

**Всеукраїнська громадська організація „Наукове товариство анатомів,
гістологів, ембріологів та топографоанатомів України”
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»
Полтавське відділення Міжнародного фонду допомоги хворим з наслідками
травм та захворювань**

ISSN – 2079-8334

Світ медицини та біології

номер 3 (39), 2013 рік

Заснований в травні 2005 року

Виходить 4 рази на рік

**Включений до Російського індексу цитування (РИНЦ)
на базі Наукової електронної бібліотеки eLIBRARY.RU**

Свідоцтво про державну реєстрацію KB №9878 від 23.05.2005 року.

**Фахове наукове видання України (Постанова Президії ВАК України №1-05/2 від
27.05.2009 і № 1-05/3 від 08.07.2009)**

Медичні і біологічні науки

©Світ медицини та біології 2013

УДК: 616.311-002:612.015.1/.3]-074-092.9

МЕТОДЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

В работе изучены биохимические показатели, отражающие функциональное состояние слизистой оболочки полости рта в эксперименте, а также характер и степень их изменений в зависимости от силы действия неблагоприятных факторов.

Ключевые слова: биохимические показатели; слизистая полости рта; воспаление; стресс; сочетанное воздействие.

Работа является фрагментом научно-исследовательской работы в рамках НИР кафедры (номер госрегистрации 0109U001748).

В структуре заболеваемости пародонта большой удельный вес составляет патология слизистой оболочки полости рта (СОПР) [9]. Решение медицинских проблем при таких распространенных стоматологических заболеваниях, как стоматит, гингивит, пародонтит и др., требует, наряду с тщательным клиническим наблюдением, проведения и экспериментальных исследований, в которых, по данным литературы, состояние СОПР чаще оценивается с помощью морфологических методов [4,113]. В то же время на более ранних этапах развития патологий в СОПР диагностическую ценность приобретают функциональные нарушения по данным биохимических показателей.

Целью работы было изучение методов оценки функционального состояния СОПР в эксперименте при модельной патологии разной интенсивности.

Материал и методы исследования. Опыты выполнены на 30 беспородных белых крыс-самцах трехмесячного возраста массой 200-250 г, распределенных по 6 особей в 5 групп: 1 — интактный контроль, 2 — воспаление СОПР, 3 — острый стресс, 4 — хронический стресс, 5 — сочетание острого стресса и воспаления. Моделирование патологии разной интенсивности создавалось в эксперименте путем воспроизведения воспаления СОПР (5-минутное втирание под тиопенталовым наркозом в область челюстно-альвеолярной складки 4 % раствора едкого натрия), острого стресса (20-часовая иммобилизация крыс в клетках-пеналах), хронического стресса (ежедневная по 5 часов иммобилизация крыс в течение 15 дней) и сочетания воспаления с острым стрессом.

При выборе объективных показателей, отражающих функциональное состояние СОПР, исходили из того, что жизнеспособность ткани пародонта, как и любого другого органа, обеспечивается уровнем питательного субстрата, его метаболизмом и интенсивностью процессов окисления с сохранением равновесия между про- и антиоксидантными реакциями. На этом основании в СОПР определяли содержание гликогена [5], активность α -амилазы крови (стандартными наборами «Филисит-Диагностика», Украина), уровень ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновых конъюгатов [8] и малонового диальдегида [11], а также активность ферментов антиоксидантной системы (АОС): супероксиддисмутазы [7] и каталазы [2]. Кроме того, в СОПР определяли количество SH-групп [12], отражающих уровень окисления тиолов с участием оксида азота, от чего зависит их протекторная роль [6], и содержание суммы метаболитов NO [100], участвующего в создании оксидантной среды, нарушающей структуру тканей [1]. Биохимическим показателем степени функционального повреждения клеток СОПР служила активность лактатдегидрогеназы крови (стандартными наборами «Филисит-Диагностика», Украина). Забор материала для биохимических исследований (фрагмент СОПР в области челюстно-альвеолярной складки на уровне клыков) у подопытных животных осуществляли с соблюдением условий работы согласно Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и принципам биоэтики Национального Конгресса Украины по защите лабораторных животных (Киев, 2003).

Цифровой материал оценивали с помощью общепринятого статистического метода вариационного ряда по тесту t Стьюдента с поправкой Бонферони [3] при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждения. Как видно из таблицы, состояние СОПР, согласно изученным биохимическим показателям, по сравнению с интактным контролем изменяется соответственно тяжести повреждающих факторов, о чем свидетельствует степень изменения массы тела подопытных крыс. В интактном контроле прибавка веса тела крыс составляет в среднем $15,8 \pm 2,2$ г, при воспалении ($5,0 \pm 1,6$ г), которое по экстремальности даже несколько превосходит острый стресс ($9,1 \pm 0,1$ г), она существенно снижается, а в условиях хронического стресса ($-32,5$ г) и сочетанного воздействия воспаления и острого стресса ($-45,0$ г) сменяется потерей веса.

