

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»
Українська Академія наук національного прогресу

Проблеми екології та медицини

Том 16 №5-6 2012

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

Зміст

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

ШТУЧНЕ ВИГОДОВУВАННЯ ЯК ПРОВОКУЮЧИЙ ФАКТОР АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ

Іщейкін К. Є.3

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ.

Воронцова Л.Л., Кривохацкая Ю.О., Диденко С.Н., Пуха И.П.8

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ У РАБОЧИХ МАШИНОСТРОЕНИЯ

Калмыков А.А.11

РІВЕНЬ МАРКЕРІВ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ ТЯЖКОГО ПЕРЕБІГУ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПРИХИЛЬНОСТІ ЇХ ДО ПЛАНОВОЇ ТЕРАПІЇ

Конопкіна Л. І.15

ВПЛИВ НЕПАТОГЕННИХ ТА УМОВНО – ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ НА ПЕРЕБІГ ТА ЛІКУВАННЯ ПСОРИАЗУ

Попова І.Б.19

МЕТАБОЛІТИ ГЛІКОЛІЗУ І АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З СИНДРОМОМ ПОЛІОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Шкурупій Д.А.22

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ДО ПИТАННЯ ПРО ДЕЯКІ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ 2-ЕТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ОКСИПІРИДИНУ СУКЦИНАТУ

Важнича О.М.25

ВПЛИВ СКЕВЕНДЖЕРІВ ПЕРОКСИНІТРИТУ НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПІЛЬНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ

Стасюк О.А., Костенко В.О.30

ЗМІНА ВМІСТУ ТУМОРНЕКРОТИЧНОГО ФАКТОРУ- α В РОТОВІЙ РІДИНІ МОЛОДИХ ЛЮДЕЙ ЗА УМОВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАТІ А

Цубер В. Ю., Тарасенко Л.М.34

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ БЛАСТНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ДОНОРОВ
СТИМУЛИРОВАННОЙ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЛЕКТИНАМИ И АНТИГЕНАМИ КОЛЬЦЕЦОВ

Фролов А. К., Литвиненко Р. А., Копейка В. В., Федотов Е. Р.37

МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛЬПОВОЙ КАМЕРЫ ПОСТОЯННЫХ ЗУБОВ ПРИ
ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ИСТИРАЕМОСТИ

Аноприева Н.М.41

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ИНТРАКРАНИАЛЬНОГО
ОТДЕЛА ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

Пера-Васильченко А.В.45

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНЕКЛАПАННЫХ СУХОЖИЛЬНЫХ ХОРД ЖЕЛУДОЧКОВ
СЕРДЦА В НОРМЕ

Степанчук А. П.48

СОЦІАЛЬНА МЕДИЦИНА

НОРМАТИВНО-ПРАВОВЕ ПІДГРУНТЯ ІНФОРМАТИЗАЦІЇ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Бєлікова І.В.51

ЗАХВОРЮВАНІСТЬ НАСЕЛЕННЯ ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСТІ НА ПАТОЛОГІЮ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ
СИСТЕМИ ТА ЇЇ ЗВ'ЯЗОК ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Іщейкіна Ю.О.54

СТОМАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

ГІПЕРТОНІЧНА ХВОРОБА, ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ УШКОДЖЕНЬ ТКАНИН ПАРОДОНТУ

Гольденберг Ю. М., Щербатих Л. Ю.58

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ ЕЛАСТИНУ g28197A>G ВИЗНАЧАЄ СХИЛЬНІСТЬ ДО УТВОРЕННЯ ПАТОЛОГІЧНИХ
РУБЦІВ

Скрипник В. М., Аветіков Д. С., Шликова О.А., Кайдашев І. П.61

ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ КАЛЕКРЕЙНУ-4 ТА МАТРИКСНОЇ МЕТАЛОПРОТЕІНАЗИ-20 У
ПАЦІЄНТІВ З ПІДВИЩЕНОЮ СТЕРТІСТЮ ЗУБІВ

Ткаченко І.М., Шликова О.А., Кайдашев І.П.65

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА У
БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ НПВП-ГАСТРОПАТИИ

Абрамова К.В.69

ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ СЕЧОВИДІЛЬНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ДИФУЗНІ УРАЖЕННЯ
ПЕЧІНКИ

Абрагамович О.О., Абрагамович М.О., Ферко М.Р., Толопко С.Я., Кульпа М.М.74

ПОЛІМОРФИЗМ ГЕНА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРА 4 ТИПА ASP299GLY У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ
ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ С РАЗЛИЧНЫМ АНТИТЕЛЬНОМ ОТВЕТом НА
ЭНДОТОКСИН

Али Мохамед Таха77

СТАН ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ТКАНИНАХ ЯСЕН БІЛИХ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ ХРОНІЧНОЇ
ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРАТОМ НАТРІЮ

Фартушна А.М., Костенко В.О.81

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

© Іщейкін К. Є.

УДК 616.5-001/-002-053.3/.5:613.22

ШТУЧНЕ ВИГОДОВУВАННЯ ЯК ПРОВОКУЮЧИЙ ФАКТОР АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ

Іщейкін К. Є.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

Атопический дерматит – хроническое аллергическое заболевание, развивающееся у лиц склонных к атопии, характеризующееся рецидивами, типичными высыпаниями, гиперчувствительностью к специфическим и неспецифическим раздражителям. В последние годы увеличилась частота заболеваемости на атопический дерматит среди детского населения. Одной из причин является нерациональное питание детей, особенно грудного возраста. Раннее отлучение от груди, искусственное вскармливание, раннее введение прикорма – все эти факторы являются провокаторами развития атопического дерматита. В наше время выпускается широкий спектр заменителей грудного молока (молочные смеси). Современные смеси производят из коровьего молока, лечебные – на основе соевых белков и белковых гидролизатов. Существенным является разделение заменителей грудного молока на две большие группы: высоко адаптированные, мало адаптированные и частично адаптированные. Однако, несмотря на это, риск развития атопического дерматита у детей на искусственном вскармливании гораздо выше, чем у детей на естественном. Поэтому, в рекомендациях по профилактике развития данного заболевания основная роль отводится грудному вскармливанию детей первого года жизни.

Ключевые слова: атопический дерматит, пищевая аллергия, искусственное вскармливание, молочные смеси

Робота є самостійним фрагментом науково-дослідних розробок Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» «Розробка вітчизняних тест-систем для діагностики найпоширеніших алергій серед населення України», номер державної реєстрації 0107U001556.

Атопічний дерматит — хронічне алергічне захворювання, що розвивається в осіб з генетичною схильністю до атопії і характеризується рецидивним перебігом, типовим висипанням, підвищенням рівня IgE і гіперчутливістю до специфічних (алергени) і неспецифічних подразників. Атопічний дерматит сьогодні розглядається як системне захворювання, оскільки в патологічний процес втягується не лише шкіра, але й інші органи та системи (травний канал, нервова система тощо) [1, 2, 3].

Проблеми атопічного дерматиту починаються з термінології. Нині атопічний дерматит трактують по-різному: як «дитячу екзему», «конституційну екзему», «себорейний дерматит», «нейродерміт» тощо [2, 3, 4, 7]. У всьому світі, спостерігається значне зростання алергічних захворювань, що стає глобальною проблемою, яка сягає таких масштабів, що деякі вчені вже називають це епідемією XXI сторіччя. Так, за статистичними даними, за останні 30 років удвічі збільшилася частота бронхіальної астми, харчової алергії та атопічного дерматиту. За інформацією ВООЗ, кожен п'ятий житель Землі страждає від алергічних чи псевдоалергічних реакцій. Але істинна харчова алергія розвивається лише у 4–5 % дітей і 2–3 % дорослих. В інших випадках має місце харчова неперено-

симість, що не пов'язана з імунними реакціями на їжу [5, 8, 13, 15].

Проблема раціонального харчування дітей, особливо грудного та раннього віку, привертає все більшу увагу як фахівців-педіатрів, так і суспільства в цілому. Причина цього – чисельні нові докази того, що нерациональне вигодовування в ранньому віці призводить до порушення росту, інтелектуального розвитку, виникнення деяких захворювань у підлітків і дорослих, визначає рівень здоров'я нації у подальшому [12, 14, 15].

У дітей 1–2-го року життя найчастіше алергічні реакції виникають внаслідок харчової алергії. Термін «харчова алергія» слід використовувати, коли доведена імунологічно опосередкована реакція гіперчутливості до будь-якого харчового компонента, включаючи IgE-позитивні і/або IgE-негативні алергічні реакції [7, 9, 23].

Надалі харчова алергія може спричинити розвиток не тільки атопічного дерматиту але, й алергічного риніту, бронхіальної астми. Такий перехід одного алергічного захворювання в інше отримав назву алергічного маршу [8, 10, 13]. Враховуючи збільшення в останні роки частоти алергічних захворювань, що знижують якість життя дітей та можуть призвести до хронічних

захворювань та ранньої інвалідизації, питання профілактики харчової алергії залишаються дуже важливими й актуальними в педіатрії [5, 19].

На жаль, дитяча екзема залишається до кінця не вивченою аномалією. Дане захворювання тісно пов'язано з проблемами екології, психоемоційними навантаженнями, неякісними продуктами харчування, токсикозом під час вагітності, огріхами харчування матері під час вагітності та лактації скороченням строків природного вигодовування, штучним вигодовуванням [2, 4, 8].

Атопічний дерматит — мультифакторіальне захворювання. Сьогодні доведено, що серед чинників, які зумовлюють виникнення цього захворювання, значну вагу має генетично детермінована здатність до атопічних захворювань. Причому для атопічного дерматиту характерною є полігенна форма успадкування. [5, 8, 9].

В основі патогенезу атопічного дерматиту в переважній більшості дітей лежать ІgЕ-опосередковані (атопічні) імунopatологічні реакції. Водночас у 10–30 % хворих при даній патології підвищений рівень ІgЕ не реєструється. Отже, у таких пацієнтів патогенетичним підґрунтям атопічного дерматиту є інші імунні та неімунні (псевдоалергічні) механізми запалення.

Протягом останніх років суттєво розширилися уявлення щодо ролі шкірних покривів у формуванні імунної відповіді на алерген. Сьогодні переконливо доведено, що шкіра є органом, який бере активну участь у розвитку атопічних реакцій. Ініціація імунної відповіді здійснюється в асоційованій зі шкірою лімфоїдній тканині (SALT — skin associated lymphoid tissue). Дендритні клітини шкіри першими розпізнають і захоплюють антиген і, мігруючи в регіональні лімфовузли, презентують його для Т-лімфоцитів. Саме в регіональних лімфовузлах відбувається каскад імунних реакцій, що призводить до перетворення В-лімфоцитів у плазматичні клітини, які й синтезують антитіла. У подальшому антитіла та сенсibiliзовані лімфоцити повертаються до шкіри і призводять до реалізації імунної запальної відповіді, що проявляється клінічно симптомами атопічного дерматиту [5, 8, 9].

Атопічний дерматит класифікують на такі періоди:

- періоду малюка, від моменту народження дитини до 2 років. Чинниками захворювання у даному віці є неправильне харчування матері або прийняття певних медичних препаратів чи наявність у неї інфекції. Місця появи дерматиту: розгинальні поверхні кінцівок, обличчя, тулуба. У дітей червоніються щічки і сідниці. Приманним для цієї алергії буде утворення на тих місцях кірок і сухість шкіри.

- дитячий період від 2 до 12 років. Висипання спостерігаються на згинальних поверхнях кінцівок, в ліктьових і підколінних ямках на шиї. Ці ділянки супроводжуються набряками шкіри, тріщинами, скориночками та ерозіями.

- підлітковий період, від 12 до 18 років. У такому віці (особливо у хлопчиків) є вірогідність зникнення висипань і водночас, можливе різке загострення дерматиту, із збільшенням об'ємів ураження (на шиї, обличчі, навколо зап'ястя і в ліктьових ямках, а також шкіри кистей рук).

- дорослий вік. У цей період переважають такі місця, як: шия, обличчя, пальці, тильна поверхня кистей і стоп, а також супроводжуються типовою сухістю і

свербіжем шкіри, лущення, висипання і потовщення шкіри з посиленням шкірного малюнка. Формується зачароване коло: сверблячка - розчесання - висип - свербіж.

До найважливіших факторів ризику розвитку харчової алергії відносять: генетичну схильність, раннє штучне вигодовування, раннє введення продуктів із високою алергенністю, дію алергенів (харчові білки, пил, тварини, кліщі тощо) та додаткові фактори (пасивне куріння, сезонні рослинні алергени, промислове забруднення зовнішнього середовища тощо).

У дітей Європейського регіону на першому році життя перше місце серед харчових алергенів посідають білки коров'ячого молока (b-лактоглобулін, а-лактоглобулін, казеїн), яйця (овальбумін, овомукоїд), риби (М-паральбумін), а друге місце — білки злаків (глютен, гліадин), пшениці, кукурудзи, рідше рису та гречки [1, 2, 4].

Рекомендації щодо профілактики харчової алергії були розроблені ESPACI, ESPGHAN і Американською академією педіатрії у 1999 р. Пізніше відповідні рекомендації з'явилися в національних настановах більшості країн. Вважається, що головним завданням серед дітей із популяційним ризиком і в групі високого ризику атопії є пропаганда й реалізація грудного вигодовування немовлят і дітей перших місяців життя [21].

На сьогодні немає сумнівів, що грудне молоко здорової матері є ідеальним продуктом харчування для новонароджених і дітей першого року життя. Особливості профілактики харчової алергії у дітей [18,19, 22].

В останні роки в багатьох високорозвинених країнах, у т.ч. в Україні, склалася несприятлива ситуація, пов'язана з ранньою відмовою від грудного вигодовування [12, 16]. МОЗ України розроблена і затверджена програма підтримки грудного вигодовування дітей в Україні. З цією метою впроваджуються принципи підтримки лактації та грудного вигодовування дітей першого року життя, основані на директивних рекомендаціях ВООЗ/ЮНІСЕФ, що базуються на виконанні десяти принципів успішного грудного вигодовування, певній зміні термінів уведення корективних добавок та прикормів дітям, які знаходяться на грудному вигодовуванні [16, 17, 18]. Поряд із новітніми рекомендаціями частина населення використовує і класичні вітчизняні [14, 15].

Грудне вигодовування унікальне за своєю природою, тому що лише материнське молоко може забезпечити малюка не тільки необхідною кількістю жирів, мікроелементів, вітамінів (причому в оптимальному для засвоєння стані), але й такими біологічно активними речовинами, як ферменти, гормони, імуноглобуліни, лейкоцити. Ці компоненти дуже важко або навіть неможливо ввести до складу штучних сумішей. Крім цього чисто практичного значення, важливість грудного вигодовування беззаперечно необхідна для психологічного комфорту мами і малюка, взаєморозуміння "матерів і дітей" з перших днів життя. Дитина, яка протягом року перебувала на грудному вигодовуванні, надалі буде менш вразлива до алергічних захворювань. Жінка має дотримуватися основ раціонального харчування, тобто харчуватися так само, як харчувалася до і під час вагітності, але з деяким збільшенням

у раціоні білків, адже саме білки вона втрачає з жіночим молоком [14, 16, 17].

Штучне вигодовування - це таке харчування дитини на першому році життя, коли вона зовсім не отримує жіночого молока або його кількість становить менше 1/5 від об'єму їжі, та основним продуктом харчування є штучна суміш [18, 19, 20].

На сьогоднішній день ми усвідомлюємо, що вигодовування дітей першого року життя немодифікованим коров'ячим молоком може призвести до різноманітних порушень у розвитку дитини, появи патологічних реакцій харчової гіперчутливості, алергічних та аутоімунних захворювань, порушень імунного захисту, більшого ризику інфекційних хвороб. Практично, близько 11% дітей протягом першого року життя отримують коров'яче молоко, близько 3% вигодовуються виключно коров'ячим молоком, 17% - молочними сумішами і коров'ячим молоком. Після року вживання немодифікованого коров'ячого молока є типовим для харчування більшості дітей. Доведено, що раннє споживання коров'ячого молока має кілька патологічних механізмів, які можуть діяти синергічно, посилюючи небажані наслідки. Відсутність олігосахаридів й інших необхідних біологічно активних речовин у коров'ячому молоці призводить до порушень у формуванні кишкової мікробіоти дитини, адекватних механізмів імунного захисту, харчової толерантності. Малий вміст заліза у коров'ячому молоці та високий ризик мікрогеморагій на слизовій оболонці кишок обумовлюють розвиток хронічної недостатності заліза, що, у свою чергу, порушує нормальний метаболізм дитини, збільшує ризик розвитку залізодефіцитної анемії та інших дефіцитних станів. Значний вміст кальцію й казеїну в коров'ячому молоці додатково порушує всмоктування заліза в кишечнику, посилюючи його нестачу в дитячому організмі. Діти, які споживають коров'яче молоко, отримують набагато більше білка й мінеральних речовин, що суттєво навантажує нирки, змушуючи їх посилено працювати і виділяти більше рідини. Усе більше накопичується даних, що розвиток багатьох захворювань у дорослому віці тісно пов'язаний з характером харчування на першому році життя.

Незважаючи на очевидні переваги природного вигодовування жіночим молоком дітей першого року життя, реальна ситуація в даний час така, що частка дітей, що перебувають на штучному вигодовуванні, як і раніше дуже висока [6]. У зв'язку з цим виникає необхідність розробки і широкого виробництва високоякісних продуктів для штучного вигодовування, склад яких повинен бути в максимальному ступені наближений до складу жіночого молока. Очевидно, що багато ефектів грудного вигодовування не можуть бути змодельовані. До них відноситься в першу чергу надзвичайно важливий і потужний фактор психологічного контакту матері та дитини в процесі годування. Важко і, мабуть, неможливо повною мірою відтворити строго індивідуальний та адаптивний комплекс імунологічних чинників, завдяки яким жіноче молоко забезпечує протиінфекційного захисту і становлення імунної системи немовляти, а також багато інші процеси, зокрема становлення нормальної мікрофлори слизових оболонок дитини. І все ж в області розробки сумішей для штучного вигодовування досягнутий значний прогрес, що дозволяє сьогодні забезпечити організм ма-

ленької дитини необхідними нутрієнтами і нівелювати більшість несприятливих ефектів, пов'язаних з неможливістю грудного вигодовування. Мова йде про високоякісні адаптовані суміші, вибір яких в даний час достатньо великий [16, 17, 18, 19].

У переважній більшості випадків сучасні суміші для штучного вигодовування виробляються на основі коров'ячого молока. У той же час коров'яче молоко в порівнянні з жіночим містить більш високу кількість білка і меншу - жирів і вуглеводів. Крім того, білки і жири відрізняються за своїм хімічним складом і властивостями. У коров'ячому молоці міститься більше калію, натрію і деяких інших мінеральних речовин і менше - деяких вітамінів. У зв'язку з цим виникає необхідність адаптації коров'ячого молока для отримання повноцінного продукту для харчування дітей, що не володіє побічними ефектами. Введення до складу суміші білків молочної сироватки дозволяє збільшити частку легкозасвоюваних білків, близьких за амінокислотним складом до білків жіночого молока, зменшивши частку казеїну, переважаючого в коров'ячому молоці. Жири коров'ячого молока частково або повністю замінюються жирами рослинного походження (частіше на основі соняшникової, кукурудзяної, соєвої, кокосового або пальмового масла). У сучасних сумішах для штучного вигодовування, як правило, збільшена частка легкозасвоюваних середньоланцюгових кислот (що зазвичай досягається завдяки введенню кокосової олії), а також необхідних для нормального росту ліпідів, що містять лінолену і ліноленову жирні кислоти (перші входять до складу соняшникової та кукурудзяної олії, другі - кокосової та деяких інших). Нерідко до складу сумішей вводяться емульгатори (частіше - лецитин) і модулятори ліпідного обміну (карнітин). Корекція вуглеводного складу забезпечується за рахунок підвищення концентрації лактози в молоці або введення в нього декстринмальтози або містять її натуральних продуктів (солодовий екстракт, кукурудзяна патока та ін) Таким чином проводиться «базова» підготовка коров'ячого молока, максимально наближаються її складу за основними компонентами до складу жіночого молока.

Слід зазначити, що, крім сумішей на основі коров'ячого молока, існують продукти харчування для дітей першого року життя, що виробляються з козячого молока. Козине молоко також вимагає адаптації, тому що містить високу кількість білка, солей і низька - вуглеводів. Козине молоко відрізняється від коров'ячого по ряду властивостей. В ньому жирові глобули значно менше за своїми розмірами і мають другий жирнокислотний склад, що значно полегшує засвоєння молочного жиру. Залізо засвоюється дітьми більш повно, ніж залізо коров'ячого молока.

Крім того, спеціальні лікувальні суміші проводять на основі соєвих білків і білкових гідролізатів.

В даний час у нашій країні і за кордоном випускається широкий спектр замінників жіночого молока, серед яких можна виділити сухі і рідкі, прісні й кисло-молочні. Проте істотно більш важливим є поділ замінників жіночого молока за ступенем їх наближення до складу жіночого молока на дві великі групи: високо адаптовані, менш адаптовані і частково адаптовані [12, 19, 23].

Адаптовані замінники найбільшою мірою наближені до жіночого молока за всіма параметрами, і перш

за все за вмістом білків: в них знижено, в порівнянні з коров'ячим молоком, загальний зміст білка, що дозволяє усунути несприятливий вплив, на ще незрілий організм немовляти. При цьому білковий компонент представлений сумішшю казеїну і білків молочної сироватки, домінуючих в жіночому молоці, у співвідношенні 40:60 або 50:50. Сироваткові білки утворюють у шлунку під впливом соляної кислоти значно ніжніший і мелкодисперсний згусток, ніж казеїн, що забезпечує більш високу ступінь переварювання і засвоєння. Крім того, введення в складу заміників жіночого молока сироваткових білків дозволяє певною мірою наблизити амінокислотний склад суміші до амінокислотним складом жіночого молока [16, 17, 18].

У заміниках цього класу оптимізовано також склад жирного компонента - молочний жир повністю або частково замінюють на суміш рослинних масел (соняшникової, кукурудзяної, соєвої, ріпакової, кокосового, пальмової та ін.. Ця заміна необхідна, оскільки жир коров'ячого молока містить іншу комбінацію жирних кислот, ніж жир жіночого молока: у ньому вищий вміст насичених жирних кислот, але нижче рівень ПНЖК.

Основним вуглеводом в більшості заміників жіночого молока служить лактоза, яка має низку властивостей, які мають важливе фізіологічне значення для немовлят. Вона сприяє всмоктуванню кальцію, має біфідогенним дією (тобто здатністю підтримувати зростання біфідобактерій), знижує рН у товстому кишечнику. Останні два її властивості обумовлені тим, що частина лактози не всмоктується в тонкому кишечнику і надходить у товстий кишечник, де служить субстратом для *B.bifidus*, під впливом якої вона піддається зброджуванню з утворенням молочної кислоти [18, 19, 23]. Дані суміші рекомендують дітям у віці до 4-5 місяців, а у деяких випадках їх можна застосовувати до року. Крім того, існують сухі молочні суміші, у назві яких є префікс «пре», чи цифра «0», ці продукти призначають новонародженим і недоношеним дітям [17, 18, 19].

До менш адаптованих молочних сумішей належать казеїнові формули. Їх назва обумовлена тим, що вони готуються на основі звичайного коров'ячого молока, основним білком якого є казеїн. Основний склад казеїнових сумішей вміст ПНЖК, вітамінів і мінеральних солей збалансований у відповідності з потребами другого півріччя життя, тому їх необхідно рекомендувати дітям із 5-6 місячного віку.

Частково адаптовані молочні суміші за гігієнічними показниками належать до високоякісних і можуть використовуватися в дитячому харчуванні у відповідності з встановленими рекомендаціями. На їх основі можна готувати кисломолочні продукти для третього прикорму [23].

Таким чином, atopічний дерматит є хронічним захворюванням, симптоми якого нерідко спостерігаються протягом всього життя і провокуються множинними різноманітними факторами. Тому діти з підвищеним ризиком виникнення алергії повинні впродовж 6 місяців вигодовуватися тільки материнським молоком. Якщо ж природне вигодовування неможливо, то для попередження ранньої сенсibilізації, не слід давати готові молочні суміші, що містять коров'яче молоко, а застосовувати гіпоалергенні суміші.

Література

1. Аряев Н.Л. Атопический дерматит в практике педиатра /Н.Л. Аряев, В.А. Клименко, А.И.Кожемякина та ін.]. — К., 2000. — 88 с.
2. Бандига Н.В. Атопичний дерматит з позиції педиатра //Здоровье ребенка. — 2008. - №4. — С. 86-89.
3. Боровик Т.Є. Спеціалізовані суміші в профілактиці і лікуванні харчової алергії у дітей /Т.Є.Боровик, С.Г. Макарова, С.Н. Казакова [та ін.] //Алергія у дитини. — 2008. — № 2. — С. 37-40.
4. Ішейкін К.Є. Особливості алергізації організму дітей з atopічним дерматитом та екземою дитячою //Проблеми екології та медицини: науково — практичний журнал. — 2007. — Т.11, № 5-6. — С. 15-18.
5. Ішейкін К.Є. Особливості анамнезу та супутньої патології, як критеріїв верифікації діагнозу atopічний дерматит //Світ медицини та біології. — 2009. — № 2 (I). — С. 80-84.
6. Конь И.Я. К дискуссии по проблемам вскармливания детей первого года жизни /И.Я. Конь, Е.М. Фатеева, Т.Н. Сорвачева //Педиатрия. — 2003. — № 1. — С. 69-74.
7. Ласица О.Л. Алергологія дитячого віку /О.Л. Ласица, Т.С. Ласица, С.М. Недільська. — Київ «Книга плюс», 2004. — 106 с.
8. Майданник В.Г. Некоторые проблемные вопросы естественного вскармливания детей первого года жизни с позиций доказательной медицины /В.Г. Майданник, И.С. Смилян //Педиатрия. — 2003. — № 1. — С. 56-63.
9. Майданник В.Г. Проблемні питання природного вигодовування дітей в Україні //Здоров'я України. — 2008. - №18/1. — С. 9-11.
10. Нетребко О.К. Питание грудного ребенка и кишечная микрофлора //Педиатрия. — 2005. - №3. — С.53-67.Нетребко О.К. Обзор статей и материалов по механизмам действия и роли пробиотиков у детей (2007 — 2009 г.) //Современная педиатрия — 2009. - №4. — С. 129-133.
11. Няньковский С.Л. Особливості профілактики харчової алергії у дітей /С.Л. Няньковский, О.С. Івахненко //«Здоровье ребенка» - 2009. - №3 (18). — С.34-38.
12. Няньковский С.Л. Профілактичне і лікувальне харчування дітей раннього віку. — Львів: Кварт, 2005. — 145 с.
13. Отт В.Д. Сучасні дані про роль пребіотиків в дитячому харчуванні /В.Д. Отт, Муквіч О.М. //Проблеми харчування. —2005. —№2. —С. 30-34.
14. Охотникова Е.Н. Алергический «марш»: связь поколений и эскалация аллергии у детей (лекция) //Современная педиатрия. — 2008. - №4 (21). — С. 190-197.
15. Проданчук М.Г. До проблеми безпеки харчування населення України /М.Г., Проданчук В.Л., Корецький, Н.М. Орлова //Проблеми харчування. —2005. —№2. —С. 5-9.
16. Траверсе Г.М. Основи лікувального харчування дітей раннього віку /Г.М. Траверсе, С.М. Цвіренко, О.В. Горішна. — Полтава, 2003. — 58С.
17. Шунько Е.Е. Результаты мониторингу грудного вскармливания новорожденных /Е.Е. Шунько, О.Л. Шлемкевич, Т.А. Лехновська //Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.П. Шупика. — Київ, 2005. — Вип. 11, кн. 2. — С. 387-398.
18. Марушко Ю.В. Характеристика вигодовування дітей першого року життя в умовах великого міста /Ю.В. Марушко, О.Д. Москоленко, Н.С. Бойко, Г.Г. Шеф //«Здоровье ребенка». — 2007. - №1(4). — С.24-26.
19. Arslanoglu S. Early Intervention a mixture of Prebiotic Oligosaccharides Reduces the Incidence of Allergic Manifestations and Infections during the First Two Years of Life /S. Arslanoglu, G.E.Moro, J.Schmitt //J. Nutr. — 2008. — Vol. 138. — P. 1091-5.
20. Host A. ESPGHAN Committee on Nutrition and ESPACI Committee on Hypoallergenic Formulas. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy /A. Host, B.Koletzko, S. Dreborg. i wsp. //Arch. Dis. Child. — 1999. — Vol. 81. — P. 80-84.
21. Moro G. Mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of

- age Arslanoglu /G. Moro, S. Stahl, J. Jelinek //Arch. Dis. Child. — 2006. — Vol. 91. — P. 814-903.
22. Muraro A. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children. Part II: Evaluation of methods in allergy prevention studies and sensitization markers. Definitions and diagnostic criteria for allergic diseases /A. Muraro, S.Dreborg, S. Halken et al. //Pediatr. Allergy Immunol. — 2004. — Vol. 14. — P. 196-205.

Summary

ARTIFICIAL FEEDING AS THE INITIATING AGENT OF ATOPIC DERMATITIS IN CHILDREN

K.E. Ishcheikin

Key words: atopic dermatitis, food allergy, artificial feeding, milk formulas

Atopic dermatitis is the chronic allergic disease which develops in persons inclined to atopy, being characterized with recurrence, typical rash, hypersensitivity to specific and nonspecific irritants. In recent years, the incidence frequency of atopic dermatitis in children has increased. One of the reasons is the irrational feeding of children, especially those of early infancy. The early ablactation, artificial feeding, early feeding introduction – all these factors provoke the development of atopic dermatitis. There is a wide range of breast milk substitutes (milk formulas) nowadays. In most cases the modern formulas are made of cow's milk, medical mixes are prepared on the basis of soy proteins and hydrolized proteins. It is essential to differentiate the milk substitutes into two groups: highly adapted, low adapted and partially adapted. However, the risk of atopic dermatitis development in children with artificial feeding is much higher, than in children with natural feeding. Therefore, in recommendations about prevention of this disease the main role is allocated to breast feeding for children of the first year of life.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 08.09.2012 р.

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Воронцова Л.Л., Кривохацкая Ю.О., Диденко С.Н., Пуха И.П.

УДК 616.155.2 – 005.1 – 08:616.12 – 005.4:616.132.2 – 089

СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Воронцова Л.Л., Кривохацкая Ю.О.*, Диденко С.Н.*, Пуха И.П.***

* ГЗ “Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины”, г. Запорожье

** КУ “Запорожская областная клиническая больница”, г. Запорожье

Однією з актуальних проблем кардіохірургії є попередження коронарного рестенозу, обумовленого, передусім, змінами в тромбоцитарній ланці гемостазу. Виявлення особливостей внутрішньосудинної активації тромбоцитів є необхідною складовою моніторингу стану системи згортання крові у даній категорії хворих. Мета досліджень – вивчення тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ІХС перед і після аорто-коронарного шунтування. Дослідження проведені на 20 донорах і 20 хворих ІХС до операції, через 2 години після операції, а також через 1, 3 і 5 діб після аортокоронарного шунтування. Плазму, багату тромбоцитами використовували для дослідження їх функціональної активності, безтромбоцитарну плазму – для калібрування шкали оптичної щільності агрегометра AP 2110, за допомогою якого проводилися дослідження. Було досліджено кількість тромбоцитів, час агрегації, а також ступінь і швидкість агрегації. Дослідження тромбоцитарної ланки системи згортання крові в динаміці показало наявність достовірних змін показників у хворих на передопераційному і в ранньому післяопераційному періоді. Показано збільшення ступеня адреналін-індукованої агрегації, що продовжується аж до 3-ої доби після операції. Висновки: - хірургічне втручання на серці посилює здатність тромбоцитів до агрегації, обумовлену «реакцією вивільнення», яка зберігається на протязі не менш 3-х діб; - корекція системи гемостазу перед операцією і на післяопераційному етапі у кардіохірургічних хворих повинна проводитися з обов'язковим комплексним дослідженням тромбоцитарної ланки гемостазу, що є необхідним для вибору адекватних профілактичних заходів.

Ключові слова: гемостаз, тромбоцити, ішемічна хвороба серця, аортокоронарне шунтування.

Количество операций на коронарных артериях, направленных на коррекцию нарушения кровоснабжения миокарда увеличивается с каждым годом [1]. Одной из актуальных проблем кардиохирургии является предупреждение коронарного рестеноза, обусловленного, прежде всего, изменениями в тромбоцитарном звене гемостаза [2], ведущие к развитию ранних окклюзий аортокоронарных шунтов, особенно в первый месяц после операций [3], поэтому необходимость мониторинга состояния свертывающей системы не вызывает сомнений [4].

Выявление особенностей внутрисосудистой активации тромбоцитов у данной категории больных является необходимым условием для выбора адекватных профилактических мер, направленных на коррекцию нарушений в тромбоцитарном звене гемостаза, что и определило цель данной работы – изучение динамики внутрисосудистой активности тромбоцитов у пациентов, страдающих ИБС, до проведения аортокоронарного шунтирования и в раннем послеоперационном периоде.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 20 донорах и 20 больных ИБС до операции, через 2 часа после операции, а также через 1, 3 и 5 суток после аортокоронарного шунтирования. Кровь для исследования брали утром натощак из вены. Свертываемость крови предупреждали 3,8 % раствором цитрата натрия, добавленным в соотношении 1:9. Для исключения контактной активации тромбоцитов в работе использовались только пластмассовая посуда (куветы, пробирки, пипетки). Путем центрифугирования 5 мин при 1000 об/мин получали плазму богатую тромбоцитами. Остаток крови снова центрифугировали, но уже на более высоких оборотах (15 мин при 1500 об/мин). Образовавшийся после повторного центрифугирования верхний слой – бестромбоцитарная плазма. Плазму, богатую тромбоцитами, использовали для исследования их функциональной активности, бестромбоцитарную плазму – для калибровки шкалы оптической плотности прибора, и, при необходимости, для разведения богатой тромбоцитами плазмы до стандарт-

ного содержания клеток, которое должно было составлять 200 – 250x10⁹/л.

В качестве агреганта использовали разведение 0,1% раствора адреналина физиологическим раствором до конечной концентрации 0,5 мкг/мл (2,5 x 10⁻⁶ М). Разведение раствора было свежеприготовленным и хранилось при комнатной температуре.

Тромбоциты исследовали на агрегометре AP 2110 в условиях, приближающихся к физиологическим, при стандартной температуре 37⁰С и постоянной скорости перемешивания, моделирующей кровообращение, в интактной среде (одноразовые пластиковые кюветы).

Мерой агрегационного процесса было графически регистрируемое падение оптической плотности плазмы крови в результате потребления тромбоцитов в агрегатах, образовавшихся под воздействием индуктора агрегации адреналина. Было исследовано коли-

чество тромбоцитов, время агрегации, а также степень и скорость агрегации.

Статистическая обработка выполнена методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента. Результаты считались достоверными при P < 0,05.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследования у больных с ИБС на дооперационном этапе нами были выявлены следующие изменения: все показатели, отражающие агрегационные функции тромбоцитов были снижены. Так, наблюдалось снижение количества тромбоцитов на 33 %, скорости агрегации на 78 %, степени агрегации тромбоцитов на 77 % относительно показателей группы доноров соответственно. Время агрегации тромбоцитов практически соответствовало значениям доноров (табл.).

Таблица.
Изменения агрегационной функции тромбоцитов у больных ИБС до операции и в различные сроки послеоперационного периода (M±m)

Показатели	Время агрегации, сек	Скорость агрегации, %	Степень агрегации, мин	Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л
Доноры n=20	9,22±0,27	17,97±2,01	73,25±4,05	269,6±8,46
До операции n=20	8,99±0,28	4,06±1,49*	17,54±3,06*	182,4±12,4*
Через 2 часа п/о, n=20	8,88±0,96*	5,54±1,65*	20,74±4,17*	210,2±32,6*
Через 1 сутки п/о, n=20	8,30±0,63	5,38±1,02*	20,95±3,47*	223,8±15,1*
Через 3 суток п/о, n=20	8,64±0,37	4,72±0,66*	20,68±3,59*	224,8±19,0*
Через 5 суток п/о, n=20	6,94±0,95*	3,83±0,54*	15,76±4,62*	220,0±21,4*

* - статистически достоверная разница относительно доноров

Через 2 часа после проведения АКШ количество тромбоцитов было снижено относительно показателей группы доноров на 22 %, тогда как относительно дооперационных значений наблюдается увеличение, составляющее 15 %. На 1 и 3 сутки было отмечено снижение количества тромбоцитов относительно группы доноров на 17 %, и увеличение относительно дооперационных значений на 22 %. К 5 суткам наметилась тенденция к снижению исследуемых показателей, тем не менее, снижение по отношению к группе доноров составляет 19 %, тогда как увеличение относительно группы дооперационных больных составило 20 %.

Через 2 часа после проведения АКШ скорость агрегации была снижена относительно значений доноров на 70 %, но увеличена относительно дооперационных значений на 36 %. На 1 и 3 сутки после проведения АКШ отмечалось снижение скорости агрегации относительно группы доноров на 71 % и 74 %. Увеличение на 1 сутки составило 32 % относительно дооперационных значений, а на 3 сутки – практически соответствовало дооперационным показателям. Через 5 суток – относительно группы доноров снижение составляет 79 %, и соответствовало дооперационным значениям.

Через 2 часа, а также на 1, 3 и 5 сутки после проведенного АКШ степень агрегации была снижена относительно показателей доноров – на 72 %, 72 %, 72 % и 79 % соответственно. По отношению к дооперационным показателям через 2 часа, на 1 и 3 сутки – отмечено увеличение степени агрегации в среднем

на 18 % и через 5 суток – снижение на 11 % соответственно.

У больных, перенесших АКШ, время агрегации через 2 часа после операции было снижено относительно показателей доноров и послеоперационных больных на 15 % и 13 % соответственно. На 1 и 3 сутки время агрегации тромбоцитов было снижено относительно показателей группы доноров в среднем на 10%, и практически соответствовало дооперационным значениям. Через 5 суток после проведения АКШ было отмечено снижение времени агрегации как относительно показателей доноров, так и дооперационных значений – на 25 % и 23 % соответственно.

Наблюдение за состоянием тромбоцитарного звена свертывающей системы в динамике показало наличие достоверных изменений показателей, значимых для течения раннего послеоперационного периода больного.

Одновременный рост количества тромбоцитов через 2 часа и к исходу 1 суток после операции, по-видимому, представляет собой компенсаторный ответ на интраоперационную кровопотерю и, возможно, развитие системного воспалительного ответа. Некоторое снижение адреналин-индуцированной агрегации сразу после операции, является, по-видимому, следствием умеренных нарушений «реакции высвобождения» тромбоцитов под действием операционных факторов. Увеличение степени адреналин-индуцированной агрегации свидетельствует о влиянии операционного стресса, продолжающееся вплоть до 3-х суток после операции, а также возможно о про-

водимой кардиотонической поддержке. Исходя из этого, можно считать закономерным снижение этого показателя к 5 суткам, что и было выявлено нами в ходе исследования.

Полученные данные свидетельствуют о сохранности системы гемостаза, после таких операций, что является результатом прокоагулянтной активности тромбоцитов, активация которых происходит в раннем послеоперационном периоде.

Выводы

1. Хирургическое вмешательство на сердце усиливает способность тромбоцитов к агрегации, обусловленную «реакцией высвобождения», которая сохраняется на протяжении не менее 3-х суток.

2. Гиперагрегация на малые дозы адреналина подчеркивает высокую способность тромбоцитов к агрегации и «реакции высвобождения», повышенную готовность тромбоцитов к выбросу биологически активных веществ, приводящих к формированию тромбоцитарных тромбов в кровяном русле и усугублению нарушений микроциркуляции.

3. Коррекция системы гемостаза на до- и послеоперационном этапе у кардиохирургических больных,

должна проводиться с обязательным комплексным исследованием тромбоцитарного звена гемостаза, что является необходимым для выбора адекватных профилактических мер.

Литература

1. Павлова Т.В. Показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование / Т.В. Павлова, С. И. Давыдова // Материалы VIII всесоюзного научно-образов. форума «Кардиология». – 2006. – С. 106 – 107.
2. Файль И.Л. Изменение тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов после коронарного шунтирования / И.Л. Файль, В.Т. Долгих // Проблемы кровообращения и кардиохирургии. – 2008. - № 1. – С. 35 – 40.
3. Васькина Е.А. Маркеры активации тромбоцитов и их влияние на функциональное состояние шунтов после проведения операции аортокоронарного шунтирования пациентам с эссенциальной артериальной гипертензией / Е.А. Васькина, М.И. Викторова // Вестник новых мед. технологий. – 2007. – Т. XIV, № 2. – С. 171 – 172.
4. Аретенский В.Б. Состояние системы гемостаза у больных после операции шунтирования венечных сосудов сердца перед началом восстановительного лечения / В.Б. Аретенский, В.Ф. Антюров // Вестник восстановительной медицины. – 2006. - № 2 (16). – С. 51 – 54.

Summary

STATE OF THE LINK OF HEMOSTASIS AT PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AFTER THE CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING.

L.L. Vorontsova, Yu.O. Krivohatskaja, S.N. Didenko, I.P. Pucha

Key words: hemostasis, platelets, ischemic heart disease, the coronary artery bypass grafting.

Introduction. One of the urgent problems of cardiac surgery is the prevention of coronary restenosis caused primarily by changes in platelet link of hemostasis. The detection of features of intravascular platelet activation is a necessary part of monitoring of blood coagulation in these patients. Aim of the research. The study of the platelet link of hemostasis in patients with ischemic heart disease before and after the coronary artery bypass grafting. Materials and methods: the study was performed on 20 donors and 20 patients with IHD before surgery, 2 hours after operation, and also in 1, 3 and 5 day after the coronary artery bypass grafting. The plasma, rich with platelets, was used for research of their functional activity, the plasma without platelets was used for calibration of optical density scale of the aggregation monitor AP 2110 by means of which the research was carried out. The amount of platelets, time of aggregation, as well as the degree and speed of aggregation have been investigated. Results of research: The research of the state platelet link of hemostasis in dynamics has shown the presence of reliable changes of parameters in patients before surgery and in the early post-surgical period. The increase in the degree of adrenaline-induced aggregation which proceeds up to 3 days after surgery has been displayed. Conclusions: heart surgical intervention increases the ability of platelets to aggregation caused by "release reaction" that persists for at least 3 days; the correction of hemostasis before surgery and during the post-surgical stage in cardiac patients should be conducted with obligatory complex research of hemostatic platelet level which is necessary for selection the appropriate preventive measures.

Zaporozhye Medical Academy of Ministry of Ukraine, Zaporozhye
Zaporizhzhya Regional Hospital, Zaporozhye

Матеріал надійшов до редакції 26.09.2012 р.

© Калмыков А.А.

УДК: 613.62:616.24-036.12

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ У РАБОЧИХ МАШИНОСТРОЕНИЯ

Калмыков А.А.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков

Обстежено робітників пилових професій віком $52,3 \pm 4,71$ років, стажем $20,7 \pm 2,05$ років, 77 з яких були хворі на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) I-II ступеня і 25 – на професійний бронхіт без бронхіальної обструкції. Встановлено, що ХОЗЛ у робочих пилових професій характеризується повільнопрогресуючим перебігом. Кашель наростає поступово, а задишка – більш інтенсивно, що може бути пов'язано із розвитком перибронхіального фіброзу, характерного для пилової патології. Для ранньої діагностики бронхіальної обструкції більше значення має ОФВ₁/ФЖЄЛ, у той час як зниження показника ОФВ₁ виявляється пізніше. Тест з 6-хвилинною ходьбою має значення для оцінки вираженості патологічного процесу. Потреба хворих на ХОЗЛ у бронхолітиках короткої дії визначається, у більшій мірі, вираженістю суб'єктивної симптоматики (задишки, $r=0,73$, $p<0,01$), ніж показником ОФВ₁ ($r=-0,63$, $p<0,05$). Можливо, це пов'язано із особливостями сприйняття хворим дихального дискомфорту (задишки).

