



УКРАЇНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ АЛЬМАНАХ

3'2013
ДОДАТОК

НАУКОВО - ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

УКРАЇНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ АЛЬМАНАХ

Том 16, № 3 (додаток), 2013

ЗАСНОВАНИЙ У 1998 РОЦІ

Адреса редакції:

91045, м. Луганськ, кв. 50 років
Оборони Луганська, 1

Телефон/факс:

(0642) 53-20-36

rector@lsmu.lg.ua

Телефон:

(0642) 63-02-55

*Літературні редактори
і коректори:*

Т.В. Сівач
Д.А. Астраханцев

*Художній редактор
і комп'ютерний дизайн,
оригінал-макет:*

А.В. Єрьомін
Є.Ю. Шутов

Засновники:

Міністерство охорони здоров'я
України,
Луганський державний медичний
університет

Журнал зареєстрований
Міністерством інформації України
Свідоцтво про реєстрацію
КВ № 3006

Журнал зареєстрований
ВАК України:
"Бюлетень ВАК України"
№ 5, 2009 р.

Рекомендовано до друку Вченою
радою Луганського державного
медичного університету (протокол
№ 04 від 04.04.2013 р.)

Підписано до друку 05.04.2013 р.
Формат 60x84,8. Папір офсетний.
Наклад 350 прим.
Видавництво ЛДМУ
м. Луганськ

Підписний індекс 06487

Головний редактор:

В.К. Івченко (Луганськ)

Редакційна колегія:

А.А. Бабанін (Сімферополь), І.Р. Баріляк (Київ), Ю.М. Вовк (Луганськ), Ю.М. Вороненко (Київ), В.Т. Германов (Луганськ), О.П. Гудзенко (Луганськ), Н.К. Казимірко (Луганськ), С.А. Кащенко (Луганськ), Л.Я. Ковальчук (Тернопіль), В.Г. Ковешніков (Луганськ), А. Książek (Люблін, Польща), В.М. Мороз (Вінниця), О.А. Орлова (Луганськ), В.П. Пішак (Чернівці), Ю.Г. Пустовий (Луганськ), Л.В. Савченкова (Луганськ), В.П. Черних (Харків), В.О. Шаповалова (Харків), Є.Ю. Шутов (Луганськ) – відповідальний секретар

Редакційна рада:

Ю.Г.Бурмак (Луганськ), І.Б. Єршова (Луганськ), Л.М. Іванова (Луганськ), С.Є. Казакова (Луганськ), Ю.М. Колчін (Луганськ), І.О. Комаревцева (Луганськ), І.В. Лоскутова (Луганськ), В.Д. Лук'янчук (Луганськ), Т.В. Мироненко (Луганськ), М.П. Павловський (Львів), А.М. Петруня (Луганськ), Л.Л. Пінський (Луганськ), М.С. Пономаренко (Київ), В.Г. Радіонов (Луганськ), О.С. Решетнікова (Луганськ), Л.Д. Савенко (Луганськ), В.В. Сімрок (Луганськ), Т.П.Тананакіна (Луганськ), С.О. Тихонова (Харків), В.М. Толочко (Харків), З.М. Третьякевич (Луганськ), С.А. Усатов (Луганськ), В.В. Шаповалов (Харків), В.М. Шимон (Ужгород), Л.О. Шкондін (Луганськ).



Журнал є фаховим виданням для публікації основних
результатів дисертаційних робіт у галузі медичних наук
(Постанова Президії ВАК України від 27 травня 2009 р. № 1-05/2) і
фармацевтичних наук (Постанова президії ВАК України від 10
лютого 2010 р. №1-05/1)

КОНФОКАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТКАНЕЙ ПАРАДОНТА ПРИ ЗАДЕРЖКЕ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Марковский В.Д., Назарян Р.С., Гармаш О.В., Гаргин В.В., *Чернявский А.