При воспалении изменение биохимических показателей, отражающих функциональное состояние СОПР, проявляется выраженным сдвигом окислительного равновесия в сторону повышения в ткани ТБК-активных продуктов и снижения активности антиоксидантных ферментов. Синхронно изменяется, по сравнению с интактным контролем, уровень метаболитов оксида азота, повышение которого усиливает окисление тиолов и приводит к снижению количества SH-групп ($3,34 \pm 0,2$ мкмоль/г против $5,68 \pm 0,2$ мкмоль/г). Воспаление СОПР не вызывает существенного изменения активности α -амилазы ($72,3 \pm 2,5$ Е/л против $71,8 \pm 2,5$ Е/л в контроле), что

сопровождается некоторым, но статистически достоверным повышением содержания в СОПР гликогена ($34,4 \pm 0,6$ мг/г против $29,9 \pm 2,2$ мг/г в контроле). Тем не менее, активность ЛДГ в крови при воспалении повышается ($543,3 \pm 22,4$ Е/л против $308,6 \pm 17,2$ Е/л в контроле), свидетельствуя о том, что в этих условиях, кроме функциональных нарушений, в СОПР уже имеет место и повреждение клеток.

Таблица 1

Биохимические показатели функционального состояния слизистой оболочки полости рта при патологии разной интенсивности

Изученные показатели	Интактный контроль	Воспаление	Стресс		Воспаление на фоне острого стресса
			острый	хронический	
Изменение массы тела, г	$+15,8 \pm 2,2$	$+5,0 \pm 1,6^*$	$+9,1 \pm 0,1^*$	$-32,5 \pm 3,2^*$	$-45,0 \pm 1,8^*$
Гликоген, мг/г	$29,9 \pm 2,2$	$34,4 \pm 0,6^*$	$20,3 \pm 1,0^{*,2*}$	$20,2 \pm 1,0^{*,2*}$	$14,1 \pm 0,6^{*,3*}$
α -амилаза, Е/л	$71,7 \pm 2,5$	$70,3 \pm 2,5$	$103,6 \pm 3,9^{*,2*}$	$102,9 \pm 3,9^{*,2*}$	$145,5 \pm 3,2^{*,3*}$
ДК, ммоль/г	$13,5 \pm 0,7$	$22,8 \pm 1,2^*$	$14,3 \pm 1,2^{*,2*}$	$26,3 \pm 1,3^*$	$31,4 \pm 2,5^{*,3*}$
МДА, мкмоль/г	$7,58 \pm 0,2$	$12,4 \pm 0,8^*$	$9,7 \pm 0,9^*$	$8,1 \pm 0,3^{*,2*}$	$14,4 \pm 1,2^*$
СОД, у.е.	$5,06 \pm 0,2$	$3,68 \pm 0,2^*$	$4,1 \pm 0,3^*$	$4,24 \pm 0,2^*$	$3,43 \pm 0,1^*$
КЛ, у.е.	$3,65 \pm 0,2$	$2,15 \pm 0,1^*$	$2,34 \pm 0,3^{*,2*}$	$2,54 \pm 0,1^{*,2*}$	$1,89 \pm 0,2$
SH-гр., мкмоль/г	$5,68 \pm 0,2$	$3,34 \pm 0,2^*$	$4,21 \pm 0,2^{*,2*}$	$4,15 \pm 0,2^{*,2*}$	$3,17 \pm 0,2^*$
NO, мкмоль/г	$20,6 \pm 1,4$	$52,5 \pm 1,5^*$	$40,8 \pm 1,2^{*,2*}$	$39,0 \pm 1,1^{*,2*}$	$61,3 \pm 1,8^*$
ЛДГ, Е/л	$308,6 \pm 17,2$	$543,3 \pm 22,4^*$	$484,2 \pm 16,4^*$	$484,2 \pm 16,4^*$	$694 \pm 20,6^{*,3*}$

Примечание: ДК — дисновые конъюгаты, МДА — малоновый диальдегид, СОД — супероксиддисмутаза, КЛ — каталаза, NO — оксид азота, ЛДГ — лактатдегидрогеназа. * — $p < 0,05$ сравнительно с интактным контролем, 2* — $p < 0,05$ сравнительно со стрессом (острым и хроническим), 3* — $p < 0,05$ сравнительно с сочетанием воспаления и острого стресса.