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, професійний бронхіт, клініка, перебіг, діагностика.

Длительное действие пыли (промышленного аэрозоля) на бронхолегочную систему в условиях профессиональной деятельности нередко приводит к развитию хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [1]. По данным Кундиева Ю.И. и соавт., заболеваемость по ХОБЛ среди рабочих машиностроения, горнорудной промышленности составляет 5-9 случаев на 1000 рабочих, сохраняя из года в год тенденцию к повышению [2].

Данное заболевание характеризуется необратимой или частично обратимой бронхиальной обструкцией со склонностью к прогрессированию, что определяет тяжесть течения заболевания. Развивается оксидантный стресс, системное воспаление с активацией нейтрофилов/лимфоцитов, с увеличением уровня цитокинов и острофазовых протеинов в плазме крови. Возможны многочисленные системные эффекты. Например, метаболические нарушения со снижением веса, увеличением расхода энергии в покое, дисбалансом аминокислотного метаболизма, дисфункцией и снижением массы скелетных мышц, ограничением физической устойчивости. Известны и другие негативные системные эффекты: со стороны сердечно-сосудистой системы (влияние на миокард и эндотелий сосудов), нервной системы (нарушение биоэнергетического метаболизма мозга, высокий уровень депрессии, нарушение автономного контроля нервной системы над регуляцией циркадного ритма лептина, который в свою очередь участвует в регуляции нейроэндокринной функции и контроле веса тела), со стороны локомоторной системы (остеопороз и др.). Таким образом, клиническая картина ХОБЛ определяется как изменениями со стороны легких, так и со стороны других систем [3, 4].

Целью исследования было изучение особенностей клинических проявлений ХОБЛ у рабочих пылевых професий.

Материалы и методы исследования

Обследовано 77 больных с ХОБЛ (основная группа) и 25 - с профессиональным бронхитом ПБ (без признаков бронхиальной обструкции, группа сравне-

ния), рабочих пылевых профессий в возрасте от 35 до 60 лет (в среднем $52,3 \pm 4,71$ лет) со стажем работы более 15 лет (в среднем $20,7 \pm 2,05$ лет). Верификация диагноза проводилась с учетом критериев GOLD (2006 г.) и инструкции МЗ Украины (приказ №128 от 19.03.2007), данных профессионального маршрута и санитарно-гигиенической характеристики условий труда. Обследование включало рентгенографию органов грудной клетки, спирографию с регистрацией петли поток-объем, электрокардиографию и доплероэхокардиографию.

Среди больных с ХОБЛ I стадия (легкое течение) установлена у 28 (36,4%) пациентов с респираторной симптоматикой (хронический продуктивный или непродуктивный кашель) или без нее при значениях объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) $\geq 80\%$ от должного, отношения его к форсированной жизненной емкости легких (ОФВ₁/ФЖЕЛ) $< 70\%$. К больным ХОБЛ II стадии (умеренное течение) были отнесены 49 (63,6%) пациентов с прогрессированием респираторных симптомов (хроническим кашлем, появлением одышки при физической нагрузке и во время обострений) при ОФВ₁ от 50 до 79 % от должного и ОФВ₁/ФЖЕЛ $< 70\%$. Диагноз профессионального бронхита (ПБ) устанавливался при наличии хронического кашля минимум 3 месяца в течение 2 лет без клинических или спирографических признаков бронхиальной обструкции. Контрольную группу составили 15 практически здоровых рабочих. Все группы были сопоставимы по возрастно-стажевой характеристике, анамнезу и интенсивности курения. Большинство обследованных (68%) на момент обследования продолжали курить, 23% курили в прошлом и 9% - не курили. Больные с респираторной патологией в фазе обострения или с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы в исследование не включались. Все пациенты выразили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Всем больным проводилось общеклиническое обследование. Анамнестические сведения получены путем опроса пациентов и из медицинской документации. Жалобы дополнялись данными объективного

обследования. Учитывались: наличие отягощенного наследственного анамнеза (по респираторной патологии), длительность заболевания (лет), характер течения (стабильное, прогрессирующее), частота обострения (раз в году). Каждый респираторный симптом оценивался по количественным или качественным показателям. Кашель характеризовался продолжительностью (лет), условием возникновения (иногда, ежедневно), преимущественным временем возникновения (утром, днем, ночью, постоянно), интенсивностью (баллов по 5-балльной шкале), продуктивностью (продуктивный – с отхождением мокроты, непродуктивный – сухой). Если кашель продуктивный – уточнялся характер мокроты (слизистая, гнойная, с включениями), ее количество (единичные плевки преимущественно утром, отдельные плевки в течение суток, до 50 мл в сутки, более 50 мл в сутки), вязкость (отходит легко, отходит с трудом, отходит при сильном кашле со свистящим дыханием). Регистрировали динамику кашля на всем протяжении течения заболевания. Оценка одышки проводили по ее выраженности (в баллах по 10-балльной шкале Борга), характеру (экспираторная, инспираторная, неопределенная), условиям возникновения (при привычной физической нагрузке, при незначительной физической нагрузке, в покое), продолжительности (в годах), особенностям течения (прогрессирующему, персистирующему).

Для оценки функционального состояния кардиореспираторной системы проводилось определение толерантности к физической нагрузке с помощью теста 6-минутной ходьбы в соответствии со стандартным протоколом [5]. Дистанцию, пройденную за 6 минут, измеряли в метрах, должное значение показателя вычислялось по формуле $7,57 \times \text{рост} - 5,02 \times \text{возраст} - 1,76 \times \text{вес} - 309$.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием методов параметрической и непараметрической статистики (программный комплекс Statistica 8.0 для Windows).

Результаты и их обсуждение

Наличие бронхиальной обструкции определяло более выраженное течение заболевания. Если число обострений при ПБ без бронхиальной обструкции составило в среднем $3,45 \pm 0,10$, то при ХОБЛ I стадии – в среднем составило $5,85 \pm 0,12$, при ХОБЛ II стадии – $6,85 \pm 0,18$ раз в году, то есть по мере прогрессирования заболевания учащались обострения заболевания.

Было установлено, что клиническая симптоматика по мере нарастания степени тяжести пылевой патологии имеет свои особенности. У больных основной группы кашель встречался чаще, особенно при ХОБЛ II стадии. В 17,8 % случаев кашель был продуктивным, лишь у 53,7 % возникал по утрам, тогда как у 46,3% пациентов отмечался на протяжении дня, был более интенсивным ($2,00 \pm 0,14$ баллов). Среди пациентов группы сравнения и больных ХОБЛ I стадии частота кашля была меньше, он носил сухой характер, отмечался преимущественно в утренние часы (88,9 % и 86,2 % соответственно) и был менее интенсивным ($1,15 \pm 0,12$ и $1,22 \pm 0,13$ баллов соответственно).

Одышка как субъективное проявление бронхиальной обструкции носила экспираторный характер и выявлялась у 28,7 % пациентов с ХОБЛ I стадии и у

79,8% больных ХОБЛ II стадии ($p < 0,05$). Имелись отличия в условиях возникновения одышки: если при ХОБЛ I стадии при незначительной физической нагрузке одышка не возникала ни у одного пациента, то при II стадии ХОБЛ – в 45,3 % случаев. Выраженность одышки, определяемая с помощью шкалы Борга, также нарастала (от $2,67 \pm 0,16$ баллов при ХОБЛ I стадии до $3,65 \pm 0,14$ баллов при ХОБЛ II стадии, $p < 0,05$). Увеличивалась и потребность в бронхолитической терапии при ХОБЛ II стадии в среднем до $1,35 \pm 0,10$ ингаляций в сутки против $0,15 \pm 0,02$ ингаляций в сутки ($p < 0,01$).

Данные спирографического исследования свидетельствовали о нарушении бронхиальной проходимости и позволили выявить следующие особенности изменения скоростных показателей выдоха. Так, если снижение ОФВ₁ у больных ХОБЛ I стадии в сравнении с больными ПБ было незначительным ($84,4 \pm 8,07$ % против $87,9 \pm 0,14$ % соответственно), то в группе больных ХОБЛ II стадии отмечено достоверное снижение этого показателя в сравнении с больными ХОБЛ I стадии и ПБ ($60,8 \pm 5,91$ % против $84,4 \pm 8,07$ % и $87,9 \pm 0,14$ % соответственно, $p < 0,05$). Значение ОФВ₁/ФЖЕЛ было сниженным уже при ХОБЛ I стадии в сравнении с ПБ ($64,8 \pm 3,74$ % против $78,6 \pm 5,38$ % соответственно, $p < 0,05$). При ХОБЛ II стадии оно оказалось еще более низким ($55,9 \pm 2,26$ % против $64,8 \pm 3,74$ % при ХОБЛ I стадии, $p < 0,05$). Полученные сведения согласуются с существующим мнением о большей диагностической ценности отношения ОФВ₁/ФЖЕЛ на ранних этапах развития бронхиальной обструкции, в то время как показатель ОФВ₁ имеет значение для диагностики различной степени тяжести ХОБЛ [6].

Проведение теста с 6-минутной ходьбой выявило достоверное снижение пройденного расстояния в группах больных с ХОБЛ I и II стадий: $411 \pm 20,7$ м и $395 \pm 15,7$ м против $567 \pm 31,72$ м в контроле ($p < 0,05$). В то же время, при ПБ снижение этого показателя в сравнении с контролем оказалось статистически недостоверным ($546 \pm 52,0$ м против $567 \pm 31,72$ м соответственно, $p > 0,5$).

Результаты проведенного корреляционного рангового анализа по Спирмену, определения коэффициентов сопряженности качественных показателей позволили оценить связь клинических проявлений заболевания между собой.

Длительность заболевания и частота обострений были взаимосвязаны ($r = 0,50$, $p < 0,05$) и коррелировали с выраженностью патологического процесса ($r = 0,52$ и $r = 0,58$ соответственно, $p < 0,05$). Следовательно, продолжительность и частоту обострения заболевания необходимо учитывать при оценке выраженности профессиональной респираторной патологии.

Наиболее характерной и постоянной жалобой у обследованных больных был кашель. Его интенсивность нарастала по мере увеличения длительности заболевания и частоты обострений ($r = 0,39$ и $r = 0,36$ соответственно, $p < 0,1$), при прогрессировании процесса ($r = 0,43$, $p < 0,05$). С частотой обострений заболевания коррелировали характер кашля (отхождение мокроты, $r = 0,51$, $p < 0,05$) и время возникновения (не только в утренние часы, но и в течение дня $r = 0,48$, $p < 0,05$). Выявлена прямая связь пылевого стажа с

интенсивностью ($r=0,53$, $p<0,05$) и временем возникновения кашля ($r=0,41$, $p<0,05$).

В развитии одышки у больных играют непосредственную роль нарушения вентиляционной функции легких с развитием гипоксемии и гиперкапнии [7]. Об этом свидетельствовала прямая корреляционная связь выраженности одышки (по шкале Борга) со спирографическими показателями: ОФВ1 ($r=-0,70$, $p<0,01$), индексом ОФВ1/ФЖЕЛ ($r=-0,68$, $p<0,01$). Условия возникновения одышки (при привычной, незначительной физической нагрузке, в покое) у обследованных нами пациентов были связаны с выраженностью нарушений вентиляционной функции легких: ОФВ1 ($r=-0,63$, $p<0,01$), ОФВ1/ФЖЕЛ ($r=-0,60$, $p<0,05$). Это согласуется с мнением других авторов о том, что данный показатель в достаточной мере отражает выраженность дыхательных расстройств и должен использоваться в качестве диагностического критерия степени легочной недостаточности [8]. Выявлены корреляционные связи между выраженностью, условиями возникновения одышки, и прогрессированием ПБ ($r=0,58$; $r=0,41$, $p<0,05$).

У обследованных больных характер и выраженность респираторных жалоб прямо связаны с частотой обострения заболевания, прогрессированием патологического процесса и изменениями вентиляционной функции легких.

Спирографическое исследование позволило выявить изменения скоростных показателей выдоха. При этом установлена связь значений ОФВ1 и ОФВ1/ФЖЕЛ с длительностью заболевания ($r=-0,59$ и $r=-0,53$ соответственно, $p<0,05$), количеством обострений ($r=-0,42$, $p<0,05$ и $r=-0,38$, $p<0,05$), выраженностью патологического процесса ($r=-0,79$ и $r=-0,75$, $p<0,01$).

Выраженность вентиляционных нарушений и, соответственно, одышки у обследованных больных определяла необходимость применения бронходилататоров короткого действия (атровент, сальбутамол, комбивент). Потребность в бронхолитиках (количество ингаляций в сутки) находилась в прямой зависимости от количества обострений заболевания в течение года ($r=0,43$, $p<0,05$), выраженности заболевания ($r=0,49$, $p<0,05$). Потребность в бронхолитиках короткого действия более тесно коррелировала с выраженностью одышки ($r=0,73$, $p<0,01$), чем со скоростными показателями спирограммы, в том числе ОФВ1 ($r=-0,63$, $p<0,05$). Данные особенности, возможно, обусловлены известной тенденцией среди больных ХОБЛ к ипохондрическим реакциям и неадекватно острому восприятию дыхательного дискомфорта (одышки).

О роли прогрессирования заболевания в снижении толерантности к физической нагрузке (ТФН) свидетельствует корреляция расстояния, пройденного в тесте с 6-минутной ходьбой, с выраженностью ($r=-0,72$, $p<0,01$), длительностью заболевания ($r=-0,47$, $p<0,05$).

Корреляционная связь между результатами теста и условиями возникновения одышки ($r=-0,73$, $p<0,01$) подтвердила определяющее значение ТФН в оценке степени легочной недостаточности. Механизм данной связи, вероятно, следующий. Известно, что одним из факторов, определяющих результаты выполнения пробы с физической нагрузкой, особенно у больных с

обструктивными вентиляционными нарушениями, является дисфункция дыхательных мышц. Последняя может быть связана с перерастяжением их при эмфиземе легких. Гипоксемия, развивающаяся по время нагрузки, способствует развитию утомления мышц, участвующих в акте дыхания [8].

Роль продолжительности контакта рабочих с пылью в развитии и течении заболевания подтверждал тот факт, что при больших значениях пылевого стажа длительность заболевания была ниже ($r=-0,43$, $p<0,05$), а частота обострений – выше ($r=0,51$, $p<0,05$). О роли длительности воздействия пыли в прогрессировании заболевания свидетельствовала тесная корреляционная связь пылевого стажа с выраженностью патологического процесса ($r=0,74$, $p<0,01$). Возможно, определяющее значение как в раннем развитии бронхиальной обструкции, так и в малой ее обратимости под действием бронхолитиков имеют особенности условий труда обследованного контингента. В этой связи, перспективой дальнейших исследований является оценка клинических проявлений ХОБЛ у рабочих машиностроения различных профессиональных групп.

Выводы

1. Хроническая обструктивная болезнь легких у рабочих пылевых профессий характеризуется медленнопрогрессирующим течением. Кашель нарастает постепенно, а одышка – более интенсивно, что может быть связано с развитием перибронхиального фиброза, характерного для пылевой патологии.

2. Для ранней диагностики бронхиальной обструкции большее значение имеет такой спирографический показатель, как ОФВ₁/ФЖЕЛ, в то время как снижение показателя ОФВ₁ выявляется позже. Тест с 6-минутной ходьбой имеет значение для оценки выраженности патологического процесса.

3. Потребность больных ХОБЛ в бронхолитиках короткого действия определяется, в большей степени, выраженностью субъективной симптоматики (одышки, $r=0,73$, $p<0,01$), чем показателем ОФВ1 ($r=-0,63$, $p<0,05$). Возможно, это связано с особенностями восприятия больным дыхательного дискомфорта (одышки).

Перспективой дальнейших исследований является изучение особенностей механизмов, лежащих в основе развития профессиональной ХОБЛ.

Литература

1. Кундієв Ю. І. Порівняльна характеристика стану професійної захворюваності в Україні і світі / Ю. І. Кундієв, А. М. Нагорна, Л. О. Добровольський // Український журнал з проблем медицини праці. — 2009. — № 2. — С. 3–11.
2. Кундієв Ю. І., Нагорна А. М. Професійна захворюваність в Україні у динаміці довгострокового спостереження // Український журнал з проблем медицини праці. — 2005. — № 1. — С. 3–11.
3. Шмелев Е. И. Хроническая обструктивная болезнь легких и сопутствующие заболевания // Пульмонология. — 2007. — № 2. — С. 5–9.
4. Разумов В. В. Хроническая обструктивная болезнь легких // Медицина труда и промышленная экология. — 2007. — № 4. — С. 31–35.
5. ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2002. — № 166. — P. 111–117.
6. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive lung disease: (Updated

- 2011) [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.goldcopd.org>.
7. Черейская Н.К. Дифференциальная диагностика обструкции внелегочных воздухоносных путей / Н.К. Черейская, Н.А. Распопина // Российский медицинский журнал. – 2009. - № 5. - С. 13-17.
8. Гаврисюк В.К. Роль функциональных тестов с ходьбой в оценке физической активности при заболеваниях сердца и легких // Серце і судини. – 2006. – №3. – С. 92-98.

Summary

CLINICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE IN WORKERS OF MACHINE-BUILDING INDUSTRY

O.O. Kalmykov

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, occupational bronchitis, clinics, course, diagnostics

The workers of "dust" occupations aged $52,3 \pm 4,71$, with working experience $20,7 \pm 2,05$ years underwent the investigation. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) of 1st-2nd stages was diagnosed in 77 patients, while chronic bronchitis without bronchial obstruction – in 25 patients. It was stated that dust-induced COPD is characterized by slowly-progressive course. Cough increases gradually, while dyspnea increases more intensively; this might be due to peribronchial fibrosis characteristic to dust pathology. The FEV1/FVC index is more significant for revealing the early bronchial obstruction, while change of FEV1 takes place later. The 6-minute walk test may serve for disease severity evaluation. The need of patients in broncholitics is defined by mostly subjective symptoms (dyspnea, $r=0,73$, $p<0,01$), than FEV1 ($r=-0,63$, $p<0,05$). This may be explained by patient's perception of respiratory discomfort (dyspnea).

Kharkiv National Medical University, Kharkiv

Матеріал надійшов до редакції 09.11.2012 р.

© Конопкіна Л. І.

УДК 616.24-007.272-036.1-002.4-006-071.1

РІВЕНЬ МАРКЕРІВ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ ТЯЖКОГО ПЕРЕБІГУ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПРИХИЛЬНОСТІ ЇХ ДО ПЛАНОВОЇ ТЕРАПІЇ

Конопкіна Л. І.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

Системное воспаление признано одним из звеньев патогенеза хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ). Впрочем, роль многих молекулярных маркеров у различных категорий больных, в разные фазы патологического процесса, а также в зависимости от приверженности пациентов к медикаментозной терапии еще и сегодня определяется и уточняется. Целью проведенной работы было определение диагностической значимости сывороточных уровней таких маркеров системного воспаления, как опухоленекротический фактор- α (англ. – tumor necrosis factor- α (TNF- α)), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (англ. – granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)) и растворимая молекула межклеточной адгезии-1 (англ. – soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1)) при ХОЗЛ тяжелого течения в зависимости от приверженности больных к плановой терапии. Обследовано 44 больных ХОЗЛ III-IV стадий в стабильную фазу патологического процесса. В зависимости от терапии, которую принимали больные, они были разделены на две подгруппы: в подгруппу 1 вошло 26 больных, которые по разным причинам постоянно не принимали ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС), а принимали только бронходилататоры, в подгруппу 2 – 18 больных, которые постоянно принимали как бронходилататоры, так и ИГКС в адекватных стадиях заболевания дозах согласно национальным стандартам. Определено, что на уровень вышеупомянутых маркеров системного воспаления при тяжелом течении ХОЗЛ может определенным образом влиять не только течение самого заболевания с присущими ему особенностями цитокиновой реактивности, но и применение больными лекарственных средств. Повышение уровня TNF- α у больных ХОЗЛ III-IV стадий даже до уровня показателя у здоровых лиц может указывать на определенную дестабилизацию патологического процесса, в том числе и из-за недостаточной медикации. Сывороточные уровни GM-CSF и sICAM-1 не являются маркерами приверженности больных ХОЗЛ к применению ИГКС. Ингаляционное применение больными ХОЗЛ глюкокортикостероидов (учитывая их возможное влияние на выраженность системного воспаления) является достаточно безопасным.

Ключевые слова: системное воспаление, хроническое обструктивное заболевание легких, маркеры воспаления.

На сьогоднішній день вже визнано, що однією з ланок патогенезу хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) є хронічне системне запалення, котре призводить до формування позалегенових проявів захворювання, включаючи атеросклероз, серцево-судинну патологію, метаболічний синдром, м'язову слабкість, втрату ваги тощо [3, 5, 11, 14, 16, 18]. Інгаляційні глюкокортикостероїди (ІГКС), які зазвичай повинні приймати хворі на ХОЗЛ тяжкого перебігу, можуть пригнічувати системне запалення, знижуючи, наприклад, продукцію С-реактивного протеїну та інтерлейкіну-8 [8, 9, 10, 13, 15]. Втім, значущість багатьох інших маркерів запалення в діагностиці та оптимізації тактики ведення хворих ще й досі визначається та уточнюється.

Так, якщо на сьогодні вже доведено, що сироватковий рівень опухоленекротичного фактору- α (англ. – tumor necrosis factor- α (TNF- α)) при інфекційному загостренні ХОЗЛ зазвичай підвищується, то щодо рівня маркера у стабільну фазу патологічного процесу літературні дані дещо різняться [12, 17]. Вивченню рівня у хворих на ХОЗЛ такого важливого молекулярного маркера як гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (англ. – granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)), котрий здатний регулювати кумуляцію нейтрофілів та їх активацію завдяки підвищенню експресії адгезивних молекул, практично увага не приділяється [4]. Що ж до самих

молекул адгезії, зокрема щодо розчинної молекули міжклітинної адгезії-1 (англ. – soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1)), рівень якої є важливим показником не стільки кількості, скільки активності Т-лімфоцитів, присвячена досить невелика кількість робіт [6, 7].

Надзвичайно актуальним є з'ясування ролі вищезазначених молекулярних факторів у відтворенні ступеня активності системного хронічного запалення у хворих на ХОЗЛ у стабільну фазу патологічного процесу на тлі різних лікувальних програм.

У зв'язку з вищезазначеним метою роботи було визначення діагностичної значущості сироваткових рівнів TNF- α , GM-CSF та sICAM-1 при ХОЗЛ тяжкого перебігу у залежності від прихильності хворих до планової терапії, зокрема до ІГКС.

Матеріали та методи досліджень

Було обстежено 44 хворих на ХОЗЛ III та IV стадій у стабільну фазу патологічного процесу (чоловіків – 36 (81,8 %), жінок – 8 (18,2 %)); середній вік – $60,3 \pm 3,5$ років). У залежності від терапії, яку приймали хворі, вони були розподілені на дві підгрупи: у підгрупу 1 увійшло 26 хворих, котрі з різних причин постійно не приймали ІГКС, а приймали лише бронходилататори, у підгрупу 2 – 18 хворих, котрі постійно (не менше трьох останніх місяців поспіль) приймали як бронходилататори, так й ІГКС у адекватних до ста-

дії захворювання дозах згідно з національним стандартом [2].

Формулювання клінічного діагнозу ХОЗЛ проводили згідно з рекомендаціями Наказу МОЗ України №128 від 19.03.2007 року [2].

Контрольну групу склали 18 практично здорових осіб (чоловіків – 10 (55,6 %), жінок – 8 (44,4 %), середній вік – $52,7 \pm 6,0$ роки).

Усі обстежені дали згоду на проведення клінічного дослідження.

Дослідження функції зовнішнього дихання з характеристикою основних бронхообструктивних показників проводили методом комп'ютерної спірометрії за допомогою апарату Master Screen Body/Diff («Jager», Німеччина).

Рівні маркерів системного запалення визначали кількісними методами у сироватці крові: TNF- α і GM-CSF – за допомогою ELISA-наборів («Dialcote», Франція), sICAM-1 – за допомогою імуноферментного набору («Biosource», США).

Статистична обробка матеріалів досліджень проводилась з використанням методів біометричного аналізу, що реалізовані в пакетах програм EXCEL-

2003 (№ 74017-641-9475201-57075), STATISTICA 6.0 (№ 31415926535897) [1]. Оцінка достовірності відмінностей середніх величин для незв'язаних виборок виконувалася за критеріями Стюдента і Манна-Уїтні, дисперсій – за критерієм Фішера. Різницю між порівнювальними величинами вважали достовірною при $p < 0,05$, при цьому тенденцію змін вказували у діапазоні $0,05 < p < 0,10$ з наведенням рівня показника до тисячних.

Результати та їх обговорення

У хворих на ХОЗЛ III-IV стадій у стабільну фазу патологічного процесу сироватковий рівень TNF- α в цілому по групі був статистично достовірно нижчим, ніж у здорових осіб (табл. 1). При цьому якщо у хворих підгрупи 1 рівень показника статистично достовірно не відрізнявся від такого у здорових осіб, лише дещо знижуючись, то у хворих підгрупи 2 він був статистично достовірно нижчим за рівень показника у контрольній групі. За дисперсією показники у групах та підгрупах обстежених не відрізнялись між собою.

Таблиця 1
Рівні TNF- α у сироватці крові хворих на ХОЗЛ у залежності від прихильності до планової терапії

Групи та підгрупи обстежених	TNF- α (нг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M \pm m	Mгеом.	середніх	дисперсій
Основна група	$5,35 \pm 0,70$	4,95	$p_{0-K} < 0,05$	$p_{0-K} > 0,10$
підгрупа 1	$6,55 \pm 0,77$	5,15	$p_{1-K} > 0,10$	$p_{1-K} > 0,10$
підгрупа 2	$5,00 \pm 0,67$	3,56	$p_{1-2} > 0,10$ $p_{2-K} < 0,01$	$p_{1-2} > 0,10$ $p_{2-K} > 0,10$
Контрольна група	$8,17 \pm 0,92$	7,47		

Примітка: О – основна група;
1, 2 – підгрупи основної групи;
К – контрольна група.

Отримані результати свідчать про те, що оскільки при тяжкому перебігу ХОЗЛ для стабілізації патологічного процесу (зокрема й завдяки ІГКС) характерні більш низькі сироваткові рівні TNF- α , підвищення рівня маркера навіть до рівня показника у здорових осіб може вказувати на певну дестабілізацію патологічного процесу, у тому числі й завдяки недостатній медикації. Аналогічні дані описані в науковій літературі стосовно й С-реактивного протеїну [13].

Щодо сироваткового рівня GM-CSF, у хворих на ХОЗЛ III-IV стадій він не відрізнявся від рівня показника у здорових осіб (табл. 2). Крім того, і у підгрупах хворих щодо прихильності до планової терапії він також був співставним. Лікарські препарати, що приймали хворі на ХОЗЛ у якості планової терапії, суттєво не вплинули і на дисперсію показника ані в групах, ані у підгрупах хворих.

Таблиця 2
Рівні GM-CSF у сироватці крові хворих на ХОЗЛ у залежності від прихильності до планової терапії

Групи та підгрупи обстежених	GM-CSF (нг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M \pm m	Mгеом.	середніх	дисперсій
Основна група	$3,55 \pm 0,22$	3,40	$p_{0-K} > 0,10$	$p_{0-K} > 0,10$
підгрупа 1	$3,42 \pm 0,14$	3,36	$p_{1-K} > 0,10$	$p_{1-K} = 0,061$
підгрупа 2	$3,63 \pm 0,35$	3,46	$p_{1-2} > 0,10$ $p_{2-K} > 0,10$	$p_{1-2} > 0,10$ $p_{2-K} > 0,10$
Контрольна група	$3,38 \pm 0,26$	3,26		

Примітка. Позначки аналогічні таким табл. 1.

Сироватковий рівень sICAM-1 у хворих на ХОЗЛ III-IV стадій у стабільну фазу патологічного процесу був статистично достовірно вищим, аніж у групі контролю, відрізняючись як за середнім показником, так і за дисперсією (табл. 3). При цьому у підгрупі 1 рівень маркера був суттєво вищим та значущо відрізнявся за

дисперсією, тоді як у підгрупі 2 – достовірно відрізнявся за дисперсією та мав тенденцію до підвищення за середнім показником. У підгрупах хворих показники між собою не відрізнялись ані за середнім, ані за дисперсією.

Таблиця 3.

Рівні sICAM-1 у сироватці крові хворих на ХОЗЛ у залежності від прихильності до планової терапії

Групи та підгрупи обстежених	sICAM-1 (нг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M ± m	Mгеом.	середніх	дисперсій
Основна група	559,4 ± 50,2	465,1	p _{0-к} < 0,05	p _{0-к} < 0,05
підгрупа 1	629,0 ± 55,5	500,2	p _{1-к} < 0,01	p _{1-к} < 0,01
підгрупа 2	531,3 ± 47,0	439,4	p ₁₋₂ > 0,10 p _{2-к} = 0,097	p ₁₋₂ > 0,10 p _{2-к} < 0,05
Контрольна група	415,6 ± 49,0	364,2		

Примітка. Позначки аналогічні таким табл. 1.

Таким чином, високий сироватковий рівень sICAM-1, найбільш імовірно, відображає особливості цитокінової реактивності саме при тяжкому перебігу ХОЗЛ та суттєво не залежить від застосування хворими таких лікарських засобів, як ІГКС. З іншого боку, оскільки інгаляційне застосування глюкокортикостероїдів суттєво не впливає на сироватковий рівень цитокіну, можна стверджувати, що їх застосування є досить безпечним.

Висновки:

- 1) на рівень маркерів системного запалення при тяжкому перебігу ХОЗЛ може певним чином впливати не лише перебіг суто самого захворювання з притаманними йому особливостями цитокінової реактивності, а й застосування хворими лікарських засобів;
- 2) підвищення рівня TNF-α у хворих на ХОЗЛ III-IV стадій навіть до рівня показника у здорових осіб може вказувати на певну дестабілізацію патологічного процесу, у тому числі й завдяки недостатній медитації;
- 3) сироваткові рівні GM-CSF та sICAM-1 не є маркерами щодо прихильності хворих на ХОЗЛ до застосування ІГКС;
- 4) інгаляційне застосування глюкокортикостероїдів хворими на ХОЗЛ є досить безпечним з огляду на їх можливий вплив на виразність системного запалення.

Література

1. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
2. Наказ МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ппульмонологія». – Київ, 2007. – 146 с.
3. Agusti A., Thomas. A Neff lecture: chronic obstructive pulmonary disease – a systemic disease. – Proc. Am. Thorac. Soc. – 2006. – Vol. 3. – P. 478–481.
4. A role of GM-CSF in the accumulation of neutrophils in the airways caused by IL-17 and TNF-α / Laan M., Prause O., Miyamoto M. [et al.] // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 21. – P. 387–393.
5. Barnes P.J., Celli B.R. Systemic manifestations and co-morbidities of COPD. – Eur. Respir. J. – 2009. – Vol. 33, no. 5. – P. 1165–1185.

6. Barnes P.J., Shapiro S.D., Pauwels R.A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 22 (4). – P. 672–688.
7. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome / Ursavas A., Karadag M., Rodiplu E. [et al.] // Eur. Respir. J. – 2006. – Vol. 28 (Suppl. 50). – P. 414 (P2431).
8. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers / Pinto-Plata V.M., Müllerova H., Toso J.F. [et al.] // Thorax. – 2006. – Vol. 61. – P. 23.
9. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients / Torres J. P., Cordoba-Lanus E., Lopez-Aguillar C. [et al.] // Eur. Respir. J. – 2006. – Vol. 27, no. 5. – P. 902–907.
10. Effects of fluticasone on systemic markers of inflammation in chronic obstructive pulmonary disease / Sin D.D., Lacy P., York E., Man S.F. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 170. – P. 760.
11. Fabbri L.M., Rabe K.F. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? – Lancet. – 2007. – Vol. 370, no. 9589. – P. 797–799.
12. Role of TNF-alpha, sTNF-R55 and sTNF-R75 in inflammation of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / Zeng M., Wen Y., Liu L.-Y. [et al.] // Respiration. – 2009. – Vol. 78, no. 4. – P. 399–403.
13. Salmeterol/fluticasone treatment reduces circulating C-reactive protein level in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease / Tang Y.-J., Wang K., Yuan T. [et al.] // Chin. Med. J. – 2010. – Vol. 123 (13). – P. 1652–1657.
14. Sevenoaks M.J., Stockley R.A. Chronic obstructive pulmonary disease, inflammation and co-morbidity: a common inflammatory phenotype? – Resp. Res. – 2006. – Vol. 7, article 70.
15. The effect of inhaled corticosteroids on bronchoalveolar lavage cells and IL-8 levels in stable COPD patients / Ozol D., Aysan T., Solak Z.A. [et al.] // Respir. Med. – 2005. – Vol. 99. – P. 1494.
16. The metabolic syndrome in patients with chronic obstructive pulmonary disease / Marquis K., Maltais F., Duguay V. [et al.] // J. Cardiopulm. Rehabil. – 2005. – Vol. 25. – P. 226–232.
17. The repeatability of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and C-reactive protein in COPD patients over one year / Kolsum U., Roy K., Starkey C. [et al.] // J. Chron. Obstr. Pulm. Dis. – 2009. – Vol. 4, no. 1. – P. 149–156.
18. Van Eeden S.F., Sin D.D. Chronic obstructive pulmonary disease: a chronic systemic inflammatory disease // Respiration. – 2008. – Vol. 75, no. 2. – P. 224–238.

Summary

MARKERS LEVEL OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH SEVERE CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE DEPENDING ON ADHERENCE TO PLANNED TREATMENT

L. I. Konopkina

Key words: systemic inflammation, chronic obstructive pulmonary disease, markers of inflammation.

Systemic inflammation is recognized as one of the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). However, the role of many molecular markers in different categories of patients, at different phases of the pathological process, and depending on patients' adherence to medication therapy is also currently defined and specified. The aim of this research was to determine the diagnostic value of serum levels of such systemic inflammation markers as tumor necrotic factor-α (TNF-α), granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in severe COPD depending on the adherence of patients to routine therapy. The study involved 44 patients with COPD III-IV stages in the stable phase of the pathological process. Depending on the treatment

they were divided into two subgroups: the subgroup 1 included 26 patients who for various reasons were not constantly taking inhaled corticosteroids (ICS) and took only bronchodilators; the subgroup 2 – 18 patients who permanently took bronchodilators and ICS in adequate doses to the stage of the disease, according to the national standard. It was determined that the level of the abovementioned markers of systemic inflammation in severe COPD may in some way influence not only the course of the disease purely with the inherent characteristics of cytokine reactivity, but also the use of medications by patients. Increased TNF- α in patients with COPD III-IV stages, even to the level indicator in healthy patients, may indicate the destabilization of the pathological process, including due to lack of medication. Serum levels of GM-CSF and sICAM-1 are not the markers of COPD patients adherence to use the ICS. Inhaler using of corticosteroids by COPD patients is safe enough in terms of their potential impact on the severity of systemic inflammation.
Dnepropetrovsk Medical Academy of Ukraine, Dnipropetrovsk

Матеріал надійшов до редакції 12.10.2012 р.

© Попова І.Б.

УДК 616.5-002-002.8-28-08

ВПЛИВ НЕПАТОГЕННИХ ТА УМОВНО – ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ НА ПЕРЕБІГ ТА ЛІКУВАННЯ ПСОРІАЗУ

Попова І.Б.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Проведено обстеження 65 больних з установленим діагнозом псоріаз, прогресуюча стадія, смешаний тип, тривалість захворювання – не менше 5-ти років. В цілому, з усієї групи обстежених больних у 72% больних встановлено наявність в очагах ураження хоча б одного з досліджуваних грибів в кількості, достатній для ускладнення перебігу патологічного процесу. В 62,8% випадків з загальної кількості больних з установленим наявністю на шкірі досліджуваних грибів, було встановлено наявність грибів роду Candida, відповідно в 37,2% виявлено наявність грибів роду Malassezia. Після призначення больним, крім традиційного лікування, в період лікування препаратом «Ламизил» і при повторному обстеженні були отримані наступні результати: покращення клінічної картини на 7 – 10 днів спостерігалося у 37% больних.

Ключові слова: псоріаз, непатогенні гриби, умовно - патогенні гриби, грибкове ураження шкіри, гриби роду Malassezia, Candida.

Псоріаз – одне з найбільш розповсюджених хронічних рецидивуючих мультифакторних захворювань шкіри з домінуванням генетичної упередженості, для якої характерні гіперпроліферація епідермальних клітин, порушення процесу кератинізації на тлі запальної реакції в дермі, а також ураження нігтів, суглобів і волосистої частини голови. За результатами клініко – епідеміологічних досліджень на псоріаз хворіє близько 3-4 % населення нашої планети, незалежно від статі, віку та етнічної групи, при цьому питома вага цієї патології в загальній структурі шкірних хвороб сягає, за різними авторами, від 1- до 40% [1]. За даними досліджень американських вчених розподіл хворих різними формами псоріазу за важкістю клінічної картини підпорядковується правилу «третин» - дві третини хворих страждають на легку та помірну за важкістю та перебігом формами захворювання, а одна третина – середньо важкими та важкими формами псоріазу [2]. Якщо загальна кількість хворих на псоріатичну хворобу в країнах Європи та США ще кілька років тому нараховувало 10 млн. осіб, то на долю легких форм припадає від 6 до 7,5 хворих, а точніше 3,5 млн. хворих в країнах Європи та 1,5 – 2 млн. хворих осіб в США, а на важкі форми псоріазу страждають коло 3 млн. осіб (відповідно 1,6 млн. в країнах Європи та 1,5 2 млн. осіб в США).

Більшість дослідників провідну роль у механізмі розвитку псоріазу віддає генетичній теорії [1,3], а серед провокуючих факторів – травматичним, фізичним, хімічним, медикаментозним, біологічним, інфекційним факторам, а також неадаптованому живленню і психогенному стресу [4,5]. За думкою інших авторів провідну роль грають порушення адаптаційно – компенсаторних та нейроендокринних механізмів регуляції гомеостазу [6], які пов'язані з внутрішньоклітинним метаболізмом і системою вторинних посередників, а саме мелатоніна.

Клінічними проявами порушення проліферації та диференціювання епідермоцитів, імунної регуляції, мікроциркуляції є ураження шкіри, опірно – рухового апарату, внутрішніх органів, а біохімічним – гіпоксія та активація ПОЛ, ліпідний дисбаланс, порушення кальцієвого гомеостазу та ін. [7, 8].

Виходячи з вищевикладеного, особливу вагу в перебігу та лікуванні псоріазу набувають непатогенні бактеріальні, грибкові, вірусні агенти, як фактори ризику ускладнення хвороби. Такі види грибів як Malassezia, Candida, Trichophyton можуть ускладнювати перебіг хвороби не тільки як патогенні чинники, а і внаслідок формування сенситивізації до їх структурних компонентів [9]. Відомо, що гриби роду Malassezia є складовими нормальної шкірної флори, однак послаблення бар'єрної функції шкіри може посилювати антигенні властивості цього гриба та впливати на реактивність імунної системи. Умовно – патогенні гриби роду Candida також входять до нормального складу флори слизових оболонок, шлунково – кишкового тракту, статевих органів. Тому при дослідженні хворих на псоріаз, треба враховувати не тільки наявність цих грибів на шкірі а й ступінь розповсюдженості їх на шкірі, наявність клінічних ознак мікотичного ураження, перебіг хвороби та резистентність до лікування в кожному випадку захворювання на псоріаз. На наш час відомо сім різновидів грибів роду Malassezia, кожен з яких має свої, власні особливості, однак дослідники відмічають і загальні ознаки всіх різновидів, особливо наявність щільної, багаточислової клітинної оболонки, внутрішня поверхня якої є нерівною, а протоплазматична мембрана щільно з'єднана з внутрішньою частиною клітинної оболонки. Головні компоненти клітинної оболонки – маннопротеїни (75-80%), ліпіди (15-20%), хітин (1-2%) більшість дослідників вважають тими антигенами, які і мають найбільшу імуногенну активність, що може впливати на перебіг псоріазу та резистентність лікування [9, 10].

З огляду на вище приведені аргументи нами була визначена мета дослідження: дослідити наявність у хворих на псоріаз грибкового ураження шкіри, визначити доцільність призначення протигрибкової терапії таким хворим та ефективність її застосування у цієї категорії хворих.

Матеріали та методи дослідження

Проведено обстеження 65 хворих з встановленим діагнозом псоріаз, прогресуюча стадія, змішаний тип, які хворіють не менш 5-ти років та на час обстеження перебували на стаціонарному лікуванні в Полтавсь-

кому обласному шкірно – венерологічному диспансері. 32% з обстежених хворих складали жінки, 68% хворих відповідно складали чоловіки. Вік обстеженої групи хворих коливався від 25 до 47 років. Діагноз псоріаз встановлювався на підставі клінічної картини захворювання: характеризується появою мономорфного папульозного висипу, розташованого здебільшого на розгинальних поверхнях кінцівок (особливо на ліктях і колінах), тулубі, волосистої частині голови. Різно відмежовані папули діаметром від 2-3 мм до 1-2 см рожево-червоного кольору кулястих обрисів, які виступають над поверхнею шкіри, покриті сріблястобілими лусочками. При пошкрібуванні папул виявляються 3 діагностичних феномена: 1) стеаринової плями (лусочки, як стеарин, легко відокремлюються з поверхні папул), 2) термінальної плівки (після видалення лусочок оголюється червонувата волога блискуча поверхня), 3) кров'яний роси (на гладкій вологій червоній поверхні з'являється крапкова кровотеча). Папули відрізняються вираженою схильністю до ексцентричного росту, що призводить до утворення бляшок, які зливаються в свою чергу в суцільні ділянки ураження з нерівними контурами. При прогресуванні процесу навколо папул виникає яскраво-червоний облодок, позбавлений лусочок, зростає кількість нових висипань; феномен Кебнера (ізоморфна реакція) позитивний; суб'єктивно – свербіж. При регресуванні процесу характерні послаблення інтенсивності забарвлення, розсмоктування висипів, поява облодки Воронова. Розсмоктування бляшок зазвичай починається з центральної частини, в результаті чого псоріатичні елементи набувають кільцеподібну або гірляндоподібну форму. На місцях розсмоктування висипань залишається тимчасова депігментація (псевдолейкодерма). У періоди неповних ремісій на окремих ділянках шкірного покриву (частіше в ділянці ліктьових, колінних суглобів) можуть залишатися одиничні "чергові" бляшки [11]. Дослідження проводилося за допомогою бактеріологічного методу: посів патологічного матеріалу з вогнищ ураження, який був взятий методом зішкрібу на середовище Сабуро з цукром та без цукру (ФГУП «Санкт – Петербургский научно – исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико – биологического агентства, Россия) з метою виявлення грибів роду *Candida*, та на теж середовище з покриттям оливковою олією для встановлення наявності в патологічному вогнищі грибів роду *Malassezia*, після 14 діб проводилася мікроскопія отриманої культури («Биолам Ломо», Россия). Після обстеження, та виявлення наявності на шкірі хворого вказаних вище грибів хворим, поряд з традиційним лікуванням призначався препарат «Ламізіл» (Новартис Фарма С.А.С., Юнінг, Франція) по 250 мг на добу протягом 1 тижня.

Результати та їх обговорення

Обстежена група пацієнтів, яка складала 65 осіб, з встановленим діагнозом псоріаз. В цілому з усієї групи обстежених хворих у 72% хворих встановлено наявність у вогнищі ураження хоча б одного з досліджених грибів у кількості, достатній для ускладнення перебігу патологічного процесу. В 62,8% випадків з загальної кількості хворих з встановленою наявністю на шкірі досліджених грибів, було встановлено наявність

грибів роду *Candida*, відповідно в 37,2% випадків виявлено наявність на шкірі хворого грибів роду *Malassezia*. Звертає на себе увагу те, що з загальної кількості хворих з встановленою наявністю на шкірі грибів роду *Candida* більшість, а саме 66% складали жінки, що ймовірно може бути пов'язано з особливістю мікрофлори статевих органів у цих осіб. З загальної групи хворих, в яких в результаті обстеження було встановлено наявність на шкірі грибів роду *Malassezia* 46% складали жінки та, відповідно, 54% хворих складали чоловіки. Крім того, з загальної групи хворих з встановленою наявністю хоча б одного з досліджених грибів на шкірі 65% складали особи віком від 32 до 47 років, що дає змогу припустити наявність зв'язку між віком хворого на псоріаз та резистентністю шкірної мантії від непатогенних та умовно – патогенних грибів.

