

Межорганная взаимосвязь субстратов энергообмена у мышей при скелетной травме

М.В. Стогов, С.Н. Лунёва, Е.А. Ткачук, Р.Ю. Очеретина

Interorganic relationship of energy metabolism substrates in mice for skeletal trauma

M.V. Stogov, S.N. Luneva, E.A. Tkachuk, R.Yu. Ocheretina

Федеральное государственное учреждение

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган (и.о. генерального директора — д.м.н., профессор А.Н. Дьячков)

Изучали содержание субстратов энергетического обмена (креатинфосфат, гликоген, липиды) в скелетных мышцах и печени мышей после моделирования перелома костей голени. Выявлено, что у интактных животных существуют четкие корреляты между содержанием в мышцах креатинфосфата и гликогена, а также между содержанием гликогена и липидов в мышцах и печени. У животных с переломом костей голени обнаружен феномен нарушения этих взаимоотношений.

Ключевые слова: травма, скелетные мышцы, печень, гликоген, креатинфосфат, липиды.

This research studied the contents of energy metabolism substrates (creatine phosphate, glycogen, lipids) in skeletal muscles and liver of the mice after leg bone fracture modeling. It was revealed that intact animals had clear correlates between the contents of creatine phosphate and glycogen in muscles, as well as between the contents of glycogen and lipides in muscles and liver. These correlations were disordered in animals with leg bone fractures.

Keywords: trauma, skeletal muscles, liver, glycogen, creatine phosphate, lipides.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что восстановление функциональной активности скелетных мышц в посттравматический период зависит от интенсивности восстановления их структурно-метаболических характеристик и должно обеспечиваться достаточным количеством пластических и энергетических ресурсов в ткани [2]. Существование значительных изменений энергетического метаболизма, направленных в сторону активации анаэробного и снижения аэробного обмена в скелетных мышцах в посттравматический период, показано рядом исследований [3, 4, 7, 9]. Однако при оценке сдвигов энергетического обмена многие авторы не учитывают того об-

стоятельства, что в экстремальных условиях снижение аэробного обмена в мышцах может компенсироваться активацией межорганного цикла Кори [1, 6], обеспечивающего перенос лактата из мышц в печень в обмен на глюкозу. Количественная оценка таких межорганных отношений между энергетическими субстратами проведена на модели гипокинезии [8], при скелетной травме подобного рода исследований нами не встречено. Цель настоящего исследования – оценить корреляционные взаимоотношения между уровнем энергетических субстратов в скелетных мышцах и печени у мышей в посттравматический период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 34 мышцах-самцах линии СВА весом 25-30 г. Перелом костей голени у мышей воспроизводили путем механического повреждения сегмента конечности в верхней трети под эфирным наркозом, иммобилизации травмированной конечности не проводилось. Животные получали обычный сбалансированный рацион вивария при свободном доступе к воде. Из эксперимента животных выводили декапитацией на 3-и, 7-е и 28-е сутки эксперимента, когда наблюдали полное сращение костных фрагментов.

На проведение исследования получено разрешение комитета по этике при ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий». Содержание животных, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755).

В скелетных мышцах травмированного сег-

мента конечности определяли содержание креатина – по реакции с диацетилом, креатинфосфата (КрФ) – по содержанию фосфора в безбелковом экстракте [5]. Уровень гликогена в мышцах определяли непрямой антроновым методом, в печени – прямым антроновым методом. Содержание общих липидов в мышцах и печени находили гравиметрическим методом, после их экстракции хлороформ/метаноловой смесью в отношении 2:1. Дополнительно рассчитывали соотношение креатинфосфат/креатин и их суммарное содержание (креатинфосфат+креатин) в ткани.

Результаты животных экспериментальной группы сравнивали с показателями животных интактной группы (n=16), для чего использовали непараметрический W-критерий Вилкоксона для независимых выборок. Корреляционную зависимость между выборками, подчиняющихся нормальному распределению, оценивали по критерию Пирсона, не подчиняющихся закону распределения – по критерию Спирмена. Результаты корреляционного анализа представляли в виде коэффициента корреляции с указанием уровня значимости (минимальные значения для p=0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Статистически значимое снижение уровня креатина у мышей в мышцах травмированной конечностей нами обнаружено на 28-е сутки после нанесения травмы, в эти же сроки наблюдалась и тенденция к снижению уровня КрФ в ткани (табл. 1). В результате этого на 28-е сутки после травмы в скелетных мышцах статистически значимо снижалось суммарное содержание и соотношение креатинфосфата и креатина. Отмеченные изменения свидетельствовали о том, что в посттравматический период в скелетных мышцах мышей происходило снижение уровня как резервного энергетического субстрата – креатинфосфата, так и его предшественника – креатина. Снижение уровня КрФ в ткани, на наш взгляд, в большей мере было связано с наличием и запасами энергетических субстратов в скелетных мышцах, из которых ос-

новным является гликоген.