Как видно, биохимическими маркерами нарушения функционального состояния СОПР при воспалении являются ТБК-реактанты и сопряженные с процессами тканевого окисления SH-группы и уровень метаболитов NO в ткани СОПР. Судя по изменению активности ЛДГ, надо предполагать, что отмеченные функциональные нарушения СОПР уже сочетаются в ней и с процессами деструкции.

Острая иммобилизация крыс вызывает повышение активности α -амилазы в крови ($103,6 \pm 3,9$ Е/л), что сопровождается уже снижением запасов гликогена в СОПР ($20,3 \pm 1,0$ мг/г). Показатели про- и антиоксидантного равновесия, статистически достоверно отличаясь от значений интактного контроля, практически достигают уровня, вызванного воспалительной реакцией ($p > 0,05$). Менее активно, но статистически достоверно, по сравнению с серией воспаления изменяются участвующие в реакциях окисления тканевых субстратов SH-группы ($4,21 \pm 0,2$ мкмоль/г) и суммарный оксид азота ($40,8 \pm 1,2$ мкмоль/г). Активность ЛДГ повышена по сравнению с интактным контролем ($484,2 \pm 16,4$ Е/л), но не достигает статистически достоверной разницы по сравнению с воспалением.

В условиях острого стресса функциональное состояние СОПР изменяется однонаправленно с воспалительным фоном, по сравнению с которым более выражены нарушения со стороны запасов гликогена.

Сопоставление этих данных с результатами влияния хронического стресса обнаруживают идентичность сдвигов, не отличающихся между собой по степени выраженности ($p > 0,05$). Судя по значению изученных биохимических показателей, функциональное состояние СОПР нарушается, независимо от остроты стресса: 15-дневная иммобилизация, как и 20-часовая (однодневная), приводит к снижению запаса гликогена, нарушению окислительного равновесия и возникновению повреждения клеток на уровне влияния воспалительного процесса. Это может служить подтверждением сходства воспаления и стресса в реализации общей реакции эмоционального напряжения, стрессового генеза воспаления СОПР и единства биохимических маркеров состояния СОПР в условиях их моделирования.

В серии опытов, где воспаление СОПР сочетается с острой иммобилизацией, все изученные биохимические показатели достигают максимальной выраженности, свидетельствуя о наибольшей степени функциональных нарушений СОПР в условиях взаимоусиливающих действие неблагоприятных факторов. Такая динамика подтверждает объективность отражения избранными биохимическими показателями состояния СОПР.

1. Биохимические показатели ткани СОПР, отражающие процессы накопления питательных запасов, нарушения равновесия в системе ПОЛ и АОЗ и появление признаков ее повреждения, могут быть использованы в эксперименте для оценки функционального состояния СОПР.

2. Характер выраженности изученных биохимических показателей СОПР отражает их однонаправленность, независимо от моделируемой патологии, а степень их выраженности — связь с тяжестью воздействия неблагоприятных факторов: воспаление < острый стресс < хронический стресс < сочетание воспаления и стресса.

3. Однонаправленность и количественная динамика изученных изменений биохимических показателей в разных условиях эксперимента отражает эмоционально-стрессовый генез воспаления СОПР.

Перспективы дальнейших исследований. Описанные биохимические методы послужат основанием для дальнейшего изучения функционального состояния СОПР при воспалении, его эмоционально-стрессового профиля и выбора антистрессовых средств коррекции.

1. Адейшвили-Сыроматникова М. К. Метаболизм оксида азота при повреждении тканей / М.К. Адейшвили-Сыроматникова, Л.П. Абрамова, В.В. Мясоедов // Экспериментальна і клінічна медицина. - 2012. - № 1 (54). - С. 36-38.