Після призначення хворим, поряд з традиційним лікуванням, протягом тижня препарату «Ламізіл» в дозі 250 мг на добу, та при повторному обстеженні були отримані наступні результати: покращення клінічної картини захворювання на 7 - 10 добу спостерігалось у 37% хворих з встановленою наявністю досліджених грибів на шкірі, покращення клінічної картини захворювання на 10 -12 добу після прийому препарату спостерігалось у 65% хворих. Скорочення строку перебування на стаціонарному лікуванні до 14 - 20 діб спостерігалось у 32% хворих, з загальної групи хворих, які поряд з традиційним лікуванням отримували протимікотичне лікування.

Розглядаючи отримані результати можливо припустити, що наявність у хворого на псоріаз підвищеної концентрації на шкірі непатогенних та умовно – патогенних грибів має значний вплив на перебіг хвороби та на резистентність до лікування. Це припущення підтверджується даними інших дослідників, за даними яких, якщо пацієнт на псоріаз має хронічну дерматофітну інфекцію, лікування та довготривала ремісія у таких хворих більш ускладнюється. Крім того, отриманими результатами показано, що при призначенні протигрибкових препаратів в більшості хворих спостерігалось значне покращення клінічної картини захворювання, а в вагомій долі хворих спостерігалось значне скорочення терміну перебування на стаціонарному лікуванні. Багаточисленні дослідження показують наявність зв'язку між наявністю на шкірі грибі роду *Malassezia* та ефективністю лікування псоріазу [12].

Таким чином, розглядаючи отримані результати, можливо припустити, що не дивлячись на безумовну необхідність проведення традиційної терапії хворим на псоріаз, необхідно брати до уваги вірогідність розвитку у цієї категорії хворих ураження шкіри непатогенними та умовно – патогенними грибами, що, в свою чергу потребує допоміжних обстежень хворих та призначення адекватної протимікотичної терапії.

Література

1. Рыжко П. П., Федота А. М., Воронцов В. М. Генодерматозы: буллезный эпидермолиз, ихтиоз, псоріаз.— Харьков: Фолио, 2004.— 334 с.
2. Mrowietz U, Kragballe K, Nast A., Reich K. Strategies for improving the quality of care in psoriasis with the use of treatment goals-a report on an implementation meeting // J Eur Acad Dermatol Venereol. 2011. – Vol. 25, N3. P. 1-13.
3. Романенко К. В., Лебединская Л. А. Псоріаз — полигенная форма дерматоза с наследственной предрас-

- положенностью // дерматол. та венерол.— 2004.— № 1 (23).— С. 7–11.
4. Псориаз и очаги фокальной инфекции в ЛОР-органах / Л. Б. Важбин, Ю. А. Хлыстов, В. В. Карпов и др. // Вестн. дерматол. и венерол.— 1995.— № 6.— С. 39–40.
 5. Алпатова И. А. диагностика и профилактика экологически зависимых заболеваний кожи / Под ред. проф. А. и. горовой.— днепропетровск: Пороги, 2003.— 133 с.
 6. Беляев Г. М. Стресс, адаптация, псориаз. Планирование научных исследований по проблеме этого заболевания // дерматол. та венерол.— 2002.— № 2 (16).— С. 11–14.
 7. Мавров И.И., Болотная Л.А., Сербина И.М. Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии: Пособие для врачей, интернов и студентов. — Харьков: Факт, 2007. — 792 с.
 8. Shan M., Kavanaugh A., Coyle E. Effect of a cultural sensitive cholesterol lowering diet on lipid and lipoproteins, body weight, and quality life in patients with lupus erythematosus // J. Rheumatol. — 2002. — Vol. 29, № 10. — P. 2122-2128.
 9. Faergemann J. *Pityrosporum* yeasts—what's new? / J Faergemann. // Mykoses. — 1997.- №40, Suppl. 1. — P.29-32.
 10. IgE-sensitization to cellular and culture filtrates of fungal extracts in patients with atopic dermatitis / D. Nissen, L. J. Petersen, R. Esch, [et al] // Ann. Allergy Asth. Immunol. - 1998. - №81. — P.247-255.
 11. В.І. Савчак Хвороби шкіри. Хвороби,що передаються статевим шляхом / Савчак В.І., Галнікіна С.О. // Тернопіль, Укрмедкнига, 2001 — 507с.
 12. Stability of *Pityrosporum ovale* allergens during storage / P. Lintu, J. Savolainen, K. Kalimo, [et al] // Clin. Exp. Allergy. - 1998. - №28. — P.486-490.

Summary

INFLUENCE OF NONPATHOGENIC AND OPPORTUNISTIC PATHOGENIC FUNGI ON THE CLINICAL COURSE AND TREATMENT OF PSORIASIS

I.B. Popova

Key words: psoriasis, non-pathogenic fungi, opportunistic pathogenic fungi, fungal infection of skin, fungi of genus *Malassezia*, *Candida*

65 patients, diagnosed with psoriasis (the progressing stage, the mixed type, duration of disease - not less than 5 years), were examined. In general, from the entire group of the surveyed patients, the research revealed the presence in the lesion focus of at least one of the investigated fungi in quantity, sufficient for complication of the pathological process in 72 % of patients. In 62,8 % of cases from total number of patients with the determined presence of investigated fungi, the presence of the fungi of genus *Candida* has been detected, accordingly, in 37,2 % the presence of fungi of genus *Malassezia* has been revealed. After prescribing «Lamizil», along with traditional treatment, within a week and during the repeated inspection, the following results have been received: the improvement of the clinical picture on the 7th – 10th day in 37 % of patients.

Higher State Educational Establishment of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 25.10.2012 р.

© Шкурупій Д.А.

УДК:616-053.2-008.83

МЕТАБОЛІТИ ГЛІКОЛІЗУ І АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З СИНДРОМОМ ПОЛІОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Шкурупій Д.А.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Одним из основных участников процесса клеточного энергообеспечения является пируват при метаболизме которого образуется 38 молекул аденозинтрифосфата. Шестая реакция этого метаболического пути идет в присутствии сукцинатдегидрогеназы. В условиях кислородного дефицита пируват может превращаться в лактат с образованием лишь 2 молекул аденозинтрифосфата. Новорожденные имеют высокий уровень энергопотребности и поэтому наиболее чувствительны к развитию энергодефицита при критических состояниях. С целью установления звеньев патогенеза синдрома полиорганной недостаточности у новорожденных было проведено исследование содержания лактата, пирувата в сыворотке крови и активности сукцинатдегидрогеназы венозной крови новорожденных с последствиями перинатального инфицирования и асфиксии при рождении, из которых 52 человека имели синдром полиорганной недостаточности и 17 не имели его. У новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности было установлено достоверное повышение лактата, пирувата и их соотношения, что демонстрирует наличие клеточного энергодефицита. Также имела место корреляционная связь между активностью сукцинатдегидрогеназы и соотношением лактата и пирувата. Поскольку сукцинатдегидрогеназа является митохондриальным ферментом, предполагается, что у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности клеточный энергодефицит является проявлением митохондриальной патологии.

Ключевые слова: лактат, пируват, сукцинатдегидрогеназа, новорожденные, синдром полиорганной недостаточности.

Вступ

Процес гліколізу є універсальним механізмом енергозабезпечення тваринних організмів. Відомо, що гліколіз можливий двома шляхами: аеробним та анаеробним. Одним з основних учасників процесу є пірвіноградна кислота, яка частіше розглядається в аніонній формі під назвою піруват (П). Цей переважно цитозольний субстрат має здатність до взаємоперетворення з глюкозою і є метаболітом для подальших реакцій аеробного процесу енергоутворення які перебігають на мітохондріальних мембранах з утворенням 38 молекул аденозинтрифосфату. Одним зі шляхів отримання клітинної енергії є окислювальна реакція перетворення сукцинату до фумарату при наявності каталітичної активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) [2].

Однак, в умовах кисневого дефіциту П може перетворюватись на молочну кислоту, яка по аналогії з попередньою частіше фігурує під терміном «лактат» (Л). В цьому випадку гліколіз іде за енергодефіцитним шляхом з утворенням лише 2 молекул аденозинтрифосфату. В умовах гіпоксії блокується енергозалежна утилізація Л в процесі глюконеогенезу, що зрушує рівновагу між Л і П в бік першого [1].

Критичні стани завжди супроводжуються гіпоксією і тому в глобальному сенсі є клітинним гіпергрозом. Ця проблема є особливо актуальною у новонароджених, які серед всіх вікових груп мають найвищий рівень метаболізму і основного обміну, а отже – і енергопотреби [7, 8].

Оскільки функціонування суми кожних окремо взятих клітин в загальному обсягу клітинної маси обумовлюють функціонування макроорганізму в цілому, то у новонароджених з синдромом поліорганної недостатності (СПОН) є доцільним дослідження метаболітів гліколізу і активності СДГ.

Мета: встановлення ланок патогенезу СПОН у новонароджених шляхом дослідження вмісту Л, П, їх співвідношення та активності СДГ у венозній крові.

Матеріали та методи дослідження

Для досягнення поставленої мети було проведено дослідження вмісту Л, П в сироватці крові, та активності СДГ венозної крові 69 дітей, які перебували на лікуванні в неонатальних стаціонарах міст Полтави і Кременчука. Критеріями включення в групу були наявність у новонароджених наслідків перинатального інфікування чи асфіксії при народженні, критеріями виключення були наявність вроджених аномалій розвитку з впливом на дихальну та гемодинамічну системи та наявність хірургічної патології. Пацієнти були рандомізовані наступним чином: до основної групи були віднесені новонароджені, які мали ознаки СПОН і перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії (n=52), до групи порівняння - новонароджені без таких ознак, які перебували у відділенні передчасно народжених і патології новонароджених (n=17). Перед початком обстеження у законних представників всіх пацієнтів були отримані письмові акти інформованої згоди на участь в обстеженні. Під час дослідження були дотримані права пацієнтів відповідно вимог Гельсінської декларації 1975 року з поправками від 2005 року. В даній роботі дослідження на тваринах не проводились.

Лабораторний аналіз показників проводився лабораторним відділом ТОВ «Б.А.Т. – БіоАналітичні технології» (м. Харків). Визначення концентрації Л і П проводили ензимними методами [3], активність СДГ визначали в клітинному лізаті за відновлювальною реакцією [1] з використанням реагентів відповідно до рекомендацій виробника.

Статистичний аналіз показників проводився методами описової статистики і непараметричних критеріїв, а саме середнього арифметичного (М), помилки репрезентативності (m), медіани (Me) і квартильного розмаху

(50L, 50U), критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні (U) з розрахунком суми рангів Σr , коефіцієнту кореляції (R) Спірмена. За мінімальний рівень безпомилкового прогнозу вважали $P=0,95$ і, відповідно, рівнем імовірності помилки - $p<0,05$ [5].

Результати та їх обговорення

При порівнянні результатів концентрації Л і П венозної крові новонароджених досліджуваних груп було встановлено достовірне підвищення обох показників у дітей із СПОН: вміст Л в основній групі відносно порівняльної склав відповідно $0,73\pm 0,02$ ммоль/л ($Me=0,70$; $50L=0,64$; $50U=0,81$; $\Sigma r=2258,0$; $n=52$) та $0,49\pm 0,01$ ммоль/л ($Me=0,49$; $50L=0,46$; $50U=0,51$; $\Sigma r=157,0$; $n=17$) ($U=4,0$; $p<0,001$); вміст П відповідно склав $0,08\pm 0,002$ ммоль/л ($Me=0,08$; $50L=0,07$; $50U=0,1$; $\Sigma r=2018,50$; $n=52$) та $0,07\pm 0,004$ ммоль/л ($Me=0,07$; $50L=0,06$; $50U=0,07$; $\Sigma r=396,50$; $n=17$) ($U=243,5$; $p=0,0005$).

Підвищення вмісту як Л так і П є характерним для органних уражень і критичних станів. Підвищення рівня Л традиційно зв'язують з тканинною гіпоксією, хоча існують і інші причини цього процесу, зокрема – підвищення активності Na^+-K^+-ATP -ази при наявності нормоксії, або зниження кліренсу цього метаболіту печінкою. До підвищення рівня П можуть призводити дисфункція піруватдегідрогеназного комплексу, гіперактивність аеробного гліколізу при відсутності необхідності продукції енергоємних субстратів, посилення глюконеогенезу при розпаді білків. Всі ці процеси перебігають у позаклітинному просторі. Однак внутрішньоклітинна реакція перетворення П на ацетил-КоА означає його незворотне залучення в процес енергоутворення. Таким чином, для оцінки змін рівня Л і П в крові більш доцільним є не вимірювання абсолютних величин, а оцінка їх співвідношення (Л/П) [3].

При оцінці Л/П було встановлено, що у дітей із СПОН цей показник становив $9,20\pm 0,33$ умовних одиниць (ум. од.) ($Me=9,11$; $50L=7,47$; $50U=10,5$; $\Sigma r=2011,0$; $n=52$), а у дітей без цього синдрому – $7,34\pm 0,44$ ум. од. ($Me=7,21$; $50L=5,87$; $50U=8,70$; $\Sigma r=404,0$; $n=17$) ($U=251,0$; $p=0,007$).

Причиною таких змін можна вважати наявність клітинного енергодефіциту у новонароджених із СПОН. Це можна підтвердити даними активності СДГ. Цей фермент є енергоутворюючим, оскільки реакція «сукцинат-фумарат», яка проходить за наявності активності СДГ, дає 2 молекули аденозинтрифосфату. При порівнянні статистичних показників в обох групах не було виявлено різниці активності цього ферменту: у новонароджених із СПОН активність СДГ становила

$0,02\pm 0,001$ ммоль/л-час ($Me=0,02$; $50L=0,01$; $50U=0,02$; $\Sigma r=1836$; $n=52$), а у дітей без цього синдрому – $0,02\pm 0,001$ ммоль/л-час ($Me=0,02$; $50L=0,01$; $50U=0,01$; $\Sigma r=579$; $n=17$) ($U=426,0$; $p=0,83$). Однак, проведений кореляційний аналіз довів наявність прямого статистично значимого зв'язку між активністю СДГ і Л/П ($r=0,25$; $p=0,04$).

Реакція перетворення сукцинату в фумарат в присутності СДГ проходить на внутрішній мембрані мітохондрій [4, 6], отже, зважаючи на те, що Л/П є інтегративним показником клітинного енергозабезпечення і враховуючи наведений вище зв'язок між Л/П і СДГ можна припустити, що клітинний енергодефіцит у новонароджених із СПОН є проявом наявної мітохондріальної патології.

Висновки

1. У новонароджених із СПОН порівняно з дітьми без такого синдрому наявне достовірне підвищення рівнів Л і П в венозній крові;
2. У новонароджених із СПОН має місце клітинний енергодефіцит, про що свідчить підвищення інтегративного співвідношення Л/П;
3. Наявність прямого статистичного зв'язку між значеннями Л/П і рівнем активності СДГ дозволяє припустити, що клітинний енергодефіцит у новонароджених із СПОН є проявом мітохондріальної патології.

Література

1. Биологическая химия / Е. С. Северин, Т. Л. Алейникова, Е. В. Осипов, С. А. Силаева. - М.: Мед. информ. агентство, 2008. - 367 с.
2. Зайчик А.Ш. Основы патохимии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. - СПб, 2001. - ЭЛБИ-СПб, 688 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. - 3-е изд. - М.: МЕД-пресс-информ, 2009. - 896 с.
4. Методы общей бактериологии: пер с англ./ Под ред. Ф. Герхардта и др. - М.: МИР, 1984. - 472 с.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / Реброва О. Ю. - М: Медиасфера, 2002. - 312 с.
6. Торшин В. А. Клиническое значение уровня лактата крови в лабораторной экспресс-диагностике / В.А. Торшин // Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией, 2006. - № 11. - С. 43-49.
7. Хазанов А.И. Клиническая неонатология / А.И. Хазанов. - СПб.: Гиппократ, 2009. - 424 с.
8. Яковлев А.Ю. Реамберин в практике инфузионной терапии критических состояний (практические рекомендации) / А.Ю. Яковлев. - СПб., 2008. - 32 с.

Summary

METABOLITES OF GLYCOLYSIS AND SUCCINATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN NEWBORNS WITH MULTIPLE ORGAN FAILURE.

D.A. Shkurupiy

Key words: lactate, pyruvate, succinate dehydrogenase, newborns, multiorgan failure syndrom.

One of the major participants in cellular energy metabolism in pyruvate which metabolism produces 38 molecules of adenosine triphosphate. The sixth reaction of this pathway goes in the presence of succinate dehydrogenase. Under conditions of oxygen deficiency, pyruvate can be converted to lactate with the formation of only two molecules of adenosine triphosphate. Newborns have a high energy demand and thus they are the most susceptible to the development of energy shortages in critical conditions. With the aim of ascertainment of pathogenesis of newborns' multiorgan failure syndrom the research of lactate and pyruvate containing and succinate dehydrogenase activity of newborns venous blood with sequences to perinatal infection and neonatal asphyxia was performed, among them 52

persons had multiorgan failure syndrom and 17 didn't have it. In infants with multiple organ dysfunction syndrome the significant increase in lactate, pyruvate and their ratio, which shows the presence of cellular energy shortage was found. Also, there was a correlation between the activity and the ratio of lactate dehydrogenase and pyruvate. As succinate dehydrogenase is a mitochondrial enzyme, it is supposed, that cellular energy deficit of newborns with the multiorgan failure syndrom syndrome is a manifestation of mitochondrial pathology.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 14.11.2012 р.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Важнича О.М.
УДК 615

ДО ПИТАННЯ ПРО ДЕЯКІ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ 2-ЕТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ОКСИПІРИДИНУ СУКЦИНАТУ

Важнича О.М.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Цель исследования – изучить в опытах in vitro влияние 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината (мексидола) на асимметрию мембран и белки цитоскелета эритроцитов (Эр). 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат прибавляли к тест-системам до концентрации 0,39 мМ. Дизайн эксперимента включал инкубацию Эр в 154 мМ и 77 мМ забуференных растворах натрия хлорида с препаратом или без него (контроль) при 37°С в течение 2 часов с последующим электрофорезом белков цитоскелета и цитофлюориметрией. Показано, что в гипотонической среде препарат уменьшает число Эр с нарушенной фосфолипидной асимметрией мембраны по сравнению с контролем. В этих условиях он модифицирует спектрин-актиновый комплекс и вертикальные связи мембрана-цитоскелет, опосредованные анкирином.

Ключевые слова: 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат, мексидол, эритроцит, цитоскелет, асимметрия мембраны.

Робота є фрагментом планової ініціативної НДР «Пошук засобів та біологічно активних речовин з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879).

Відомо, що клітинна мембрана еритроцитів є високо динамічною і модулюється компонентами цитоскелету, які утворюють під мембраною сітку філаментів, безпосередньо зв'язаних з її внутрішньою поверхнею [8]. Кооперація мембрани й цитоскелету еритроцитів зумовлює їх форму, еластичність та резистентність до ушкоджуючих факторів [14, 16], тому вона інтенсивно вивчається за умов експериментальної та клінічної патології [5, 6, 15]. Теоретичне і практичне значення мають дослідження, що стосуються впливу фармакологічних засобів на внутрішню будову еритроцитів [4, 9]. Оскільки встановлено, що оксидативний стрес відіграє значну роль у модифікації мембрано-цитоскелетного комплексу [11, 12], цілком зрозуміло необхідність вивчення впливу антиоксидантів на ці процеси. До числа таких препаратів належить 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат, або мексидол [3].

Дані літератури й результати попередніх досліджень показали, що мексидол підвищує стійкість еритроцитів до гемолізу, ініційованого механічними та осмотичними факторами [3]. Описано, що препарат модифікує форму еритроцитів за умов ізо- та гіпоосмолярності [1]. Однак питання про його вплив на асиметрію мембран та білки цитоскелету еритроцитів раніше не досліджувалось.

Мета роботи – вивчити в дослідах in vitro вплив 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату на асиметрію мембран та білки цитоскелету еритроцитів.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти проведені з використанням крові 12 інтактних білих щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г, які утримувались за стандартних умов віварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Кров одержували пункцією порожнини серця під ефірним наркозом за загальноприйнятою методикою [2] й стабілізували гепарином. Еритроцити, двічі відмиті стерильним ізотонічним розчином натрію хлориду (NaCl), суспендували в ізотонічному (154 мМ) та гіпотонічному (77 мМ) розчинах NaCl, забуферених фосфатним буфером до pH=7,4, у співвідношенні 1:2, що відповідає гематокриту. Згрупування дослідів мало наступний вигляд: 1 – еритроцити, суспендовані в ізотонічному розчині NaCl; 2 – еритроцити, суспендовані в ізотонічному розчині NaCl, з додаванням 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату; 3 – еритроцити, суспендовані в гіпотонічному розчині NaCl; 4 – еритроцити, суспендовані в гіпотонічному розчині NaCl, із додаванням 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату. У кожній групі було по 3-4 зразки. 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат додавали до модельних систем у такій кількості, щоб його концентрація в пробі становила 0,39 мМ і відповідала тій, яка можлива в організмі при введенні й рівномірному розподілі ефективної дози 100 мг/кг маси. Усі зразки інкубували 2 години при +37°С і використовували для визначення молекулярно-біологічних параметрів.

Ступінь порушення асиметрії мембрани еритроцитів оцінювали за зв'язуванням анексину V з фосфатидилсерином на зовнішній поверхні мембрани еритроциту методом проточної цитофлуориметрії на проточному цитометрі FACS Calibur фірми Becton Dickinson (США) [13]. У ході роботи використовували набір Annexin V-FITC detection KIT I фірми BD у відповідності з Annexin V-FITC staining protocol. Для мінімізації помилок в пробі аналізували 500000 подій. Результати вимірювань оцінювали за допомогою програмного забезпечення фірми BD - CELLQuest Pro.

Тест-системи, що містять еритроцити в ізо- та гіпотонічному середовищі з додаванням 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату або без нього, також використовували для дослідження білків цитоскелету червонокривців. З цією метою клітини піддавали гемолізу, відмивали струмою від гемоглобіну і одержували «білі тіні» [10]. Електрофорез білків проводили в плоских вертикальних поліакриламідних гелях [10]. Зразки вносили по 20 мкл у комірки стартового гелю і розділяли при силі струму 25 мА протягом 12-15 годин, після чого одержані гелі фіксували 2 години в 10% розчині трихлороцтової кислоти. Білки фарбували Coomassie R-250 при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Оцінку відносного вмісту білків проводили

за допомогою денситометру та програми для персонального комп'ютера. Ідентифікацію білків здійснювали з використанням набору стандартних маркерних білків фірми Fluka. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерних програм Stat Graphics.

Дослідження асиметрії мембран і білків цитоскелету еритроцитів проведені на базі відділу кріоцитології та кількісної морфології Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, м. Харків (зав. відділу – проф. Л.О. Бабійчук) за консультативної та методичної допомоги проф. Л.О. Бабійчук та к.б.н. П.М. Зубова.

Результати та їх обговорення

Електрофоретичне дослідження показало, що інкубація еритроцитів у гіпотонічному розчині NaCl позначається на інтенсивності смуг електрофореграм та висоті відповідних піків денситограм у порівнянні з такими для еритроцитів, інкубованих в ізотонічному розчині NaCl (рис. 1), що свідчить, про порушення взаємодії між білками мембрано-цитоскелетного комплексу і узгоджується з даними літератури стосовно ролі гіпоосмолярності в процесах еритроптозу [11].

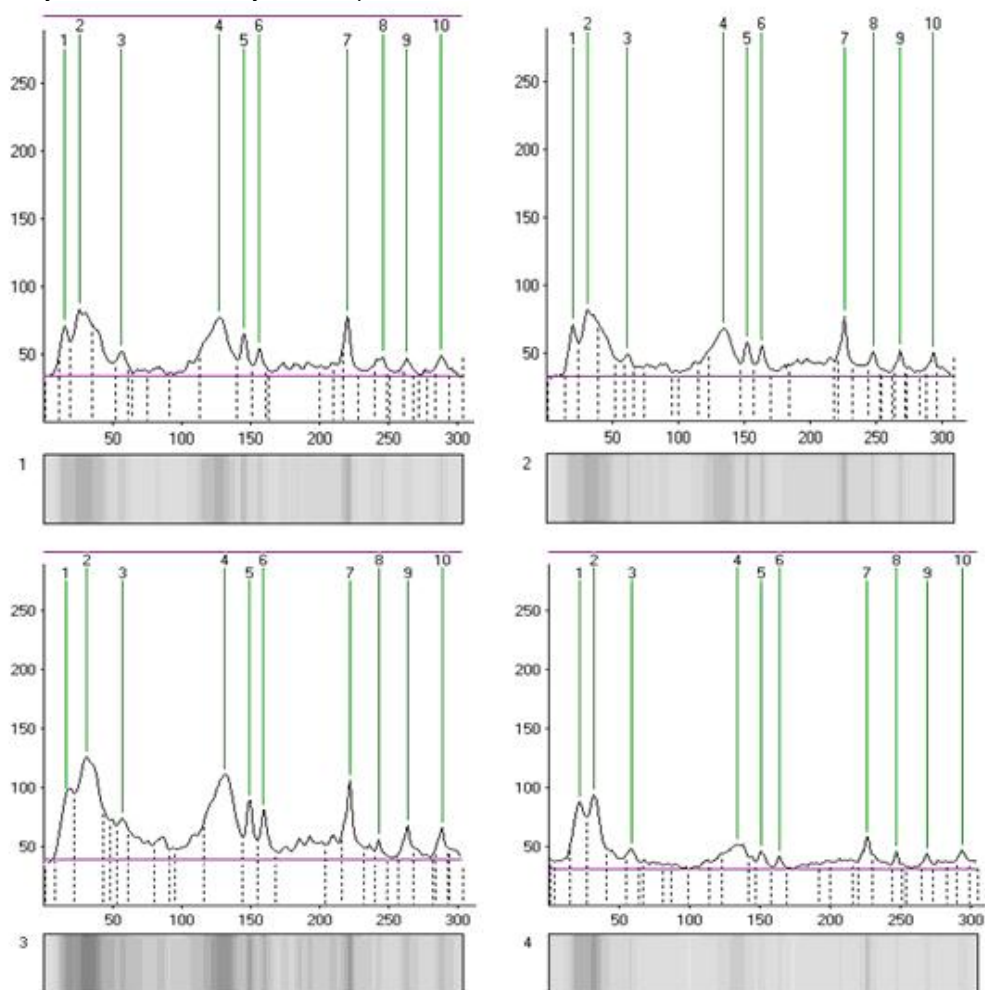


Рис. 1. Електрофореграми та денситограми білків цитоскелету еритроцитів при інкубації в ізотонічному розчині NaCl без препарату (1) та з 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинатом (2); у гіпотонічному розчині NaCl без препарату (3) та з 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинатом (4).

Внесення в модельні системи 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату створює відмінності між електрофорамами в дослідних і контрольних зразках, що особливо помітно за умов гіпотонічного середовища (див. рис. 1).

Результати кількісного аналізу денситограм наведено в табл. 1. Вони свідчать, що вміст основних білків цитоскелету еритроцитів, інкубованих у ізотонічному розчині NaCl із додаванням похідного 3-оксипіридину, практично не відрізняється від такого в ізотонічному середовищі без препарату.

Таблиця 1
Вплив 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату (мексидолу) на вміст основних білків цитоскелету еритроцитів в ізотонічному та гіпотонічному середовищі ($M \pm m$)

Білки цитоскелету	Вміст білків цитоскелету залежно від модельної системи, %			
	154 мМ розчин NaCl	154 мМ розчин NaCl+ препарат	77 мМ розчин NaCl	77 мМ розчин NaCl + препарат
Спектрин- α	11,67 \pm 1,7	11,5 \pm 1,34	10,52 \pm 0,60	12,8 \pm 0,53*
Спектрин- β	15,78 \pm 1,25	16,03 \pm 0,87	18,38 \pm 0,57	15,19 \pm 0,98*
Анкірин	3,98 \pm 0,33	3,87 \pm 0,56	3,88 \pm 0,10	4,24 \pm 0,14
Білок смуги 3	15,9 \pm 1,3	14,57 \pm 0,21	16,22 \pm 1,59	15,32 \pm 0,3
Білок смуги 4.1	3,6 \pm 0,09	3,96 \pm 0,28	4,23 \pm 0,42	3,90 \pm 0,5
Білок смуги 4.2	3,15 \pm 0,35	3,20 \pm 0,45	3,03 \pm 0,49	3,09 \pm 0,3
Білок смуги 5	5,91 \pm 0,7	5,72 \pm 0,67	5,41 \pm 0,75	5,29 \pm 0,63
Білок смуги 6	1,9 \pm 0,21	2,10 \pm 0,16	1,87 \pm 0,07	1,99 \pm 0,11
Білок смуги 7	2,17 \pm 0,33	2,24 \pm 0,18	2,13 \pm 0,16	1,99 \pm 0,06
Білок смуги 8	2,83 \pm 0,04	2,39 \pm 0,27	2,12 \pm 0,42	2,30 \pm 0,48

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем (модельна система без препарату).

Гіпотонія середовища викликає тенденцію до підвищення вмісту спектрину- β ($p < 0,25$) у порівнянні із таким у цитоскелеті еритроцитів, інкубованих в ізотонічному розчині NaCl, за відсутності інших вірогідних змін (див. табл.1). На цьому фоні додавання мексидолу збільшує вміст спектрину- α на 2,3% ($p < 0,05$), зменшує вміст спектрину- β на 3,2% ($p < 0,05$) та підвищує вміст анкірину на 0,4% ($p < 0,25$) за відсутності статистично значущих відмінностей між іншими фракціями у дослідних та контрольних зразках.

Отже, за умов впливу на еритроцити гіпотонії 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат змінює вміст окремих ключових фракцій білків цитоскелету еритроцитів. З огляду на роль цих білків (спектрин, анкі-

рин) [8], можна вважати, що виявлені зміни стосується спектрин-актинового комплексу та вертикальних зв'язків мембрана-цитоскелет, опосередкованих анкірином.

Графічні зображення розподілу «подій» при цитофлюориметричному визначенні зв'язування анексину з V фосфатидилсерином на зовнішній поверхні мембран еритроцитів у пробах кожної з груп представлені на рис. 2 і демонструють існування відмінностей у стані клітинних мембран як між впливом на еритроцити ізотонії та гіпотонії (рис. 2, проби 1 та 3), так і між ним та ефектом похідного 3-оксипіридину (рис. 2, проби 1 – 2 та 3 – 4).

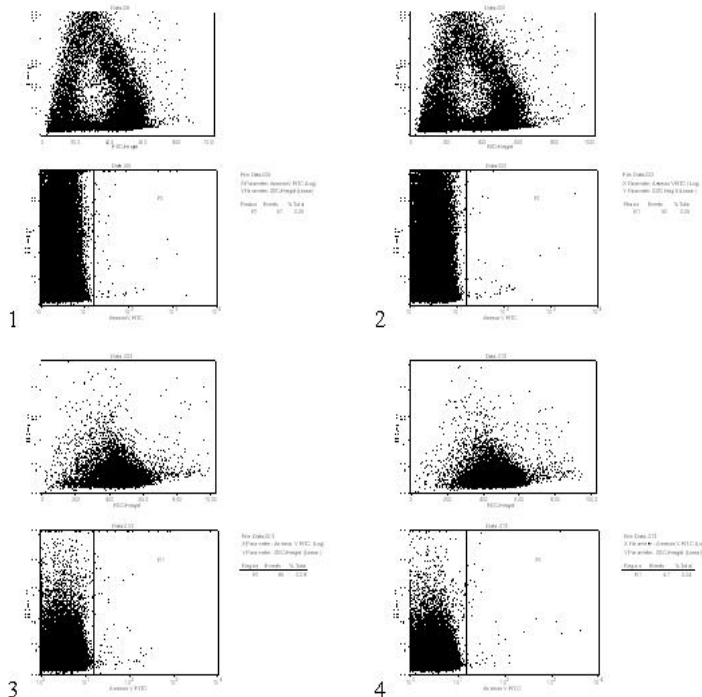


Рис. 2. Зв'язування анексину з V фосфатидилсерином на зовнішній поверхні мембран еритроцитів (розподіл «подій», цитофлюориметрія) при інкубації в ізотонічному розчині NaCl без препарату (1) та з 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинатом (2); у гіпотонічному розчині NaCl без препарату (3) та з 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинатом (4).

Показано, що після інкубації еритроцитів у ізотонічному середовищі частка клітин, які експресують фосфатидилсерин на зовнішній поверхні мембрани, становить $0,043 \pm 0,003\%$. В аналогічній модельній системі із додаванням 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату цей показник дорівнює $0,050 \pm 0,001\%$, тобто має тенденцію ($p < 0,1$) до збільшення у порівнянні з контролем.

Після інкубації еритроцитів у гіпотонічному середовищі вміст клітин із порушеною асиметрією мембран становить $0,057 \pm 0,003\%$. Це в 1,3 разу більше в порівнянні з ізотонічним середовищем ($p < 0,05$) і, вочевидь, може вважатись наслідком ушкоджуючої дії низької концентрації NaCl. За умов гіпотонії із додаванням похідного 3-оксипіридину даний показник становить $0,047 \pm 0,002\%$, що в 1,2 разу менше, ніж у контролі ($p < 0,05$).

Таким чином, за умов гіпотонії інкубаційного середовища 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат сприяє зменшенню кількості еритроцитів з порушеною асиметрією мембран, а за умов ізотонії – демонструє протилежну тенденцію, що потребує подальшого дослідження.

Виявлені ефекти 2-етил-6-метил-3-оксипіридину стосовно асиметрії мембрани та мембрано-цитоскелетного комплексу можуть бути поєднані в єдиний механізм, якщо взяти до уваги, що зв'язування спектрину з фосфатидилхоліном забезпечує механічну стабільність мембрани [7]. Вочевидь, модифікуючи спектрин-актиновий комплекс та вертикальні зв'язки мембрана-цитоскелет, опосередковані анкірином, досліджене похідне 3-оксипіридину сприяє «утриманню» фосфатидилсерину на внутрішній поверхні мембрани еритроциту і в такий спосіб підвищує резистентність червонокривців до гіпоосмолярності, механічних та термічних факторів, що було описано раніше [1, 3]. Експериментальна перевірка цієї робочої гіпотези становитиме напрямок наших подальших досліджень.

Висновки

1. Внесення 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату (мексидолу) в гіпотонічне середовище до концентрації 0,39 мМ призводить до модифікації взаємодій між білками мембрано-цитоскелетного комплексу еритроцитів, що стосується спектрин-актинового комплексу та вертикальних зв'язків мембрана-цитоскелет, опосередкованих анкірином.

2. 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат (0,39 мМ) за умов гіпотонії інкубаційного середовища сприяє зменшенню експресії фосфатидилсерину на зовнішній поверхні мембран еритроцитів.

Література

1. Вплив синтетичного антиоксиданта мексидолу на форму еритроцитів у дослідях *in vitro* / Л.О. Бабійчук, О.М.

Важнича, О.В. Савельєва та [ін.] // Світ медицини і біології. – 2010. – №.1 – С. 6-9.

2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації / наук. ред. Стефанов О.В.]. – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.
3. Дюмаев К.М. Антиоксиданти в профилактике и терапии патологии ЦНС / К.М. Дюмаев, Т.А. Воронина, Л.Д. Смирнов. – М.: Изд. Ин-та биомедицинской химии РАМН, 1995. – 272 с.
4. Землянских, Н.Г. Изменения в мембранно-цитоскелетном комплексе эритроцитов, индуцированные диметилсульфоксидом, полиэтиленгликолем и низкой температурой / Н.Г. Землянских, О.Н. Денисова. – // Биофизика. – 2009. – Т.54, №4. – С.693-703.
5. Сибірна Н.О. Порушення спектра протеїнів мембран еритроцитів при цукровому діабеті 1-го типу / Н.О. Сибірна, Т.В. Буслик // Український біохімічний журнал – 2009. – Т. 81, №6. – С. 94-103.
6. An X. Disorders of red cell membrane / X An, N. Mohandas // British Journal of Hematology. – 2008. – Vol. 141, № 3. – P. 367-375.
7. Bennett V. Organizing the fluid membrane bilayer: diseases linked to spectrin and ankyrin / V. Bennett, J. Healy // Trends in Molecular Medicine. – 2008. – Vol. 14, №1. – P. 28-36.
8. Burton N.M. Modeling the structure of the red cell membrane / N.M. Burton, L.J. Bruce // Biochemistry and Cell Biology. – 2011 – Vol. 89, № 2. – P. 200-215.
9. Dos Santos J.L Recent insights on the medicinal chemistry of sickle cell disease / J.L Dos Santos, C.M. Chin // Current Medical Chemistry. – 2011. – Vol. 18, № 15. – P.2339-2358.
10. Fairbanks G. Electrolytic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T.L. Steck, D.F. Wallach // Journal of Biochemistry. – 1971. – Vol. 10. – P.2606-2617.
11. Föller M. Erythrocyte programmed cell death / M. Föller, S.M. Huber, F. Lang // International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life. – 2008. – Vol. 60, № 10. – P. 661-668.
12. Kriebardis A.G. Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of denatured hemoglobin in stored red cells / A.G. Kriebardis, M.H. Antonelou, K.E. Stamoulis [et al.] // Journal of Cell Molecular Medicine. – 2007. – Vol. 11, № 11. – P.48-55.
13. Kuypers F.A. Detection of altered membrane phospholipid asymmetry in subpopulations of human red blood cells using fluorescently labeled annexin V / F.A. Kuypers, R.A. Lewis, M. Hua // Blood. – 1996. – Vol. 87, № 3. – P.1179-1187.
14. Mohandas N. Red cell membrane: past, present, and future / N. Mohandas, P.G. Gallagher //Blood. – 2008. – Vol. 112, № 10. – P. 3939-3948.
15. Phenylhydrazine as a partial model for beta-thalassaemia red blood cell hemodynamic properties / Y. Ramot, A. Koshkaryev, A. Goldfarb [et al.] // British Journal of Haematology. – 2008. – Vol.140, № 6. – P. 692-700.
16. The cooperative role of membrane skeleton and bilayer in the mechanical behaviour of red blood cells / S. Svetina, D. Kuzman, R.E. Waugh [et al.] // Journal of Bioelectrochemistry. – 2004. – Vol. 62. – P. 107-113.

Summary

ON SOME MOLECULAR-BIOLOGICAL MECHANISMS OF 2-ETHYL-6-METHYL-3-OXYPYRIDINE SUCCINATE ACTION

O.M. Vazhnycha

Key words: 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate, mexidol, red blood cell, cytoskeleton, membrane asymmetry.

The purpose of the research is to study the influence of 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate (mexidol) on red blood cells (RBC) membrane asymmetry and cytoskeleton proteins in the "in vitro" experiments. 2-ethyl-6-methyl-3-

oxypyridine succinate was added to test-systems in the concentration of 0,39 mM. A design of experiment included the incubation of RBC in 154 mM and 77 mM solutions of sodium chloride with medication or without it (control) at 37°C for 2 hours with following electrophoresis of cytoskeleton proteins and cytofluorimetry. It is shown that in hypotonic medium, the preparation decreases the count of RBC with altered membrane phospholipid asymmetry as compared to control. Under these conditions it modifies spectrin-actin complex and vertical membrane-cytoskeleton bonds intermediated by ankyrin.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 07.06.2012 р.

© Стасюк О.А., Костенко В.О.
УДК 616.316-092.9 : 615.916'175

ВПЛИВ СКЕВЕНДЖЕРІВ ПЕРОКСИНИТРИТУ НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПІЛЬНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ

Стасюк О.А., Костенко В.О.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В эксперименте на 20 белых крысах массой 180-200 г исследована роль скэвенджеров пероксинитрита на уровень продукции супероксидного анион-радикала, состояние пероксидного окисления липидов, антиоксидантной защиты в тканях поднижнечелюстных слюнных желез крыс и их белоксинтезирующей функции в условиях сочетанного токсического действия нитрата и фторида натрия. Исследования проведены в таких сериях опытов: в первой - интактные животные (контрольная серия), во второй - после сочетанного введения нитрата натрия (200 мг/кг массы тела) и фторида натрия (10 мг/кг) в течение 30 суток, в третьей и четвертой - в период 30-дневной совокупной токсического действия нитрата и фторида натрия вводили скэвенджеры пероксинитрита - L-селенометионин (3 мг/кг 1 раз в неделю) и мочевиная кислота (250 мг/кг 3 раза в неделю). Выявлено, что введение крысам L-селенометионина и мочевиной кислоты в этих условиях снижает продукцию супероксидного анион-радикала (микросомальной и митохондриальной электронно-транспортными цепями) и активность пероксидного окисления липидов, улучшает состояние антиоксидантной защиты и белоксинтезирующей функции слюнных желез. Сделан вывод, что нарушение свободнорадикальных процессов в тканях поднижнечелюстных слюнных желез на фоне бинарной хронической интоксикации нитратом и фторидом натрия являются пероксинитрит-зависимыми.

Ключевые слова: интоксикация нитратом натрия, интоксикация фторидом натрия, оксид азота, пероксинитрит, слюнные железы, супероксидный анион-радикал, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система.

За оцінками науковців, у аграрно-промислових регіонах України значною проблемою є комбінована дія на організм людини та тварин неорганічних азотовмісних сполук та фторидів, що супроводжується випадками гострих та хронічних нітратно-нітритних інтоксикацій та ендемічного флюорозу [1,4].

В останні роки слинні залози (СЗ) розглядаються як важливий орган регуляції утворення оксиду азоту (NO) у кількості, необхідній для нормального функціонування протективних систем слизової оболонки органів шлунково-кишкового тракту, підтримання її цілісності [9]. Кількість NO, що надходить у організм із слиною, контролюється механізмом ауторегуляції, відомим як цикл оксиду азоту [6]. Поряд з NO-синтазним шляхом в СЗ NO утворюється через нітрат- та нітритредуктазні реакції [9]. Вважається, що саме ця складова циклу NO є фізіологічно необхідною за умов зниження активності NO-синтаз, наприклад, за умов гіпоксії [6].

У попередніх роботах нами показано, що при введенні фториду натрію на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію у тканинах СЗ порушуються механізми ауторегуляції рівня NO в організмі: типове для ізольованого призначення нітрату натрію пригнічення активності сумарних NOS змінюється на збільшення їх активності [7]. Такі зміни можуть бути пов'язані зі здатністю фторид-іонів пригнічувати аргінази – ферменти конкурентного (щодо NO-синтазного) неокисного шляху метаболізму L-аргініну [2].

Завдяки можливості продукції надлишкової кількості NO як з екзогенних, так і ендогенних попередників, виникає можливість утворення в реакції з супероксид-

ним аніон-радикалом (O_2^-) високоактивного пероксинітриту (ONOO^-). Ця взаємодія є найшвидшою з усіх відомих біохімічних реакцій (константа швидкості до-

рівнює $3,7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Пероксинітрит легко проникає через ліпідний бішар мембрани і має значно більше хімічних мішеней, ніж NO [14].

Проте у низьких концентраціях ONOO^- виявляє регуляторні та протекторні властивості щодо функцій ферментних систем і виживання клітин, забезпечує процес сигнальної трансдукції. Тому утворення ONOO^- може частково нейтралізувати пряму токсич-

ну дію NO або O_2^- . Високі концентрації ONOO^- є дуже токсичними, пригнічують мітохондріальні ферментні комплекси, викликають фрагментування білків через нітрування амінокислот і ліпопротеїнів [10,14]. Відома здатність ONOO^- позитивно впливати на утво-

рення O_2^- , підтримуючи тим самим своєрідне «поро-

чне» коло.