Харьковский национальный медицинский университет; *Институт Физиологии Академии наук (Прага)

Одной из актуальных проблем современной перинатологии является задержка внутриутробного развития (ЗВУР), частота которого колеблется в разных странах от 3 до 24% среди доношенных и от 18 до 46% среди недоношенных новорожденных. В тоже время соматическая патология у детей часто может быть объяснена нарушением антенатального развития или раннего неонатального периода жизни. Неблагоприятные последствия ЗВУР характеризуются затруднением постнатальной адаптации, нарушением становления функций нервной, сердечно-сосудистой и других функциональных систем организма [7, 8]. Очевидно, что патологические изменения циркуляции, которые наблюдаются при задержке внутриутробного развития (ЗВУР) должны отображаться во всех органах и системах [1]. Для успешного решения задач ранней диагностики дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта [2, 3], как результата прогрессирования микроциркуляторных расстройств, большое значение имеет адекватная его оценка. Объективно оценить функциональное и морфологическое состояние тканей зубочелюстной области позволяют различные методы микроскопической визуализации [4-6]. Микроскопические методы, основанные на принципе конфокальной и флуоресцентной микроскопии, предоставляют возможность получать изображения тонких оптических срезов с разных глубин тканей и восстанавливать трехмерную топологию внутренних структур [9]. Это обуславливает их высокую информативность и незаменимость для исследования биологических тканей.

Целью данной работы явилось исследование морфофункционального состояния пародонта при ЗВУР и сопоставление данных полученных путем комбинирования метода светлого поля в

проходящем свете и конфокальной микроскопии.

Связь с научными программами. Статья является частью научно-исследовательской работы ХНМУ «Основні стоматологічні захворювання, їх лікування та профілактика» (номер государственной регистрации № 0110U001808)

Материал и методы. Исследование проведено на крысах линии животных, у матерей которых наблюдалась спонтанная гипертензия, что, как известно, является одной из наиболее частых причин фетоплацентарной недостаточности, и, как следствие, ЗВУР. В группу сравнения вошли средневесные крысы; в исследуемую группу вошло потомство, масса тела которого при рождении была ниже медианной массы ($6,84 \text{ кг} \times 10^{-3}$) тела всего потомства более чем на 20%. В каждую группу включено по 37 животных.

В группе средневесных животных было 17 крысят мужского пола (45,94%), 20 – женского (54,06%). В исследуемой группе исследован 21 крысенок мужского пола, что составляет 56,76%, 16 крысят женского пола – 43,24%.

Сразу после рождения крысята подвергались первичному антропометрическому исследованию: производилось взвешивание животных, измерение длины тела и длины хвоста. Второй раз антропометрическое исследование экспериментальных животных производилось на 1, 14 и 35 день жизни животного непосредственно перед выводом крысят из эксперимента, что осуществлялось в соответствии с международными нормативами по биоэтике. Результаты антропометрического исследования представлены в табл. 1. В этой же таблице приведены данные о количестве наблюдений в каждой из исследуемых подгрупп.

Таблица 1. Результаты антропометрического исследования исследуемых животных и количество наблюдений в подгруппах

Исследуемая группа и подгруппа	Масса тела (в кг $\times 10^{-3}$)	Длина тела (в м $\times 10^{-3}$)	Длина хвоста (в м $\times 10^{-3}$)	Число наблюдений
Первичное антропометрическое исследование				
A	5,28±0,22*	50,81±0,91*	16,13±0,44	37
B	6,98±0,17	55,69±0,65	17,15±0,69	37
Вторичное антропометрическое исследование				
A ₁	5,33±0,52*	50,95±1,19*	19,06±0,55	13
B ₁	7,01±0,38	56,19±1,12	19,53±1,36	13
A ₁₄	21,30±0,18	75,0±1,63*	30,42±0,45*	12
B ₁₄	23,63±0,91	87,36±6,05	52,13±2,95	12
A ₃₅	53,05±3,27	86,67±6,0	69,0±5,92*	12
B ₃₅	58,60±7,84	101,33±9,81	92,67±9,80	12

Где: А – маловесные крысята; В – средневесные крысята; А₁, А₁₄, А₃₅ – маловесные крысята, выведенные из эксперимента на 1-ые, 14-ые, 35-ые сутки после рождения соответственно; В₁, В₁₄, В₃₅ – средневесные крысята, выведенные из эксперимента на 1-ые, 14-ые, 35-ые сутки после рождения соответственно; * – разница между группой маловесных и средневесных крысят статистически достоверна.

После выведения из эксперимента крысят, ткани пародонта фиксировали в 10% формалине и после рутинной проводки изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Рего, по ван Гизону, изучали на микроскопе "Olympus BX-41". Конфокальную лазерную сканирующую микроскопию проводили при помощи инвертированного микроскопа Leica DM IRE2 с конфокальным модулем Leica SP2 AOBS.

Результаты и обсуждение. В результате исследования препаратов крысят выведенных из эксперимента на 1-е сутки после рождения в исследуемой группе наблюдаются выраженные изменения в морфофункциональном состоянии МЦР пародонта. Сосудистое русло имеет неравномерное кровенаполнение. Наряду с запустевшими и спавшимися сосудами присутствуют сильно расширенные заполненные кровью капилляры. Отмечается наличие мелких тромбов в просвете сосудов, которые чаще локализуются в посткапиллярах и венулах. Процессы новообразования сосудов не выражены.