2. Барабой В.А. Методические особенности исследования перекисного окисления / В.А. Барабой, В.Э. Орел, И.М. Карнаух // К. : Наукова думка. - 1991. - С. 52-75.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц // - М. : Практика, 1998. - 459 с.
4. Григорян А.С. Морфогенез ранних стадий воспалительных заболеваний пародонта / А.С. Григорян, О.А. Фролова, Е.В. Манова // Стоматология, 2008. - № 1. - С. 19-25.
5. Данченко Е.О. Новый методический подход к определению концентрации гликогена в тканях и некоторые комментарии по интерпретации результатов / Е.О. Данченко, А.А. Чиркин // - 2010. - № 3. - С. 25-28.
6. Звягинцева Т.В. Роль метаболитов оксида азота в механизмах развития экспериментального ожога / Т.В. Звягинцева, А.В. Кривошапка, Е.В. Жельнин // Экспериментальная и клиническая медицина. - 2011. - № 2 (51). - С. 5-9.
7. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж. В. Ковалева // - 1990. - № 2. - С. 88-91.
8. Карпищенко А.И. Спектрофотометрическое определение продуктов перекисного окисления липидов / А.И. Карпищенко / - СПб. : Интермедика. - 1997. - С. 48-52.
9. Колетчук А.В. Медичне забезпечення хворих на пародонтоз в умовах реформування первинної медико-санітарної допомоги на засадах сімейної медицини / А.В. Колетчук // матеріали XI з'їзду ВУДГ, Київ, 2011. - 71 с.
10. Мажитова М.В. Спектрофотометрическое определение уровня метаболитов монооксида азота в плазме крови и ткани мозга белых крыс / М.В. Мажитова // - 2011. - № 3.
11. Скорняков В.И. Продукты перекисного окисления липидов в спинномозговой жидкости у больных с черепно-мозговой травмой / В.И. Скорняков, Л. А. Кожемякин, В. В. Смирнов // - 1988. - № 8. - С. 14-16.
12. Северин С.Е. Определение числа сульфгидрильных групп с реактивом Элмана / С.Е. Северин, Т.А. Соловьева // - М. : Изд-во МГУ, 1982. - С. 160-161.
13. Старченко І.І. Морфологічна характеристика динаміки топологічних перетворень зародкових структур зубних зачатків у внутрішньоутробному розвитку людини / І.І. Старченко // - Харків, 2010. - 32 с.

МЕТОДИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОЦІНКИ СТАНУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ

Абрамова Л.П., Кальчук Р.О., Киричок Л.Т.

В роботі вивчено біохімічні показники, що відображають функціональний стан слизової оболонки порожнини рота в експерименті, а також характер і ступінь їх зміни у залежності від сили дії несприятливих факторів.

Ключові слова: біохімічні показники; слизова порожнини рота; запалення; стрес; сполучена дія.

Стаття надійшла 20.03.2013 р.

METHODS OF FUNCTIONAL EVALUATION OF ORAL MUCOSA STATE IN EXPERIMENTAL PATHOLOGY

Abramova L.P., Kalchuk R.O., Kirichok L.T.

Biochemical parameters reflecting the functional state of oral mucosa were investigated in experiment together with character and degree of their change depending on influence power of unfavourable factors.

Key words: biochemical parameters; oral mucosa; inflammation; stress; combined influence.

Рецензент Гасюк А.П.

УДК 616.345 – 018.25 – 073.582 + 616.34 – 089.86: 616.14 – 005.4 – 092.9

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУР КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС В ОБЛАСТИ АНАСТОМОЗА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАННОЙ ВЕНОЗНОЙ ИШЕМИИ

Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что перевязка венозного кровотока, рассечения и ушивания толстой кишки в 1-7 сутки нарастают дистрофические изменения оргanelл и перерастают в фазу деструктивных. К десятым суткам эксперимента на ультраструктурном уровне начинают развиваться процессы нарастания метаболической и репаративной активностей. Уже к 14 суткам эксперимента ультраструктура столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров восстанавливаются. Сохраняются лишь умеренно выраженные дистрофические изменения, которые лежат в пределах физиологической компенсации.

Ключевые слова: ультраструктура клеток толстой кишки, перевязка вен, ишемия, гипоксия.

Робота являється фрагментом науково-дослідницької роботи «Дослідити механізми розвитку післяопераційних ускладнень при гострій ішемії кишечника в умовах хірургічної корекції кровопостачання та резекційних методів оперативних втручань» № гос. реєстрації – 0111U009981, шифр теми П 04.12.

Тяжелые абдоминальные кровотечения разной этиологии, как в брюшную полость, так и в просвет желудочно-кишечного тракта, осложненные геморрагическим шоком, остаются одной из сложных проблем современной хирургии и реаниматологии [4,6,8]. Уровень смертности этих больных остается довольно высоким – более 30% [3,8]. Достижение гемостаза и стабилизация показателей гемодинамики является первостепенной задачей лечебной доктрины [5]. Наиболее распространенным подходом в лечении больных с массивной кровопотерей в состоянии геморрагического шока остается неотложная лапаротомия, которая направлена на окончательную остановку кровотечения.

Большинством авторов признается необходимость быстрого первичного улучшения состояния гемодинамики и, по возможности, достижение временного гемостаза с целью выполнения минимально необходимых диагностических исследований, определение метода, объема и улучшение условий выполнения операции [3]. Для решения данной задачи, предложены разные методы и подходы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Переосмысление на основании новых данных сформированных позиций, могли бы способствовать решению ряда вопросов. Однако в основе этого должна лежать объективизация информации, характеризующей патологический процесс. Изменения ультраструктурной организации клеток кишки приводит к снижению