Метою роботи було вивчення впливу скэвенджерів пероксинітриту (L-селенометіоніну та сечової кислоти)

на рівень продукції O_2^- , стан пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного (АО) захисту в тканинах піднижньощелепних СЗ щурів та їх білоксинтезуючої функції за умов сукупної токсичної дії нітрату та фториду натрію.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 20 білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г у таких серіях дослідів: у першій - необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – після сукупного введення нітрату натрію (200 мг/кг маси тіла) та фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) протягом 30 днів, у третій та четвертій – протягом періоду 30-денної сукупної токсичної дії нітрату та фториду натрію вводилися

скевенджери пероксинітриту – відповідно L-селенометіонін і сечова кислота.

L-селенометіонін (виробництва "Sigma-Aldrich, Inc.", США) вводили внутрішньоочередово в дозі 3 мг/кг [12] 2 рази на тиждень, сечову кислоту (виробництва "Sigma Chemical Co", США) вводили внутрішньоочередово в дозі 250 мг/кг [11] 3 рази на тиждень протягом періоду 30-денної сукупної токсичної дії нітрату та фториду натрію. Евтаназію тварин виконували методом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом.

Утворення $\cdot\text{O}_2^-$ у гомогенаті СЗ оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з індукторами у вигляді НАДН і НАДФН [8]. Рівень ПОЛ у тканинах оцінювали по утворенню в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації [5]. Активність АО системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторогодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю АО ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази [5].

Активність у тканинах СЗ α -амілази визначали за методикою Караєва за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпропетровськ) [3].

Отримані дані піддавали статистичній обробці. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм "Microsoft Excel 2007" та "StatisticSoft 6.0".

Результати та їх обговорення

Введення білим щурам L-селенометіоніну за умов бінарної 30-денної інтоксикації нітратом і фторидом натрію достовірно знижує вироблення у тканинах СЗ $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальним та мітохондріальним ЕТЛ (див. табл) – відповідно на 23.9% ($p<0,001$) та 14.9% ($p<0,01$) у порівнянні з даними другої серії. При введенні сечової кислоти також достовірно знижується продукція у тканинах СЗ $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальним та мітохондріальним ЕТЛ – відповідно на 11.9% ($p<0,01$) та 19.7% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця

Вплив скевенджерів пероксинітриту на зміни показників вільнорадикального окиснення, антиоксидантного захисту у тканинах піднижньощелепних слинних залоз щурів та їх секреторну функцію за умов надлишкового надходження нітрату та фториду натрію ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Сукупне введення нітрату та фториду натрію		
		Контроль	+ L-селенометіонін	+ сечова кислота
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/г × с				
мікросомальним ЕТЛ	15.86 ± 0.53	21.12 ± 0.34 *	16.07 ± 0.69 **	18.61 ± 0.55 */**
мітохондріальним ЕТЛ	14.08 ± 0.41	18.94 ± 0.32 *	16.12 ± 0.59 */**	15.21 ± 0.51 **
Концентрація ТБК-реактивів, мкмоль/г				
до інкубації	22.7 ± 0.4	35.8 ± 1.2 *	27.9 ± 1.4 */**	28.5 ± 1.3 */**
після інкубації	30.0 ± 1.2	50.1 ± 1.4 *	39.4 ± 2.08 */**	39.8 ± 1.77 */**
Приріст	7.3 ± 0.3	14.3 ± 0.4 *	11.5 ± 0.6 */**	11.3 ± 0.5 */**
СОД, од. акт.	0.22 ± 0.01	0.15 ± 0.01 *	0.20 ± 0.01 **	0.22 ± 0.01 **
Каталаза, мкат/г	2.89 ± 0.10	2.34 ± 0.07 *	2.72 ± 0.11 **	2.74 ± 0.13 **
α -Амілаза, мг/год × г	70.32 ± 1.97	60.11 ± 1.89 *	68.14 ± 2.00 **	68.74 ± 1.95 **

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів;
** – $p<0,05$ у порівнянні з даними другої серії.

Обмеження генерації $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальним та мітохондріальним ЕТЛ при дії скевенджерів пероксинітриту, вочевидь, відбиває здатність $\cdot\text{ONOO}^-$ порушувати у клітинах функціонування цих ланцюгів (інактивувати НАДН- та НАДФН-залежні оксидоредуктази, руйнувати FeS-кластери) [14]. У мітохондріях пероксинітрит окиснює цистеїнові та метіонінові залишки білків, інгібує комплекси I та II, аконітазу, АТФ-азу, Mn-СОД, креатинкіназу та глутатіонпероксидазу, знижує рівень відновленого глутатіону. Дисфункція мітохондріального ЕТЛ вважається провідним чинником гіперпродукції $\cdot\text{O}_2^-$ внутрішньою мембраною мітохондрій [13].

Введення тваринам L-селенометіоніну на тлі хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію досто-

вірно зменшує концентрацію ТБК-реактивів до інкубації – на 22.1% ($p<0,01$), після інкубації – на 21.4% ($p<0,01$). Величина приросту концентрації ТБК-активних сполук за час півторогодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – знижується на 19.6% ($p<0,01$) у порівнянні з даними другої серії.

Введення щурам сечової кислоти на тлі хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію також достовірно зменшує концентрацію ТБК-реактивів до інкубації – на 20.4% ($p<0,01$), після інкубації – на 20.6% ($p<0,001$). Величина приросту концентрації ТБК-активних сполук за час півторогодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – знижується на 21.0% ($p<0,001$) у порівнянні з даними другої серії.

Достовірне зменшення приросту концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації при введенні скевенджерів пероксинітриту вказує на їхню здатність обме-

жувати зниження АО потенціалу в тканинах СЗ при дії токсикантів, що також підтверджується достовірним підвищенням у тканинах активності АО ферментів. Так, при введенні тваринам L-селенометіоніну на тлі хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію активність СОД і каталази збільшується – відповідно на 33.3% ($p < 0,01$) та 16.2% ($p < 0,02$) у порівнянні з даними другої серії. При введенні сечової кислоти активність зазначених ферментів – збільшується відповідно на 46.7% ($p < 0,001$) та 17.1% ($p < 0,02$) у порівнянні з даними другої серії.

Отримані результати вказують на той факт, що зростання у тканинах СЗ активності ПОЛ та зниження АО потенціалу на тлі бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію є пероксинітрит-залежними процесами. 'ONOO' окиснює NH- і SH-групи білків, ДНК, призводить до інактивації ферментів (α_1 -інгібітора протеїназ, тканинного інгібітора металопроїназ тощо), пригнічує активність Cu-Zn-СОД і Mn-СОД шляхом нітрування її тирозинового залишку, а також через зв'язування з міддю і зміною її валентності [14,15]. У присутності 'ONOO' утворюються тілні радикали глутатіону, в результаті чого останній перетворюється з антиоксиданту в прооксидант, який ініціює процеси ПОЛ.

Введення тваринам L-селенометіоніну та сечової кислоти на тлі бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію підвищує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність α -амілази – відповідно на 13.4% ($p < 0,02$) та 14.4% ($p < 0,01$) у порівнянні з даними другої серії.

З урахуванням результатів власних досліджень та даних літератури [10,14,15] можна відмітити такі основні механізми патогенної дії 'ONOO': 1) порушення фосфорилування тирозину; 2) ініціація вільнорадикальних реакцій; 3) зниження антиоксидантного потенціалу; 4) порушення функції важливих білкових молекул; 5) посилення протеолізу білків.

Висновки

1. Порушення вільнорадикальних процесів у тканинах піднижньощелепних слинних залоз на тлі бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію є пероксинітрит-залежними.

2. Введення щурам скевенджерів пероксинітриту (L-селенометіоніну та сечової кислоти) за цих умов знижує продукцію супероксидного аніон-радикала (мікросомальним і мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами) та активність пероксидного окиснення ліпідів, покращує стан антиоксидантного захисту та секреторної функції слинних залоз.

Summary

EFFECT OF PEROXYNITRITE SCAVENGERS ON OXIDATIVE PROCESSES IN SALIVARY GLAND TISSUES OF WHITE RATS UNDER SODIUM NITRATE AND FLUORIDE COMBINED EXCESSIVE INTAKE

O.A. Stasiuk, V.O. Kostenko

Key words: sodium nitrate intoxication, sodium fluoride intoxication, nitric oxide, peroxynitrite, salivary glands, superoxide anion radical, lipid peroxidation, antioxidant system.

The role of peroxynitrite scavenger on the level of production of superoxide anion radical, the state of lipid peroxidation, antioxidant defense in submandibular salivary gland tissue under combined sodium nitrate and fluoride excessive intake have been studied in the experiment on 20 white rats.

The study was performed in the series of experiments: the first - intact animals (control series), the second - after combined administration of sodium nitrite (200 mg/kg body weight) and sodium fluoride (10 mg/kg) for 30 days, in the third and fourth - introduction of peroxynitrite scavenger - L-selenomethionine (3 mg/kg, 1 time per week), and uric acid (250 mg/kg 3 times per week) during the 30-day cumulative toxic effect of sodium nitrate and sodium fluoride. We have

Література

1. Белікова І.В. Стан питної води та її вплив на виникнення захворювань порожнини рота у населення Полтавської області / І.В. Белікова // Вісн. соц. гіг. та орг. охор. здор. – 2004. – №4. – С. 33-36.
2. Геворкян М.Л. Строение активного центра печеночной аргиназы млекопитающих. II. Субстраты и ингибиторы / М.Л. Геворкян, М.А. Давтян // Биол. журн. Армении. – 2008. – №4. – С. 16-26.
3. Лабораторные методы исследования в клинике / [Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотиницкая Р.П. и др.] – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
4. Лаврушенко Л.Ф. Довкілля, токсиканти у харчових продуктах та стан окисних процесів в організмі / Л.Ф. Лаврушенко // Експрес – новини: наука, техніка, виробництво. – 1998. – № 9-10. – С. 13 -14.
5. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В.Беркало, О.В.Бобович, Н.О.Боброва та ін.]; За ред. І.П.Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
6. Реутов В.П. Цикл оксида азота как механизм стабилизации содержания NO и продуктов его превращения в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, А.И. Гоженко [и др.] // Акт. пробл. трансп. мед. – 2008. – № 1 (11). – С. 22-28.
7. Стасюк О.А. Зміни окиснювального метаболізму у слинних залозах щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О.А. Стасюк, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2012. – Т. 12, №4. – С.197-171.
8. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, №1. – С.96-97.
9. Björne H.H. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness / H.H. Björne, J. Petersson, M. Phillipson [et al.] // J Clin Invest. – 2004. – V.113, №1. – P. 106-114.
10. Calcerrada P. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: molecular targets, cellular responses and therapeutic implications / P. Calcerrada, G. Peluffo, R. Radi // Curr Pharm Des. – 2011. – V.17, №35. – P. 3905-3932.
11. Durante P. Effect of uric acid on nephrotoxicity induced by mercuric chloride in rats // P. Durante, F. Romero, M. Pérez [et al.] // Toxicol Ind Health. – 2010. – V.26, №3. – P. 163-174.
12. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2003. – V.284, №6. – P. H2053-H2060.
13. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species / M.P. Murphy // Biochem J. – 2009. – V. 417. – P. 1-13.
14. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // Nature Reviews. – 2007. – V. 6. – P. 662-680.
15. Zhang X. Peroxynitrite mediated oxidation damage and cytotoxicity in biological systems / X. Zhang, D. Li // Life Sci J. – 2006. – V.3, № 3. – P. 41-44.

found that L-selenomethionine and uric acid introduction in these conditions results in the decrease of superoxide anion radical production (by microsomal and mitochondrial electron transport chain) and lipid peroxidation activity, improving the antioxidant defence and protein synthesis in salivary glands. It has been concluded that free-radical processes disturbances in submandibular salivary gland tissues under binary chronic intoxication with sodium nitrate and sodium fluoride are peroxynitrite-dependent.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 15.11.2012 р.

© Цубер В. Ю., Тарасенко Л.М.
УДК: 616.31-008.8-055:613.86

ЗМІНА ВМІСТУ ТУМОРНЕКРОТИЧНОГО ФАКТОРУ- α В РОТОВІЙ РІДИНІ МОЛОДИХ ЛЮДЕЙ ЗА УМОВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАТІ

Цубер В. Ю., Тарасенко Л.М.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Туморнекротичний фактор- α (ТНФ- α) является полифункциональным провоспалительных цитокинов, который продуцируется в значительном количестве в ответ на потенциально вредные факторы. Исследовано влияние психоемоционального напряжения на содержание туморнекротичного фактора- α в ротовой жидкости молодых людей и возможность использования его содержания в ротовой жидкости как потенциального биомаркера стрессорные реакции. Прослежена взаимосвязь изменения содержания кортизола и туморнекротичного фактора- α в ротовой жидкости. Выявлено достоверное отрицательная корреляционная связь изменения содержания кортизола в ротовой жидкости с изменением концентрации ТНФ- α . Исследованы различия изменения содержания туморнекротичного фактора- α в ротовой жидкости в условиях психоемоционального стресса. Выявлено, что корреляционные связи содержания ТНФ- α с концентрацией кортизола наблюдались только у женщин.

Ключевые слова: психоемоциональный стресс, пол, ротовая жидкость, туморнекротичний фактор- α .

Туморнекротичний фактор α (ТНФ- α) – позаклітинний білок, поліфункціональний прозапальний цитокін, який синтезується переважно моноцитами, макрофагами і адипоцитами. ТНФ- α відіграє роль в регуляції метаболізму імунних клітин, здатний викликати апоптоз, пригнічує утворення пухлин та реплікацію вірусів, індукує продукцію прозапальних цитокінів, простагландинів, активних форм кисню, оксиду азоту та матричних протеїназ [6]. ТНФ- α модулює широкий спектр прозапальних реакцій в організмі. В низьких концентраціях він відіграє важливу захисну роль, стимулюючи хемотаксис та антимікробну активність нейтрофілів, макрофагів та еозинофілів. Однак при хронічних захворюваннях концентрація ТНФ- α може значно підвищуватися, призводячи до кахексії, апоптозу, некрозу [7]. Вільна форма ТНФ- α відіграє важливу роль в регуляції енергетичного метаболізму. Діючи на адипоцити, цей білок викликає мобілізацію триацилгліцеролів та пригнічення дії інсуліну [10]. В адипоцитах він регулює експресію декількох генів та модулює секрецію вільних жирних кислот та лептину, впливаючи таким чином на системний баланс енергії. ТНФ- α продукується у значній кількості у відповідь на бактеріальну інвазію, але будь-які потенційно шкідливі фізичні, хімічні, імунні та інші агенти можуть значно збільшувати синтез та секрецію ТНФ- α [11].

Мета дослідження – визначити гендерні відмінності зміни вмісту туморнекротичного фактору- α в ротовій рідині молодих людей за умов психоемоційного стресу.

Матеріал і методи дослідження

Як модель гострого психоемоційного напруження нами була використана природня соціально значима у житті молодої людини ситуація складання важливого іспиту. Обстежено 22 (9 чоловіків, 13 жінок) молодих людей (студенти ВНЗ) віком 18-22 роки, які не палили, мали відмінний стан зубів, добру гігієну порожнини рота, не вживали ніяких медичних препаратів та не відчували симптомів застуди на час дослідження. Всі

обстежені підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Контрольну групу склали молоді люди у стані відносного спокою (за два тижні до складання іспиту); дослідну групу склали ті ж молоді люди, обстеження яких проводили повторно безпосередньо перед складанням екзамену, тобто у стані психоемоційного напруження. Обстеження проводили у строго визначений час вранці, щоб уникнути впливу циркадних ритмів на досліджувані показники. Нестимульовану ротову рідину збирали натщесерце. Для оцінки ситуативної та особистісної тривожності використовували опитувальник Спілбергера-Ханіна, який заповнювали в контрольній та дослідній групі безпосередньо перед забором ротової рідини [2]. Для оцінки інтенсивності стресорної реакції у обстежених осіб визначали вміст кортизолу у нестимульованій ротовій рідині методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-набору фірми Алкор-Біо (Росія). Для оцінки активації синтезу прозапальних цитокінів визначали вміст ТНФ- α в ротовій рідині методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-набору виробництва фірми «Вектор Бест», Росія.

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows. Перед аналізом дані було перевірено на наявність нормального розподілу за допомогою тесту Колмогорова-Смирнова. Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за допомогою t критерію Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції r Пірсона. Для аналізу гендерних відмінностей обстежених осіб використовували U-тест Манна-Уїтні [8]. Критичний рівень значимості у дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати та їх обговорення

Туморнекротичний фактор- α (ТНФ- α) є важливим компонентом системи неспецифічної резистентності до інфекційних захворювань. Він активує макрофаги,

нейтрофіли, збільшуючи їх фагоцитарні властивості, та стимулює продукцію нейтрофілами активних форм кисню.

Доведено, що ТНФ- α відіграє першорядну роль у розвитку системного запалення у відповідь на патогенні чинники шляхом ініціації синтезу прозапальних цитокінів за каскадним механізмом: ТНФ- $\alpha \rightarrow$ IL-1 $\beta \rightarrow$ IL-6 [1]. Глюкокортикоїди інгібують вивільнення ТНФ- α [5], тому метою нашого дослідження було визначити вплив психоемоційного стресу, який супроводжується збільшенням секреції кортизолу, на зміну вмісту ТНФ- α в ротовій рідині молодих людей.

Нами встановлено, що концентрація кортизолу в ротовій рідині молодих людей достовірно збільшилась під впливом психоемоційного стресу. В стані відносного спокою концентрація кортизолу складала $15,37 \pm 6,47$ нмоль/л, за умов психоемоційного стресу концентрація кортизолу підвищилась на 47,4 % і складала $22,65 \pm 15,10$ нмоль/л ($p < 0,05$). Ситуативна

тривожність (СТ) у даній групі під впливом психоемоційного напруження достовірно зросла на 46,56 % порівняно з вихідним рівнем ($СТ_{\text{спокій}} = 39,95 \pm 7,65$; $СТ_{\text{стрес}} = 58,55 \pm 14,12$; $p < 0,001$). При цьому особистісна тривожність (ОТ) також достовірно зросла на 7,52 % ($ОТ_{\text{спокій}} = 38,68 \pm 8,21$; $ОТ_{\text{стрес}} = 41,59 \pm 10,53$; $p < 0,05$).

За умов психоемоційного стресу нами спостерігалось збільшення на 60,22% вмісту ТНФ- α в ротовій рідині молодих людей порівняно з контролем (табл.1), яке, однак, не було статистично достовірним із-за широкого діапазону коливань отриманих показників вмісту ТНФ- α . При цьому не було виявлено достовірних відмінностей між вмістом ТНФ- α в ротовій рідині чоловіків та жінок як за умов відносного спокою (табл. 1), так і під дією психоемоційного стресу, де різниця між чоловіками та жінками була більш виражена (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст туморнекротичного фактору- α в ротовій рідині молодих людей у стані відносного спокою та під впливом психоемоційного стресу та гендерні відмінності його вмісту ($M \pm m$)

Показник	Стан спокою	Стрес	P
Загалом			
ТНФ- α , пг/мл	$2,423 \pm 2,745$	$3,882 \pm 6,098$	0,315
Жінки			
ТНФ- α , пг/мл	$2,723 \pm 2,825$	$5,485 \pm 7,252$	0,236
Чоловіки			
ТНФ- α , пг/мл	$1,989 \pm 2,730$	$1,567 \pm 2,917$	0,742

Доведено, що підвищення вмісту цитокінів у плазмі крові відбувається не відразу при дії стресора, а через певний час [9]. Отже, не завжди можна реєструвати збільшення концентрації цитокінів в біологічних пробах, отриманих під час дії стресорного фактора або відразу після її припинення. Також можна припустити, що зміни концентрації ТНФ- α складно враховувати із-за чіткої послідовності змін цитокінового профілю та гальмівного впливу інтерлейкіну-6 на продукцію ТНФ- α [4], що обмежує використання ТНФ- α як маркера стресорної реакції, але це питання потребує подальших досліджень. Отже, за нашими даними, ТНФ- α ротової рідини не може претендувати на роль біомаркера стресорної реакції на початковій стадії її розвитку, на відміну від кортизолу ротової рідини. Нами обґрунтована роль зміни вмісту кортизолу в ротовій рідині як маркера стресорної відповіді в залежності від типу реагування організму [3].

При дослідженні взаємозв'язків вмісту ТНФ- α в ротовій рідині обстежених молодих людей з об'єктивними показниками тривожності нами був виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок зміни вмісту кортизолу в ротовій рідині (Δ Кортизол) зі зміною концентрації ТНФ- α (Δ ТНФ- α) ($r = -0,545$; $p=0,036$). Таким чином, у осіб з більш вираженим зростанням вмісту головного стресреалізуючого гормону

кортизолу спостерігалось гальмування зростання вмісту ТНФ- α , що співпадає з відомостями про те, що глюкокортикоїди гальмують секрецію ТНФ- α [5].

При дослідженні гендерних відмінностей кореляційних зв'язків вмісту ТНФ- α в ротовій рідині з показниками тривожності обстежених молодих людей нами було виявлено достовірні добре виражені негативні кореляційні зв'язки змін вмісту ТНФ- α (Δ ТНФ- α ; % Δ ТНФ- α) з показниками тривожності та концентрації кортизолу, що спостерігалися лише у осіб жіночої статі та були відсутні у чоловіків (табл. 2). У осіб з більш вираженими змінами показників ситуативної тривожності (Δ СТ) та концентрації кортизолу (Δ Кортизол) між станом спокою та станом стресу спостерігалась згладжена, атенуйована зміна вмісту ТНФ- α (Δ ТНФ- α) в ротовій рідині між цими станами (табл. 2). Аналогічний зв'язок відносної зміни вмісту ТНФ- α в ротовій рідині (% Δ ТНФ- α) був виявлений для всіх видів тривожності в обох досліджуваних станах ($СТ_{\text{спокій}}$; $СТ_{\text{стрес}}$; $ОТ_{\text{спокій}}$; $ОТ_{\text{стрес}}$), тобто жінки з підвищеною як ситуативною, так і особистісною тривожністю були схильні до меншого зростання вмісту ТНФ- α в ротовій рідині під дією психоемоційного стресу (табл. 2).

Таблиця 2

Взаємозв'язок змін вмісту ТНФ-α в ротовій рідині з показниками ситуативної та особистісної тривожності у стані відносного спокою та під дією психоемоційного стресу та зі зміною вмісту кортизолу у осіб жіночої статі.

Зміна ТНФ-α Показники тривожності, вмісту кортизолу в ротовій рідині	Δ ТНФ-α (ТНФ-α _{стрес} – ТНФ-α _{спокої}), пг/мл	%Δ ТНФ-α $\frac{ТНФ-α_{стрес} - ТНФ-α_{спокої}}{ТНФ-α_{спокої}} \times 100\%$
СТ _{спокої}	-0,701**	-0,728*
СТ _{стрес}		-0,791*
Δ СТ (СТ _{стрес} – СТ _{спокої})		-0,556 (p=0,120)
ОТ _{спокої}		-0,735*
ОТ _{стрес}	-0,515 (p=0,073)	-0,816**
Δ Кортизол (КОРТ _{стрес} – КОРТ _{спокої}), нмоль/л		-0,728*

Отже, підвищення тривожності та паралельне їй зростання концентрації глюкокортикоїдів в ротовій рідині осіб жіночої статі супроводжується атенуацією зміни вмісту ТНФ-α в ротовій рідині.

Перспективи подальших досліджень

Необхідні подальші дослідження гендерних особливостей зміни цитокінового профілю з метою встановлення факторів, що її модулюють.

Література

- Бурмистр Г.Р. Наглядная иммунология. Пер. с англ. / Г.Р. Бурмистр, А. Пецутто. – М.: БИНОМ, 2007. – 320 с.
- Елисеев О.П. Практикум по психологии личности / О.П. Елисеев. – СПб.: Питер, 2006. – 512 с.
- Патент України 70331, МПК G01N 33/00. Спосіб визначення типу реагування організму на психоемоційний стрес / Цубер В.Ю., Тарасенко Л.М.; заявник та патентовласник автори; заявл. 04.11.2011; опубл. 11.06.2012. – Бюл.№11.
- Цитокінпродукуюча властивість мононуклеарних клітин та рівень ендотеліну в плазмі крові хворих на стабільну стенокардію напруження / Т.І. Гавриленко, В.А. Слободський, О.М. Корніліна [та ін.] // Український медичний часопис. – 2012. – № 2 (88). – С. 134 – 136.
- Якобисяк М. Імунологія (переклад з польської за редакцією проф. В.В. Чоп'як) / М. Якобисяк. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2004. – 672 с.
- Beutler B. TNF, immunity and inflammatory disease: lessons of the past decade / B. Beutler // Journal of Investigative Medicine. – 1995. – Vol.43. – P. 227– 235.
- Cachexia and graft-vs.-host-disease-type skin changes in keratin promotor-driven TNF α transgenic mice / J. Cheng, K. Turksen, Q.C. Yu [et al] // Genes and Development. – 1992. – Vol. 6. – P. 1444 – 1456.
- De Muth J.E. Basic statistics and pharmaceutical statistical applications / James E. De Muth. – New York – Basel: Marcel Dekker, Inc., 1999. – 596 p.
- Febbraio M.A. Muscle-derived interleukin-6: Mechanism for activation and possible biological roles / M.A. Febbraio, B.K. Pedersen // FASEB Journal. – 2002. – Vol. 16. – P. 1335 – 1347.
- Grunfeld C. The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines / C. Grunfeld, K.R. Feingold // Biotherapy. – 1991. – Vol. 3. № 2. – P. 143 – 158.
- Russo C. TNF-α as a promising therapeutic target in chronic asthma: a lesson from rheumatoid arthritis / C. Russo, R. Polosa // Clinical Science. – 2005. – Vol.109. – P. 135 – 142.

Summary

GENDER-DEPENDENT CHANGE OF CONCENTRATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-α IN WHOLE SALIVA OF YOUNG PEOPLE AT PSYCHOEMOTIONAL STRESS

V. Tsuber, L. Tarasenko

Key words: psychoemotional stress, gender, whole saliva, tumor necrosis factor-α.

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) is a multifunctional proinflammatory cytokine which is copiously produced in response to potentially noxious factors. The impact of psychoemotional stress on concentration of tumor necrosis factor-α in whole saliva of young people and application of its measurement in whole saliva as a potential biomarker of stress reaction was investigated. A relationship of changes in cortisol and tumor necrosis factor-α concentrations in whole saliva was studied. The study demonstrates a significant negative correlation of the changes of cortisol and TNF-α concentrations in whole saliva. Gender differences of TNF-α concentration in whole saliva at psychoemotional stress were investigated. It was found that correlations of cortisol and TNF-α concentrations were only observed in women.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 18.10.2012 р.

© Фролов А. К., Литвиненко Р. А., Копейка В. В., Федотов Е. Р.
УДК : 577. 27 : [615. 811 : 612. 112]

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ БЛАСТНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ДОНОРОВ СТИМУЛИРОВАННОЙ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЛЕКТИНАМИ И АНТИГЕНАМИ КОЛЬЦЕЦОВ

Фролов А. К., Литвиненко Р. А., Копейка В. В., Федотов Е. Р.

Государственное высшее учебное заведение «Запорожский национальный университет», г. Запорожье

Широкий спектр терапевтических эффектов гирудотерапии в основном обусловляется її імунотропним механізмом, однак конкретні його механізми мало вивчені і зовсім відсутні у доступній літературі відомості про вплив на імунітет антигенних відмінностей трьох підвидів медичної п'явки (аптечної, української, східної), тому вивчення даної проблеми стало метою нашого дослідження. Обстежено 23 жінки репродуктивного віку, інтактних щодо контакту з біологічно активними речовинами медичної п'явки. З венозної крові донорів отримували на градієнті щільності суспензію лімфоцитів, яку культивували 24 години із додаванням рослинних лектинів (ФГА, КонА) і антигенів з соляного екстракту трьох підвидів медичної п'явки (аптечної, української, східної), а також червоного каліфорнійського хробака, як загального представника класу кільчастих хробаків. Показники в ФГА і КонА стимульованих культурах клітин відповідали їх фізіологічним значенням потенційної проліферативної активності лімфоцитів, що свідчить про кондиційність умов культивування лімфоцитів. Рівні РБТЛ у культурах, стимульованих антигенами медичної п'явки, перевищували спонтанний рівень у 2 - 4 рази при максимумі в культурах із антигенами східного різновиду. У культурах із антигенами червоного каліфорнійського хробака РБТЛ перевищувала спонтанні рівні в 9 разів, наближаючись до такої, при поліклональній активації рослинними лектинами. В спонтанних і лектин-стимульованих культурах, в основному, спостерігалися продуктивні стадії імунотропізму, тоді як в культурах стимульованих антигенами медичної п'явки, часто зустрічались апоптотичні реакції, а в культурах із антигенами червоного каліфорнійського хробака - окрім апоптозу перевищував некроз. Збільшення показників РБТЛ в культурах, стимульованих антигенами кільцеців, імовірно, пов'язані з наявністю в їх біополімерах гетерофільних патернів.

Ключові слова: реакція бластної трансформації лімфоцитів, гирудотерапія, медична п'явка, антигени, лектини

Введение

Гирудотерапия (ГТ), как раздел современной традиционной медицины относящийся к биомедицине, сегодня всё больше пользуется успехом среди населения благодаря её лечебно-профилактической эффективности, особенно при хронических формах заболеваний, а также при коррекции геронтологических признаков. Благодаря возбуждению рефлексогенных зон, медицинская пиявка (МП) благоприятно влияет на физиологию соответствующей метамерной области тела и, соответственно, всего организма [3, 4]. При питании МП впрыскивает в сосательную лакуну вместе с секретом слюнных желез более 100 компонентов биологически активных веществ (БАВ) в оптимальной дозировке и последовательности, наконец дозированное кровоизвлечение способствует перераспределению циркулирующей крови и лимфы, что в совокупности обеспечивает общее гомеостатическое действие [1, 6].

Среди широкого спектра терапевтического действия ГТ, особое место занимает иммунотропный эффект [6], однако конкретные механизмы этого действия БАВ МП мало изучены и уж совсем отсутствуют в доступной литературе сведения о влиянии на иммунитет антигенных (АГ) различий трёх подвидов МП: аптечной украинской, восточной. Данные проблемы явились целью нашего исследования.

Материалы и методы исследования

Материалом служила венозная кровь 23 женщин доноров, средний возраст – 29,3 ± 1,99 лет, стабили-

зированная раствором кристаллического гепарина (2 мг/мл, Софа). Все женщины раньше не получали ГТ, укусы диких форм МП при купании в природных водах отрицают.

Из сепарированных на фиколл-верографиновом градиенте плотности ($\rho = 1,078$) лимфоцитов, после их отмывания забуференным раствором Хенкса, получали суспензию в концентрации 2 млн/мл на питательной смеси состава: среда 199, 10 % эмбриональная телячья сыворотка, 0,3 мг/мл глутамин, 0,15 мг/мл аспарагин, 20 мМ Хепес, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 100 мкг/мл канамицина. Суспензию вносили по 250 мкл в микропробирки эппендорф, которые распределяли на следующие виды культур клеток: 1 – контроль, 2 – добавление 20 мкг/мл ФГА-М (Болгария), 3 – добавление 20 мкг/мл КонА (Германия), 4, 5, 6, 7 – добавление АГ 125 мкг/мл в пересчете на белок из солевой вытяжки трёх подвидов МП (аптечной, украинской, восточной) и красного каліфорнійського червя (ККЧ). Использование АГ ККЧ в РБТЛ проведено для их филогенетического сравнения с АГ МП, так как они относятся к одному типу кольчатых червей. Митогенную стимуляцию лимфоцитов известными растительными лектинами ФГА и КонА осуществляли с целью определения кондиционности условий культивирования клеток, а также для изучения потенциальной пролиферативной активности основных популяций Т-лимфоцитов. Известно, что ФГА является митогеном для всех Т-лимфоцитов, тогда как КонА – преимущественно для CD8-субпопуляции [12]. Водный экстракт из тел кольцецов

получали согласно методу [14] в нашей модификации, заключающейся в использовании живых червей, отмывании от остатков крови крупного рогатого скота от предыдущего кормления, использование в качестве разводящего раствора клеточной суспензии и детрита забуференного физраствора, pH 7,2. Лимфоциты культивировали 24 часа при температуре 37 °C. После чего делали мазки, фиксировали метанолом, окрашивали по Паппенгейму с дифференцировкой в подкисленной соляной кислотой дистиллированной воде. РБТЛ оценивали морфологическим методом, при анализе 400 – 600 лимфоцитов начиная от начала «щеточки» до основания препарата, учитывали малые, средние, большие бласты и лимфоциты с признаками апоптоза. Статистическую обработку проводили с использованием программы «STATISTICA 6.0».

Результаты и их обсуждение

Индивидуальные и средние показатели РБТЛ представлены в таблице, анализ которых показывает, что количество спонтанно стимулированных лимфоцитов в контрольных культурах в среднем составляло $5,5 \pm 0,47$ % с индивидуальными колебаниями от 2,5 до 10,0 %, что обусловлено разным состоянием исходной активации лимфоцитов, которые завершали её в условиях культуры. Эти результаты несколько превышают данные литературы, 1 – 4 % [13], что мо-

жет происходить за счёт напряжения иммунитета в техногенном регионе Запорожья. Уровень РБТЛ на ФГА и Кона совпадали с данными других исследователей [11, 12] и равнялись в среднем $67,6 \pm 2,35$ % и $38,8 \pm 2,10$ %, соответственно, что свидетельствует о кондиционности условий культивирования лимфоцитов.

Повышенная реакция лимфоцитов на АГ колец также указывает на их поликлональную активацию, как и на растительные лектины. Так, РБТЛ на АГ аптечного и украинского подвидов МП составляла в среднем $10,9 \pm 0,90$ % и $12,0 \pm 1,18$ %, $p < 0,05$, по сравнению с контролем. При этом индивидуальные колебания показателей РБТЛ для украинской МП были выше (6,2 – 31,5 %), чем у аптечного подвида (2,5 – 20,5 %), $p < 0,05$, при анализе χ -квадрата. Стимуляция лимфоцитов АГ восточного подвида МП была ещё выше и в среднем составляла $15,8 \pm 1,89$ %, при вариациях от 6,0 % до 45,0 % ($p < 0,05$, от контроля и культур лимфоцитов, стимулированных АГ аптечного и украинского подвида). РБТЛ на АГ ККЧ приближалась к таковой для растительных поликлональных митогенов ФГА и Кона и в среднем составляла $49,4 \pm 4,38$ %, при индивидуальных колебаниях от 23,8 до 82,0 % и более, что контрастно их отличает от показателей РБТЛ на АГ МП.

Таблица
Показатели реакции бластной трансформации лимфоцитов крови доноров на растительные лектины и антигены колец

Доноры, № п/п	Уровни стимуляции лимфоцитов, %						
	СП	ФГА	Кона	АП	УКР	ВОСТ	ККЧ
1	4,5	59,0	41,0	11,5 / 2,0	6,5 / 1,0	14,5 / 2,0	81,0
2	7,0	59,0	26,0	11,8 / 3,0	18,5 / 2,0	23,5 / 3,0	31,0
3	6,0	78,0	32,0	17,0 / 3,0	13,3 / 3,0	17,5 / 3,0	66,5
4	3,5	59,0	33,0	6,5 / 1,0	7,2 / 1,0	8,5 / 2,0	37,2
5	4,0	77,0	42,0	16,5 / 0,5	10,5 / 2,0	13,0 / 3,0	31,0
6	6,0	51,5	36,0	2,7 / 0,5	14,0 / 4,0	18,0 / 5,0	26,0
7	8,0	79,0	41,0	10,0 / 2,0	12,5 / 2,0	14,0 / 2,0	47,5
8	4,0	73,0	41,0	12,0 / 4,0	10,7 / 0,5	15,8 / 4,0	65,0
9	6,4	71,0	55,0	20,5 / 5,0	9,7 / 1,0	33,0 / 3,0	31,0
10	10,0	69,0	37,0	13,6 / 2,0	10,7 / 2,0	16,0 / 3,0	25,0
11	8,0	70,0	44,0	6,8 / 2,0	9,0 / 2,0	45,0 / 1,0	48,0
12	2,8	82,0	55,0	8,6 / 3,0	31,5 / 5,0	11,7 / 2,0	39,0
13	1,6	76,0	49,0	5,0 / 0,5	10,0 / 1,5	11,3 / 2,5	39,0
14	6,0	57,0	29,5	15,5 / 3,0	7,0 / 2,0	12,3 / 3,0	78,5
15	3,5	74,5	52	6,1 / 1,0	6,2 / 2,0	10,5 / 3,0	82,0
16	7,5	85,0	35,0	12,5 / 2,0	13,5 / 2,0	15,0 / 4,0	80,0
17	8,2	60,0	24,0	11,0 / 3,0	12,5 / 2,0	15,0 / 4,0	70,0
18	2,5	46,5	55,0	7,8 / 0,5	12,8 / 1,0	10,7 / 2,0	41,5
19	7,5	64,0	26,0	12,0 / 2,0	18,5 / 3,0	21,5 / 3,0	40,0
20	5,8	51,0	33,0	12,5 / 0,5	8,8 / 2,0	6,2 / 0,5	23,8
21	6,0	66,0	27,0	11,0 / 1,0	7,0 / 1,0	6,0 / 0,5	33,5
22	3,0	81,0	42,0	10,0 / 2,0	14,0 / 2,0	8,5 / 1,0	71,0
X	5,5± 0,47	67,6± 2,35	38,8± 2,10	10,9±0,90/ 1,9±0,26	12,0±1,18/ 2,0±0,22	15,8±1,89/ 2,5±0,25	49,4± 4,38

Примечание: условные обозначения, сокращения: СП – спонтанная РБТЛ (контроль), РБТЛ с лектинами ФГА, Кона, с антигенами медицинской пиявки аптечной (АП), украинской (УКР), восточной (ВОСТ) эоформ, красным калифорнийским червем (ККЧ); в числителе – общее количество бласттрансформированных лимфоцитов в культуре клеток; в знаменателе – в том числе с признаками апоптоза, число некротических клеток в таблице отдельно не приведено.

Нами обнаружен факт, что РБТЛ в ФГА, Кона, а также в контроле, с одной стороны, и с АГ колец – с другой стороны, в культурах морфологически от-

личалась. В первых образцах стимулированных культур – наблюдались типичные бласты, которые свидетельствуют о продуктивном лимфогенезе. При стиму-

ляции АГ кольцецов бласты имели недостаточно развитую цитоплазму, снижение её базофильности, как результат недостаточности развития белок-синтетической системы, в частности гранулярного эндоплазматического ретикулаума. В культурах с АГ МП значительная часть (1 - 8 %) стимулированных лимфоцитов имела признаки апоптоза: цитопикноз, кариопикноз, вакуолизация ядра и цитоплазмы, дисперсию хроматина, цейозис плазмалеммы. В таких культурах также часто встречались некротические лимфоциты в виде диффузных эозинофильных пятен. Признаки апоптоза и некроза были особенно выражены в культурах лимфоцитов с АГ ККЧ, доля которых часто превышала большую часть стимулированных клеток.

Индукция непродуктивного иммуногенеза АГ кольцецов, приводящая к апоптозу и некрозу лимфоцитов в культуре клеток для АГ МП *in vivo* в условиях ГТ, вероятно, является ведущим механизмом противовоспалительного действия БАВ слюны МП. Последние в виде антиэнзимного комплекса выделены среди БАВ МП [6]. Вместе с тем увеличение уровня РБТЛ выше спонтанного под влиянием АГ кольцецов у доноров, в анамнезе которых отсутствует контакт с ними, можно объяснить наличием общих паттернов в структурной организации всех видов Царств органического Мира: Дробянок, Растений, Грибов, Животных. По современным представлениям структурные паттерны (образцы) [15] представляют собой филогенетически стабильные, ограниченные 8 – 10 – 20 номерами последовательности биополимеров (ФСПБ) сходные у представителей разных филогенетических групп. Видовое разнообразие молекулярных паттернов также ограничено – около 20 [5]. Их наличие описывается как гетерофильные АГ [7].

За различие молекулярных паттернов (ФСПБ) ответственны специфические паттернраспознающие рецепторы (ПРР), которые имеются на большинстве компартментов клетки (плазмолемные и цитоплазматические), преимущественно на клетках врождённого иммунитета и в меньшей мере на лимфоцитах [10]. ПРР находят и в других клетках различных тканей. В настоящее время подробно изучена роль взаимодействия ФСПБ-ПРР в противомикробной защите [17] и иммунопатологии по типу аллергии и аутоаллергии [2, 8]. Естественно эти взаимодействия принимают участие и в регуляции онтогенетического развития и регуляции, на что указывает факт первого открытия одного из видов ПРР – Toll-подобных рецепторов (TLR) при эмбриогенезе дрозофилы [16].

Обнаруженные количественные различия РБТЛ под влиянием АГ кольцецов можно объяснить следующим образом: ККЧ обитает в почве, питается гумусом, растительными остатками, насыщенными разнообразными микроорганизмами. От их защиты и для регуляции онтогенеза данный вид имеет разнообразие ФСПБ и ПРР к ним. Это обеспечивает их эффективную физиологическую и репаративную регенерацию, сильный иммунитет. Так, спонтанный уровень естественных гемагглютининов у дождевого червя (дикие формы ККЧ) составляет 1 : 1280 [9]. Поэтому АГ ККЧ в культуре проявляют сильный апоптотический и некротический эффект.

МП питается относительно стерильной пищей (тканевая жидкость, кровь) водных и наземных позво-

ночных, во всяком случае, у наземных позвоночных (в основном копытные пойменные животные, а также человек). Облигатный паразитизм МП филогенетически эволюционировал в мутуалистические взаимоотношения, в ходе которых патогенные ФСПБ отсекались отбором, что и привело к умеренной индукции апоптоза и противовоспалительного эффекта. Можно считать, что аптечная и украинская разновидности МП имеют более раннее филогенетическое взаимодействие с позвоночными, чем их восточная разновидность, на что указывает достоверно большие апоптотические и некротические эффекты АГ этой разновидности по сравнению с первой.

Таким образом, впервые обнаружено нами разнообразие РБТЛ в культурах с АГ кольцецов является основанием для экспериментального изучения иммунотропного действия БАВ кольцецов, клинического обоснования ГТ. Данное исследование может быть также использовано в видовых, популяционных и эколого-географических исследованиях.

Выводы

1. Показатели РБТЛ в ФГА- и КонА-стимулированных культурах клеток являлись $67,6 \pm 2,35\%$ и $38,8 \pm 2,10\%$, соответственно, что равнялись физиологическим значениям потенциальной пролиферативной активности лимфоцитов.
2. Уровни РБТЛ в культурах, стимулированных АГ аптечной, украинской, восточной разновидностей МП превышали их контрольные ($5,5 \pm 0,47\%$) и равнялись, соответственно, $10,9 \pm 0,90\%$, $12,0 \pm 1,18\%$, $15,8 \pm 1,89\%$ (при $p < 0,05$) с максимумом в культурах с АГ восточной разновидности МП, а в культурах с АГ ККЧ – в 9 раз ($49,4 \pm 4,38\%$), приближаясь к таковой для поликлональной активации лимфоцитов растительными лектинами.
3. В спонтанных и лектин-стимулированных культурах, в основном, наблюдались продуктивные стадии иммуногенеза, тогда как в АГ МП стимулированных культурах часто (0,5 – 5 %) встречались апоптотические реакции, а в культурах с АГ ККЧ – кроме апоптоза превосходил некроз.
4. Увеличение показателей РБТЛ в культурах, стимулированных АГ кольцецов, вероятно, связано с наличием в их биополимерах гетерофильных паттернов.