При конфокальной микроскопии в образцах контрольной группы имеет место плавное ветвление сосудов, чего не наблюдается в исследуемой группе. У последних также подтверждено наличие мелких тромбов, локализующихся в посткапиллярах и венулах, которые в некоторых случаях полностью обтурируют просвет сосудов. Благодаря высокому разрешению и контрасту изображений, реконструированных методом конфокальной микроскопии, обнаружено утолщение стенок сосудов, которое может являться следствием начальных склеротических процессов сосудов и периваскулярного пространства.

При сравнении подгрупп животных, выведенных из эксперимента на 14-й день после рождения, обнаружено, что состояние микроциркуляторного русла тканей пародонта достаточно схожее с выше описанным, хотя и более однородно по сравнению с группой новорожденных. В исследуемой группе, наряду с запустевшими дилатационно расширенными сосудами, встречались и спазмированные и переполненные кровью. В периваскулярном пространстве таких сосудов отмечались точечные кровоизлияния. При этом в ряде случаев процессы новообразования сосудов в исследуемой группе очагово носили интенсивный характер.

Поскольку изображения, полученные с помощью конфокальной микроскопии, характеризуются высокой контрастностью и отсутствием артефактов, присущих другим методам, на максимальной проекции с цветовой кодировкой глубины четко обнаруживается интенсивный процесс новообразования сосудов. Также подтверждается наличие точечных кровоизлияний в периваскулярном пространстве таких сосудов.

Конфокальная микроскопия выявляет неравномерность кровенаполнения сосудов МЦР, дилатационное расширение и наличие тромбов у крысят исследуемой группы. При этом тромбы

имеют достаточно большую протяженность. Максимальная проекция с цветовой кодировкой глубины выявляет интенсивный процесс новообразования сосудов. Также подтверждается наличие точечных кровоизлияний в периваскулярном пространстве.

У животных, выведенных из эксперимента на 35-й день после рождения, состояние микроциркуляторного русла животных исследуемой группы в целом соответствует контрольным животным. Однако в периваскулярном пространстве наблюдаются более выраженные склеротические процессы.

Таким образом, сопоставление разных методов микроскопии указывает на главное преимущество конфокальной микроскопии - возможность получения трехмерной структуры исследуемого образца, что дает более обширное представление об изучаемых процессах. Однако в силу труднодоступности и дороговизны оборудования такие исследования следует рассматривать в качестве дополнительного метода и, по возможности, использовать совместно с микроскопией в проходящем свете для получения полного представления о свойствах и морфологии характерных образцов. В ходе работы установлены новые факты последствий ЗВУР в виде нарушений микроциркуляторного русла пародонта, которые могут лежать в основе развития патологических процессов в ротовой полости в дальнейшем онтогенезе [8]. Нарушения в МЦР ведут к появлению очагов ишемии уже при рождении, с последующей перестройкой тканей пародонта и склеротическими изменениями на относительно ранних этапах онтогенеза (по ходу работы 14-й и 35-й день жизни крысы). В результате меняются адаптационные свойства ткани и создаются предпосылки для развития воспалительно-дистрофических повреждений.

Выводы:

1. В ходе работы установлены новые факты последствий ЗВУР в виде нарушений микроциркуляторного русла пародонта, которые могут лежать в основе развития патологических процессов в ротовой полости в дальнейшем онтогенезе. Нарушения в МЦР ведут к появлению очагов ишемии уже при рождении, с последующей перестройкой тканей пародонта и склеротическими изменениями на относительно ранних этапах онтогенеза (по ходу работы 14-й и 35-й день жизни крысы). В результате меняются адаптационные свойства ткани и создаются предпосылки для развития воспалительно-дистрофических повреждений.

2. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, о том, что конфокальная микроскопия является наиболее информативным методом визуализации тканей челюстно-лицевой области. Однако в силу труднодоступности и дороговизны данного оборудования такие исследования следует рассматривать в качестве дополнительного метода и, по возможности, использовать совместно с микроскопией в

проходящем свете для получения полного представления об оптических свойствах и морфологии характерных образцов.

