cr^{6+} (в концентрації $1,7 \pm 0,3$ та $7,4 \pm 1,3 \cdot 10^{-9}$ г-іон/л відповідно).

При дослідженні впливу іонів хрому на процеси окислювального фосфорилування у тварин дослідної групи (віком 4 місяці) спостерігали зниження ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилуванням від $2,6 \pm 0,1 - 2,8 \pm 0,05$ в контрольній до $2,1 \pm 0,08 - 2,3 \pm 0,2$ в дослідній групі при усіх досліджених концентраціях субстратів окислення та фосфорилування.

Як показали наші дослідження, зниження дихального контролю стається за рахунок зникнення швидкості утилізації кисню у третьому стані по Чансу від $(0,102 \pm 0,008) \cdot 10^{-7} - (0,103 \pm 0,010) \cdot 10^{-7}$ $\text{MO}_2/\text{хвилини} \cdot \text{мг}$ білку в контрольній групі до $(0,077 \pm 0,005) \cdot 10^{-7} - (0,081 \pm 0,007) \cdot 10^{-7}$ $\text{MO}_2/\text{хвилини} \cdot \text{мг}$ білку в дослідній, що свідчить про інгібування іонами хрому процесів переносу електронів по дихальному ланцюгу або про інгібування H^+ -АТФсинтази.

Показник ефективності фосфорилування також був більш низьким в дослідній групі відносно контрольної ($2,4 \pm 0,08 - 2,30 \pm 0,08$ та $1,61 \pm 0,07 - 1,78 \pm 0,17$ відповідно) при досліджених навантажених субстратами, що свідчить про шунтування іонами хрому одного з пунктів спрягання дихального ланцюга у молодих щурів.

Показники окислювального фосфорилування у щурів віком 10 місяців, як контрольної групи, так і дослідної, групували в залежності від ступеня атрофії кістки альвеолярного відростка щелеп (34 - 35% та 38 - 42%). В дослідній групі тварин з меншим ступенем атрофії спостерігали зниження дихального контролю (від $3,4 \pm 0,2 - 3,8 \pm 0,3$ в контрольній групі до $2,2 \pm 0,3 - 2,5 \pm 0,3$ в дослідній), яке посилюється зі збільшенням навантаження субстратом окислення (від 1 до 5 мМ янтарної кислоти).

Зниження показника ступеня спрягання процесів окислення з фосфорилуванням було обумовлено зниженням швидкості дихання у

третьому стані по Чансу.

У тварин цієї вікової групи, але з більш високим ступенем атрофії кістки альвеолярного відростка цілеп вплив іонів хрому на показники окислювального фосфорилування проявляється не так відчутно, як у групі з низьким ступенем атрофії. Це пов'язано зі зменшенням до фізіологічного мінімуму вихідних показників окислювального фосфорилування у тварин дослідної та контрольної груп, обумовлене наявністю високого ступеня патології в тканинах пародонта обох груп, яке супроводжується гіпоксією та зниженням ефективності метаболічних реакцій. Так при максимальному навантаженні субстратом окислення (до 5 мМ янтарної кислоти) показник ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилуванням знижується в дослідній групі до $2,0 \pm 0,2$ відносно контрольної ($2,6 \pm 0,1$, $p < 0,01$) за рахунок збільшення швидкості утилізації кисню в четвертому стані по Чансу, що свідчить про збільшення протонної провідності мітохондріальних мембран тварин з підвищеним ступенем ураження пародонта під впливом іонів хрому.

У старих щурів (віком 22 місяці, ступінь атрофії 45 - 47%) низькі вихідні показники дихального контролю дослідної та контрольної груп були обумовлені двома факторами: високим ступенем ураження пародонта, а також віком тварин, в зв'язку з чим показники окислювального фосфорилування знаходились на межі фізіологічних, і через те вплив іонів хрому також був менш відчутним, ніж в групах молодих щурів з низьким ступенем ураження пародонта. А втім, в дослідній групі спостерігали достовірне зниження ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилуванням (від $2,1 \pm 0,1 - 2,3 \pm 0,01$ в контрольній до $1,7 \pm 0,1 - 1,9 \pm 0,2$ в дослідній при усіх дослідженнях навантажених субстратом окислення) за рахунок збільшення швидкості дихання в четвертому стані по Чансу, що обумовлено збільшенням протонної провідності мітохондріальних мембран під впливом іонів хрому.