Литература

1. Баскова И. П. Гирудотерапия. Наука и практика / И. П. Баскова, Г. С. Исаханян. — М. : 2004. — 508 с.
2. Белоглазова К. В. Полиморфизм гена Toll-like рецептора 4 ASP299GLY у больных ревматоидным артритом / К. В. Белоглазова, О. А. Шлыкова, О. В. Измайлова, И. П. Кайдашев // Проблемы экології та медицини. — 2009. — Т. 13, № 5 – 6. — С. 15-17.
3. Береснев В. А. Метамерія / В. А. Береснев. — К. : СМП «АВЕРС», 2003. — 264 с.
4. Гирудотерапия : руководство / под ред. В. А. Савинова. — М. : ОАО «Издательство «Медицина», 2004. — 432 с.
5. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология : пособие / Г. Н. Дранник, А. Г. Дранник ; 5-е изд., доп. — К. : Полиграф-плюс, 2011. — 561 с.
6. Каменев О. Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии : руководство для врачей / О. Ю. Каменев, А. Ю. Барановский. — СПб. : ИГ «Весь», 2006. — 304 с.
7. Кантемирова М. Г. Состояние сердечно-сосудистой системы и спектр гетерофильных антикардиальных

- антител у детей с соматическими заболеваниями на фоне хламидийной и микоплазменной инфекций / М. Г. Кантемирова, Е. А. Дегтярева, Л. Г. Кузьменко и др. // Педиатрия. Журнал имени Г. Н. Сперанского : Научно-практический двухмесячный медицинский журнал. – 2008. – Т. 87, № 2. – С. 41-46.
8. Крючко Т. О. Генетичний поліморфізм Toll-подібного рецептора 4 у дітей з atopічною бронхіальною астмою / Т. О. Крючко, І. П. Кайдашев, Ю. О. Вовк та ін. // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2011. – № 5. – с. 52-54.
 9. Купер Э. Сравнительная иммунология / Э. Купер ; пер. с англ., под ред. Н. Г. Хруцова. – М. : Мир, 1980. – 422 с.
 10. Лебедев К. А. Иммунограмма в клинической практике / К. А. Лебедев. – М. : Наука. – 1990. – 388 с.
 11. Лебедев К. А. Новая иммунология – иммунология образаспознающих рецепторов / К. А. Лебедев, И. Д. Полякина // Известия РАН. Серия биологическая. – 2006. – № 5. – С. 517-529.
 12. Лимфоциты : Методы ; пер. с англ. / Под ред. Дж. Клауса. – М. : Мир, 1990. – 395 с.
 13. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – М. : Медицина, 2000. – 544 с.
 14. Спосіб отримання антипрокоагулянтного препарату з медичних п'явок. Патентотримач: Медична науково-упродажувальна колективна фірма «Біокон». Автори: Ніконов Г. І., Тітова О. О., Селезньов К. Г. (RU) Номер патента: 20240 А. Індекси МПК: 6 А61К35/62. Дата подання заявки: 06.09.94. Дата вступу в силу патента: 15.07.97.
 15. Хаитов Р. М. Роль паттернраспознающих рецепторов во врождённом и адаптивном иммунитете / Р. М. Хаитов, М. В. Пашенков, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 66-76.
 16. Lemaire B. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults / B. Lemaire, E. Nicolas, L. Michaut, et al. – Cell. – 1996. – Vol. 86. – P. 973-983.
 17. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response / R. Medzhitov. – Nature. – 2007. – Vol. 449. – P. 819-826.

Summary

REACTION'S OF LYMPHOCYTES' BLAST TRANSFORMATION PECULIARITIES OF DONORS' BLOOD STIMULATED BY PLANT LECTINS AND ANNELIDS' ANTIGENS

A.K. Frolov, R.A. Litvinenko, V.V. Kopeika, E.R. Fedotov

Key words: reaction's of lymphocytes' blast transformation, hirudotherapy, medicinal leech, antigens, lectins

A wide range of hirudotherapy's therapeutic effects mainly driven by its immunotropic mechanism, but its specific mechanisms are poorly understood, and data on the effect on the immunity of antigenic differences of the three subspecies of the medicinal leech (pharmacy, Ukrainian, eastern) are completely absent in the available literature, so the study of this problem has been the goal of our research. A total of 23 women of reproductive age have been examined, all intact for contact with biologically active substances of the medical leech. Lymphocytes were isolated by density gradient from donors' venous blood, which set out the cell culture with the addition of plant lectins (PGA, ConA) and antigens of the salt extract from the three subspecies of the medical leech (pharmaceutical, Ukrainian, eastern), as well as the California red worm, as a general representative of a class of annelid worms. Data in the PGA and ConA-stimulated cell cultures were equal to their physiological values of the potential proliferative activity of lymphocytes, indicating conditionality of lymphocytes' culture conditions. RBTL levels in cultures stimulated with of the medical leech's antigens, exceeded the spontaneous level by 2-4 times, with a maximum in cultures with antigens of the eastern species. In cultures with antigens of red Californian worm RBTL spontaneous levels exceed 9 times, approaching that of, for polyclonal activation of plant lectins. The productive stages of immunogenesis were mainly observed in spontaneous and lectin-stimulated cultures, whereas in cultures stimulated with antigens of the medicinal leech frequent apoptotic response was observed, and in cultures with antigens of red Californian worm – necrosis occurred in addition to apoptosis. Increased values of RBTL in cultures stimulated with annelids' antigens, probably occurred due to the presence of heterophile patterns in their biopolymers.

State Higher Education Institution "Zaporizhzhya National University," Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine, Zaporizhzhya

Матеріал надійшов до редакції 03.09.2012 р.

МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Аноприева Н.М.
УДК 611.31:616.314-001.4

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛЬПОВОЙ КАМЕРЫ ПОСТОЯННЫХ ЗУБОВ ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ИСТИРАЕМОСТИ

Аноприева Н.М.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г.Полтава

В даний час залишається не встановленою першопричина патологічної стертості зубів. Єдиним беззаперечним є її зв'язок з порушенням мінерального обміну в твердих тканинах зубів, що саме по собі не розтлумачує глибинну суть етіопатогенезу їх надмірної та передчасної схильності до зношування. У зв'язку з цим слід очікувати, що в пульпі зубів, при патологічному стиранні, повинні мати місце відповідні зміни. Тому метою нашого дослідження було вивчення морфологічних і анатомічних змін пульпової камери постійних зубів при патологічному стиранні. Матеріалом слугували постійні зуби (різці, пре моляри, моляри) двох категорій – в нормі та явними ознаками патологічної стертості оклюзій них поверхонь та ріжучого краю. Вони були розподілені на дві групи, одна група слугувала для отримання ін'єкційно-висвітлених препаратів зубів, за допомогою запропонованого нами методу. Зуби іншої групи були використані для занурення їх в епоксидні блоки, та подальшим виготовленням поздовжніх тонких шліфів. В результаті досліджень ми прийшли до висновку, що при патологічній стертості пульпа зубів піддається дистрофічній альтерації, яка виражається у відкладенні шарів ірегулярного дентину зі сторони стертих бугрів пре молярів та молярів, а також в петрифікації значних ділянок її основи зі з'єднувальної тканини, в результаті цього відбувається пропорційне зменшення об'єму пульпової камери, що супроводжується викривленням її конфігурації.

Ключові слова: пульпова камера, постійні зуби, патологічна стертість.

Работа является фрагментом НДР академии «Морфология сосудисто-нервных взаимоотношений органов головы и шеи человека в норме и под действием внешних факторов в возрастном аспекте. Создание новых и модификация существующих хирургических шовных материалов и экспериментально-морфологическое обоснование их использование в клинике», № гос. регистрации 0107U001657.

Вступлення

Как известно, издавна принято различать чрезмерную и преждевременную изнашиваемость (истирание) твердых тканей зубных коронок от вполне естественной подверженности эмали к сошлифовке (стиранию) при трении между собой окклюзионных возвышенностей на протяжении длительного периода функционирования зубов. Однако в современной литературе этот вопрос представлен не совсем так однозначно, ибо к патологической истираемости в настоящее время относят и некоторые другие формы некариозного поражения зубов, например, клиновидные дефекты [7, 8, 10, 11].

Чтобы не запутывать ситуацию мы ограничимся только горизонтальной, окклюзионной формой чрезмерной (патологической) истираемости, при которой происходит полная сошлифовка жевательных бугров и режущего края зубов, что наблюдается часто в молодом возрасте [1, 3].

Однако в настоящее время остается не установленной ее первопричина. Единственно бесспорной является ее связь с нарушением минерального обмена в твердых тканях зубов, что само по себе не разъясняет глубинную суть этиопатогенеза их чрезмерной и преждевременной податливости к изнашиванию.

яняет глубинную суть этиопатогенеза их чрезмерной и преждевременной податливости к изнашиванию.

Согласно существующим представлениям источником доставки ионов кальция и фосфора в дентин и эмаль служит зубной ликвор, который образуется в результате фильтрации плазмы крови в обменных микрососудах субодонтобластического слоя пульпы, откуда он просачивается по дентинным канальцам, достигая базального слоя эмали [4]. Вместе с тем принято считать, что минеральная фракция поверхностной эмали может обновляться за счет соответствующих ионов слюны [2]. Если учесть, что слюна также является продуктом фильтрации плазмы крови слюнными железами, то в итоге процессы минерализации твердых тканей находятся в полной зависимости от состояния минерального обмена внутренней среды организма. При этом основная доля поступления минеральных элементов в твердые ткани зубов будет исходить из пульпы. В связи с этим следует ожидать, что в пульпе зубов, при патологической истираемости, должны иметь место соответствующие изменения, которым в литературе не уделено должного внимания, что побудило нас провести данное

исследование. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение морфологических и анатомических изменений пульповой камеры постоянных зубов при патологическом истирании.

Материал и методы исследования

Материалом служили постоянные зубы (резцы, премоляры и моляры) двух категорий – в норме и с явными признаками патологической истираемости окклюзионных поверхностей и режущего края, которые были получены после удаления по разным показаниям у пациентов на базе отделения хирургической стоматологии Полтавской областной стоматологической поликлиники.

За все время нами было собрано более 400 препаратов зубов, с которых получены рентгенограммы, послужившие как для самостоятельного исследования, так и для отбора показательных образцов, в целях данного исследования.

В свою очередь отобранные препараты зубов (как в норме, так и при патологической истираемости) были разделены, примерно поровну, на две группы в соответствии с методами исследования.

Одна группа служила для получения инъекционно-просветленных препаратов зубов с помощью особого метода, который заключается в последовательном выполнении трех операций: 1 – полная декальцинация зуба путем кислотного воздействия на твердые ткани зуба, в результате чего он полностью лишается эмали, а дентин остается в форме органической матрицы; 2 – наполнение пульповой камеры (через апикальные отверстия корневых каналов) красящей массой, в качестве которой использовалась тушь; 3 – просветление, заключающееся в достижении прозрачности дентина путем сквозного пропитывания его веществом, имеющим с ним близкий индекс преломления света, в качестве которого использован диметилбензол [9].

Зубы второй группы были использованы для тотального заключения в твердый компаунд эпоксидной смолы, в качестве которой использован эпоксидный универсальный клей марки "Химконтакт-Эпокси". После полимеризации из полученных блоков изготовлены продольные шлифы, которые после поверхностного протравливания в Трилоне-Б, окрашены 1% раствором метиленового синего на 1% растворе буры [5]. Их изучение и микрофотографирование осуществлено с помощью светового микроскопа, оснащенного цифровой фото-приставкой.

Результаты и их обсуждение

Прежде всего, следует отметить, что при изготовлении инъекционно-просветленных препаратов зубов при патологической истираемости, по сравнению с нормой, мы встретились с большими затруднениями, которые возникли при наполнении пульповой камеры тушью через апикальные отверстия корневых каналов. Как оказалось после, данное затруднение объясняется малой пропускной способностью корневых каналов и пульповой камеры в целом. Несмотря на это нам удалось получить несколько препаратов резцов и премоляров. Что же касается больших коренных зубов, то все попытки получить удовлетворительные инъекционно-просветленные препараты оказались неудачными. Но это тоже результат небесполезный, ибо он косвенно свидетельствует о состоя-

нии пульповой камеры зубов при патологической истираемости.



Рис. 1. Инъекционно-просветленные после декальцинации препараты премоляра в норме (А) и при патологической истираемости (Б).

1 - корневые каналы; 2 - пульповая камера; 3 - петрификаты в пульповой камере.

Иллюстрацией сказанного выше являются выборочные фотографии премоляра в норме и при патологической истираемости (рис.1). Хорошо видно, что у второго препарата пульповая камера имеет неправильную, разветвленную форму, за счет наличия в ней инородных образований различных размеров и формы, которые находятся как в свободном расположении, так и пристеночно. Примечательным является то, что на рентгенограммах они выявляются с большим трудом. В связи с этим естественно возникает вопрос: что собой представляют эти образования и почему они отчетливо не выявляются при рентгенографии? Данный вопрос найдет разъяснение ниже.

Кроме этого еще одна особенность привлекла наше внимание; оказалось, что у зубов с патологической истираемостью органический матрикс дентина (после декальцинации) плохо поддается просветлению, в результате чего он выглядит менее прозрачным по сравнению с нормой (рис.1). По нашему мнению это объясняется повышенной плотностью его в результате склеротических изменений.

Изучение эпоксидных шлифов (после поверхностного протравливания в Трилоне-Б и окраски метиленовым синим) зубов при патологической истираемости позволяет, практически во всех случаях, отчетливо визуализировать в коронковом отделе пульповой камеры конгломератные образования, которые как правило, примыкают к ее стенке в том месте, где она соответствует по уровню жевательным буграм премоляров и моляров. Создается впечатление, что эти образования возникают в ответ на травматическое повреждение дентина в области стираемости, тем самым

экранируя пульпу от патогенетических воздействий различного рода.

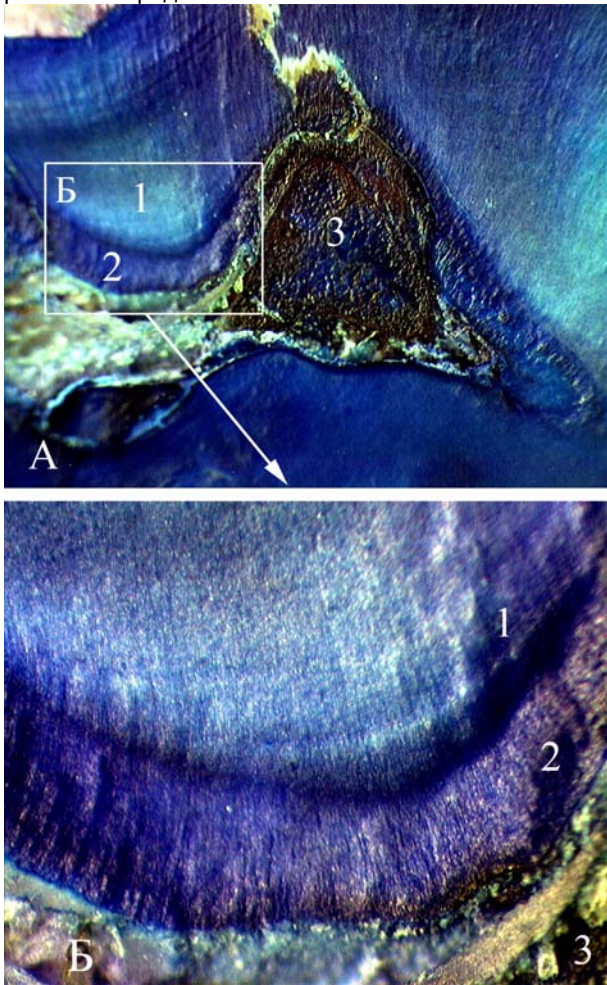


Рис.2. Коронковый отдел пульповой камеры моляра при патологической истираемости. Эпоксидный шлиф, поверхностное травление в Трилоне-Б. Окраска метиленовым синим. А – объектив X 10; Б – участок, очерченный прямоугольником на верхнем рисунке (объектив X 20).

1 - регулярный дентин; 2 - иррегулярный дентин; 3 - петрификаты.

Такие конгломератные образования имеют различное патогенетическое происхождение. Одни из них образуются в результате повышения секреторной активности одонтобластов, которое приводит к пристеночному отложению слоев иррегулярного дентина, имеющего органическую связь с околопульпарным дентином. При окраске метиленовым синим иррегулярный дентин приобретает метакромазию, свидетельствующую о большой доли в нем гликозаминогликанов (рис.2).

Другого рода конгломераты в виде комков и глыбок обызвествленного соединительнотканного остова пульпы находятся также в пристеночном положении, однако они не имеют тесного единства с околопульпарным дентином. Эти образования следует отнести к так называемым петрификатам, которые возникают в результате простого отложения солей кальция в аморфном веществе соединительной ткани, то есть они откладываются в ячейках сети рыхлой волокни-

той соединительной ткани пульпы, из-за чего данные петрификаты имеют рыхло-пористую структуру. Как правило, они находятся в пигментированном состоянии (рис.2). Следует думать, что нахождение их в пульповой камере отражает общее состояние организма, обусловленное нарушением в нем обмена минеральных веществ. В этом отношении примечательно, что образование петрификатов в зубной пульпе является присущими для флюороза зубов [6].

В отличие от иррегулярного дентина, который имеет место только в коронковом отделе пульповой камеры, петрификаты находятся в разной форме и в корневых каналах, придавая в целом причудливую конфигурацию всей пульповой камере, что было продемонстрировано методом инъектирования ее тушью. Мы ставили вопрос о том, почему в отличие от этого метода, при рентгенографии пульповая камера зубов с патологической истираемостью имеет в основном ровные очертания, близкие с нормой. Это объясняется тем, что петрификаты, имея рыхлое строение, являются недостаточно плотными для рентгеновских лучей, чтобы заметно повысить их контраст на фоне плотного дентина, тогда как инъектированная в пульповую камеру тушь, из-за своей дисперсной недостаточности, не способна проникать в пористую основу петрификатов и, тем самым, их контрастно оттеняет, в результате чего при просветлении они становятся неотличимыми от дентина.

Вывод

Результаты исследования в показательной форме свидетельствуют, что при патологической истираемости пульпа зубов подвержена дистрофической альтерации, которая выражается в отложении слоев иррегулярного дентина со стороны истертых бугров премоляров и моляров, а также в петрификации значительных участков ее соединительнотканной основы, в результате чего объем пульповой камеры пропорционально уменьшается, что сопровождается искривлением ее конфигурации.

Литература

1. Біда В.І. Патологічне стирання твердих тканин зубів та основні принципи його лікування / Біда В.І. – К.: ВАН «Видавництво «Київська правда», 2002. – 96 с.
2. Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев – М.: Медицина. – 1991. – 304 с: ил.
3. Каламкар Х.А. Ортопедическое лечение патологической стираемости твердых тканей зубов / Каламкар Х.А. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 176 с.
4. Костиленко Ю.П. Анатомия органов пищеварительной системы / Ю.П. Костиленко – Полтава, 2003. – 122 с.
5. Костиленко Ю.П. Метод изготовления гистологических препаратов, равноценных полутонким срезам большой обзорной поверхности, для многоцелевых исследований / Ю.П. Костиленко, И.В. Бойко, И.И. Старченко, А.К. Прилуцкий // Морфология. – 2007. – №5. – С. 94-95.
6. Костиленко Ю.П. Ультраструктурные особенности альтерации дентина при физиологической стираемости эмали, кариесе и флюорозе зубов / Ю.П. Костиленко, И.В. Бойко, А. Петренко // Дент Арт. – 2010. - №3. – С. 64-68.
7. Леус П.А. Некариозные болезни твердых тканей зубов : учеб.-метод. пособие / П.А. Леус. – Минск: БГМУ, 2008. – 56 с.
8. Окушко В.Р. Клиновидные и другие гладкие дефекты тканей зуба / В.Р. Окушко // Новое в стоматологии. – 2003. - №8. – С. 16-19.

9. Пат. 70343 Україна, МПК А61В10/00, А61С19/04, G01N1/28. Спосіб дослідження анатомічної та морфологічної будови пульпової камери, кореневих каналів, системи їх розгалуження та анастомозів різних груп зубів / Новікова Н.М., Новіков Є.М.; заявник і власник патенту Новікова Н.М., Новіков Є.М.; заявл. 04.11.2011; опубл. 11.06.2012.
10. Imfeld Thomas. Dental erosion. Definition, classification and links / Thomas Imfeld // Eur. J. Oral Sci. – 1996. – V.104. – P. 151-155.
11. Grippo John O. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited. A new perspective on tooth surface lesions / John O. Grippo, Marvin Simring, Steven Schreiner // JADA. – 2004. – V.135. – P. 1109-1118.

Summary

MORPHOLOGICAL CHANGES OF PULP CHAMBER OF PERMANENT TEETH WITH PATHOLOGICAL ABRASION

N.M. Anoprieva

Key words: pulp chamber, permanent teeth, pathological abrasion.

At present, the cause of the established pathological abrasion of teeth has not yet been determined. The only indisputable thing is its connection with the disfunction of mineral metabolism in hard tissues of teeth, which in itself does not explain the essence of the pathogenesis of excessive and premature tendency to abrasion. In this regard, it is expected that the corresponding changes must take place in the pulp of teeth by pathological abrasion. Therefore, the aim of our study was to investigate the morphological and anatomical changes in the pulp chamber of the permanent teeth with pathological abrasion. The used material was the permanent teeth (incisors, premolars, molars) of two categories – normal and teeth with pathological abrasion of occlusion surface and incisor edge. They were divided into two groups, one of them was used to get injection clarified teeth with method that we proposed. Another group was used to make epoxy blocks and fine cuts. As a result we concluded that pulp of teeth with pathological abrasion has dystrophic changes, and has mineralization of big areas of pulp which situated under cusps with abrasion. The volume of pulp chamber became smaller, it's form also changed.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 14.11.2012 р.

© Пера-Васильченко А.В.
УДК 611.843:611.018.8

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ИНТРАКРАНИАЛЬНОГО ОТДЕЛА ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

Пера-Васильченко А.В.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия» г. Полтава

Зоровий нерв, на відміну від інших периферійних нервів, є похідним тканини головного мозку. Трофіка зорового нерва здійснюється артеріями, які розташовані в м'якій мозковій оболонці та супроводжують зоровий нерв. Від артерій радіально відходять артеріоли, які входять до складу сполучно-тканинних трабекул зорового нерва. Від артеріол відгалужуються капіляри, розташовані паралельно пучків нервних волокон. Судинна система інтракраніального відділу зорового нерва разом із гліальними елементами (астро-, олігодендроцити) утворює гематоенцефалічний бар'єр, що захищає нервові волокна зорового нерва від альтерації. Метою дослідження є вивчення гістохімічних особливостей гематоенцефалічного бар'єру інтракраніального відділу зорового нерва. Матеріалом для дослідження послужила тканина зорового нерва людей, що померли внаслідок насильницької смерті (автотравма – 12 випадків) у віці від 20 до 30 років, у яких при патоморфологічному дослідженні не виявлено ознак соматичних захворювань. Також здійснюється забір матеріалу у людей похилого віку, що померли у віці від 61 до 80 років без клінічних і морфологічних ознак гіпертонічної хвороби та цукрового діабету – група порівняння. Запропонований метод комбінованого гістохімічного забарвлення дозволяє встановити особливості мікроциркуляції зорового нерва, у тому числі артерії, артеріоли та капіляри. Для вивчення гематоенцефалічного бар'єру зорового нерва нами вперше запропоновано комплексне комбіноване забарвлення - ШИК-реакцію, альціановий синій+амідочорний (на який отримано патент № 60061). Висновки. 2. Визначено, що зоровий нерв, подібно тканини мозку має гематоенцефалічний бар'єр, який складається з судин, астро- та олігодендроцитів. 3. Запропонований гістохімічний метод забарвлення нильським-блакитним дає позитивні результати у виявленні ступеню альтеративних змін у нервових волокнах інтракраніального відділу зорового нерва.

Ключові слова: гістологія, зоровий нерв, судини, строма.

Зрительный нерв, в отличие от других периферических нервов, является производным ткани головного мозга, а также мягкой и паутинной оболочек, которые его окружают (А.Хэм, Д. Кормак, 1983). Трофика зрительного нерва осуществляется артериями, расположенными в мягкой мозговой оболочке, которые сопровождают зрительный нерв. Согласно нашим предыдущим исследованиям [3] от сопровождающих артерий радиально отходят артериолы, входящие в состав соединительно-тканых трабекул зрительного нерва. В дальнейшем от артериол отходят капилляры, идущие параллельно пучкам нервных волокон. Очевидно, что сосудистая система интракраниального отдела зрительного нерва совместно с глияльными элементами (астро-, олигодендроциты) образует гематоэнцефалический барьер, предохраняющий нервные волокна зрительного нерва от альтерации.

Целью исследования является изучение гистохимических особенностей гематоэнцефалического барьера интракраниального отдела зрительного нерва.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужила ткань зрительного нерва людей, умерших в результате насильственной смерти (автотравма – 12 случаев) в возрасте от 20 до 30 лет мужчин (6) и женщин (6), у которых при патоморфологическом исследовании не выявлено признаков соматических заболеваний.

Также осуществлялся забор материала у пожилых людей, умерших в возрасте от 61 до 80 лет, среди которых мужчин (3), женщин (3), которые не имели клинических и морфологических признаков гипертонической болезни и сахарного диабета – группа сравнения.

Внутричерепная часть зрительного нерва, для более детального изучения, нами была разделена на 3 части:

- 1) передняя часть – от выхода зрительного нерва из зрительного канала до перекреста зрительного нерва (хиазма);
- 2) хиазма;
- 3) задняя часть – от хиазмы до разветвления зрительного нерва в зрительный тракт.

Для изучения гематоэнцефалического барьера разных частей зрительного нерва нами впервые предложена комплексная комбинированная его гистохимическая окраска, включающая в себя ШИК-реакцию, альциановый синий+амидочерный (на который получен декларационный патент № 60061).

Результаты и их обсуждение

Результатами проведенных гистохимических исследований определено, что артерии, сопровождающие зрительный нерв располагаются в мягкой мозговой оболочке и характеризуются наличием двух эластических мембран – внутренней и наружной, между которыми располагается циркулярный гладкомышечный слой. При окраске амидочерным эластические мембраны артерий интенсивно окрашиваются в черный цвет (рис. 1).

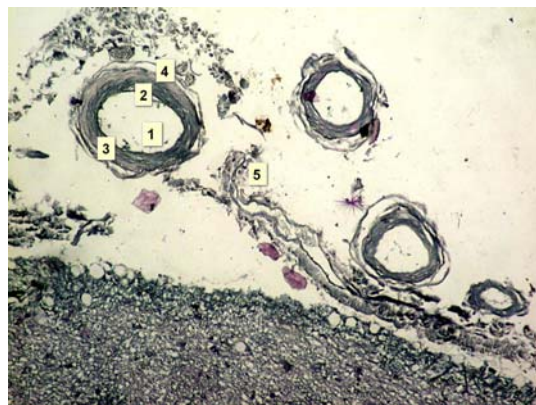


Рис. 1. Артерии мышечного типа в интракраниальном отделе зрительного нерва, окружены паутинной оболочкой. Окраска амидочерным: Ув. x100: 1-просвет артерии; 2-внутренняя эластическая мембрана; 3-мышечный слой; 4-наружная эластическая мембрана; 5-паутинная мозговая оболочка.

При этом внутренний слой и наружный слой артерий альцианположительные, а средний мышечный слой – ШИК-положительный. От артерий по ходу септ радиально располагаются артериолы, они имеют меньший просвет и окружены ШИК-положительными перегородками. Наконец, от артериол параллельно ходу пучков нервных волокон располагаются капилляры, выстланные альциан-положительным эндотелием. К капиллярной сети зрительного нерва подходят астроциты, последние имеют округлое, иногда вытянутое ядро и ШИК-положительную цитоплазму. Установлено, что астроциты имеют хорошо выраженные отростки, одни из которых прилегают к эндотелию капилляров, а другие контактируют с отростками олигодендроцитов. На рисунке 2 представлен астроцит, отростки которого контактируют с сосудом и с отростками олигодендроцитов.

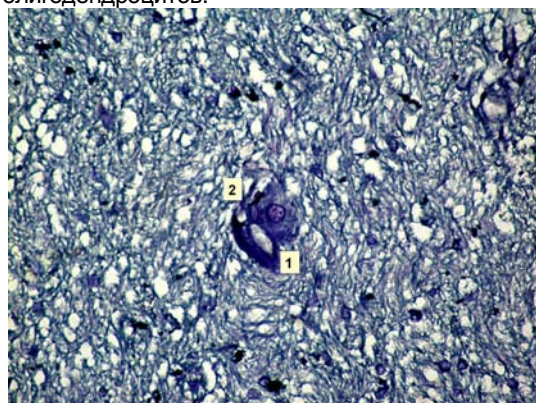


Рис. 2. Артериола, астроциты и олигодендроциты интракраниального отдела зрительного нерва. Окраска амидочерным. Ув. x 1000.

В отличие от астроцитов, олигодендроциты имеют меньший диаметр ядра и небольшой ободок амидочерной цитоплазмы. Данные клетки имеют многочисленные цитоплазматические отростки, которые контактируют между собой, образуя войлочко-подобные структуры. Именно среди многочисленных анастомозирующих отростков олигодендроцитов располагаются пучки нервных волокон. Последние, при окрашивании амидочерным, не выявляют тинкториальных свойств. Многочисленные контактирующие отростки олигодендроцитов среди пучков волокон зрительного нерва представлены на рисунке 3.

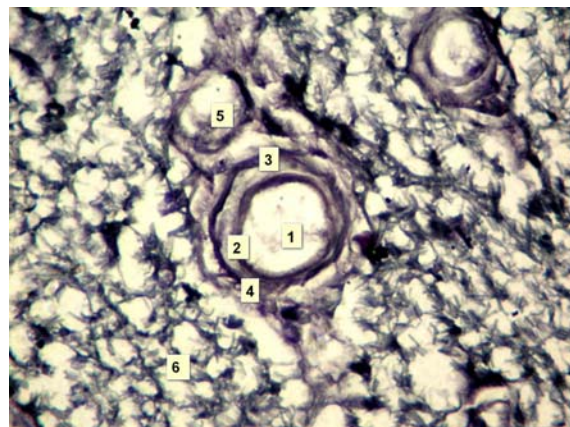


Рис. 3. Септальная артериола в интракраниальном отделе зрительного нерва. Окраска амидочерным. Ув. x 1000: 1-просвет артериолы; 2-внутренняя эластическая мембрана, 3-мышечный слой, 4-наружная эластическая мембрана, 5-венула, 6-нервные волокна.

Следовательно, предложенный гистохимический способ окраски позволяет иметь представление о гистохимических особенностях транспортных путей, которые осуществляют снабжение питательными веществами нервных волокон зрительного нерва из кровяного русла. По данным литературы [2, 5] известно, что нервное волокно зрительного нерва окружено в разной степени выраженной миелиновой оболочкой. В качестве определения альтеративных морфологических изменений нервных волокон предлагается дополнительная гистохимическая окраска зрительного нерва сульфатом Нильского голубого. Установлено, что на свежемороженых срезах зрительного нерва вокруг каждого нервного волокна располагается слабо выраженная миелиновая оболочка, которая, в зависимости от степени альтерации, окрашивается либо в голубой, либо в красный цвет. В голубой цвет Нильским-голубым согласно Е.Э. Пирса (1962) окрашиваются липопротеиды неповрежденных миелиновых оболочек. В то же время в результате распада липопротеидов, т.е. декомпозиции или фонароза образуются жирные кислоты, которые окрашиваются нильским голубым в красный цвет.

Выводы

1. Предложенный способ комбинированной гистохимической окраски позволяет выявить тинкториальные особенности структурных компонентов микроциркуляторного русла зрительного нерва, включающие в себя артерии, артериолы и капилляры.
2. Определено, что зрительный нерв подобно ткани мозга имеет гематоэнцефалический барьер, состоящий из сосудов, астро- и олигодендроцитов.
3. Предложенный гистохимический метод окраски нильским-голубым дает положительные результаты в выявлении степени альтеративных изменений в нервных волокнах интракраниального отдела зрительного нерва.

Литература

1. Вит В. В. Строение глазного яблока / В. В. Вит. - Одесса, 2006. – 287 с.
2. Davson H, Segal MB (1996b). Morphological aspects of the barriers. In: Anonymous Physiology of the CSF and Blood-Brain Barriers. CRC Press: Boca Raton, 93 ± 192.

3. Пера-Васильченко А.В. Гістологічні особливості судинно-стромального компоненту внутрішньочерепного відділу зорового нерва / А.В. Пера-Васильченко, Н.В. Ройко // Актуальні проблеми сучасної медицини. 2009. Т. 9, №4, ч.3. 115117.
4. Пирс Э. Гистохимия. Э. Пирс. М. : Издательство иностранной литературы, 1962. – с. 780.
5. Хем А. Гистология. Т. 5 / А. Хем, Д. Кормак. М. : Мир, 1983. – с. 223.

Summary

HISTOCHEMICAL FEATURES OF THE HEMATOENCEPHALIC BARRIER OF THE OPTIC NERVE'S INTRACRANIAL DEPARTMENT

A.V. Pera-Vasylchenko

Key words: histology, optic nerve, vessels, stroma.

The optic nerve, unlike other peripheral nerves, is the derivative tissue of brain. The trophism of the optic nerve is carried out by the arteries located in a soft brain cover which accompany an optic nerve. Arterioles radially depart from the accompanying arteries, forming part of the woven trabeculas of the optic nerve. The capillaries disperse further from arterioles and parallel to bunches of nervous fibers. It is obvious that the vascular system of intracranial department of the optic nerve together with glial elements form the hematoencephalic barrier protecting nervous fibers of the optic nerve from alteration. The aim of the research is to study the histochemical features of the hematoencephalic barrier of the optic nerve's intracranial department. Material and methods of the research. The material for the research was the fabric of the optic nerve from people who died in the result of violent death (car accident – 12 cases) aged from 20 to 30; men (6) and women (6) in whom the pathomorphologic research did not reveal the symptoms of somatic diseases. The material was also taken from people who died aged from 61 to 80, and did not have the arterial hypertension and diabetes mellitus (the control group). In order to examine the hematoencephalic barrier of different parts of the optic nerve the method of complex histochemical coloring including CHIC reaction, the Nile-blue +amidoblack (on which the declaration patent No. 60061 is taken out) was offered for the first time. Conclusions: 1. The offered way of the combined histochemical coloring allows to reveal the tinctorial features of the structural components of the optic nerve, including arteries, arterioles and capillaries. 2. It was determined that the optic nerve similarly to the tissue of brain has the hematoencephalic barrier consisting of vessels, astro- and oligodendrocytes. 3. The offered histochemical method of coloring by the Nile-blue yields positive results in identification of extent changes in nervous fibers of intracranial department of the optic nerve.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 20.11.2012 р.

© Степанчук А. П.
УДК 611.12

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНЕКЛАПАННЫХ СУХОЖИЛЬНЫХ ХОРД ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА В НОРМЕ

Степанчук А. П.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

Дослідили 24 препарати серця людей, померлих за причинами, не пов'язаних з патологією серця. У нормі вкляпанні фібозно-анулярні хорди відрізняються від всіх інших вкляпанних хорд шлуночків серця більшою довжиною. Найкоротші в обох шлуночках серця виявилися вкляпанні міжсосочкові сухожильні хорди. Середня їх величина в правому шлуночку становить $0,43 \pm 0,04$ см, а в лівому $0,66 \pm 0,05$ см. У нормі ширина вкляпанних фібозно-анулярних, міжсосочкових, сосочково-трабекулярних і міжтрабекулярних сухожильних хорд відповідає клапанним (істинним) сухожильним хордам і не перевищує $0,05$ см.

Ключові слова: вкляпанні хорди шлуночків, серце, довжина, ширина.

Данная работа является фрагментом плановой научно-исследовательской работы «Изучение закономерностей структурной организации внутренних органов в норме и при патологии» (№ гос. регистрации 0106U003236).

Актуальность

Общеизвестно, что сухожильные хорды относятся к сугубо производным эндокарда и являются структурой атриовентрикулярных клапанов сердца [6]. Поэтому их вполне обосновано можно называть клапанными (истинными) сухожильными хордами. Однако в литературе описываются и другие сухожильные хорды в полостях желудочков сердца под названием «добавочные» и «ложные» хорды, которые прямого отношения к атриовентрикулярным клапанам сердца не имеют [1, 2, 4, 5, 7]. При анализе данных литературы относительно выше названных хорд авторы описывают только варианты их расположения в полости желудочков и влияние на работу сердца. Данные относительно основных метрических параметров «добавочных» и «ложных» хорд в литературе отсутствуют за исключением работы автора С. В. Козлова [3].

Цель исследования – получить основные метрические данные относительно вкляпаных фиброзно-анулярных, межсосочковых, сосочково-трабекулярных и межтрабекулярных сухожильных хорд в обоих желудочках сердца человека в норме.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили препараты 14 сердец людей умерших по причинам, не связанным с патологией сердца, которые получены в патологоанатомическом бюро Полтавской областной клинической больницы и Полтавской областной клинической психиатрической больницы им. А. А. Мальцева в рамках договора о сотрудничестве между ВГУЗУ «УМСА» и указанными заведениями. Кроме этого, 10 препаратов сердца использованы из музея кафедры анатомии человека ВГУЗУ «УМСА». Исследования проводились соответственно морально-этическим принципам и соответствующих положений ВОЗ и законов Украины «О трансплантации органов и других биологических материалов». В целях получения количественных данных, в работе задействовано 24 препарата сердца людей, умерших по причинам, не связанным с патологией сердца. Измерительными

инструментами служили гибкая линейка и штангенциркуль. В качестве морфометрических показателей использованы измерения длины и ширины вкляпаных сухожильных хорд (длину определяли расстоянием от начала и до места прикрепления хорды, а ширину – поперечным размером по ее середине). Результаты полученных метрических данных подвергнуты статистической обработке с помощью программы статистических пакетов «Microsoft Office Excel 2003».

Результаты и их обсуждение

Проведенные морфометрические исследования позволяют выявить некоторые различия в величине параметров вкляпаных сухожильных хорд в желудочках сердца. Вкляпаные сухожильные хорды, которые присутствуют в обоих желудочках сердца, мы разделяем на фиброзно-анулярные, межсосочковые, сосочково-трабекулярные и межтрабекулярные (рис. 1 и рис. 2).

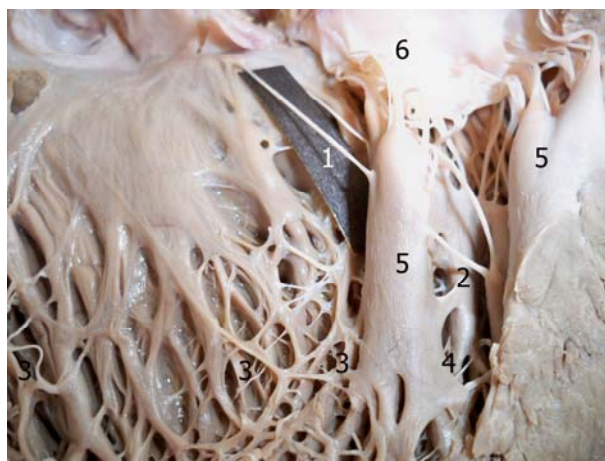


Рис. 1. Эндокардиальные образования левого желудочка сердца человека в норме. 1 – вкляпаные фиброзно-анулярные сухожильные хорды; 2 – межсосочковые хорды; 3 – межтрабекулярные хорды; 4 – сосочково-трабекулярные хорды; 5 – сосочковые мышцы; 6 – митральный клапан.

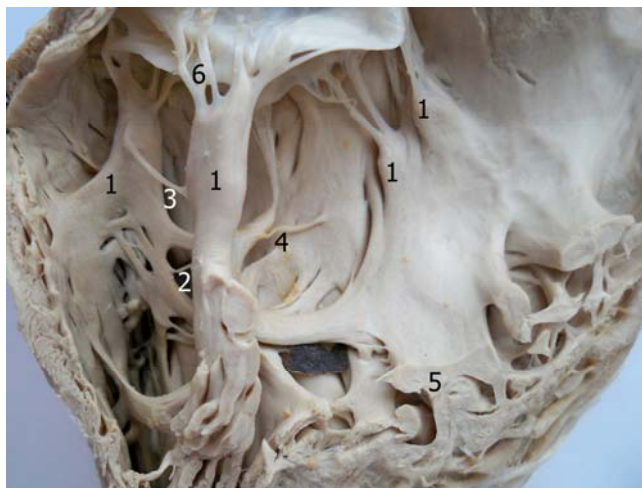


Рис. 2. Эндокардиальные образования правого желудочка сердца человека в норме. 1 – сосочковые мышцы; 2 – внеклапанные межтрабекулярные сухожильные хорды; 3 – межсосочковые хорды; 4 – сосочково-трабекулярные хорды; 5 – миокард правого желудочка; 6 – клапанные сухожильные хорды.

Внеклапанные фиброзно-анулярные хорды отличаются от всех остальных внеклапанных хорд желудочков сердца большей длиной. По нашим данным длина фиброзно-анулярных хорд колеблется в пределах от 1,4 см до 2,3 см в левом желудочке и от 1,5 см до 2,2 см в правом желудочке. Количество фибро-

зно-анулярных хорд в желудочках индивидуально варьирует на каждом препарате сердца от 1 до 3.

Внеклапанные межсосочковые сухожильные хорды, которые соединяют между собой сосочковые мышцы, имеют меньшую длину в обоих желудочках сердца. Их длина варьирует от 0,4 до 0,8 см в левом желудочке, а в правом желудочке – 0,3 – 0,7 см. Согласно данным автора С. В. Козлова [3] аномально расположенная хорда между сосочковыми мышцами левого желудочка имела длину 4 см и ширину 0,2 см.

Внеклапанные межтрабекулярные сухожильные хорды, которые соединяют между собой мясистые трабекулы, встречаются чаще по сравнению с фиброзно-анулярными и межсосочковыми хордами и в левом и в правом желудочке сердца. Их длина колеблется от 0,8 см до 1,2 см в левом желудочке, а в правом – 0,5 – 0,8 см.

Внеклапанные сосочково-трабекулярные сухожильные хорды начинаются от сосочковых мышц в их нижней и средней трети длины и направляются к стенкам желудочков, где и фиксируются к мясистым трабекулам. В левом желудочке сосочково-трабекулярные хорды имеют длину от 0,7 см до 1,2 см. В правом желудочке их длина варьирует от 0,2 см до 0,5 см. Ширина всех вышеперечисленных внеклапанных сухожильных хорд не превышает 0,05 см и колеблется от 0,01 см до 0,05 см (табл.). Автор О. С. Антонов и соавт. [1] описывает, что аномальная хорда в полости желудочка имеет толщину 1 – 2 мм. Часто у места прикрепления аномальной хорды обнаруживается локальное сосцевидное утолщение миокарда с резким усилением плотности эхо в зоне утолщения при эхокардиографическом исследовании сердца.

Таблица
Параметры внеклапанных сухожильных хорд в норме

Параметры (см)	Внеклапанные сухожильные хорды левого желудочка				Внеклапанные сухожильные хорды правого желудочка			
	фиброзно-анулярные	межсосочковые	межтрабекулярные	сосочково-трабекулярные	фиброзно-анулярные	межсосочковые	межтрабекулярные	сосочково-трабекулярные
Ширина	0,04±0,002	0,04±0,005	0,03±0,005	0,04±0,001	0,04±0,004	0,024±0,003	0,04±0,006	0,035±0,006
Длина	1,97±0,05	0,66±0,05	1,05±0,05	1,06±0,04	1,69±0,05	0,43±0,04	0,58±0,001	0,40±0,04

Выводы

1. В норме внеклапанные фиброзно-анулярные хорды отличаются от всех остальных внеклапанных хорд желудочков сердца большей длиной. Натяжение данных сухожильных хорд под действием сосочковых мышц, от которых они начинаются, во время систолы желудочков будет приводить к удерживанию фиброзного кольца в необходимом опорном его положении для клапана.

2. Самые короткие в обоих желудочках сердца выявились внеклапанные межсосочковые сухожильные хорды. Средняя их величина в правом желудочке составляет 0,43±0,04 см, а в левом 0,66±0,05 см.

3. В норме ширина внеклапанных фиброзно-анулярных, межсосочковых, сосочково-трабекулярных и межтрабекулярных сухожильных хорд соответствует клапанным сухожильным хордам и варьирует в пределах – 0,01 – 0,05 см.