Перспективы дальнейшего развития. В дальнейших исследованиях планируется на основе данных конфокальной микроскопии вы-

полнить морфометрический анализ образцов для более полного изучения патогенетических механизмов повреждения тканей пародонта и разработки адекватных подходов к профилактике и ранней коррекции выявленных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гвоздева Ю.В. Комплексный метод профилактики и лечения стоматологических заболеваний у детей с высокой степенью перинатального риска / Ю.В. Гвоздева, И.А. Захаров // Актуальные проблемы управления здоровьем населения: Сб. науч. трудов – Нижний Новгород, 2009. – С. 86–89.
2. Данилевский Н.Ф. Заболевания пародонта / Н.Ф. Данилевский, А.В. Борисенко // Киев: Здоровье, 2000. – 464 с.
3. Иванов В.С. Заболевания пародонта / В.С. Иванов // М: Медицина. – 1998. – 296 с.
4. Косенко К.Н. Профилактическая гигиена полости рта: [монография] / К.Н. Косенко, Т.П. Терещина // Одесса: КП ОГТ, – 2003. – 296 с.
5. Хамід Ф. Особливості перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в неонатальному періоді у дітей з малою масою тіла / Ф.Хамід // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1998. – №5. С. 3–46.
6. Шатохина С.Н. Морфологическая картина ротовой жидкости диагностические возможности / С.Н. Шатохина, С.Н. Разумова, В.Н. Шабалин // Стоматология – 2006 – №4 – С 14–17.
7. Impact of low birth weight and cardiovascular risk factors on endothelial function in early adult life / C.P.M. Leeson, M. Kattenhorn, R. Morley [et al.] // Circulation. – 2001. – №9. – P. 1264–1268.
8. Independent effects of prematurity on metabolic and cardiovascular risk factors in short small-for-gestational-age children / R.H. Willemssen, S.W.K. De Kort, D.C.M. Van Der Kaay, A.C.S. Hokken-Koelega // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2008. – №2. – P. 452–458.
9. Schindelin J. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis / J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise // Nature Methods. – 2012. – №9. – P. 676–682.

Марковський В.Д., Назарян Р.С., Гармаш О.В., Гаргин В.В., *Чернявський А. Конфокальний аналіз тканин парадонта при затримці внутрішньоутробного розвитку // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3 (додаток). – С. 101–103.

Нами досліджений пародонт новонароджених щурят з експериментальною моделлю ЗВУР. Світлова мікроскопія виявила зменшення судинної щільності. Стан судинного русла характеризував наявністю як спазмованих, так і дилатаційно розширених судин. Ендотеліоцити сплюснені з ознаками десквамації. Відзначається наявність кров'яних згортків. Периваскулярний простір характеризується наявністю початкових склеротичних процесів. Результати проведеного дослідження свідчать, про те, що конфокальна мікроскопія є найбільш інформативним методом візуалізації тканин.

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, затримка внутрішньоутробного розвитку, пародонт, мікроскопія

Марковский В.Д., Назарян Р.С., Гармаш О.В., Гаргин В.В., *Чернявский А. Конфокальный анализ тканей парадонта при задержке внутриутробного развития // Украинский медицинский альманах. – 2013. – Том 16, № 3 (додаток). – С. 101–103.

Нами исследован пародонт новорожденных крысят с экспериментальной моделью ЗВУР. Световая микроскопия выявила уменьшение сосудистой плотности. Состояние сосудистого русла характеризовалось наличием как спазмированных, так и дилатационно расширенных сосудов. Эндотелиоциты уплощены с признаками десквамации. Отмечается наличие кровяных сгустков. Периваскулярное пространство характеризуется наличием начальных склеротических процессов. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, о том, что конфокальная микроскопия является наиболее информативным методом визуализации тканей.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, задержка внутриутробного развития, пародонт, микроскопия

Markovskiy V.D., Nazaryan R.S., Garmash O.V., Gargin V.V., *Chernyavsky A. Confocal analysis of periodontal tissue in intrauterine growthretargation // Украинский медицинский альманах. – 2013. – Том 16, № 3 (додаток). – С. 101–103.

We investigated periodontium of newborn rat with experimental model of IUGR. Light microscopy showed that microcirculatory response was characterized by a pronounced decrease in vascular density; presence both contractility and dilatation of the capillary bed. Endotheliocytes of microcirculatory bed are flattened; there are signs of their desquamation. The increasing intravascular blood clotting in the postcapillary and venular portions of the microcirculatory system, along with a partial reduction of the capillary link have been observed. Perivascular space is characterized by initial sclerotic process. The results of this study suggest that confocal microscopy is the most informative method of imaging tissue.

Key words: microcirculatory bed, intrauterine growth retardation, periodontium, microscopy