Значимое снижение запасов гликогена в мышцах травмированной конечности мы обнаружили у животных на 3-и сутки после травмы (табл. 2). Восстановление уровня гликогена в скелетных мышцах у мышей происходило уже на 7-е сутки эксперимента. Содержание же гликогена в печени мышей экспериментальной группы было выше относительно значений интактных животных на всех сроках наблюдения. Содержание общих липидов в мышцах травмированного сегмента достоверно снижалось к 28-м суткам после перелома. Уровень липидов в печени наиболее значительно снижался на 3-и сутки эксперимента, к концу эксперимента содержание общих липидов в ткани экспериментальных животных оставалось ниже уровня интактных животных.

Таблица 1
Содержание креатинфосфата, креатина и их соотношения в скелетных мышцах мышей на сроках эксперимента (медиана; 25-й÷75-й перцентиль)

| | Интактные животные | 3-и сутки эксперимента | 7-е сутки эксперимента | 28-е сутки эксперимента |
|-------------------------------|--------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Креатинфосфат, мкмоль/г ткани | 22,7 21,1÷24,4 | 24,9 24,0÷25,7 | 23,6 22,7÷25,0 | 19,0 15,8÷28,6 |
| Креатин, мкмоль/г ткани | 59,5 57,3÷61,9 | 61,6 58,0÷63,9 | 54,2 52,8÷59,9 | 52,7 ^{0,01} 52,1÷55,0 |
| Креатинфосфат/креатин | 0,38 0,34÷0,43 | 0,40 0,39÷0,40 | 0,42 0,40÷0,43 | 0,30 ^{0,05} 0,30÷0,34 |
| Креатинфосфат+креатин | 81,3 78,0÷85,9 | 85,4 81,4÷89,0 | 79,2 76,1÷82,8 | 78,3 ^{0,04} 67,9÷81,8 |

Примечание: верхний индекс – уровень значимости различий (p) по сравнению с интактными животными.

Таблица 2
Содержание гликогена и общих липидов в скелетных мышцах и печени мышей на сроках эксперимента (медиана; 25-й÷75-й перцентиль)

| | Интактные животные | 3-и сутки эксперимента | 7-е сутки эксперимента | 28-е сутки эксперимента |
|---------------------------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Гликоген мышц, мг, % | 0,34 0,26÷0,45 | 0,15 ^{0,04} 0,12÷0,23 | 0,28 0,15÷0,40 | 0,32 0,28÷0,34 |
| Гликоген печени, мг, % | 14,3 11,9÷16,8 | 36,8 ^{0,01} 24,8÷38,7 | 30,0 ^{0,01} 26,8÷32,0 | 40,8 ^{0,001} 37,2÷44,6 |
| Общие липиды мышц, % от массы ткани | 3,56 2,84÷4,16 | 4,34 2,88÷5,80 | 3,06 2,26÷4,37 | 3,10 ^{0,04} 2,18÷3,14 |
| Общие липиды печени, % от массы ткани | 5,31 4,83÷6,00 | 3,27 ^{0,001} 2,95÷3,83 | 3,89 ^{0,01} 3,69÷4,46 | 4,11 ^{0,01} 3,76÷4,44 |

Примечание: верхний индекс – уровень значимости различий (p) по сравнению с интактными животными.

Для обнаружения причинно-следственных связей между содержанием энергетических субстратов в скелетных мышцах и печени у мышей интактной и экспериментальной группы мы провели оценку корреляционных отношений между содержанием КрФ и гликогена в мышцах, уровнем гликогена и общих липидов в мышцах и печени. У интактных животных нами была обнаружена обратная зависимость между запасами гликогена и КрФ в скелетных мышцах:

$r = -0,48$ ($p=0,03$) (рис. 1, а), уровнем гликогена в мышцах и печени $r = -0,52$ ($p=0,03$) (рис. 1, б) и прямая между содержанием общих липидов в мышцах и печени $r = +0,68$ ($p=0,006$) (рис. 1, в).

У животных экспериментальной группы, которым моделировали перелом костей голени, такие корреляционные связи в посттравматический период нарушались, значимых зависимостей между уровнем энергетических субстратов в мышцах и печени обнаружено не было.