4. Роль внеклапанных сухожильных хорд заключается в механической увязке между расположенными

ми вблизи различными сократительными образованиями, чем достигается упрочение стенок клапанной зоны желудочков во время их систолы.

Перспективы дальнейших исследований

Провести морфометрическое исследование эндокардиальных образований желудочков сердца при сочетанном пороке митрального клапана.

Литература

- Антонов О. Эхокардиографическая диагностика аномальных хорд левого и правого желудочков сердца / О. Антонов, В. Кузнецов // Кардиология. – 1986. – № 6. – С. 68 – 70.
- Домницкая Т. М. Значение аномально расположенных хорд в происхождение акцидентальных шумов сердца у детей / Т. М. Домницкая, В. В. Соловьев, В. П. Седов [и др.] // Кардиология. – 1988. – № 7. – С. 28 – 32.
- Козлов С. В. Судебно-медицинское значение аномально расположенных сухожильных нитей сердца при скоропостижной смерти / С. В. Козлов // Вісник морфології. – 2003. – № 2. – С. 267 – 268.

4. Результаты клинко-инструментального обследования призывников с дополнительными хордами левого желудочка : тезисы конф. Воен.-мед. упр. МО Украины / [Корнилова С. Н., Правосудович С. А., Локшин С. Л. и др.]. – К.: МО Украины, 1996. – С. 115.
5. Корженков А. А. Распространенность добавочных хорд в левом желудочке и синдрома ранней реполяризации желудочков (популяционное исследование) / А. А. Корженков, А. Н. Рябиков, С. К. Малютина // Кардиология. – 1991. – № 4. – С. 75 – 76.
6. Хем А. Гистология / А. Хем, Д. Кормак; пер. с англ. В. Л. Быкова. – М. : Мир, 1983. – Т.4. – 244 с.
7. Об аномальных хордах / А. П. Юренев, Р. Девер, Е. Е. Рынская [и др.] // Терапевтический архив. – 1995. – № 8. – С. 23 – 25.
8. Pierard L. A. Detection of left ventricular false tendons by two – dimensional echocardiography / L. A. Pierard, L. Henrard, S. F. Noel // Acta Cardiol. – 1985. – Vol. 40. – P. 229 – 235.

Summary

MORPHOMETRIC STUDY OF TENDON EXTRAVALVING HORDEN VENTRICLE IN NORM

A.P. Stepanchuk

Key words: extravalving chords of ventricles, heart, length, width.

24 heart preparations of people who died for the reasons, not associated to heart pathology have been investigated. Extra valving fibrous annular chords in norm differ from all other extra valving chords of ventricles of heart of larger length. Extra valving interpapillary tendon chords proved to be the shortest in both ventricles of heart. Their average size in the right ventricle is $0,43 \pm 0,04$ sm, and in the left – $0,66 \pm 0,05$ sm. In norm, the width of extra valving fibrous annular, interpapillary, papillary and trabecular and intertrabecular tendon chords corresponds to valving (true) tendon chords and doesn't exceed 0,05 sm.

Higher State Educational Establishment of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava

Матеріал надійшов до редакції 10.10.2012 р.

СОЦІАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Бєлікова І.В.

УДК: 614

НОРМАТИВНО-ПРАВОВЕ ПІДГРУНТЯ ІНФОРМАТИЗАЦІЇ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Бєлікова І.В.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Информатизация системы здравоохранения относится к числу ключевых общегосударственных задач, от успешного и эффективного решения которых зависит перспектива Украины в будущем занять достойное место среди развитых стран с высоким уровнем социальной защищенности населения. Необходима информационная поддержка новых направлений деятельности здравоохранения, что определяет необходимость разработки единой системы информационного обеспечения в здравоохранении, сводит проблему в ранг важнейшей задачи современного периода. Для сбора закрытой информации необходимо получить добровольное согласие пациента на обработку его персональных данных, утвержденное приказом МЗ Украины (№110 от 14.02.2012г.). Использование персональных данных предусматривает любые действия собственника базы относительно обработки этих данных, действия относительно их защиты, а также действия по предоставлению частичного или полного права обработки персональных данных другим субъектам, связанных с персональными данными, которые осуществляются по согласию субъекта персональных данных или в соответствии с законом (часть первая статьи 10 Закона Украины "О защите персональных данных"). Внедрение информатизации в здравоохранении является актуальным и своевременным. Нужно подчеркнуть, что несмотря на большой объем проведенной работы относительно создания универсальной информационной системы еще остается большое количество нерешенных правовых и организационных вопросов. Необходимо провести максимальную информатизацию медицинских учреждений, создать единую информационную сеть с возможностью быстрого анализа и передачи данных.

Ключевые слова: Управление, информатизация учреждений здравоохранения, электронный реестр пациента.

Ефективність реформ у системі охорони здоров'я залежить не тільки від збільшення фінансування галузі, а також від раціонального використання наявних ресурсів. Досвід багатьох передових країн переконує, що збільшення фінансування охорони здоров'я без механізмів стримування витрат, їхньої персоніфікації, без створення системи управління, що базується на двох основних принципах — медична й економічна доцільність, не приносить бажаних результатів [2,4].

Сучасний стан здоров'я населення й реформи, що відбуваються сьогодні в галузі охорони здоров'я України висувають у число невідкладних завдань перехід на новий рівень медичної допомоги з використанням новітніх управлінських технологій, що швидко розвиваються в теперішній час.

Інформація у всі часи була однією з найбільших цінностей. "Попереджений - отже, озброєний", - говорили в давнину. Медична інформація в цій низці займає особливе місце.

Інформатизація системи охорони здоров'я відноситься до числа ключових загальнодержавних завдань, від успішного і ефективного вирішення яких залежить перспектива України в майбутньому зайняти гідне місце серед розвинених країн з високим рівнем соціальної захищеності населення. Впровадження в

практичну охорону здоров'я різних автоматизованих систем підтримки управлінських рішень дозволить органам управління більш ефективно контролювати своєчасність виконання прийнятих рішень, здійснювати системний аналіз інформації, оперативно контролювати процес реформування охорони здоров'я [1,4,5].

Проблемі впливу інформаційного забезпечення на ефективність управління охороною здоров'я присвячені роботи багатьох авторів. В них наводиться певний перелік вимог і характеристик, яким повинна задовольняти інформація для розробки стратегії і тактики управління в системі охорони здоров'я [1,2,3,4,5].

Вочевидь необхідна інформаційна підтримка нових напрямків діяльності охорони здоров'я, що визначає необхідність розробки єдиної системи інформаційного забезпечення в охороні здоров'я, що зводить проблему в ранг найважливішої задачі сучасного періоду [2].

Проблема формування "інформаційного мислення" не тільки у керівників органів управління та закладів охорони здоров'я, але й у фахівців, широкого кола працівників охорони здоров'я, особливо первинного рівня медичної допомоги, в сучасних умовах, що характеризуються пошуком ефективних форм рефо-

рмування охорони здоров'я набула особливої актуальності.

Мета дослідження – визначення нормативно-правової бази щодо регламентації інформатизації галузі охорони здоров'я, аналіз проблем побудови інформаційного суспільства.

Матеріал і методи дослідження

Історико-правовий, діалектичний, бібліосемантичний, контент-аналіз.

Класичний варіант інформатизації галузі охорони здоров'я передбачає створення єдиної структурованої інформаційної системи обліку стану здоров'я громадян області на основі автоматизованої реєстрації пацієнтів у лікувальних закладах, збору інформації про лікувально-діагностичний процес та медичну профілактику з метою подальшого використання в статистичних, аналітичних та експертних системах; створення системи дистанційного консультування та діагностики на основі комп'ютерних мереж, що об'єднують лікувальні заклади.

Сучасні інформаційні системи повинні надати можливість для формування доказових баз, необхідних при розробці соціальних стратегічних рішень щодо зміцнення здоров'я населення та розвитку охорони здоров'я. Обсяг і структура інформації, що збиралася за колишніми еталоном обліку та звітності, не може бути достатньою для визначення ефективності системи надання медичної допомоги, об'єктивності оцінки стану здоров'я населення, економічної ефективності діяльності закладів охорони здоров'я.

Удосконалення методології статистики в умовах розвитку нових економічних відносин, в першу чергу, пов'язано з науково-практичною розробкою такого принципового методологічного стану, як підхід до накопичення інформації, формування впорядкованої економіко-статистичної системи обробки, уявлення та використання інформації. Так як присутність людського фактору в процесі збору, обробки і представлення інформації, навіть жорстке державне регулювання та контроль не зможуть забезпечити 100% достовірність.

Типові загальні проблеми інформаційних систем пов'язані з механізмами збору і передачі даних, методами аналізу.

Підґрунтям для розвитку нормативно-правового забезпечення інформаційного процесу в управлінні охороною здоров'я є Закон України «Про Основні засади розвитку інформаційного суспільства в Україні на 2007 - 2015 роки», Закон України «Про Концепцію Національної програми інформатизації» (від 7.08.2011), де головними завданнями у сфері охорони здоров'я визначається створення єдиної структурованої інформаційної системи обліку стану здоров'я громадян України на основі автоматизованої реєстрації пацієнтів у лікувальних установах, збору даних профілактичних обстежень з метою подальшого використання в статистичних, аналітичних та експертних системах; створення системи дистанційного консультування та діагностики на основі комп'ютерних мереж, що об'єднують великі лікувальні та наукові заклади.

Діючим Кодексом України про адміністративні правопорушення визначено правову відповідальність за

«порушення порядку подання або використання даних державних статистичних спостережень».

Законом «Про інформацію від 2.10.1992 (остання редакція 10.08.2012) визначено основні засади статистичної інформації та особливості відкритої інформації та інформації з обмеженим доступом, що дає змогу вирішити найважливішу соціальну задачу - забезпечити права і законні інтереси громадян країни у сфері охорони здоров'я.

У доповіді Комітету експертів ВООЗ з інформаційного забезпечення нових напрямків діяльності в галузі суспільної охорони здоров'я (1993) відзначені загальні проблеми розвитку медичної інформації та інформаційних систем на сучасному етапі. Причому, основною і найважливішою визнається проблема характеру і форм використання інформації, обставин, умов і часу її застосування, а також професійних і особистісних якостей її користувачів.

Основними напрямками інформатизації в галузі охорони здоров'я можуть бути:

- впровадження систем електронного документообігу;
- впровадження електронної медичної карти пацієнта;
- персоналізований облік наданих медичних послуг;
- електронний запис до лікаря;
- введення електронних реєстрів лікарів, ЛПУ та ін.

Основною проблемою інформатизації є збереження персоналізованої інформації та запобігання правопорушень.

Правова регламентація охорони здоров'я людини є базою, фундаментом соціально-економічних та медичних заходів, що забезпечують гідне життя всіх людей в суспільстві, оскільки кожен з його членів реально чи потенційно є пацієнтом.

Але побудова інформаційного простору шляхом розмежування інформації на «відкритий» (інформація про стан здоров'я населення, існуючі методи діагностики, лікування, профілактики, графік роботи лікарів в лікувальних установах тощо) та «закритий» блоки дозволить уникнути правопорушень з боку користувачів інформацією.

Згідно Постанови Кабміну України №546 від 6.06.12 затверджено процедуру створення та функціонування електронного реєстру пацієнтів, як одного з головних етапів створення єдиного медичного інформаційного простору.

Так як пацієнт є першою ланкою у інформаційному ланцюгу сучасне законодавство охороняє його права. Побудова «закритого блоку» обумовлена такими документами як Конституція України, ст. 32 «Не допускається збирання, зберігання, використання та поширення конфіденційної інформації про особу без її згоди, крім випадків, визначених законом, і лише в інтересах національної безпеки, економічного добробуту та прав людини», Законом України «Про захист персональних даних» ст.8 «Особисті немайнові права на персональні дані, які має кожна фізична особа, є невід'ємними і непорушними». Також ст. 11 вищезазначеного закону регламентується необхідність отримання згоди суб'єкта персональних даних на обробку його персональних даних.

Для збору закритої інформації необхідно отримати добровільну згоду пацієнта на обробку його персональних даних затверджений Наказом МОЗ України (№110 від 14.02.2012).

Нагадаємо, що під поняттям персональних даних згідно статті 2 Закону, розуміють відомості чи сукупність відомостей про фізичну особу, яка ідентифікована або може бути конкретно ідентифікована.

Використання персональних даних передбачає будь-які дії власника бази щодо обробки цих даних, дії щодо їх захисту, а також дії щодо надання часткового або повного права обробки персональних даних іншим суб'єктам відносин, пов'язаних із персональними даними, що здійснюються за згодою суб'єкта персональних даних або відповідно до законом (частина перша статті 10 Закону України "Про захист персональних даних").

Таким чином, впровадження інформатизації в охороні здоров'я є актуальним та нагальним. Слід зазначити, що незважаючи на великий обсяг проведеної роботи щодо створення універсальної інформаційної системи ще залишається велика кількість не вирішених правових та організаційних питань. Необхідно провести максимальну інформатизацію медичних

установ, створити єдину інформаційну мережу з можливістю швидкого аналізу та передачі даних.

Література

1. Виноградов К.А. Совершенствование управления здравоохранением на региональном уровне с использованием информационных технологий: дис. . докт. мед. наук / Виноградов К.А. Москва, 2005.- 253 с.
2. Вишневський В / В. Вишневський, А. Голунов, А. Коньков / Персонал,-2005, - №12.
3. Вялков А.И. О задачах по реализации концепции развития здравоохранения и медицинской науки в 2001-2005 годах и на период до 2010 года. / А.И. Вялков. // Экономика здравоохран. - 2001. - № 4. - С. 5-8.
4. Гранди, Ф. Исследование практики здравоохранения и формализованные методы управления / Ф. Гранди, У.А. Рейнке. Женева: ВОЗ, 1975. -232 с.
5. Москаленко В.Ф. Управление эпидемическим риском в Украине: новые подходы в стратегии развития // Лікарська справа.-2002.-№3-4.-С.3-17.
6. Оленин В.М. / В.М. Оленин, Ю.А. Хунов/ Информационные технологии в здравоохранении: состояние, проблемы //Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України.-2002.-№1.-С.43-47.

Summary

LEGAL FRAMEWORK FOR THE INFORMATIONAL SUPPORT OF HEALTHCARE

I.V. Belikova

Key words: management, informational support of health care institutions, the electronic register of patient

Advanced information support of the medical services system is a key task of our time, as it ensures high quality and availability of medical services, while cutting costs. Quick and convenient access to reliable information for any type of users (patients, doctors, administrators) is the number one priority when creating such information systems. The system is aimed at integrating all healthcare information streams which makes it the basis for comprehensive regional healthcare management and a single solution for patient services automation at medical and therapeutic institutions. Use of specialized hi-tech level enterprise software for healthcare helps to integrate all medical and therapeutic institutions of the region into a single system, ensuring high level of reliability, effectiveness and complete consistency of data, while the use of a single electronic patient record and the world best practices – the functional basis for healthcare – enables integration into a single system of both medical and administrative processes. Another significant group of tasks supported in the system is personnel management which includes both standard administration tasks (hiring, planning, leaves and business trips data maintenance, promotions) and personnel development tasks. Among the advantages achieved today we may name the absence of selfregistration sheets and the reduction of queues to sign up to a doctor, tracking repeat registrations and missed visits, automatic creation of statistical reports in the single system, transparency of parent service data for both the medical and therapeutic institution management and the healthcare department. The single information system for all outpatient and inpatient care institutions of the region enables the real time access to the necessary information in the electronic patient records for doctors and administrators, ensuring continuity and high quality of treatment, and the safety of patients.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 20.10.2012 р.

© Іщейкіна Ю.О.

УДК 614:616.11/.13:616.43/44

ЗАХВОРЮВАНІСТЬ НАСЕЛЕННЯ ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСТІ НА ПАТОЛОГІЮ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ТА ЇЇ ЗВ'ЯЗОК ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Іщейкіна Ю.О.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Анализ заболеваемости сердечно-сосудистых и эндокринных патологий в Полтавской области за последние 2 десятилетия выявил значительную динамику прироста данных патологий. Рост уровня заболеваемости хроническими заболеваниями системы кровообращения остановился в 2002 г., тогда как эндокринная заболеваемость продолжала повышаться до 2004 года. В дальнейшем до 2011 г. включительно заболеваемость хроническими заболеваниями системы кровообращения и диффузным зобом снижалась, а заболеваемость другими эндокринными патологиями, ОИМ и инсультами продолжает увеличиваться. Определены корреляции между заболеваемостью эндокринной и сердечно-сосудистой систем, а не только между заболеваниями одной группы, что свидетельствует о действии факторов, которые одинаково способны вызвать как хронические патологии системы кровообращения, так и патологии эндокринной системы, прежде всего диффузный зоб. Ключевые слова: заболеваемость, болезни системы кровообращения, болезни эндокринной системы, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, диффузный зоб, корреляционные связи.

Вступ

Незважаючи на те, що в Україні виконуються програми профілактики та лікування артеріальної гіпертензії та запобігання і лікування серцево-судинних та судинно-мозкових захворювань, показники поширеності, захворюваності, інвалідності та смертності є значними серед населення працездатного віку (особливо захворюваність, яка відображає швидку реакцію популяції на безпосередні зміни умов життя, тоді як поширеність є накопиченим показником). Так, питома вага хворих працездатного віку у поширеності хвороб системи кровообігу складає 36,6%. Питома вага окремих захворювань така: гіпертонічна хвороба — 42,5%, ішемічна хвороба серця — 29,7%, цереброваскулярні хвороби — 21,5%, гострий інфаркт міокарда — 31,7%. [4]

Сучасні статистичні дані ВООЗ також підтверджують зростання ендокринологічної захворюваності серед населення більшості країн світу, яка займає після серцево-судинних та онкологічних хвороб третє місце за поширеністю та причинами смертності населення. Також патологія ендокринної системи займає одне з провідних місць у структурі загальної захворюваності населення України. У державі відзначається ріст числа хворих із різними ендокринопатіями. Так, якщо в 2005 році таких хворих було зареєстровано 3 486 094, то станом на 01.01.2011 р. — 3 829 740 осіб, тобто приріст становить 9,85 %.

Основні причини зростання кількості хворих на ендокринну патологію: інтенсивний вплив на населення факторів ризику (нерациональне харчування, гіподинамія, надмірна маса тіла/ожиріння, хронічний стрес, хронічний дефіцит йоду тощо).

У структурі ендокринних захворювань основне місце належить патології щитоподібної залози (46,67 %) та цукровому діабету (31,88 %) [3].

В ендемічних на зоб регіонах, де проживає близько третини популяції земної кулі, вона інколи перевищує 50%. У Полтавській області спостерігається ендемічна нестача йоду, яка зумовлює зниження синте-

зу тироксину, гіперплазію щитоподібної залози (ЩЗ) та пов'язані з цим порушення фізіологічного стану та розвитку організму [2]. Поширеність усіх видів зобу в цьому регіоні складає 2,16% станом на 2011 рік.

На сьогодні дослідження щодо вартості профілактики і лікування дифузного нетоксичного зоба в Україні відсутні. Недостатність адекватних профілактичних і лікувальних заходів стосовно дифузного зоба призводить до зростання кількості хворих з великими розмірами ЩЗ, виникнення порушень її функції, насамкінець — до інвалідизації населення, зниження якості його життя.

Виникнення цієї форми дифузного зоба пов'язують з можливим впливом неповноцінного харчування. Особливе значення має дефіцит білків та вітамінів у їжі. Деякі продукти харчування містять речовини, що виявляють зобогенний вплив (зокрема, струмогени є у квасолі, брукві, моркві, цвітній капусті). Антисанітарні побутові умови, інфекції й інтоксикації так само впливають на частоту виникнення захворювання. Слід зазначити, що ця форма зоба часто зустрічається у членів однієї сім'ї, тож можна говорити про сімейний характер цієї патології. Можливими чинниками розвитку спорадичного зоба також є генетична блокада синтезу тиреоїдних гормонів, аутоімунні механізми. Окремою формою дифузного зоба вважають ендемічний зоб, що зустрічається в ендемічних регіонах через нестачу йоду в ґрунті, воді, продуктах харчування.

У зв'язку з тим, що серцево-судинні захворювання становлять одну із найбільш поширених причин інвалідизації та смертності осіб старшого віку, в тому числі працездатних, ми провели аналіз динаміки захворюваності на серцево-судинні захворювання у Полтавській області за останні два десятиріччя. Одночасно ми аналізували можливу наявність кореляцій захворюваності на серцево-судинну патологію з патологіями щитоподібної залози.

Матеріали та методи дослідження

Нами аналізувалися дані щодо захворюваності на хвороби системи кровообігу та ендокринної системи серед населення Полтавської області, надані статистичним відділом обласного управління охорони здоров'я. Для аналізу кореляційних зв'язків визначали непараметричний коефіцієнт парної кореляції т Кендела [1, 5].

Результати та їх обговорення

В попередніх наших роботах було проаналізовано поширеність хвороб системи кровообігу та ендокринних захворювань по Полтавській області. На рис. 1 наведені графіки поширеності цих патологій у Полтавській області, починаючи з 1989 року. Можна відзначити, що поширеність усіх цих патологій росте протягом 21 року, помітний різкий стрибок серцево-судинної захворюваності у 2001–2002 роках та підвищення росту загальної ендокринної патології після 2000 року.

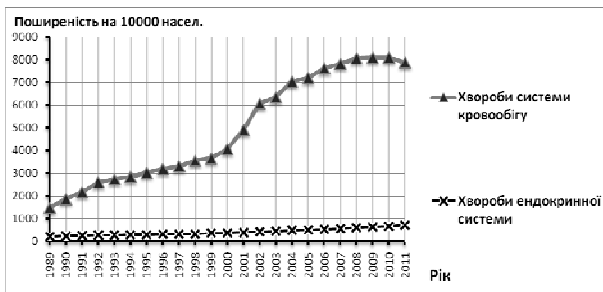


Рис. 1. Поширеність хвороб системи кровообігу та ендокринної системи у Полтавській області на 10 тис. населення у 1989–2011 роках.

Одержані результати стали приводом для подальшого дослідження, у тому числі вивчення динаміки захворюваності цих нозологій.

Динаміка первинної захворюваності на патології зазначених груп протягом останніх двох десятиліть була дуже складною (рис. 2, 3, 4). Виразний зріст захворюваності на ішемічну хворобу серця (ІХС) у 5,96 рази спостерігався з 1989 року та по 2002 рік включно, причому тільки за 3 роки з 1999 по 2002 рік – у 2,57 рази. Відповідно, захворюваність на гіпертонічну хворобу (ГХ) зросла у 3,88 рази з 1989 року та по 2002 рік, та у 2,54 рази за 3 роки з 1999 по 2002 рік. Але вже у 2003 році захворюваність стала стрімко знижуватися, хоч і не сягнула рівня 1989 року навіть у 2011 році: ІХС була у 3,07 рази, а ГХ – у 1,99 рази вищою, ніж у 1989 році.

Загальна захворюваність на ХСС, яка формується переважно саме цими двома патологіями, має подібну динаміку з відносно невеликим підйомом у 1992 році.

Захворюваність на гострий інфаркт міокарда (ГІМ), яка складала у 1981 році 4,5 на 10 тис. населення, виросла до 2011 року у 3,6 рази.



Рис. 2. Захворюваність на основні серцево-судинні патології у Полтавській обл. на 10 тис. населення у 1989–2011 роках.

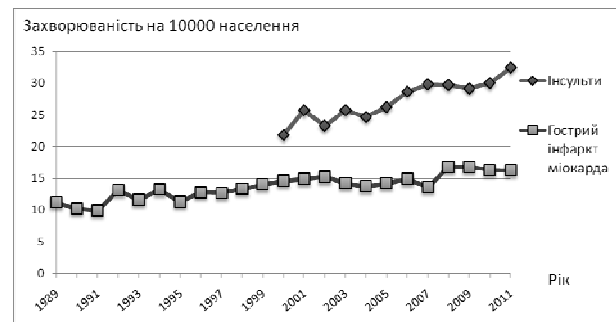


Рис. 3. Захворюваність на гострі серцево-судинні патології у Полтавській обл. на 10 тис. населення у 1989–2011 роках.

Захворюваність на гострі серцево-судинні патології – ГІМ та інсульт – демонструє неухильний плавний зріст. Оскільки можна вважати ці патології результативними багатолітнього розвитку ГХ та ІХС, то це і пояснює відсутність точної кореляції між щорічними коливаннями захворюваності на гострі та хронічні патології. В той же час висока подібність динаміки захворюваності на ГХ та ІХС дає привід підтвердити спільні механізми старту цих патологій.

У Полтавській області загальна захворюваність на хвороби системи кровообігу у 1989 році склала 214,5 на 10 тис. населення, захворюваність на ендокринні захворювання – 23,2 на 10 тис. населення, у 1999 році відповідні величини були вже 364,5 та 45,3 на 10 тис. населення, у 2011 – 499,5 та 71,3 на 10 тис. населення.



Рис. 4. Загальна захворюваність на ендокринні патології на 10 тис. населення Полтавської обл. у 1989–2011 роках.

Захворюваність на ендокринні патології зросла з 1989 по 2011 рік у 3,07 рази (рис. 4). Слід зазначити, що такий зріст був відносно плавним з помітним стрибком на початку 90-х років, коли за 2 роки захворюваність зросла у 1,56 рази.

Захворюваність на окремі ендокринні патології має різну динаміку. Зниження захворюваності на дифузний зоб у другій половині 2000-х років супроводжується постійним ростом захворюваності на вузловий зоб та тиреоїдити (рис.5).



Рис.5. Захворюваність на патології щитоподібної залози на 10 тис. населення Полтавської обл. у 1989–2011 роках.

Захворюваність на дифузний зоб має динаміку, дуже подібну до динаміки хронічних серцево-судинних захворювань з піковою захворюваністю у 2001–2004 роках. Це, імовірно, вказує на спільні спускові механізми вказаних патологій. Проте слід зазначити відставання у часі та сповільнений розвиток динаміки дифузного зобу порівняно із динамікою ГХ та ІХС (рис.6).

В результаті проведеного кореляційного аналізу нами були отримані такі дані.

Коефіцієнт парної кореляції між захворюваністю на ішемічну хворобу серця та гострий інфаркт міокарда $t=0,60$ ($p<0,001$), між захворюваністю на гіпертонічну хворобу та на ішемічну хворобу серця $t=0,79$ ($p<0,001$); такі високі значення цілком зрозумілі. Так само корелюють рівні захворюваності на ендокринні патології. Коефіцієнт парної кореляції між захворюваністю на тиреотоксикоз та вузловий зоб – $t=0,51$ ($p<0,005$), на тиреотоксикоз та гіпотиреоз – $t=0,45$ ($p<0,05$), на тиреотоксикоз та на дифузний зоб II-III ступеню – $t=0,47$ ($p<0,05$), на гіпотиреоз та вузловий зоб – $t=0,78$ ($p<0,001$).

Визначаються кореляції між захворюваністю на ендокринні та серцево-судинні захворювання. Так, коефіцієнт парної кореляції між захворюваністю на тиреотоксикоз та ішемічну хворобу серця – $t=0,33$ ($p<0,05$), між захворюваністю на тиреотоксикоз та інфаркт міокарда – $t=0,39$ ($p<0,02$), на вузловий зоб та на інсульт – $t=0,84$ ($p<0,001$), на вузловий зоб та на гострий інфаркт міокарда – $t=0,58$ ($p<0,001$), на дифузний зоб I ступеню та на ішемічну хворобу серця – $t=0,61$ ($p<0,005$), на дифузний зоб II-III ступеню на ішемічну хворобу серця – $t=0,57$ ($p<0,01$), на гіпотиреоз та на інсульт – $t=0,70$ ($p<0,005$).

Можна порівняти ці дані з кореляціями між поширеністю серцево-судинних та ендокринних захворювань. Так, коефіцієнт парної кореляції між поширеністю тиреоїдиту та ішемічної хвороби серця – $t=0,97$ ($p<0,001$), між поширеністю тиреоїдиту та гіпертонічної хвороби – $t=0,94$ ($p<0,001$), між поширеністю тиреотоксикозу та ішемічної хвороби серця – $t=0,72$ ($p<0,001$), між поширеністю тиреотоксикозу та гіпертонічної хвороби – $t=0,87$ ($p<0,001$), між поширеністю тиреотоксикозу та інфаркту міокарда – $t=0,50$

($p<0,001$), тиреоїдиту – ішемічної хвороби серця – $t=0,97$ ($p<0,001$), тиреоїдиту – гіпертонічної хвороби – $t=0,94$ ($p<0,001$), вузлового зобу – ішемічної хвороби серця – $t=0,99$ ($p<0,001$), вузлового зобу – гіпертонічної хвороби – $t=0,94$ ($p<0,001$), дифузного зобу I ступеню – ішемічної хвороби серця – $t=0,89$ ($p<0,001$), дифузного зобу II-III ступеню – ішемічної хвороби серця – $t=0,95$ ($p<0,001$).

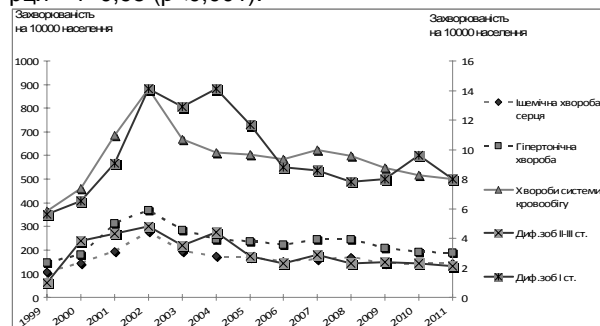


Рис.6. Порівняльна динаміка захворюваності на хвороби системи кровообігу (ліва вісь) та дифузного зобу (права вісь) на 10 тис. населення Полтавської обл. у 1999–2011 роках.

Нарешті, кореляція між загальною захворюваністю на серцево-судинні захворювання та на захворювання ендокринної системи – $t=0,46$ ($p<0,005$), а між поширеністю серцево-судинних захворювань та захворювань ендокринної системи – $t=0,94$ ($p<0,001$).

На тлі потужних кореляцій між поширеністю ендокринних та серцево-судинних захворювань кореляції захворюваності не здаються надто яскравими, але це, імовірно, пояснюється тривалішими у часі реакціями ендокринної системи на спільні пускові чинники, що ілюструє рис. 6. Оскільки хронічні захворювання тривають протягом багатьох років, то накопичені дані (поширеність) корелюють значно краще, ніж короточасні.

Висновки

1. Протягом 1989–2011 років на території Полтавської області спостерігається дія чинників, які однаково здатні викликати як хронічні патології системи кровообігу, так і деякі патології ендокринної системи, передусім дифузний зоб. Індивідуальні (генетично чи поведінково обумовлені) особливості організму та локальні чинники сприяють або відносній резистентності організму, або прояву порушень у певній системі. Водночас вузловий зоб і гіпотиреоз мають істотні відмінності у пускових механізмах.

2. У 2000–2002 роках вплив спільних патогенетичних чинників серцево-судинних захворювань та дифузного зобу був особливо сильним.

3. Захворюваність на хронічні захворювання системи кровообігу (ГХ та ІХС) знижується з 2004 по 2011 рік, так само, як і захворюваність на дифузний зоб.

Література

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – Пер. с англ. – М. - Практика. - 1998. - 459 с.
2. Гончарук Є.Г. Комунальна гігієна. – Комунальна гігієна. – Київ «Здоров'я». – 2003. – 725с.
3. Ларін О.С. Аналіз діяльності ендокринологічної служби України у 2010 році та перспективи розвитку медичної допомоги хворим з ендокринною патологією / О.С. Ларін, В.І. Паньків, М.І. Селіваненко, О.О.Грачова // Між-

- народний ендокринологічний журнал. – 2011. - №3(35). – С.10-18
4. Медико-соціальні аспекти хвороб системи кровообігу: Аналітично-статистичний посібник / За ред. В. М. Коваленка, В.М. Корнацького. – К.: Медінформ, 2009. – 146 с.
5. Славин М.Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях. – М.: Медицина. – 1989. – 302 с.

Summary

INCIDENCE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM PATHOLOGY IN POLTAVA REGION AND ITS RELATIONSHIP WITH DISEASES OF THYROID GLAND

Yu.O. Ishcheykina

Key words: sick rate, cardiovascular illnesses, endocrine pathologies, hypertonic disease, coronary artery disease, Basedow's disease, correlation connections.

The analysis of sick rate dynamics of cardiovascular and endocrine pathologies in Poltava region has revealed strong dynamics of augmentation of all considered pathologies for last 2 decades. The augmentation of prevalence level of blood circulation system chronic diseases sick rate was intercepted in 2002, whereas endocrine disease sick rate continues to grow up to 2004. Later the blood circulation system chronic diseases and Basedow's disease sick rate decreased up to 2011. Powerful correlations between prevalence of endocrine and cardiovascular diseases (but not just between diseases of one system) are defined, which testifies to action of factors which are equally capable to invoke the pathology of vascular, as well as endocrine systems, primarily Basedow's disease.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 21.11.2012 р.

СТОМАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

© Гольденберг Ю. М., Щербатих Л. Ю.
УДК 616.314.17:612.17

ГІПЕРТОНІЧНА ХВОРОБА, ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ УШКОДЖЕНЬ ТКАНИН ПАРОДОНТУ

Гольденберг Ю. М., Щербатих Л. Ю.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В последнее время в клинике внутренних болезней все большее значение приобретает первичная диагностика изменений, которая встречается у больных, страдающих соматическую патологию, в частности гипертонической болезнью. Особый вопрос - это связь состояния внутренних органов и их местных проявлений в удаленных локальных участках, в данном случае в состоянии тканей пародонта. При этом связан генез изменений тканей пародонта с влиянием соматического заболевания, являются ли они проявлением побочных эффектов лекарственных средств или являются маркерами прогрессирования основного заболевания остается мало изученным.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, болезни тканей пародонта.

Розповсюдженість артеріальної гіпертензії у світі у дорослого населення від 450 до 900 млн. (30-40%), а в Україні більш ніж 20 млн. людей (39% чоловіки та 41% жінки). За даними дослідів, гіпертонічна хвороба розвивається у 60% випадків у жінок під час клімаксу. В інших 40% у цей період тиск стійко підвищений, але він приходить у норму, як тільки жінка подолає клімактеричний період. Порушуються нервові та емоційні реакції. Нерідко виникають склеротичні зміни у судинах з ішемією центрів гіпоталамуса та дистрофічними змінами у них, що порушує нормальну регуляцію кровообігу [8]. У чоловіків у віці 20-29 років гіпертонічна хвороба зустрічається в 9,4% випадків, а у 40-49 років вже у 35%. У осіб, що досягнули 60-69-річного віку цей показник зростає до позначки 50%. Причому у віці 40 років чоловіки хворіють на гіпертонічну хворобу дещо частіше, ніж жінки, а потім це співвідношення змінюється у протилежному напрямку. Але неможна вважати гіпертонічну хворобу хворобою старечого віку, так як навіть у людей похилого віку АТ у більшості випадків нормальний, а нерідко дещо знижений [8, 11]. Проблема захворювань тканин пародонта є однією з найбільш актуальних в сучасній стоматології. За даними доповіді наукової групи ВООЗ (1990), заснованою на обстеженні населення 53 країн, у всьому світі має місце високий рівень захворюваності тканин пародонту. У осіб віком 15-19 років захворювання тканин пародонту зустрічається у 55-89%, віком 35-44 років – в 65-98%. У осіб більш старших вікових груп вони досягають 100% [1, 6]. Частота гінгівіту і пародонтиту, різні форми їх прояву, виникнення в порожнині рота вогнищ хронічної інфекції, втрата зубів і як результат порушення працездатності, погіршення пси-

хологічного стану хворих, і, як наслідок, зниження якості життя населення дозволяє вважати захворювання пародонту не лише серйозною медичною, але й важливою соціальною проблемою. На жаль, час від діагностики початкових форм пародонтиту і пародонтозу до їх адекватного лікування виявляється досить тривалим, інколи обчислюється роками. Також низький відсоток звертаємості пацієнтів з первинними ознаками гіпертонії до лікаря-інтерніста призводить до тяжких та майже невиліковних ускладнень цього захворювання. Складність диференціальної діагностики та низька ефективність проведеної терапії [9], відсутність комплексного лікування в повному обсязі призводять до збільшення числа хворих з важкими формами патології пародонта, будучи нерідко причиною його «невиліковності» і як наслідок складається замкнуте коло, між пацієнтом, гіпертонією, депресивним станом від вдаваної «неефективності» лікувальних методів та станом тканин ротової порожнини хворого.

Серед різних форм стоматологічних захворювань хвороби пародонту домінують за своєю частотою, інтенсивністю і руйнівним наслідком для жувального апарату людини [2, 5, 10]. У зв'язку з цим, проблема пошуку ефективних методів лікування запальних захворювань пародонту залишається актуальною і в даний час.

У етіології та патогенезі захворювань тканин пародонту відіграють роль як місцеві фактори, так і загальні. При досягненні 40-45-річного віку у більшості людей, як чоловіків, так і жінок, діагностується щонайменше одне хронічне захворювання [8, 11]. Разом з тим стан порожнини рота залежить від загального стану здоров'я пацієнта. Місцеві механізми хронічно-

го генералізованого пародонтиту в основному зводяться до теорій «бактеріальної бляшки», «травматичної артикуляції» і т. і. Одночасно можна виділити ряд загальносоматичних чинників та системних захворювань, що супроводжують розвиток захворювання: системні імунологічні дисбаланси, мінералодефіцитні стани, обмінні трофічні порушення з погіршенням мікроциркуляції як наслідок наявності у хворих гіпертонічної хвороби, облітеруючого атеросклерозу, хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту, цукрового діабету та інших [10, 11, 13]. Істотне значення в етіопатогенезі захворювань пародонту надається місцевим порушенням кровообігу, залежним від швидкості кровоплину, функціонального та анатомічного стану судин пародонту та різноманітного ураження судин (атеросклеротичні зміни і т. і.) [13]. Таким чином в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту суттєву роль відіграють системні процеси, що призводять до глибоких змін внутрішнього середовища організму і в результаті до структурного ураження тканин пародонту. Особливу роль відводять нейротрофічним порушенням, в тому числі, пов'язаним як із емоційними стресами, так і хронічними емоційними напруженнями [11], на нашу думку, в цьому випадку можна провести паралель між етіологічним чинником гіпертонічної хвороби та хворобами тканин пародонту. Перші клінічні симптоми пародонтиту розвиваються на тлі змін капілярів і появи метаболічних і структурних ознак uszkodження тканин пародонту. Істотне значення при цьому набуває розвиток в білязубних тканинах гіпоксії (Логінова Н. К., 1999, Трегубов І. Д., 2000). Виражені порушення тканинного обміну призводять до погіршення трофіки навколорізубних тканин, розвитку місцевого ацидозу, метаболічних розладів на молекулярному і клітинному рівнях, що, у підсумку, сприяє виникненню і прогресуванню дистрофії і, у подальшому, деструкції кісткової тканини. При гіпоксії в тканинах пародонту сповільнюється видалення метаболітів, що сприяє накопиченню продуктів перекисного окислення ліпідів у тому числі безпосередньо вільних радикалів (Соколова Н. А., 2004). Утворені при перекисному окисненні ліпідів продукти розпаду самі по собі є потужними окислювачами і у великих концентраціях ушкоджують клітини, тим самим посилюючи запальну реакцію і призводячи до деструктивних процесів у них.

Провідним моментом в лікуванні хронічного генералізованого пародонтиту є адекватна діагностика даного захворювання. З цієї метою в клінічній пародонтології часто беруться до уваги лише результати клінічного обстеження хворого (збір анамнезу, зондування пародонтальних кишень, індексна оцінка стану пародонта, спеціальні проби) і результати місцевого рентгенологічного обстеження. Між тим, обмежуватися вивченням лише місцевих змін при даній патології не є обґрунтованим. Незважаючи на широке використання новітніх технологій в стоматологічній практиці [7] не зменшується значимість зіставлення клінічних і біохімічних критеріїв прогресування хронічного генералізованого пародонтиту [4]. У той же час, в клінічній пародонтології застосування біохімічних методів обмежено внаслідок відсутності у практичних лікарів — стоматологів достатньої інформації про можливості цих методів і, у зв'язку із цим правильної інтерпретації отриманих даних. Вивчення кореляційних взаємо-

зв'язків між біохімічними, нейрогуморальними і нейроелектрофізіологічними показниками є найбільш значущими завданнями, обумовлюючи і диференційовані підходи до медикаментозної корекції виявлених змін [2, 6, 10, 13].

Метою нашого дослідження стало вивчення динаміки захворювання серцево-судинної системи гіпертонічної хвороби та її зв'язок зі станом органів порожнини рота. Об'єктом досліджень стали 60 осіб, що знаходились на стаціонарному лікуванні у 4 Міській клінічній лікарні і 50 практично здорових людей. За віком пацієнти були поділені на 2 групи: 40-50 років (57 осіб), 50-60 років (53 особи). Жінок серед них було 38, чоловіків 72.

Діагноз гіпертонічної хвороби у цих хворих був верифікований в стаціонарних умовах з використанням всіх методів обстеження, рекомендованих міжнародними протоколами (це аналіз анамнезу захворювання, фізичне обстеження та застосування клініко-лабораторних методів обстеження). У всіх хворих, що спостерігалися, мала місце гіпертонічна хвороба II ступеня. У 20 хворих рентгенологічно встановлений атеросклероз аорти.

Аналіз стоматологічного статусу починали із зовнішнього огляду, пальпації регіонарних лімфатичних вузлів. При огляді порожнини рота визначали прикус і його аномалії, дефекти зубних рядів, прикріплення вуздечок верхньої і нижньої губ. Відзначали стан слизової оболонки ясен (з ціанотичним відтінком, яскраво-червона або бліда недокріпна). Відзначали ретракцію ясен чи її гіпертрофію, болючість слизової оболонки ясен і відокремлюване з пародонтальних кишень. Глибину пародонтальних кишень оцінювали за допомогою градуйованого зонда. Оцінювали стан протезів, якість пломб, наявність каріозних порожнин, рухливість зубів і оголення коренів, наявність зубних відкладень. Після обстеження визначали індекс гігієни порожнини рота Гріна - Вермільйона ІГВ (1969), індекс РМА (Schour, Massler 1948), пародонтальний індекс ПІ (A. Russel, 1956).

Для об'єктивної оцінки стану кісткової тканини альвеолярного відростка проводилася внутрішньоротова контактна рентгенографія.

Оцінка отриманого матеріалу показала, що при гіпертонічній хворобі II ступеня хронічний катаральний гінгівіт діагностований у 10-ти хворих (16,6 %), у 13-ти хворих (21,6 %) - пародонтит легкого ступеня тяжкості та у 20-ти хворих (33, 2 %) - середнього ступеня тяжкості, у 16-ти - пародонтит важкого ступеня (26,6 %). Таким чином поширеність захворювань пародонта склала 98,3 %.

У контрольній групі хронічний катаральний гінгівіт діагностований у 11-ти пацієнтів (22 %), пародонтит легкого ступеня тяжкості - у 16-ти пацієнтів (35 %), середнього ступеня тяжкості - у 9-ти пацієнтів (18 %), важка форма пародонтиту - у 5-ти пацієнтів (10 %). Поширеність захворювання пародонта склала 82 % ($p < 0, 005$) і перебігала не так важко.

Зубні відкладення відзначалися у 57 (95%) хворих на гіпертонічну хворобу та у 44 (88%) пацієнтів контрольної групи. Деякі хворі скаржилися на сухість в порожнині рота (8 пацієнтів), болючість язика, збочення смаку (4 пацієнти). У багатьох хворих відзначалися обкладений язик, на бічних поверхнях відбитки зубів, що вказувало на наявність набряклості.

Висновки

1. Ступінь та частота ураження тканин пародонту хворих на гіпертонічну хворобу статистично достовірно перевищувала аналогічні показники в осіб контрольних груп відповідного віку.