При порівнянні даних хімічного аналізу та результатів здійснених нами досліджень впливу іонів хрому, які вивільняються з хромованого покриття (Cr^{3+} та $\text{Cr}^{6+} - 1,7 \cdot 10^{-9}$ та $7,4 \cdot 10^{-9}$ г-іон/л відповідно), на процеси трансформації енергії нами встановлено, що описаний вище вплив був обумовлений іонами хрому зі ступенем окислення три (Cr^{3+}).

Так при внесенні в питну воду тваринам іонів Cr^{3+} до концентрації $2,0 \cdot 10^{-8}$ г-іон/л ми спостерігали аналогічні зміни по-

казників окислювального фосфорилування, що і під впливом іонів хрому, елімінуючих з хромованого покриття.

Як свідчить в вищевикладеного, іони Cr^{6+} , елімінуючі з КХС, не спричинили змін цих показників. В дослідній групі тварин під впливом іонів Cr^{3+} відбувалось зниження ступеня спрягання процесів окислення з фосфорилуванням до $2,7 \pm 0,1$, $p < 0,05$ в порівнянні з $3,0 \pm 0,1$ в контрольній групі. Показник ефективності процесів фосфорилування також зменшувався від $2,03 \pm 0,06$ в контрольній до $1,75 \pm 0,10$, $p < 0,02$ в дослідній групі, що може свідчити про шунтування іонами Cr^{3+} одного з пунктів спрягання дихального ланцюга.

При дослідженні впливу іонів Cr^{3+} на останній пункт спрягання дихального ланцюга за допомогою ТМД та аскорбінової кислоти нами не знайдено змін показників окислювального фосфорилування в дослідній групі відносно контрольної, з чого випливає, що іони Cr^{3+} шунтують пункт спрягання дихального ланцюга, розміщеного між цитохромами в та C_1 .

При дослідженні механізму впливу іонів Cr^{3+} на процеси аеробного дихання іони хрому в концентрації ($2,0 \cdot 10^{-8}$ г-іон/л) вносили безпосередньо в інкубаційне середовище при проведенні плетярографічних досліджень. Отримані результати свідчать про інший механізм впливу іонів Cr^{3+} на процеси окислювального фосфорилування в експериментах *in vitro*, ніж в експериментах *in vivo*, що свідчить про вплив іонів Cr^{3+} на процеси аеробного дихання на рівні плазматичних мембран, яке надалі опосередковано розповсюджується на дихальний ланцюг.

При дослідженні впливу іонів хрому на процеси анаеробного дихання нами з'ясовано, що іони хрому, які надходять з хромованого покриття в рідку фазу, знижують швидкість гліколізу при прийомі пиття з означеними іонами на протязі 7 днів з ($0,098 \pm 0,007$) $\cdot 10^{-13}$ в контрольній групі до ($0,073 \pm 0,003$) $\cdot 10^{-13}$, $p < 0,05$ в дослідній, на протязі 14 днів - від ($0,105 \pm 0,013$) $\cdot 10^{-13}$ до ($0,073 \pm 0,009$) $\cdot 10^{-13}$ мекв H^+ /хвилини. Геритроцит, $p < 0,05$.

Аналогічні зміни були встановлені при дослідженні впливу іонів Cr^{3+} , які вводили з питною водою. Так, швидкість гліколізу зменшувалась в дослідній групі відносно контрольної від ($0,101 \pm 0,008$) $\cdot 10^{-13}$ до ($0,061 \pm 0,007$) $\cdot 10^{-13}$ мекв H^+ /хвилини. Геритроцит, $p < 0,001$.

При дослідженні впливу іонів Cr^{3+} на процеси гліколізу в дослідках *in vitro*, тобто при внесенні іонів у вигляді Cr^{3+} , а також іонів Cr^{3+} , надходячих з хромованого покриття, в інкубаційне середовище еритроцитів безпосередньо перед початком процесів гліколізу. зниження швидкості гліколізу не знайдено. У зв'язку з чим, можна припустити, що іони Cr^{3+} , які знижують швидкість гліколізу при надходженні *in vivo* через шлунково-кишковий тракт, але не впливають на цей показник в умовах *in vitro* при безпосередньому додаванні в інкубаційне середовище еритроцитів, впливають на процеси гліколізу в еритроцитах опосередковано через посередників, з якими, зважаючи на літературні дані /Buttner B. et al., 1988/, зв'язуються в плазмі крові.

ВИСНОВКИ

1. Знайдено, що іони металів - компонентів кобальто-хромового сплаву впливають на процеси аеробного клітинного дихання, а саме збільшують швидкість утилізації кисню мітохондріями печінки шурів в третьому стані по Чансу та ступінь спрягання процесів дихання з фосфорилуванням.