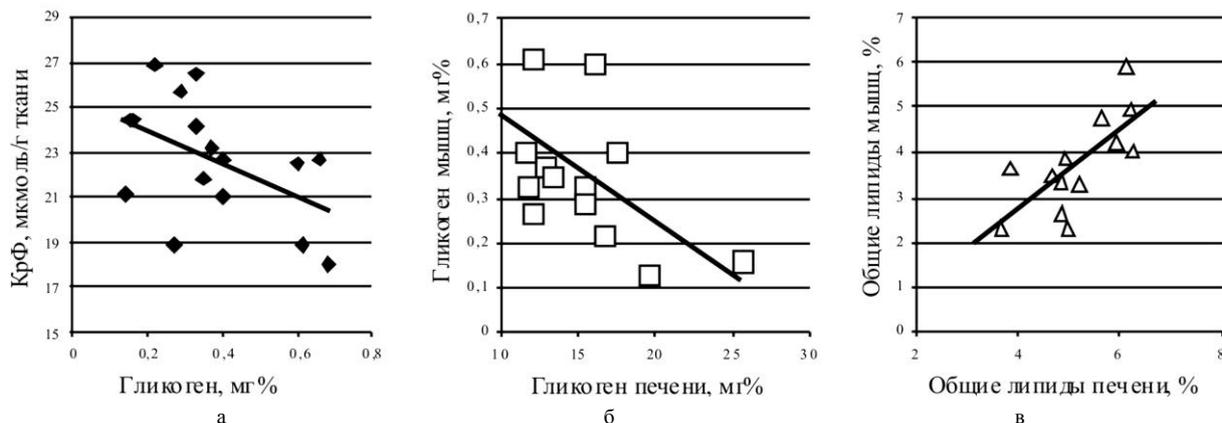


Рис. 1. Графики зависимости: концентрации креатинфосфата (КрФ) в скелетных мышцах от содержания гликогена в ткани (а); уровня гликогена в мышцах от его содержания в печени (б); содержание общих липидов в мышцах от их уровня в печени (в) интактных животных

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленные данные позволяют заключить, что травма является фактором, нарушающим как внутритканевое соотношение энергетических субстратов в мышцах, так и их межорганные отношения между мышцами и печенью. Такие изменения говорят о том, что емкость цикла Кори при травмах оказывается недостаточной для возмещения «энергетического» дефицита в мышцах. Учитывая также и то, что уве-

личение содержания в мышцах макроэргов (АТФ, КрФ) в посттравматический период возможно только при достаточном уровне энергетических субстратов в ткани (глюкоза, гликоген, и в меньшей степени липиды), можно заключить, что восстановление нарушенных межорганных взаимодействий может являться одним из факторов, способствующих нормализации энергетического обмена в мышцах в посттравматический период.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комов В. П., Шведова В. Н. Биохимия. М.: Дрофа, 2004. 638 с.
2. Лытаев С. А., Шанин Ю. Н., Шевченко С. Б. Адаптивные механизмы системы движения. СПб.: ЭЛБИ, 2001. 270 с.
3. Об особенностях нарушений энергетического обмена при травматическом шоке и возможности их фармакологической коррекции / Л. Д. Лукьянова [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2001. № 9. С. 263-267.
4. Особенности энергетического метаболизма скелетных мышц собак в условиях удлиннения голени по Илизарову / М. В. Стогов [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2002. № 6. С. 176-179.
5. Практикум по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. М.: Изд-во МГУ, 1989. 509 с.
6. Шок: теория, клиника, организация противошоковой помощи / под ред. Г. С. Мазуркевича, С. Ф. Багненко. СПб.: Политехника, 2004. 539 с.
7. Энергетический обмен в скелетной мышце при экспериментальном травматическом шоке / Т. В. Казуева [и др.] // Вопр. мед. химии. 1987. № 4. С. 40-42.
8. Effect of hind limb muscle unloading on liver metabolism of rats / T. P. Stein [et al.] // J. Nutr. Biochem. 2005. Vol.16, No 1. P. 9-16.
9. Ehrhardt J., Morgan J. Regenerative capacity of skeletal muscle // Curr. Opin. Neurol. 2005. Vol.18, No 5. P. 548-553.

Рукопись поступила 08.05.09.

Сведения об авторах:

1. Стогов Максим Валерьевич – ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», ведущий научный сотрудник клинично-экспериментального лабораторного отдела, д.б.н.;
2. Лунева Светлана Николаевна – ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», руководитель клинично-экспериментального лабораторного отдела, д.б.н., профессор;
3. Ткачук Елена Анатольевна – ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», младший научный сотрудник клинично-экспериментального лабораторного отдела;
4. Очеретина Руфина Юрьевна – ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», младший научный сотрудник экспериментального отдела травматологии и ортопедии.