2. Стоматологічне обстеження як обов'язковий компонент слід включати в програму щорічної диспансеризації хворих на гіпертонічну хворобу, які підлягають диспансерному обліку і / або виконуватися перед оглядом для встановлення (продовження) ступеня обмеження працездатності та групи інвалідності;

3. Додаткові стоматологічні огляди хворих на гіпертонічну хворобу повинні бути обов'язковими перед плановою госпіталізацією в стаціонарні (включаючи стаціонари денного перебування) лікувально-профілактичні заклади терапевтичного і кардіологічного профілю для лікарського тестування, призначення лікарської антигіпертензивної терапії і корекції лікування;

4. Лікарі терапевти — сімейної медицини повинні складати плани лікування хворих із гіпертонічною хворобою із урахуванням стану порожнини рота.

Література

1. Барер Г.М., Лемецкая Т. И. Болезни пародонта. Клиника, диагностика и лечение: Учебно-методическое пособие / Барер Г. М., Лемецкая Т. И. - М.: Медицина, 1996. — 86с.;
2. Безрукова А. П. Пародонтология. / Безрукова А. П. - М.: Медицина, 1999. — 332с.;

3. Боровский Е. В. Заболевания пародонта. / Боровский Е. В. - М.: Медицина, 2003. - 605 с.;
4. Вильдт М. О. Об изменениях внутренних органов у больных пародонтозом. / М. О. Вильдт // Теоретическая и практическая стоматология: Труды стоматологического института. Т. 5. — Москва, 1961. - С. 186-192;
5. Грудянов А. И. Пародонтология: Избранные лекции. / Грудянов А. И. - М.: ОАО «Стоматология», 1997. — 32с.;
6. Данилевський М. Ф., Борисенко А. В. та ін. Захворювання пародонту. // Данилевський М. Ф., Борисенко А. В. та ін. — К.: Здоров'я, 2000. — 460 с.;
7. Прохончуков А. А. Функциональная диагностика в стоматологической практике. / Прохончуков А. А. - М.: Медицина, 1980. - 272 с.;
8. Устищенко Б. В. Сердечно - сосудистая заболеваемость и смертность — статистика по европейским странам (2008)/ Б.В. Устищенко// Medicine Review. — 2009. — Vol. 1(06). — P. 6-12.;
9. Федоров Ю. А. Зубные эликсиры и ополаскиватели в профилактике и лечении заболеваний пародонта / Ю. А. Федоров, В. А. Дрожжина, В. П. Блохин [и др.] // Новое в стоматологии. 2000. №7. — С. 55-64;
10. Цепов Л. М. Заболевания пародонта: взгляд на проблему / Цепов Л. М. — М.: МЕДпресс-информ, 2006. — 192 с.;
11. Arora R. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly in periodontitis: a meta-analysis / R. Arora // Am. Heart J. — 2007. — Vol. 154. — P. 830-837.;
12. Demmer R. and Desvarieux M. The heart of the matter Periodontal infections and cardiovascular disease / R. Demmer and M. Desvarieux // J. Am. Dent. Assoc. — 2006. — Vol. 137. — P. 14-20;
13. Stelzel M. Пародонтит и ишемическая болезнь сердца: обзор. / М. Stelzel, A. Sattler // Квинтэссенция. — 2003. — Т. 50, № 1. — С. 29-34.

Summary

HYPERTENSIVE HEART DISEASE AS A RISK FACTOR FOR PERIODONTAL TISSUES DAMAGES

Yu. M. Goldenberg, L. Yu. Shcherbatykh

Key words: hypertensive disease, disease of periodontal tissues.

Recently, the primary diagnosis of changes which occur in patients with somatic pathology, particular hypertention has become increasingly important in internal diseases clinic. One of the special issues is the connection between the condition of internal organs and their local manifestations in remote local areas, in this particular case, the condition of periodontal tissues. In this case, the genesis of the changes associated with the effect of periodontal tissues of physical illness, whether they are side effects of medications or are markers of the progression of the underlying disease is still poorly investigated.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 15.11.2012 р.

© Скрипник В. М., Аветіков Д. С., Шликова О.А., Кайдашев І. П.
УДК 575.191+616-003.92

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ ЕЛАСТИНУ g28197A>G ВИЗНАЧАЄ СХИЛЬНІСТЬ ДО УТВОРЕННЯ ПАТОЛОГІЧНИХ РУБЦІВ

Скрипник В. М., Аветіков Д. С., Шликова О.А., Кайдашев І. П.

ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Еластин является основным компонентом экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) кожи. Любые структурные, наследственные или приобретенные дефекты и / или нарушения обмена веществ в ЭЦМ могут вызвать клеточные и тканевые изменения, приводящие к развитию или прогрессированию заболевания. С целью определения участия генетических факторов в процессе патологического рубцевания ран изучали полиморфизм g28197A>G в 20 экзоне гена эластина в группах больных, склонных к образованию патологических рубцов, расположенных в функционально активных зонах лица и шеи, и не склонных к образованию патологических рубцов. Обследовано 38 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении после плановых хирургических вмешательств по поводу различных заболеваний, первичной хирургической обработки ран в разных топографо-анатомических областях головы и шеи. По анамнестическим данным и клиническими наблюдениями за процессом рубцевания ран больные были разделены на группы: больные с наличием патологических рубцов (основная группа (n = 18)), что чаще всего расположены в функционально активных зонах лица и шеи, и больные, не имеющие патологических рубцов (группа сравнения (n = 20)). Анализ аллельных частот показал, что аллель G достоверно чаще встречалась в группе больных, склонных к образованию патологических рубцов ($\chi^2 = 5,19$, $p = 0,023$). Выявлено достоверную зависимость между наличием полиморфного аллеля G и повышенным риском образования патологических рубцов (ВШ = 3,58, 95% ДИ = 1,3-9,87, $p = 0,023$). Рассматривая полученные результаты возможно предположить, что наличие у больного мутантной аллели G при миссенс мутации g28197A G в гене ELN является одним из факторов развития склонности к образованию патологических рубцов в процессе рубцевания ран.

Ключевые слова: полиморфизм, гена эластина, патологические рубцы

В теперішній час значні успіхи генетики, розширення структури геному людини, дозволили досягти більшого прогресу у розумінні природи і механізму виникнення ряду патологічних процесів. Одним із сучасних підходів до ранньої діагностики патологічних змін шкіри, формування прогнозу, визначення показання для окремих препаратів і вибору правильної лікувальної тактики є пошук генетичних детермінант розвитку структурних змін компонентів екстрацелюлярного матриксу, а саме еластину [1, 2].

Еластин є білок, що відповідає за характерні пружні властивості багатьох тканин. Еластичність шкіри, легенів і великих кровоносних судин залежить від еластичних волокон в позаклітинному матриксі. Вони складаються з аморфних і мікрофібрилярних компонентів, а аморфний компонент, що включає до 90% зрілого еластичного волокна, складається з еластину. Людський ген еластину (ELN) розміром 45 кб знаходиться на 7q11.2 хромосомі і складається з 34 екзонів [3, 4].

На сьогодні багато дослідженнями підтверджено, що в результаті порушення [5], внутрішньогенних делецій [6] або точкових мутацій [7] в гені еластину, розвиваються такі захворювання як суправальвулярний аортальний стеноз (SVAS), субарахноїдальні анеризми [8], це є одним із факторів розвитку хронічного обструктивного захворювання легень [9]. Показано, що мутації в гені еластину можуть відповідати за порушення пружності в системі еластичних волокон шкіри [10].

Еластин є основним компонентом екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) шкіри. Будь-які структурні, спадкові чи набуті дефекти і / або порушення обміну речовин в ЕЦМ можуть викликати клітинні і тканинні зміни,

що призводять до розвитку або прогресування захворювання [11].

Було показано, що ЕЦМ активно бере участь в клітинних і позаклітинних подіях, які призводять до фіброзу. Фіброз характеризується надмірним накопиченням колагену, еластину та інших компонентів позаклітинного матриксу, і цей процес можна було б порівняти з абераційним загоєнням ран. Націлення вивчення компонентів ЕЦМ на те, як клітини реагують на пошкодження і запальні стимули, є перспективним в якості засобу для запобігання розвитку фіброзу і направлення процесу загоєння ран на відновлення здорової рівноваги [12].

З метою визначення участі генетичних чинників в процесі патологічного рубцювання ран вивчали поліморфізм g28197A>G в 20 екзоні гена еластину у групах хворих, що схильні до утворення патологічних рубців, що розташовані у функціонально активних зонах обличчя та шиї, та не схильних до утворення патологічних рубців.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 38 пацієнтів віком від 18 до 65 років, що знаходилися на стаціонарному і амбулаторному лікуванні після планових хірургічних втручань з приводу різних захворювань, первинної хірургічної обробки ран у різних топографо-анатомічних ділянках голови та шиї на базі Полтавської обласної клінічної лікарні ім. Скліфосовського у відділенні щелепно-лицевої хірургії та 3-ої міської лікарні м. Полтави з 2008 року по 2012 рік. За анамнестичними даними та клінічними спостереженнями за процесом рубцювання ран хворі були розподілені на групи: хворі з наявністю патологічних рубців (основна група (n=18)), що найчастіше розташовані у функціонально активних зонах обличчя та шиї, та хворі, що не мають патологі-

чних рубців (група порівняння (n=20)). Згідно класифікації Резникової А. Є., 1999 [12]. до патологічних рубців відносили гіпертрофічні та келоїдні рубці. Дослідження проводили з наданої письмової згоди пацієнтів на проведення обстеження та ухвали комісії з етичних питань та біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Визначали наявність поліморфізму гену еластину g28197A>G в 20 екзоні (ELN). Проводили дослідження на базі науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Матеріалом для дослідження слугувала периферична кров. Геномну ДНК виділяли за допомогою набору «ДНК-експрес» згідно інструкції фірми виробника (ООО НПФ «Литех», Росія).

Мутантні та «дикі» типи алелей гену *ELN* ампліфікували за допомогою алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції в 35 мкл реакційної суміші, що містила: 2,5 мкл 10 x Буф для ампліфікації; 2 мМ хлориду магнію; 0,2 мМ кожного dNTP; 2,5 од. ДНК-полімерази Tag з додаванням по 5 пкмоль специфічних праймерів та по 5 пкмоль специфічних проб мічених флуоресцентними барвниками FAM і R6G з 5'-кінця і BHQ-1, BHQ-2 з 3'-кінця, відповідно (табл.1).

Таблиця 1
Послідовність специфічних праймерів та специфічних проб

Ген		Послідовність
ELN	Праймери	5'-GGA GTC GGA GGT ATC CCT GG -3' 5'-TGA CTA AGG CTC ACG GGA AAT G-3'
	Проби	(FAM) TG TCC CTG GTG TCG GAG -(BHQ1) (R6G) TG TCC CTA GTG TCG GAG -(BHQ2)

До суміші додавали 20-50 нг геномної ДНК обстежуваних. Ампліфікацію гену *ELN* проводили на детектуючому ампліфікаторі ДТ-322 (ООО „НПО ДНК-Технологія“, Росія) в режимі реального часу, наступним чином: перший цикл - 95°C/2 хвилини; 40 циклів - 95°C/20 секунд; 63°C/40 секунд.

Математична обробка отриманих даних проводилась за допомогою стандартного методу варіаційного аналізу на персональному комп'ютері IBM PC Pentium IV. Аналіз результатів дослідження здійснювався з використанням програм “Microsoft Excel 2003”, “Statistica for Windows. Version 5.0”. Результати генетичних досліджень оброблені статистично з використанням критерію χ^2 з визначенням вірогідності точним методом Фішера. Відмінності вважали вірогідними при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях імовірності помилки $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму g28197A>G гену еластину (ELN) в основній групі хворих наведено в таблиці 2.

Наявність «дикого типу» генотипу спостерігали у 33,3% хворих основної групи, частота гетерозиготного генотипу складала 38,9%, а гомозиготний генотип за мутантною алеллю зустрічався у 27,8% хворих даної групи.

Таблиця 2
Розподіл частот генотипів і алелей поліморфізму g28197A>G гену *ELN* серед хворих основної групи та групи порівняння, % (n).

Генотип, алель	Основна група (n=18)	Група порівняння (n=20)
1	2	3
AA	33,3 (6)	65,0 (13)
AG	38,9 (7)	30,0 (30)
GG	27,8 (5)	5,0 (1)
A	52,8 (19/36)	80,0 (32/40)
G	47,2 (17/36)	20,0 (8/40)

Частоти алелей А і G складали 52,8% та 47,2%, а носіями алелей (співвідношення кількості осіб з даною алеллю до загальної кількості осіб в групі) А і G були 72,2% та 61,1% осіб, відповідно.

Внутрішньогруповий розподіл частот генотипів поліморфізму g28197A>G гену еластину в основній групі хворих відповідав теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга (згідно значенням χ^2 -Пірсона з поправкою Йейтца і G статистики) (табл. 3.).

Таблиця 3
Внутрішньогруповий аналіз розподілу частот генотипів і алелей поліморфізму g28197A>G гена *ELN*

Показник	Основна група (n=18)	Група порівняння (n=20)
1	2	3
χ^2 -Пірсона з поправкою Йейтца, df=1	0,5736	0,0068
Значення G статистики (G)	1,10426	0,004
Число ступенів свободи для G (V)	1,92	0,59
Критичний рівень значення G для $p=0,05$ ($\chi^2(v)$)	5,87	2,55
Частота алелю (p)	0,528	0,8
Частота алелю (q)	0,472	0,2
Гетерозиготність, що спостерігається (Hobs)	0,3889	0,3
Очікувана гетерозиготність (Hex)	0,4985	0,32
Нормоване відхилення Hobs від Hex (коефіцієнт інбридингу популяції) (F)	0,2198	2
Адекватне врахування рідкісних алелей (показник μ)	1,998	0,0625
Частка рідкісних алелей (h)	0,001	1,8
χ^2 -Пірсона з поправкою Йейтца, df=1	0,5736	0,1
Значення G статистики (G)	1,10426	0,0068
Число ступенів свободи для G (V)	1,92	0,004

Спостерігався нерівномірний розподіл алелей, так як показник адекватного врахування рідкісних алелей менше двох ($\mu < 2$), на що також вказував показник частки рідкісних алелей ($h > 0$).

Переважає очікуваної гетерозиготності над гетерозиготністю, що спостерігається, а також позитивний коефіцієнт інбридингу свідчили про недостатність гетерозигот при умові випадкового схрещення і про відхилення від панміксії.

Частота гомозиготного генотипу AA гену *ELN* в групі порівняння складала 65%, гетерозиготний генотип AG зустрічався з частотою 30%, частота мутантного генотипу GG – 5,0 % (табл. 2.). Алель А зустрічалась у

80,0%, а алель G у 20,0% хворих даної групи. Носійство А алелі визначено в 81,5% осіб, а Т алелі – у 65,8%.

Розподіл частот генотипів поліморфізму g28197A>G гену еластину серед хворих групи порівняння відповідав теоретично очікуваному згідно із законом Харді-Вайнберга ($\chi^2=0,0068$, $df=1$) (табл.3.).

При аналізі нормованого відхилення гетерозиготності, що спостерігається (Hobs) від очікуваної (Hex) - коефіцієнт інбридінгу популяції (F) - склав менше 0, що відображає наявність незначної недостатності гетерозигот. Адекватність врахування рідкісних алелів в групі порівняння достатня та відповідає нерівномірному розподілу алелів ($\mu < 2$).

При порівнянні частот генотипів AA, AG та GG між хворими основної групи та групи порівняння було виявлено тенденцію до відмінності. Рівень значущості, що отриманий точним тестом Фішера складав $>0,05$ та $<0,1$ ($p=0,062$) (табл. 2).

Аналіз алейних частот показав, що алель G достовірно частіше зустрічалась в групі хворих, що схильні до утворення патологічних рубців ($\chi^2=5,19$, $p=0,023$) (табл.2.).

Виявлено достовірну залежність між наявністю поліморфного алеля G та підвищеним ризиком утворення патологічних рубців (ВШ = 3,58, 95% ДІ = 1,3-9,87, $p=0,023$).

Розглядаючи отримані результати можливо припустити, що наявність у хворого мутантної алелі G при місенс мутації g28197A>G в гені *ELN* є одним із факторів розвитку схильності до утворення патологічних рубців в процесі рубцювання ран.

Як відомо, еластин спочатку синтезується в тропоеластин, розчинний поліпептид з молекулярною масою ~ 72 кДа. Нормальний тропоеластин багатий неполярними амінокислотами, які складають гідрофобні області, що необхідні для створення пружної властивості волокон. Дослідження показали, що в разі місенс мутації в 20 екзоні, яка складається з однієї нуклеотидної заміни g28197A>G, що відповідає S422G заміщенню у білку, неполярні амінокислоти стають незарядженими, що призводить до зміни гідрофобності тропоеластину. Мінливість в амінокислотній послідовності може змінити тропоеластинову конформацію і викликати синтез дефектних еластинових волокон, порушення фібриллогенезу та спричинити змінену відповідь на ферментативну деградацію [14].

Таким чином, внаслідок накопичення дефектних волокон тропоеластину, при наявності мутантного алелю G в гені *ELN*, відбувається порушення рівноваги в структурі ЕЦМ, тому визначення даного поліморфізму є актуальним для проведення профілактичних заходів вже на ранніх стадіях загоєння післяопераційних ран з метою попередження виникнення патологічних рубців.

Література

1. Кайдашев И. П. Эволюционирование и современное состояние фармакогенетических исследований (часть1) / И. П. Кайдашев, О. А. Шлыкова, О. В. Измайлова // Проблемы экологии та медицины. - 2010. - № 5-6. - С. 3-12.
2. Куценко Н. Л. Связь полиморфизмов генов Toll-подобных рецепторов 2 и 4 с аллергическими заболеваниями с повышенными уровнями специфических иммуноглобулинов Е / Н. Л. Куценко, О. В. Измайлова, Л.Э. Веснина, И. П. Кайдашев // Цитология и генетика. - 2012. - № 6. - С. 59-66.
3. Indik Z. Alternative splicing of human elastin mRNA indicated by sequence analysis of cloned genomic and complementary DNA / [Z. Indik, H. Yeh, Ornstein-Goldstein N., et al.] // Proc. Natl Acad. Sci. USA. - 1987. - Vol. 84. - P. 5680-5684.;
4. P. Brown-Augsburger Functional domains on elastin and microfibril-associated glycoprotein involved in elastic fibre assembly / P. BROWN-AUGSBURGER, T. BROEKELMANN, J. ROSENBLUM., R. P. MECHAM // Biochem. J. - 1996. - Vol. 318. - P. 149 - 155.
5. Curran M.E. The elastin gene is disrupted by a translocation causing supravalvular aortic stenosis / Curran M.E., Atkinson D.L., Ewart A.K., Morris C.A., Leppert M.F., Keating .T. // Cell. - 1993. - Vol. 73. P. 159-168]
6. Ewart A.K., Jin W., Atkinson D., Morris C.A., Keating M.T. Supravalvular aortic stenosis associated with a deletion disrupting the elastin gene. J. Clin. Invest. 1994;93:1071-1077
7. Tassabehji M., Metcalfe K., Donnai D., Hurst J., Reardon W., Burch M., Read .P. Elastin: genomic structure and point mutations in patients with supravalvular aortic stenosis. Hum. Mol. Genet. 1997;6:1029-1036
8. Ruigrok Y.M. Association of polymorphisms and haplotypes in the elastin gene in Dutch patients with sporadic aneurysmal subarachnoid hemorrhage / Ruigrok YM, Seitz U, Wolterink S, Rinkel GJ, Wijmenga C, Urban Z // Stroke. - 2004. - Vol. 35. - P. 2064 -2068
9. Cho Michael H. Analysis of Exonic Elastin Variants in Severe, Early-Onset Chronic Obstructive Pulmonary Disease / [Michael H. Cho, Dawn M. Ciulla, Barbara J. Klanderman, Craig P. et al.] // Am J Respir Cell Mol Biol. - 2009. - Vol. 40(6). - P. 751-755.
10. Graul-Neumann L. M. Highly variable cutis laxa resulting from a dominant splicing mutation of the elastin gene / L. M. Graul-Neumann , I. Hausser , M. Essayie , A. Rauch , C. Kraus // Am J Med Genet A. - 2008.- Vol/146A(8). - P. 977-983
11. Järveläinen H. Extracellular Matrix Molecules: Potential Targets in Pharmacotherapy / Hannu Järveläinen, Annele Sainio, Markku Koulu, Thomas N. Wight , Risto Penttinen // Pharmacological Reviews. - 2009. - Vol. 61, N. 2. - P. 198-223
12. Wight T. N. The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? / Thomas N. Wight and Susan Potter-Perigo // AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY (Gastrointestinal and Liver Physiology). - 2011. - Vol. 301, N. 6. - P. 950-955
13. Резникова А. Е. Клинико-морфологические особенности, лечение и профилактика рубцов лица и шеи у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1999.
14. Elastin (ELN) gene point mutation in patients with inguinal hernia / Consuelo Junqueira Rodrigues, Jin Hwan Yoo and Aldo Junqueira Rodrigues Junior // Genetics and Molecular Biology. - 2006. - Vol. 29, N.1. - P. 45-46.

Summary

POLYMORPHISM g28197A>G GENE DEFINES ELASTIN TENDENCY TO FORM PATHOLOGICAL

Skrypnyk V. M., Avetkov D. S., Shlykova O. A., Kaidashev I. P.

Key words: polymorphism, gene elastin, abnormal scars

Elastin is a major component of the extracellular matrix (ECM) of the skin. Any structural, hereditary or acquired defects and / or metabolism in ECM can cause cell and tissue changes that lead to the development or progression of the disease. To determine the role of genetic factors in the process of pathological scarring wounds studied polymorphism g28197A>G in exon 20 of the gene elastin in groups of patients who are prone to the formation of

pathological scars that are functionally active in the areas of the face and neck, and not prone to the formation of pathological scars. The study involved 38 patients aged 18 to 65 who were in inpatient and outpatient treatment after elective surgical interventions for various diseases, primary surgical treatment of wounds in different topographic and anatomic sites of the head and neck. According to the anamnesis and clinical observations of the process of scarring wounds patients were divided into groups: patients with the presence of pathological scars (study group (n = 18)), which are often situated in functionally active areas of face and neck, and patients with no pathological scarring (comparison group (n = 20)). Analysis of allele frequencies showed that the G allele was significantly more common in patients who are prone to the formation of pathological scars ($\chi^2 = 5,19$, $p = 0,023$). A reliable correlation between the presence of polymorphic allele G and increased risk of formation of pathological scars (HS = 3.58, 95% CI = 1,3-9,87, $p = 0.023$). Considering these results may suggest that the presence of the patient's mutant allele G at misens mutations g28197A>G in the gene ELN is a factor of susceptibility to the formation of pathological scars in the process of scarring wounds.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 21.11.2012 р.

© Ткаченко І.М., Шликова О.А., Кайдашев І.П.
УДК 616.314-001.4 -084-08

ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ КАЛЕКРЕЙНУ-4 ТА МАТРИКСНОЇ МЕТАЛОПРОТЕІНАЗИ-20 У ПАЦІЄНТІВ З ПІДВИЩЕНОЮ СТЕРТІСТЮ ЗУБІВ

Ткаченко І.М., Шликова О.А., Кайдашев І.П.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Еластин является основным компонентом экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) кожи. Любые структурные, наследственные или приобретенные дефекты и / или нарушения обмена веществ в ЭЦМ могут вызвать клеточные и тканевые изменения, приводящие к развитию или прогрессированию заболевания. С целью определения участия генетических факторов в процессе патологического рубцевания ран изучали полиморфизм g28197A>G в 20 экзоне гена эластина в группах больных, склонных к образованию патологических рубцов, расположенных в функционально активных зонах лица и шеи, и не склонных к образованию патологических рубцов. Обследовано 38 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении после плановых хирургических вмешательств по поводу различных заболеваний, первичной хирургической обработки ран в разных топографо-анатомических областях головы и шеи. По анамнестическим данным и клиническими наблюдениями за процессом рубцевания ран больные были разделены на группы: больные с наличием патологических рубцов (основная группа (n = 18)), что чаще всего расположены в функционально активных зонах лица и шеи, и больные, не имеющие патологических рубцов (группа сравнения (n = 20)). Анализ аллельных частот показал, что аллель G достоверно чаще встречалась в группе больных, склонных к образованию патологических рубцов ($\chi^2 = 5,19$, $p = 0,023$). Выявлено достоверную зависимость между наличием полиморфного аллеля G и повышенным риском образования патологических рубцов (ВШ = 3,58, 95% ДИ = 1,3-9,87, $p = 0,023$). Рассматривая полученные результаты возможно предположить, что наличие у больного мутантной аллели G при миссенс мутации g28197A G в гене ELN является одним из факторов развития склонности к образованию патологических рубцов в процессе рубцевания ран.

Ключові слова: мінералізація емалі, підвищена стертість зубів, поліморфізм, матриксні металопротеази, калекреїн.

Підвищена стертість зубів, за даними багатьох науковців, є патологією, поширеність якої складає від 8 до 30% у пацієнтів різних вікових груп [1-3].

Ця патологія розглядається як поліетіологічний прогресуючий процес, без можливості регенерації, який супроводжується цілою низкою морфологічних, естетичних та функціональних порушень здатний значно знижувати якість життя хворих [4,5].

В вітчизняній літературі не зустрічається відомостей, щодо дослідження питання, про те, що морфологія зубів, переважно, зумовлена спадковими факторами, а процес дентиногенезу регулюється багатьма генами. На нашу думку, саме дефекти генетичної ланки при закладці епітеліального органу можуть бути головними чинниками, які зумовлюють порушення структури зубів, що, в свою чергу, провокує розвиток підвищеного стирання зубів на тлі додаткових чинників.

По закінченню морфогенезу тверді тканини зуба на протязі всього життя не оновлюються, біоценоз їхнього внутрішнього середовища підтримується за рахунок пульпи зуба, клітинного цементу, періодонтальних волокон та слини. Тому підвищена стертість зубів може бути проявом порушення закладки насамперед емалі, що можливо в результаті генних мутацій, саме на етапах первинної мінералізації [6].

В матриці емалі зубів, що розвиваються виділяються два типи протеаз. На початку протеаза енамеїзин (MMP-20), наприкінці формування емалі протеаза калекреїн 4 (KLK4). Мутації в MMP20 і KLK4, які є причиною аутосомно-рецесивного недосконалого амелогенезу, приводять до клінічної презентації м'якої (за фізичними характеристиками), пористої емалі, яка не в змозі витримувати функціональні навантаження за рахунок вмісту залишкові кількості біл-

ка. Під час розвитку зубів, протеїнази, що виділяються у міжклітинний простір, розщеплюють білки емалі, і каталізують гідроліз пептидних зв'язків [7-11].

Метою нашого дослідження стало визначення поліморфізму генів калекреїну 4 та матриксної металопротеїнази 20 у пацієнтів з підвищеною стертістю зубів.

Матеріали і методи дослідження

Згідно з Міжнародною класифікацією стоматологічних хвороб (МКХ-С), яка розроблена на базі МКХ-10, патологічні стани твердих тканин зубів підрозділяють на 2 великі групи: «Порушення розвитку і прорізування зубів» (клас - K 00) та «Хвороби твердих тканин зубів» (клас - K 03), які в свою чергу входять до розділу «Хвороби органів травлення» у підрозділ «Хвороби порожнини рота, слинних залоз та щелеп» [12,13]. Для визначення наявності поліморфізмів генів калекреїну 4 в 4 екзоні g.2142 G>A AF228497 (KLK4) та матриксної металопротеїнази - 20 (MMP-20) в 5 екзоні g.16250 T>A NT033899.6 із всієї кагорти обстежених пацієнтів (n=170), методом вибіркової сукупності, обрали 72 пацієнта зі стертістю зубів I-III ступеня: чоловіків 30, жінок 42. Вік пацієнтів складав від 20 до 62 років. Дослідження проводили з наданої письмової згоди пацієнтів на проведення обстеження та ухвали комісії з етичних питань та біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Дослідження проведені на базі науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Матеріалом для дослідження слугувала капілярна кров. Геномну ДНК виділяли за допомогою набору

«ДНК-експрес» згідно інструкції фірми виробника (ООО НПФ «Литех», Росія).

Мутантні та «дикі» типи алелей генів *KLK4* та *MMP-20* ампліфікували за допомогою алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції в 35 мкл реакційної суміші, що містила: 2,5 мкл 10 x Буф для

ампліфікації; 2 мМ хлориду магнію; 0,2 мМ кожного dNTP; 2,5 од. ДНК-полімерази Tag з додаванням по 5 пкмоль специфічних праймерів та по 5 пкмоль специфічних проб мічених флуоресцентними барвниками FAM і R6G з 5'-кінця і BHQ-1, BHQ-2 з 3'-кінця, відповідно (табл.1).

Таблиця 1
Послідовність специфічних праймерів та специфічних проб

Ген		Послідовність
<i>MMP-20</i> NT033899.6	Праймери	up 5'- GCTCTCTCATATTGTCTAGGTTT-3' low 5'-CTGATGGGTCTGTGGAATGGG-3'
	Проби	wt (FAM) CTGCTCATGAATTTGGCCAT-(BHQ1) m (R6G) TGCTCAAGAATTTGGCCATG-(BHQ2)
<i>KLK4</i> AF228497	Праймери	up 5'-TTACTTTCGCAGTGCCCT-3' low 5'-GGCAGACACACACCCGTGA-3'
	Проби	wt (FAM) CTGCTCATGAATTTGGCCAT-(BHQ1) m (R6G) TGCTCAAGAATTTGGCCATG-(BHQ2)

До суміші додавали 20-50 нг геномної ДНК обстежуваних. Ампліфікацію генів *KLK4* та *MMP-20* проводили на детектуючому ампліфікаторі ДТ-322 (ООО „НПО ДНК-Технология”, Росія) в режимі реального часу, наступним чином: перший цикл - 95°C/3 хвилини; 40 циклів - 95°C/15 секунд; - 63°C/40 секунд.

Продукти ампліфікації генів *KLK4* та *MMP-20* ідентифікували за допомогою флуоресцентної реєстрації накопичення ДНК за каналами флюоресценції: 1 канал – барвник FAM; 2 – канал барвник R6G, безпосередньо в ході реакції.

Математична обробка отриманих даних проводилась за допомогою стандартного методу варіаційного аналізу на персональному комп'ютері IBM PC Pentium IV. Аналіз результатів дослідження здійснювався з використанням програм “Microsoft Excel 2003”, “Statistica for Windows. Version 5.0”. Результати генетичних досліджень оброблені статистично з використанням критерію χ^2 з визначенням вірогідності точним методом Фішера. Відмінності вважали вірогідними при

загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях імовірності помилки $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що з 72 обстежених пацієнтів з підвищеною стертістю зубів 27 осіб мали I ступінь тяжкості захворювання (37,5%), II ступінь тяжкості - 39 пацієнтів (54,2%), III ступінь тяжкості спостерігалась у 6 пацієнтів (8,3%).

При аналізі наявності поліморфізму гену матриксної металопротеїнази 20 (*MMP-20*) в 5 екзоні g.16250 T>A гетерозиготний генотип ТА було виявлено лише у 1 пацієнта з усієї когорти досліджених, частота зустрічаємості - 1,4%, не виявлено пацієнтів з гомозиготним варіантом генотипу за мутантною алеллю.

Розподіл частот генотипів та алелей гену *KLK4* у пацієнтів з підвищеною стертістю зубів в залежності від тяжкості захворювання наведено в таблиці 2 та 3.

Таблиця 2
Розподіл частот генотипів поліморфізму g.2142 G>A гену *KLK4* в залежності від ступеня тяжкості захворювання в групі пацієнтів з підвищеною стертістю зубів.

Ступінь тяжкості Стертості зубів	Генотипи			p		
	GG, %(n)	GA, %(n)	AA, %(n)	(I-II)	(II-III)	(I-III)
I (n=27)	85,2 (23)	14,8 (4)	0 (0)	0,328	0,163	0,031
II (n=39)	74,8 (28)	23,0 (9)	5,2 (2)			
III (n=6)	33,3 (2)	50,0 (3)	16,7 (1)			

p – порівняння між генотипами GG та GA+AA

Як видно з таблиці 2, при дослідженні поліморфізму g.2142 G>A гену *KLK4* у пацієнтів з I ступенем підвищеної стертості зубів частота «дикого типу» генотипу GG складала 85,2% (n=23), гетерозиготного генотипу GA - 14,8% (n=4), мутантний генотип AA – не виявлений. У пацієнтів з II ступенем генотип GG зустрічався з частотою 74,8% (n=28), генотипи GA та AA з частотою 23,0% (n=9) та 5,2% (n=2), відповідно. У 6 пацієнтів з III ступенем підвищеної стертості зубів ча-

стота генотипів гену *KLK4* була наступною: GG – 33,3% (n=2), GA - 50% (n=2), AA – 16,7% (n=2). Наведені дані доводять, що в групі з I ступенем підвищеної стертості зубів превалюють пацієнти з «диким типом» генотипу GG, а в групі з III ступенем – пацієнти з генотипами GA та AA. Тобто, між частотами генотипів GG та генотипів GA та AA гену *KLK4*, даних груп, була виявлена різниця на рівні статистичної значущості ($\chi^2 = 4,64$; $p = 0,031$).

Таблиця 3

Розподіл частот алелів поліморфізму g.2142 G>A гену *KLK4* в залежності від ступеня тяжкості захворювання в групі пацієнтів з підвищеною стертістю зубів.

Ступінь тяжкості стертості зубів	Алелі		P		
	G, %(n)	A, %(n)	(I-II)	(II-III)	(I-III)
I (n=27)	92,6 (50/54)	7,4 (4/54)	0,195	0,103	0,008
II (n=39)	83,3 (65/78)	16,7 (3/78)			
III (n=6)	58,3 (7/12)	41,7 (5/12)			

p – порівняння між алелями G та A.

Алель G в групах пацієнтів з I та II ступенем підвищеної стертості зубів зустрічалась з частотою 92,6% та 83,3%, відповідно, а алель A – 7,4% та 16,7%, відповідно, що не мало статистично значущої відмінності. В групі пацієнтів з III ступенем підвищеної стертості зубів алель A зустрічалась достовірно частіше в порівнянні з групою пацієнтів з I ступенем підвищеної стертості зубів ($\chi^2 = 4,64$; ВШ=8,93; ДІ(95%)=1,92-41,41; p=0,008) (табл.3).

Таким чином, між частотами генотипів груп пацієнтів з I та II ступенем тяжкості статистично вірогідної різниці не виявлено, при порівнянні генотипів GG та GA+AA гену *KLK4* [14,15]. Не виявлено також вірогідної різниці між пацієнтами II та III груп за даними генотипами. Але по розподілу частот генотипів GG та GA+AA та алелів G та A між групою пацієнтів з I ступенем та пацієнтів з III ступенем підвищеної стертості зубів встановлено вірогідні відмінності, при p<0,05. Саме у носіїв алелі A поліморфізму g.2142 G>A гену *KLK4* спостерігаються більш тяжкі прояви підвищеної стертості зубів.

З усієї когорти досліджених, незалежно від ступеня тяжкості підвищеної стертості зубів, в 98,6% зустрічається «дикий тип» генотипу гену *MMP-20* та лише у 1 пацієнта, саме з тяжким III ступенем підвищеної стертості зубів, спостерігається наявність мутантної алелі A поліморфізму g.16250 T>A гену *MMP-20*. Отримані дані співпадають з даними літератури про досить низьку частоту зустрічаємості даної мутації та її асоціації з деструктивними змінами тканин зубів [16].

До теперішнього часу неможливо встановити сильного кореляційного зв'язку між прогресуючою втратою твердих тканин зубів і будь-яким одним енд- чи екзогенним фактором. Прямі, середньої сили зв'язки з низькою чинників указують на поліетіологічність патологічного стирання твердих тканин зубів. При цьому місцеві чинники, як фізіологічні, так і патологічні, в ролі абразивного фактора, діючи на ерозійну поверхню зубів, унаслідок розладів у окремих системах організму здатні призвести до надмірної втрати твердих тканин.

Таким чином, отримані нами дані підтверджують зв'язок між наявністю поліморфної алелі A гену *KLK4* з підвищеною стертістю зубів. Ці дані дозволяють розглядати даний поліморфізм в якості додаткового прогностичного показника надмірної втрати твердих тканин зубів.

Отже, виявлення мутантної алелі A гену *KLK4* дає змогу цілеспрямовано проводити профілактику та лікування пацієнтів з підвищеною стертістю зубів.

Література

1. Каламкарров Х.А. Ортопедическое лечение патологической стираемости твердых тканей зубов / Х.А. Калам-

- каров - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 176 с.
2. Кобелева В.И. Распространенность некоторых некариозных поражений зубов у взрослого городского населения / В.И. Кобелева // Основные стоматологические заболевания. - М., 1981. - С.70-72.
3. Лебедева Г.К. Повышенное истирание зубов у людей старшей возрастной группы / Г.К. Лебедева, А.Н. Пак // Стоматология. -1991. - № 3. - С.13-15.
4. Баля Г. Н. Степень нарушения в жевательном аппарате при генерализованных формах патологического истирания зубов, осложненных дефектами зубных рядов / Г. Н. Баля // Український стоматологічний альманах. – 2006. – № 1. – С. 11–14.
5. Рубежова Н.В. Особенности клинического лечения и лечения больных с эрозиями, клиновидными дефектами и повышенной стираемостью зубов: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Н.В. Рубежова; Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования. – Санкт-Петербург, 2000. – 21с.
6. Ткаченко І.М. Структурні особливості емалі при підвищеній і фізіологічній стертіості зубів / І.М. Ткаченко // Український стоматологічний альманах. – 2011. - №6. – С.15-21.
7. Koussoulakou D.S. A Curriculum Vitae of Teeth: Evolution, Generation, Regeneration / Koussoulakou D.S., Margaritis L.H., Koussoulakos S.L. // Int. J. Biol. Sci.- 2009. - Vol.5, N 3. - P. 226-243.
8. Mouse models of tooth abnormalities / J. Fleischmannova, E. Matalova, A.S. Tucker , P.T. Sharpe // Eur J Oral Sci. - 2008. - Vol.116, N 1. - P.1-10.
9. Mostowska A. Molecular basis of non-syndromic tooth agenesis: mutations of MSX1 and PAX9 reflect their role in patterning human dentition / Mostowska A., Kobiela A., Trzeciak W.H. // Eur J Oral Sci. - 2003. - Vol. 111, N 5. - P.365-370.
10. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 2: syndromes with significant dental involvement / I. Baillet-Forestier, A. Berdal, F. Vinckier et al. // Eur J Med Genet. - 2008. - Vol.51, N 5. - P.383-408.
11. Functions of *KLK4* and *MMP-20* in dental enamel formation. / Lu Y, Papagerakis P, Yamakoshi Y, Hu JC, Bartlett JD, Simmer JP. // Biol Chem. 2008 Jun;389(6):695-700.
12. Международная классификация стоматологических болезней на основе МКБ 10 // ВОЗ. - Женева, 1997. - 81с. Методы, и программы профилактики основных стоматологических заболеваний // ВОЗ. - Женева, 1989. - 47с.
13. Мустатаева, М.Т. Обоснование общих принципов стандартизации; клинических вариантов диагностики и лечения заболеваний в стоматологии / М.Т. Мустатаева, О.М. Мирзабеков, Т.К. Сулеев и др. // Проблемы стоматологии. - 2001. - №3(13).
14. Expression, structure, and function of enamel proteinases. /Simmer JP, Hu JC.// Connect Tissue Res. 2002. – Vol. 43(2-3) - P.441-9.
15. Kallikrein-related peptidase 4, matrix metalloproteinase 20, and the maturation of murine and porcine enamel. / Hu Y, Hu JC, Smith CE, Bartlett JD, Simmer JP.// Eur J Oral Sci. 2011 Dec;119 Suppl 1:217-25. doi: 10.1111/j.1600-0722.2011.00859.
16. Ozdemir D. *MMP20 Active-site Mutation in Hypomaturation Amelogenesis Imperfecta* / P.S. Hart, O.H. Ryu, S.J. Choi, M. Ozdemir-Karatas, E. Firatli, N. Piesco, and T.C. Hart //J Dent Res. – 2005. – Vol. 84, N11. – P. 1031–1035.

Summary

GENE POLYMORPHISM KALEKREIN-4 AND MATRIX METALLOPROTEINASES-20 WAS ASSOCIATED WITH INCREASED WEAR OF THE TEETH

I.M. Tkachenko, O. A. Shlykova, I. P. Kaidashev

Key words: enamel mineralization, increased stertist teeth, polymorphism, matrix metalloproteinase, kalekrein.

Increased wear of the teeth, according to many scientists, is the pathology, the prevalence of which is 8 to 30% in patients of different age groups. This pathology is seen as polietilogichesky progressing process, without the possibility of regeneration, which is accompanied by a number of morphological, aesthetic and functional disorders and is able to significantly reduce the quality of life of patients. Investigated the presence of polymorphisms of genes kallekreina 4 (KLK4) in exon 4 g.2142 G> A (AF228497) and matrix metalloproteinase - 20 (MMP-20) in exon 5 g.16250 T> A (NT033899.6) in 72 patients with abrasion teeth I-III degree: men 30, women 42. The patients' ages ranged from 20 to 62 years. Significant difference frequency distribution of genotypes GG and GA + AA and A and G alleles between the group of patients with Grade I and III patients with a high degree of abrasion of teeth ($p < 0.05$). It is in the carriers of allele A polymorphism g.2142 G> A gene KLK4 observed more severe manifestations of increased abrasion of teeth. These data allow us to consider this polymorphism as an additional predictor of excessive loss of dental hard tissues.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 21.11.2012 р.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Абрамова К.В.

УДК 616.72 – 002.72: 579.01.8:616-097. 575

**ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ
АРТРИТОМ НА ФОНЕ НПВП-ГАСТРОПАТИИ***Абрамова К.В.*

ГУ "Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского", г. Симферополь

Метою цієї роботи було вивчення генетичного поліморфізму Asp299Gly Toll-like рецепторів 4 типу та рівня експресії CD14 і LPS Fitc рецепторів на клітинах моноцитарно-макрофагального ряду у хворих на ревматоїдний артрит (РА) з супутньою НПВП-гастропатією (НПВП-ГП) та виразковою хворобою. Було встановлено вірогідне підвищення експресії CD14 та LPS Fitc у хворих на РА з супутньою НПВП-ГП та виразковою хворобою, що характеризує високу готовність даних клітин до прозапальної цитокінової відповіді на ендотоксинний (ЕТ) стимул. Відсоток хворих з гомозиготним варіантом гена Asp299Gly Toll-like рецепторів 4 типу у хворих на ревматоїдний артрит з супутньою НПВП-гастропатією та виразковою хворобою вірогідно вище ніж у групі порівняння, що є умовою для гіперреспондерної відповіді на ЕТ.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, НПВП-гастропатія, ендотоксин-зв'язуючі рецептори.

Длительное применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) при ревматоидном артрите (РА) способно приводить к развитию НПВП индуцированной гастропатии (ГП) [11]. Развитие НПВП-ГП вообще, и у больных РА в частности, может являться своеобразным клиническим маркером дефектности мукозального барьера желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), приводящего к избыточной транслокации в порталную кровь такого мощнейшего провоспалительного фактора, каковым и является эндотоксин (ЭТ) грамотрицательной флоры кишечника [2]. Взаимодействие ЭТ с клетками макрофагального моноцитарного ряда опосредуется через CD14 рецепторы и Toll-like рецепторы 4 типа (TLR 4) [3, 8]. Иммуногенетические исследования последнего десятилетия дали возможность выявлять полиморфизм TLR 4, что позволяет выделять лиц из общей популяции с генетически детерминированным повышенным ответом на ЭТ стимул [9]. Учитывая вышеизложенное, логично предположить, что НПВП гастро и энтеропатии, за счет повышенной транслокации ЭТ в порталный кровоток, могут приводить у больных РА к «ускользанию» эффекта базисной терапии, более тяжёлому течению, высокой степени активности РА, а также объяснить существование резистентных к терапии клинических субтипов РА. Поэтому изучение у больных РА с ГП иммуногенетических маркеров клеточного ответа на ЭТ, состояния клеточной рецепции к ЭТ представляется нам целесообразным и актуальным вопросом.