2. Показано, що іони металів, які елімінують з КХС, інгібуєть процеси гліколітичного фосфорилування в еритроцитах.

3. Збільшення ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилуванням під впливом іонів металів - компонентів КХС пояснюється нами як компенсаторний відгук клітинного метаболізму на придушення іонами металів процесів гліколітичного фосфорилування. З'ясовано, що ступінь компенсації залежить від віку та фізіологічного статусу організму.

4. Показано, що компоненти нержавіючої сталі не виявляють інгібуючого впливу на процеси трансформації енергії в аеробних та анаеробних умовах.

Проявлення впливу іонів металів, надходячих з нержавіючої сталі, на процеси аеробного дихання можна очікувати при наявності патологічних процесів в організмі, які супроводжуються метаболічними порушеннями. В цьому випадку стається збільшення рстотної провідності на термінальній ділянці дихального ланцюга мітохондрій печінки.

5. Встановлено, що інгібуючий вплив іонів хрому, які надходять з хромованого покриття, на процеси гліколітичного та окис-

ловального фосфорилування обумовлюється дією іонів Cr^{3+} .

6. Вплив іонів Cr^{3+} на процеси окислювального фосфорилування виявляється в зниженні ступеня спрягання процесів дихання з фосфорилування, інгібуванні процесів переносу електронів по дихальному ланцюгу, шунтуванні одного з пунктів спрягання.

Ступінь проявлення інгібуючого впливу іонів Cr^{3+} посилюється з віком та наявністю патологічних процесів, пов'язаних з метаболічними порушеннями.

7. Розроблено засіб введення іонів металів (компонентів сплавів) в організм, який моделює умови їх проникнення з ротою рідиною, куди вони надходять внаслідок протікання електрохімічних процесів при контактуванні сплавів із слиною. Інформаційним показником ступеня впливу іонів металів стає оцінка їх дії на процеси трансфорування енергії в клітинах.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, НАДРУКОВАНИХ
ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Фосфорилирующее окисление в митохондриях печени крыс при гипоксии различной степени тяжести // Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена : Тез. докл. Всесоюзного симпозиума. - Пушино, 1980. - С.138-139.
2. Фізiологічні особливості тканинного дихання при старін. і щурів // XII з'їзд Укр. фізіол. товариства : Тези доп. - Львів, 1986. - С.322. (Соавт. Пешкова Л.В.).
3. Предупреждение высокой электрохимической активности зубных протезов // Комплексное лечение и профилактика стоматологических заболеваний : материалы VII съезда стоматологов УССР, Львов, 3 - 5 октябр. 1989. - К., 1989. - С.252. (Соавт. Пешкова Л.В.).
4. Фосфорилирующее окисление митохондрий печени крыс с различной интенсивностью поражения пародонта // Стоматология : Респ. межвед. сб. - К., 1991. - Вып.26. - С.37-40. (Соавт. Пешкова Л.В.).
5. Результаты токсикологического исследования стоматологических сплавов, содержащих Ni, Cr, Co, методом имплантации // Стоматология. - 1991. - Т.70, №2. - С.17-22. (Соавт : Корень В.Н., Радышич Н.С., Борисов Г.П., Клебанская С.Л., Тимохина В.И., Цап Ю.П., Козлов А.В., Иванов - Филиппов Ф.В.).
6. Вплив іонів тривалентного хрому на процеси трансформації енергії в клітинах // УІ Укр. біохім. з'їзд : Тези доп. - К., 1992. - Ч.2. - С.191-192. (Соавт. Пешкова Л.В.).

ВИНАХОДИ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. А.с. 1309962 СССР, МКИ А61Е 10/00
Способ оценки токсичности стоматологических сплавов / Пешкова Л.В., Лабунец В.А. (СССР) - №3673973; Заявл 15.12.83; Оpubл. 15.05.87; Бюл. №18.
2. Эталон для расчета по диаграммам скорости утилизации кислорода клеткой : Удостоверение №627 от 14.03.84, выданное ОНИИС.

3. Способ определения влияния металлических сплавов на метаболизм клетки : Удостоверение №613 от 08.08.83, выданное ОНИИ. (Соавт. Пешкова Л.В.).

Л.С.Мика

Погод. к печати 13.05.83г. Формат 60x84 1/16.
Объем 0,7уч.изд.л. 1,0п.л. Заказ № 961. Тираж 100экз.
Гортипোগрафия Олесского управления по печати, цех №3.
Ленина 49.

ЛНБ ім. В. Стефанива
АН України

462646

Ab 28.013

AB 28.013