Целью настоящего исследования было изучение экспрессии эндотоксин-связывающих рецепторов (ЭТ-Р) CD14 и LPS Fitc на моноцитах, гранулоцитах и полиморфизма гена Aspy299Gly TLR 4 типа у больных РА с сопутствующей НПВП-ГП и язвенной болезнью (ЯБ).

Материалы и методы исследований

Обследовано 92 пациента с РА (12 чел (11%) мужчин, 80 чел (89%) женщин), возрастом от 19 до 68 лет. Средний возраст больных - $47 \pm 1,89$ л. Длительность заболевания от 1 года и до 20 лет. Все пациенты находились на стационарном лечении в ревматологическом отделении КРУ «КБ им. Н.А. Семашко» г. Симферополя. Диагноз РА устанавливали по критериям ACR (Американская Коллегия Ревматологов) [1,4]. Основными клиническими проявлениями являлись боль (при пальпации и движении), припухлость поражённых суставов, утренняя скованность в суставах от 30 минут до 2-х часов, ограничение подвижности суставов. Для объективного обследования суставов использовался стандартный опросник HAQ. По данным рентгенологического исследования были выявлены типичные для РА изменения. Рентгенологическую стадию определяли по модифицированному методу Steinbrocker. Критерием отбора в клинические группы был регулярный прием НПВП (больные получали селективные ингибиторы ЦОГ2 (с-ЦОГ2)- мелоксикам, нимесулид), симптомы желудочной диспепсии, вследствие чего, всем больным было проведено фиброэзофагогастродуоденоскопическое (ФЭГДС) исследование с прицельной биопсией и уреазным тес-

том. Диагноз ГП, ЯБ устанавливали по данным ФЭГДС с биопсией слизистой оболочки, проведением быстрого уреазного теста (для определения *H.pylori*) и иммуногистохимического исследования биоптатов [12].

Все пациенты были распределены на 3 клинические группы в зависимости от наличия НПВП ГП по данным ФЭГДС при отрицательном тесте на *H.pylori*. В 1 группу (сравнения) вошли больные РА без ГП ($n=18$). Во 2 группу вошли больные РА с НПВП-ГП ($n=57$), 3 группу составили больные РА с ЯБ (*H.pylori* негативной) ($n=17$). Всем больным определялся индекс DAS 28. Все пациенты в качестве базисной терапии получали метотрексат в стандартной дозировке 10-20 мг/нед. Группа больных, которые получали мелоксикам составила 28 человек, нимесулид - 46 человек. Глюкокортикоидные препараты (ГКС) перорально (медрол 8 мг/сут) получали 28 больных. Контрольную группу составили 23 здоровых донора, соответствующих группам больных РА по возрастному диапазону, половому распределению и национальной принадлежности.

Материалом исследования служила периферическая кровь, которую получали при поступлении больного на стационарный этап лечения. Определение ЭТ-Р CD14 и LPS Fits на моноцитах и гранулоцитах периферической крови проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии с помощью проточного лазерного цитофлуорометра PAS III (Partec GmbH, Munster, Germany), используя в качестве флуоресцентных зондов конъюгат липолисахарида (ЛПС, эндотоксина) *Escherichia coli* K235 с флуоресцеинизотиоцианатом (ЛПС-ФИТЦ) и моноклональных антител к антигену CD14, конъюгированных с фикоэритрином (IOtest® анти-CD14-PE; Clone RMO52, Immunotech Coulter Co., France) с использованием протоколов, разработанных в лаборатории клинической иммунологии Крымского государственного медицинского университета [5]. Уровень экспрессии CD14 и LPS Fits выражали в условных единицах флуоресценции (усл.ед.флуор.). Полиморфизм гена Asp299Gly гена TLR4 был изучен у 37 больных РА. С целью изучения аллелей полиморфного участка Asp299Gly гена TLR4 выделяли геномную ДНК из венозной крови обследуемых методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфный участок ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы MedStat (серийный № MS0011) ДНПП ТОВ Альфа Донецк.

Результаты и их обсуждение

Данные о причинном факторе НПВП ГП у больных РА представлены в таблице 1.

Таблица 1
Частота развития НПВП-ГП и ЯБ у пациентов, получающих селективные ЦОГ2.

НПВП	Количество больных РА с НПВП-ГП	Количество больных РА с ЯБ
Мелоксикам	71,4% (20 чел)	28,6% (8 чел)
Нимесулид	73,9% (34 чел)	26,1% (12 чел)

Как следует из полученных результатов в таблице 1, убедительных данных о превалировании того или иного НПВП препарата в индукции ГП и ЯБ при РА не выявлено.

В таблице 2 приведен статистический анализ частоты развития ГП и ЯБ в зависимости от приема ГКС.

Таблица 2
Частота развития НПВП-ГП и ЯБ у пациентов, получающих ГКС.

Больные РА	Количество больных РА с НПВП-ГП	Количество больных РА с ЯБ
Получающие ГКС (медрол 8 мг/сут)	71,4% (20 чел)	28,6% (8 чел)
Неполучающие ГКС	73,9% (34 чел)	26,1% (12 чел)

При сравнительном анализе полученных данных, представленных в таблице 2, не выявлено достоверных различий в развитии НПВП-ГП и ЯБ у пациентов, получающих ГКС и не получающих ГКС.

В таблице 3 приведены данные изучения индекса DAS 28 в группах больных с РА.

Таблица 3
Индекс активности РА по DAS 28.

Группа	$M \pm m$
1 группа $n=18$	$3,68 \pm 0,09$
2 группа $n=57$ p_{1-2}	$5,30 \pm 0,18$ $<0,001$
3 группа $n=17$ p_{1-3} p_{2-3}	$5,43 \pm 0,09$ $<0,001$ $>0,5$

Примечание: p_{1-2} – достоверность различий между соответствующим показателем 1 и 2 групп больных РА.

p_{1-3} – достоверность между соответствующим показателем 1 и 3 групп больных РА.

p_{2-3} – достоверность между соответствующим показателем 2 и 3 групп больных РА.

У больных без сопутствующей ГП индекс DAS 28 составил – $3,68 \pm 0,09$, что соответствует умеренной степени активности, во 2 группе с сопутствующей НПВП-ГП – $5,30 \pm 0,18$, в третьей группе с ЯБ соответственно $5,43 \pm 0,09$. Как видно из таблицы 3, у больных 2 и 3 клинических групп индекс активности РА по DAS 28 достоверно выше чем в 1 клинической группе ($p < 0,001$). Достоверных различий между 2 и 3 клиническими группами не выявлено ($p > 0,5$). Следовательно, можно предположить, что развитие НПВП-ГП и ЯБ у больных РА ассоциируется с более тяжелым течением основного заболевания.

Таблица 4
Уровень экспрессии CD14 и LPS Fitc на моноцитах и гранулоцитах периферической крови больных РА без ГП, сопутствующей НПВП-ГП, ЯБ (усл.ед.флуор.)

Показатель	Статистический показатель	1 группа n=18	2 группа n=57	3 группа n=17	Контрольная группа n=15
CD 14 на моноцитах	Me ± m	29,9±2,59 p>0,05 p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,01	33,9±1,44 p<0,01	38,6±3,91 p<0,01	25,7±1,92
CD 14 на гранулоцитах	M ± m	0,655±0,02 p=0,58 p ₁₋₂ <0,01	0,993±0,05 p=0,10	0,842±0,04 p=0,96	0,79±0,03
LPS Fitc на моноцитах	M ± m	2,278±0,10 p>0,05 p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,01	3,348±0,15 p<0,01	4,037±0,18 p<0,01	1,959±0,14
LPS Fitc на гранулоцитах	M ± m	0,992±0,03 p=0,64 p ₁₋₂ <0,01; p ₁₋₃ <0,01	1,277±0,04 p=0,39	1,361±0,08 p=0,18	1,127±0,04

Примечание: p- достоверность различий с контрольной группой
p₁₋₂-достоверность различий между соответствующим показателем 1 и 2 групп больных РА
p₁₋₃-достоверность между соответствующим показателем 1 и 3 групп больных РА.

Анализируя данные, представленные в таблице 4 следует, что экспрессия CD 14 рецепторов на моноцитах у больных всех клинических групп достоверно повышена по сравнению с группой здоровых лиц (p<0,05 и p<0,01 по критериям Данна). При сравнительном анализе уровня CD 14 на моноцитах в крови больных РА установлено, что наличие ЯБ сопровождается достоверным повышением экспрессии CD 14 рецепторов в крови по сравнению с больными РА без ГП и составляет соответственно 38,6±3,91 усл.ед.флуор. (p<0,01). При анализе уровня CD 14 рецепторов на моноцитах у больных 1 и 2 клинических групп не выявлено статистически достоверных отличий между группами (p>0,05).

Как следует из представленных данных, у больных РА в 1, 2 и 3 клинических группах уровень CD 14 рецепторов на гранулоцитах достоверно не отличается от величины этого показателя в контрольной группе. При этом, у больных РА во 2 клинической группе экспрессия CD 14 рецепторов на гранулоцитах достоверно повышена по сравнению с 1 клинической группой и составляет 0,993±0,05 усл.ед.флуор. (p<0,01).

Вместе с тем, статистически значимых различий данного показателя между 2 и 3 клиническими группами больных РА не выявлено.

Уровень LPS Fitc на моноцитах в 1 клинической группе достоверно не отличается от уровня этого показателя в контрольной группе (p>0,05), а у больных 2 и 3 клинических групп изучаемый показатель достоверно повышен по сравнению с группой контроля (p<0,01). При анализе данных, представленных в таблице, выявлено повышенный уровень LPS Fitc на моноцитах у больных 2 и 3 клинических групп по сравнению с 1 клинической группой (p₁₋₂<0,01; p₁₋₃<0,01). Изучение уровня LPS Fitc на гранулоцитах не выявило достоверных различий в клинических группах по сравнению с группой здоровых лиц. Однако, было выявлено достоверное снижение уровня LPS Fitc на гранулоцитах в 1 клинической группе по сравнению со 2 и 3 клиническими группами (p₁₋₂<0,01; p₁₋₃<0,01).

В таблице 5 представлены результаты изучения распространённости полиморфизма TLR 4 у больных РА с НПВП – ГП и ЯБ.

Таблица 5
Распространённость полиморфизма Asp299Gly TLR 4 у больных РА на фоне НПВП-ГП и ЯБ

Генотип	1 группа n=11 (абс., %)	2 группа n=20 (абс., %)	3 группа n=6 (абс., %)	Контрольная группа n=23 (абс., %)
GG	1 (9,1)*	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AG	4 (36,4)*	0 (0)*	0 (0)*	1 (4,35)
AA	6 (54,5)*	20 (100)	6 (100)	22 (95,6)

* p<0,05 в сравнении с контролем

Как следует из данных представленных в таблице 5, у больных РА во всех клинических группах, как и в группе здоровых доноров, выявлена высокая частота встречаемости гомозиготного варианта (AA) гена Asp299Gly. Гетерозиготный вариант (AG,GG) гена Asp299Gly TLR 4 типа выявлен только у больных 1 клинической группы и достоверно выше по сравнению

с группой контроля (p<0,05), что, как известно, является условием гипореспондерного ответа на ЭТ [9].

Несмотря на широкое применение для лечения РА болезньюмодифицирующих препаратов, НПВП продолжают оставаться основными симптоммодифицирующими средствами [4]. Как известно, НПВП обладают рядом побочных эффектов, среди которых

наиболее распространёнными являются поражение мукозального барьера гастродуоденальной зоны [12]. НПВП способны изменять продукцию медиаторов воспалительной реакции путём снижения синтеза простагландинов, повышения синтеза фактора некроза опухоли-альфа (ФНО α) и лейкотриенов, что сопровождается увеличением нейтрофильно-эндотелиальной адгезии (повышение уровня экспрессии β 2-интегриновых рецепторов CD11/CD18 и молекулы клеточной адгезии ICAM-1), что в конечном итоге ведёт к снижению кровоснабжения слизистой оболочки и, как исход, развитие НПВП-индуцированной ГП и ЯБ [12]. Повреждение мукозального барьера создаёт условия для транслокации различных ксенобиотиков в портальную кровь. Одним из таких факторов является ЭТ грамотрицательной флоры кишечника. Так, Castaneda et al, в исследовании показали, что большое количество ЭТ может приводить к геморрагическому повреждению слизистой оболочки желудка [7].

Решающую роль в распознавании ЭТ играют CD 14 рецепторы на макрофагальных клетках, которые, не имея внутрицитоплазматического домена, передают сигнал TLR, преимущественно TLR4 типа [8]. TLR4 типа являются филогенетически рецепторами для распознавания патоген-ассоциированных молекул, липополисахарида (ЛПС) и играют чрезвычайно важную роль во врождённом и приобретённом иммунитете. Взаимодействие TLR и их лигандов инициирует активацию сигнальных путей, что приводит к активации генов ответственных за развитие провоспалительных реакций, таких как ген ФНО α , интерлейкины 1,6,12, NF κ B и других [8]. Следовательно, нарушение реализации сигналов через TLR может приводить к нарушению функции и развитию отклонений в иммунной системе.

Hamprecht A. в своих работах исследовала ассоциацию РА с генетическим полиморфизмом рецептора TLR2 G2408A, полиморфизмом рецептора TLR9 T1237C и T1486C. Было сделано предположение, что полиморфизм рецептора TLR9 T1486C может влиять на характер течения РА, поскольку у людей с С-аллелью отмечался значительно выше уровень RF-антител, по сравнению с пациентами, которые не являются носителями С-аллеля [6]. Можно предположить, что у пациентов с аутоиммунными заболеваниями имеются изменения и нарушения в Toll-сигнальных системах, что является одним из звеньев патогенеза данных заболеваний.

Как известно, мембранная форма CD 14 рецептора определяет провоспалительный ответ преимущественно клеток моноцитарно-макрофагального ряда на ЭТ, связанный с плазменным белком LBP (липополисахарид связывающий белок) [8]. Полученные нами данные свидетельствуют о повышении экспрессии данных рецепторов на моноцитах при РА, что определяет их повышенный провоспалительный ответ на данный стимул. LPS- Fitc комплекс, позволяет охарактеризовать другие типы рецепторных структур на клетках, которые осуществляют рецепцию ЭТ. К таким рецепторам могут быть отнесены так называемые сканенджер рецепторы CD11 a,b,c/CD18, лектин-подобные рецепторы, HSC70, HSP90 α , CXCR4, GDF5 и другие. В условиях нормы, данные рецепторы могут выполнять функции нейтрализации ЭТ. В условиях патологии, данные рецепторы могут вместе с CD14

рецептора приводить к активации NF- κ B и потенцировать ЭТ индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов, экспрессию молекул адгезии и др. [3]. Таким образом, повышение экспрессии данных рецепторов у больных с сопутствующей ГП, по сравнению с группой больных РА без сопутствующей ГП, а также более частая встречаемость гомозиготного варианта полиморфизма Asp299Gly TLR4 типа свидетельствует о том, что развитие НПВП-ГП при этом заболевании ассоциируется с более выраженной готовностью провоспалительного ответа на ЭТ. Это подтверждает потенциальное участие ЭТ в патогенезе данного клинического варианта течения РА.

Выводы

1. У всех больных РА зарегистрировано достоверное повышение экспрессии CD14 ($p < 0,05$ и выше). Вместе с тем, при сопутствующей гастропатии экспрессия LPS Fitc на клетках моноцитарно-макрофагального ряда и гранулоцитах периферической крови достоверно выше диапазона нормы ($p < 0,01$).

2. Наличие ГП у больных РА ассоциируется с более высокими показателями экспрессии ЛПС рецепторов, чем у больных без гастропатии. Так, во 2 и 3 клинических группах достоверно выше такие показатели как уровень CD 14 рецепторы и LPS Fitc на моноцитах и гранулоцитах, достоверно выше соответствующих показателей 1 группы больных РА без сопутствующей ГП.

3. Установлено, что большинство больных РА (от 54,5% до 100 %) являются носителями гомозиготного варианта (AA) Asp299Gly Toll-like рецепторов 4 типа, что, как известно, ассоциируется с гиперреспондерным ответом на ЭТ.

4. Носители гетерозиготного варианта (AG,GG) гена Asp299Gly Toll-like рецепторов 4 типа значительно чаще встречаются в группе больных РА без сопутствующей ГП.

5. Учитывая, иммуногенетические факторы у больных РА с НПВП ГП предрасполагающие к гиперреспондерному клеточному ответу на ЭТ, патогенетически оправданным у данной категории больных РА является разработка методов направленных на консолидацию мукозального антиэндотоксического барьера для уменьшения воздействия ЭТ на иммунные структуры ассоциированные со слизистыми оболочками желудочно-кишечного тракта.

Литература

1. Коваленко В.Н. Ревматоидный артрит: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение // Ліки України. – 2005. – №1. – С. 24-26.
2. Yakovlev M. Element of endotoxin theory of human physiology and pathology: systemic endotoxemia, endotoxin aggregation and endotoxin insufficiency // J.Endotoxin Research. – 2000. – Vol. 16, N2. – P.120-122.
3. Heine H., Rietschel E.T., et.al. The biology of endotoxin. // Mol. Biotechnol. – 2001. – Vol.19. N 3. – P.279-296.
4. Насонов Е.Л. Новые направления в лечении ревматоидного артрита // Ревматол., иммунол. – 2003. – №5 (68).
5. Гордиенко А.И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии // Таврический медицинский вестник. – 2007. – №4. – С. 156-160.
6. Hamprecht A, Hamann L, Gomma A et al. Rapid an inexpensive real-time PCR for genotyping functional polymor-

- phisms within the Toll-like receptor -2, -4, and -9 genes // J Immunol Methods . – 2004. – Vol. 285. – P. 281-91.
7. A.Castaneda, D.Mercer, J.Denning et al. Effects of endotoxin on gastric injury from luminal irritants in rats: potential roles of nitric oxide // J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 1998. – Vol. 275. – P. 449-459.
 8. Taro Kawai. Toll-like receptor downstream signaling. // Arthritis Res Ther 7. – 2005. – (DOI 10.1186/ar1469). – P. 12-19
 9. Mieke F. Roelofs, Mark H. Wenink, Erik J.M. Toonen et al. The Functional Variant (Asp299Gly) of Toll-like Receptor 4 (TLR4) Influences TLR4-Mediated Cytokine Production in Rheumatoid Arthritis // The Journal of Rheumatology. – 2008. – Vol. 35, N 4. – P. 558-561.
 10. Дранник Г.Н., Курченко А.И., Дранник А.Г. Иммунная система слизистых, физиологическая микрофлора и пробиотики // Киев: – ООО "ПОЛИГРАФ ПЛЮС". - 2009. - 144 с.
 11. James F. Fries, Kirsten N. Murtagh, Mihoko Bennett et al. The Rise and Decline of Nonsteroidal antiinflammatory drug-associated gastropathy in rheumatoid arthritis // Arthritis & Rheumatism. – 2004. – Vol. 50, N 8. – P. 2433–2440.
 12. Hawkey CJ. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy // Gastroenterology. – 2000. – Vol. 119. – P. 521–535.

Summary

IMMUNOGENETIC AND CELLULAR MECHANISMS OF ANTIENDOTOXIN IMMUNITY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND NSAID-GASTROPATHY.

Abramova K.V.

Key words: rheumatoid arthritis, NSAID-gastropathy, endotoxin-binding receptors.

The aim of this work was to study the genetic polymorphism of Asp299Gly Toll like receptors of type 4 and the expression of CD14 and LPS Fitc receptors on the cells of monocyte-macrophage system in patients with rheumatoid arthritis (RA) and NSAID gastropathy (GP) or ulcer disease. The significantly higher level of expression CD14 and LPS Fitc in patients with RA and NSAID-GP and ulcer disease was determined and it characterizes the readiness of this cells to proinflammatory cytokine response on ET stimulus. The percent of patients with homozygote variant of Asp299gly Toll like receptors types 4 is considerably higher in patients with RA and NSAID-GP, ulcer disease than in groups of comparison and is the condition of receptors hyperresponder reaction on endotoxin.

State University "Crimea State Medical University named after S. I. Georgievsky", Simferopol

Матеріал надійшов до редакції 12.11.2012 р.

© Абрагамович О.О., Абрагамович М.О., Ферко М.Р., Толопко С.Я., Кульпа М.М.
УДК: 616.36-036.12-031.81-06:616.61

ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ СЕЧОВИДИЛЬНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ДИФУЗНІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

Абрагамович О.О., Абрагамович М.О., Ферко М.Р., Толопко С.Я., Кульпа М.М.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

На основании анализа 2166 историй болезней пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени, которые находились на стационарном лечении в Львовском областном гепатологическом центре с 2006 г. по 2011 г., у 72 человек (3,3%) поставлен диагноз цирроз печени, осложненный гепаторенальным синдромом. Согласно рекомендациям International Ascites Club, пациентов разделено на две группы в зависимости от типа ГРС - I и II. Результаты клинико-лабораторных и инструментальных исследований дали возможность выявить основные особенности гепаторенального синдрома I и II типов и установить, что цирроз печени, осложненный гепаторенальным синдромом I типа имеет более злокачественное течение и является прогностически неблагоприятным признаком для жизни пациентов.

Ключевые слова: цирроз печени, гепаторенальный синдром, прогноз.

Актуальність

У Сполучених Штатах Америки частота виникнення гепаторенального синдрому (ГРС) у 10,0 % пацієнтів, госпіталізованих з циррозом печінки (ЦП) та асцитом [2, 3]. В Україні офіційної статистики щодо виникнення ГРС у пацієнтів з дифузними ураженнями печінки немає [1], що і визначає актуальність дослідження.

Мета дослідження – встановивши частоту виникнення та особливості ГРС у хворих з хронічними дифузними захворюваннями печінки (ХДЗП), визначити прогноз для їх життя.

Завдання: 1. Вивчити частоту поширення ГРС серед пацієнтів Гепатологічного центру Львівської обласної клінічної лікарні.

2. Проаналізувати особливості ГРС I та II типів за ґендерними та віковими особливостями, причиною виникнення, клінічними показниками та результатами лабораторно-інструментальних обстежень.

3. На основі отриманої інформації визначити прогноз для життя пацієнтів з ГРС.

Матеріали та методи дослідження

З архіву Гепатологічного центру, створеного кафедрою внутрішньої медицини № 1 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на базі Львівської обласної клінічної лікарні, відібрано 2166 історій хвороб пацієнтів з ХДЗП, які лікувалися стаціонарно з 2006 р. по 2010 р. З них, відповідно до критеріїв International Ascites Club (важке дифузне ураження печінки; відсутність нормалізації рівня креатиніну після лікування діуретиками і введення альбуміну; відсутність шоку; відсутність інформації про використання нефротоксичних лікарських засобів), було відібрано пацієнтів з ГРС, яких розділено на два типи – тип I та II (тип I >221 ммоль/л креатиніну в сироватці крові, тип II <221 ммоль/л).

Для проведення аналізу вікової структури пацієнтів з ГРС було поділено на групи відповідно до класифікації ВООЗ: молодий вік – 18-29 р., зрілий – 30-44 р., середній – 45-59 р., похилий – 60-74 р., старечий – 75-90 р., довгожителі – більше 90 р.

Прогноз десятирічного виживання визначали за ступенем функціональних порушень згідно критеріїв

Child-Pugh, відповідно до яких пацієнтів було поділено на три групи: А, В та С.

Для оцінки однорічного прогнозу було використано шкалу Model for End stage Liver Disease (MELD), що передбачала обрахування балів за формулою: $MELD = 3,8 (\ln \text{концентрації білірубіна, мг/дл}) + 11,2 (\ln \text{МНС}) + 9,6 (\ln \text{концентрації креатиніну}) + 6,4$; де \ln – натуральний логарифм.

Статистичну достовірність отриманих результатів обраховано в "Statistica-6.0" (StatSoft) з використанням описової статистики, критерія Шапіро-Вілка для перевірки нормальності розподілу досліджуваного показника, критерія Левена для перевірки рівностей ґенеральних дисперсій, U-критерія Манна-Уїтні для порівняння двох вибірок з ненормальним розподілом та t-критерія Фішера для порівняння двох відносних величин.

Результати та їх обговорення

Згідно з першим завданням, вивчено частоту поширення ГРС серед пацієнтів Гепатологічного центру за період з 2006 р. по 2010 р. Встановлено, що впродовж років серед всіх хворих з ХДЗП ГРС було діагностовано у 1,8-4,0 % (в середньому 3,3 %). З 72-х пацієнтів, відповідно до критеріїв International Ascites Club, у 19,4 % виявлено ГРС I типу, у 80,6 % пацієнтів – ГРС II типу.

Встановлено, що ГРС достовірно частіше ($p < 0,05$) виникав у осіб чоловічої статі незалежно від типу (співвідношення 2:1).

Вивчаючи вікову структуру пацієнтів з ГРС виявлено, що у молодому віці зустрічався лише ГРС II типу (1,7 %). У пацієнтів з ГРС I типу основна кількість хворих була середнього та зрілого віку (91,9 %), що достовірно більше ($p < 0,05$) порівняно з групою пацієнтів, у яких ХДЗП ускладнилося ГРС II типу (77,6 %). 20,7 % пацієнтів з ГРС II типу були похилого віку, а серед пацієнтів з ГРС I типу таких було лише 2,1 %, що достовірно менше ($p < 0,05$). Жодного пацієнта з ГРС не було старечого віку та серед довгожителів.

Для виконання другого завдання з'ясовано також причини виникнення ГРС, охарактеризовано їх залежність від його типу. Встановлено, що ГРС не виник у жодного пацієнта з хронічним гепатитом та з ЦП чисто

вірусної «В» і/або «С» етіології. У більшості пацієнтів ГРС виник на тлі алкогольного ЦП (79,2 %), серед яких домінували пацієнти з ГРС I типу (92,9 % проти 75,8 %; $p < 0,05$); у дещо меншій кількості на тлі змішаного ЦП: у 12,5 % - ЦП алкогольної і «В»-вірусної етіології, серед яких зустрічалися лише пацієнти з ГРС II типу (15,5 %); та у 7,0 % - ЦП алкогольної і «С»-вірусної етіології, де достовірно більше ($p < 0,05$) хворих мали ГРС I типу (7,1 % проти 6,9 %).

У всіх пацієнтів з ГРС зустрічався набряковий синдром, у 91,7 % - больовий, у 90,3 % - астеновегетативний, у 83,3 % диспептичний, у 63,9 % - геморагічний, у 56,9 % - жовтяничний та у 1,4 % - артралгічний синдроми. Поширення синдромів залежно від типу ГРС мало свої особливості. У пацієнтів з ГРС I типу достовірно частіше ($p < 0,05$) порівняно з пацієнтами з II типом ГРС зустрічався больовий (92,9 % проти 91,3 %), астеновегетативний (92,9 % проти 89,7 %), жовтяничний (85,7 % проти 50,0 %) та геморагічний (71,4 % проти 62,1 %) синдроми. Проте диспептичний та артралгічний синдроми були більш характерними для хворих на ЦП ускладнений ГРС II типу (82,8 % проти 79,6 % ($p < 0,05$)) та 1,7 % проти 0,0 %).

Аналізуючи показники загального аналізу крові виявлено, що у 77,8 % пацієнтів з ГРС кількість еритроцитів була знижена, та не було жодного пацієнта з ГРС з підвищеною кількістю еритроцитів. У всіх пацієнтів з ГРС I типу кількість еритроцитів було знижена, що достовірно більше ($p < 0,01$) порівняно з пацієнтами з ГРС II типу (100,0 % проти 75,0 %). Серед пацієнтів з ГРС I типу не було жодного з нормальною кількістю еритроцитів, на відміну ¼ пацієнтів з ГРС II типу, у яких кількість еритроцитів залишається нормальною ($p < 0,01$).

У 77,8 % пацієнтів з ГРС виявлено анемічний синдром, з них у більшості (58,9 %) - нормохромну анемію, а у 41,1 % - гіпохромну. Встановлено, що всі пацієнти з ГРС I типу мали анемію на противагу 27,6 % з ГРС II типу, у яких анемії не було ($p < 0,01$). У пацієнтів з I типом ГРС достовірно частіше ($p < 0,05$) виникала нормохромна (64,3 % проти 57,1 %), а у пацієнтів з II типом - гіпохромна (42,9 % проти 35,7 %) анемія. Гіперхромна анемія не зустрічалася у жодного пацієнта ні з I, ні з II типом ГРС.

У 30,6 % пацієнтів з ГРС була підвищена кількість лейкоцитів, серед яких переважали пацієнти з I типом ГРС (42,9 % проти 25,0 %; $p < 0,05$). Відповідно кількість лейкоцитів у межах норми була у 75,0 % пацієнтів з ГРС II типом та у 57,1 % з ГРС I типом ($p < 0,05$). Зниженої кількості лейкоцитів не було ні у пацієнтів з I, ні з II типом ГРС.

У 70,8 % пацієнтів з ГРС кількість тромбоцитів була знижена, достовірно частіше ($p < 0,05$) у пацієнтів з I типом ГРС порівняно з II типом ГРС (78,6 % проти 72,4 %). 27,6 % пацієнтів з II типом ГРС та 21,4 % з I типом ГРС кількість тромбоцитів мали в межах норми ($p < 0,05$). Тромбоцитозу не було у жодного пацієнта ні з I, ні з II типом ГРС.

У 97,2 % пацієнтів з ГРС ШОЕ була підвищена, серед яких були усі пацієнти з I типом ГРС та 96,6 % з II типом ($p < 0,05$). В той час ні в одного пацієнта з ГРС I типу не було нормальної ШОЕ проти 3,4 % пацієнтів з II типом ГРС з нормальною ШОЕ, що є достовірно правильно ($p < 0,05$).

У загальному аналізі сечі 66,7 % пацієнтів з ГРС був нормальний рівень білка ($< 0,033$ г/л). У пацієнтів з I типом ГРС підвищений рівень білка ($> 0,033$ г/л) був у 42,9 % проти 30,9 % пацієнтів з II типом ($p < 0,05$). А нормальним рівень білка залишався у 57,1 % з I типом порівняно з 69,1 % пацієнтів з II типом ГРС ($p < 0,05$).

У 73,6 % пацієнтів з ГРС в осаді сечі були лейкоцити і еритроцити. Такі зміни в загальному аналізі сечі були виявлені у 92,6 % пацієнтів з ГРС I типу на відміну від 68,9 % пацієнтів з II типом ГРС ($p < 0,05$). У 31,1% хворих з II типом ГРС не було виявлено змін в осаді сечі, що достовірно більше порівняно з хворими з I типом ГРС (7,4 %) ($p < 0,05$).

У жодного пацієнта з ГРС швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), яка залежить від рівня креатиніну в сироватці крові, не була в межах норми. У 20,8 % пацієнтів з ГРС вона знижувалася до 60-89 мл/хв, серед яких зустрічалися лише пацієнти з II типом ГРС (25,9%), у 63,9 % хворих - до 30-59 мл/хв, де домінували пацієнти з ГРС II типу порівняно з I типом (74,1 % проти 21,4 %; $p < 0,01$), а у 15,3 % пацієнтів, де були виключно хворі на ЦП, ускладнений ГРС I типу (78,2 %) - ШКФ була в межах 15-29 мл/хв.

У 56,9 % пацієнтів з ГРС було виявлено підвищений рівень сечовини в сироватці крові. Серед них основну масу склали пацієнти з I типом ГРС, яких було достовірно більше ($p < 0,01$) ніж пацієнтів з II типом ГРС (46,6 %). В той же час у 53,4 % пацієнтів з II типом ГРС рівень сечовини залишається нормальним ($p < 0,01$).

Рівень систолічного артеріального тиску (АТ) був у межах норми у 1/2 пацієнтів з ГРС, а діастолічного - у 38,9 % пацієнтів. У жодного пацієнта з ГРС I типу не було виявлено підвищеного систолічного АТ порівняно з пацієнтами з II типом ГРС, серед яких такий рівень систолічного АТ зустрічався у 12,1 %. Підвищений діастолічний АТ (> 90 мм рт. ст.), як і систолічний, частіше визначали у пацієнтів з II типом ГРС (8,6 %) проти пацієнтів з I типом (0,0 %). У 71,4 % пацієнтів з I типом систолічний АТ був понижений (< 120 мм рт. ст.), що достовірно більше ($p < 0,01$) порівняно з пацієнтами, у яких ХДЗП ускладнилось II типом ГРС (32,7%). Понижений діастолічний АТ (< 70 мм рт. ст.) визначали у більшості пацієнтів з ГРС II типу (78,6 %), що достовірно більше ($p < 0,05$) ніж серед пацієнтів з I типом ГРС (48,3 %). В той же час у пацієнтів з II типом ГРС рівні систолічного та діастолічного АТ достовірно частіше ($p < 0,05$) порівняно з пацієнтами з I типом ГРС залишалися в межах норми (120-140 мм рт. ст. та 90-70 мм рт. ст. відповідно) (55,2% проти 28,6% та 43,1% проти 21,4%).

Важливим критерієм вважається також рівень середнього АТ, що свідчить про мікроциркуляцію у всіх органах, зокрема у нирках. У пацієнтів з ГРС II типу достовірно частіше ($p < 0,05$) виявляли нормальний рівень середнього АТ (> 90 мм рт. ст.) (43,1 % проти 21,4 %). У той час у 78,6 % пацієнтів з I типом ГРС спостерігався знижений середній АТ (< 90 мм рт. ст.), що достовірно більше ($p < 0,01$) порівняно з пацієнтами, у яких ЦП ускладнився ГРС II типом (56,9 %).

У 98,6 % пацієнтів з ГРС зустрічався клініко-лабораторний синдром портальної гіпертензії, у 77,8% були виявлені ознаки цитолітичного, а у 59,7 % - холестатичного синдромів. Мезенхімально-

запальний та синдром гепатоцелюлярної недостатності були характерними для, відповідно, 18,1 % та 16,7% пацієнтів з ГРС. У жодного пацієнта не було знайдено ознак синдрому регенерації та пухлинного росту.

У пацієнтів з ГРС I типу достовірно частіше ($p < 0,05$) зустрічалися наступні синдроми: холестатичний, мезенхімально-запальний, синдром гепатоцелюлярної недостатності та портальної гіпертензії (71,4 % проти 56,9 %; 71,4 % проти 5,2 %; 64,2 % проти 5,2 % та 100,0 % проти 98,2 %). Проте синдром цитолітичний синдром достовірно частіше ($p < 0,05$) виникав у пацієнтів з ГРС II типу порівняно з I типом.

Виконуючи третє завдання з'ясовано, що відповідно до критеріїв Child-Pugh не було жодного пацієнта ні з I ні, з II типом ГРС, які б належали до класу A, що характеризується 5-річним виживанням – 45,0 % та 10-річним – 25,0 % хворих. Пацієнти класу B з 5-річним виживанням 20,0 % та 10-річним – 7,0 % пацієнтів, достовірно частіше ($p < 0,05$) зустрічалися серед хворих з II типом ГРС порівняно з хворими з I типом ГРС (22,4 % проти 14,3 %). До класу C відносилися 85,7 % пацієнтів з I типом та 77,6 % пацієнтів з II типом ГРС ($p < 0,05$), що свідчить про 5-річний позитивний прогноз для 20,0 % хворих та 10-річний – для 0,0%.

За результатами оцінки однорічного прогнозу за допомогою шкали MELD, яка додатково враховує рівень креатиніну в сироватці крові хворих, для хворих на ЦП ускладнений ГРС була прогнозова висока летальність, що становить близько 50,0 % на першому році виникнення ускладнення. Середній бал за MELD у пацієнтів з ГРС I типу становив, в середньому, 26 балів, що свідчить про однорічне виживання 65,0 % пацієнтів цієї категорії, і що є достовірно більше

($p < 0,01$) порівняно з середнім балом для пацієнтів з ГРС II типу (17 балів), який відображає виживання впродовж року 85,0 %.

Оцінюючи результати стаціонарного лікування пацієнтів ГРС ми отримали такі результати. Жодного пацієнта не було виписано з одужанням. У 70,8 % пацієнтів з ГРС, серед яких зустрічалися лише пацієнти з ГРС II типу (87,9 %), загальний стан після проведеного лікування покращився, у 13,9 %, серед яких більшість це хворі на ЦП, ускладнений ГРС I типу (21,4% проти 12,1 %; $p < 0,05$) – загальний стан залишився без змін; а 15,3 % пацієнтів померло, серед яких були лише пацієнти з ГРС I типу (76,8 %).

Висновки

ГРС виник у 3,3 % пацієнтів з важкими дифузними ураженнями печінки, які лікувалися стаціонарно у Гепатологічному центрі Львівської обласної клінічної лікарні. Пацієнти з ГРС I типу мали важчий перебіг захворювання та гірший прогноз для життя, що потрібно враховувати під час діагностики та лікування цієї категорії пацієнтів.

Література.

1. Абрагамович О.О. Гепаторенальний синдром : особливості патогенезу, діагностики, клінічного перебігу та лікування / О.О. Абрагамович, М.О. Абрагамович // Acta Medica Leopoliensia. – 2011. – vol. 17, №2. – С. 107-113.
2. Маммаев С. Н. Гепаторенальный синдром 1-го и 2-го типа : современное состояние проблемы / С. Н. Маммаев, А. М. Каримова // Російський журнал гепатологія та гастроентерологія. – 2008. – № 8. – С. 4-13.
3. Arroyo V. Advances in the pathogenesis and treatment of type-1 and type-2 hepatorenal syndrome / Arroyo V., Terra C., Gine's P. // J. Hepatol. – 2007. – Vol. 46. – P. 935–946.

Summary

CHARACTERISTICS OF URINARY SYSTEM INVOLVEMENT IN PATIENTS WITH CHRONIC DIFFUSE LESION OF LIVER

O.O. Abrahamovych, M.O. Abrahamovych, M.R. Ferko, S.J. Tolopko, M.M. Kulpa

Keywords: liver cirrhosis, hepatorenal syndrome, prediction of survival.

On the basis of analysis of 2166 of chronic diffuse liver disease cases of patients who were treated in-hospital (2006-2011, Lviv regional hepatological centre), we verified liver cirrhosis complicated by hepatorenal syndrome in 72 patients (3,3%). They were divided, according to International Ascites Club recommendations, into two groups - I and II, - depending upon the type of hepatorenal syndrome. The results of clinical, laboratory and instrumental investigations enabled us to detect the main characteristics of hepatorenal syndrome of I and II types and to establish that liver cirrhosis, complicated by hepatorenal syndrome type I, is more malignant and unfavourable in terms of further prognosis.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Матеріал надійшов до редакції 18.04.2012 р.

© Али Мохаммад Таха

УДК 616.233-002+616-08:612.751.3:616-008:615.37:616.43

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРА 4 ТИПА ASP299GLY У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ С РАЗЛИЧНЫМ АНТИТЕЛЬНОМ ОТВЕТом НА ЭНДОТОКСИН

Али Мохаммад Таха

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского», г. Симферополь

Рівні антитіл до ендотоксину (анти-ET-IgG) та поліморфізм Asp299Gly Toll-like рецептора 4 типу (TLR4) у 31 хворого на хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) були досліджені за допомогою імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції. Згідно з результатами дослідження рівня анти-ET-IgG усі хворі ХОЗЛ були розподілені на 2 клінічні групи. У першу групу увійшли 18 хворих, які мали низький рівень анти-ET-IgG ($2 \delta < Me \pm m$) - антитільні анти-ET гіпореспондери. У другу групу — 13 хворих, що мали нормальний, або підвищений рівень антитіл до ET анти-ET-Ig G (антитільні нормо та гіперреспондери). Була також обстежена група здорових донорів - 23 особи. Найбільш розповсюджений гомозиготний генотип AA був виявлений у 27 хворих на ХОЗЛ (87,1%), 16 хворих 1 групи (88,9%) та 11 хворих 2 групи (84,6%). За частотою цього генотипу достовірної різниці між клінічними групами хворих та групою здорових донорів не було виявлено. 4 гетерозиготних AG генотипа Asp299Gly було виявлено у хворих на ХОЗЛ, по 2 в кожній клінічній групі без вірогідної різниці між групами та нормою. Жодного випадку гомозиготного генотипа Gly299 поліморфізму TLR4 не було зареєстровано. Наявність Asp299Gly поліморфізму TLR4 не має суттєвого впливу на антитільну відповідь до ET.

Ключові слова: поліморфізм гена, Toll-like рецептори, хронічні обструктивні захворювання легень

В настоящее время большое внимание исследователей во всем мире уделяется механизмам активации врожденного иммунитета при хронических обструктивных заболеваниях легких (ХОЗЛ), что может привести в ближайшем будущем к появлению новых стратегий лечения этого заболевания. Среди механизмов активации врожденного иммунитета, особое место занимают механизмы стимуляции паттерн-распознающих трансмембранных рецепторов, к которым и относят семейство Toll-like рецепторов (TLR). TLR принимают активное участие в защите от вирусных и бактериальных инфекций, которые, как известно, принимают активное участие в формировании, обострении и прогрессировании ХОЗЛ [1].

Учитывая важную роль грамотрицательных бактерий в индукции обострения ХОЗЛ наше внимание привлекли TLR 4 типа с позиций изучения одиночного нуклеотидного полиморфизма Asp299Gly, который, во многом определяет уменьшение трансдукционного ответа на эндотоксин (ЭТ) или липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий [2].

Целью данной работы было изучение частоты одиночного нуклеотидного полиморфизма Asp299Gly TLR 4 типа у больных ХОЗЛ в зависимости от уровня антительного ответа на ЭТ грамотрицательной микрофлоры.

Материал и методы исследований

Обследован 31 больной ХОЗЛ, проходивший стационарное лечение на базе терапевтического отделения ГУ «Участковая клиническая больница ст. Симферополь» государственного предприятия «Приднепровская железная дорога». Клинический диагноз ХОЗЛ устанавливался на основании проведенного клинического и функционального обследования с верификацией стадий заболевания в соответствии с Приказом МОЗ Украины от 19.03.2007 №128 [3].

Среди больных ХОЗЛ было 17 мужчин (51,6%) и 14 женщин (48,4%), средний возраст больных — $61,0 \pm 2,0$ года. Спирометрия проводилась с помощью прибора «Спироком» (Комплекс спирометрический), «Микролаб» (Комплекс компьютерный диагностический) с использованием критериев ATS/ERS. (2003, 2005).

Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител класса G (анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) с использованием протоколов, разработанных в отделе клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» [4,5]. Концентрацию анти-ЭТ-IgG выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментативной реакции после проведения тИФА (усл. ед. опт. плотн.), которую определяли с помощью иммуноферментного анализатора StatFax 2100 (Awareness Tech. Inc., USA) при длине волны 492 нм для разведения тестируемой сыворотки крови 1:50.

Молекулярно-генетические исследования проводены в НИИ Генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия».

Геномную ДНК выделяли из сыворотки крови методом фенол-хлороформной экстракции [6]. Определение полиморфизма Asp299Gly Toll-like рецепторов проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием специфических праймеров [7].

В зависимости от интенсивности антительного ответа на ЭТ, который оценивали по отношению индивидуальных уровней анти-ЭТ-IgG в крови к нормативной величине этого показателя, больные были распределены на 2 клинические группы. В первую группу было включено 18 больных ХОЗЛ с низким уровнем

нем анти-ЭТ-IgG ($2\delta < Me \pm m$) -антительные гипореспондеры на ЭТ, во вторую – 13 больных ХОЗЛ с нормальным и повышенным уровнем анти-ЭТ-IgG (антительные нормо и гиперреспондеры на ЭТ).

Для оценки нормативных показателей использовали венозную кровь 23 условно здоровых доноров, которые соответствовали больным ХОЗЛ по возрастному диапазону и половому распределению (группа контроля).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием лицензионной программы «MedStat» (серийный №MS0011 ДНПП ТОВ

«Альфа», г. Донецк) для параметрических и непараметрических критериев. Достоверность различий по частоте встречаемости указанных генотипов и аллелей оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 Пирсона и χ^2 Пирсона с поправкой Йетса [8].

Результаты и их обсуждение

Данные о генетическом полиморфизме TLR4 Asp299Gly и концентрации в крови антиэндотоксиновых антител класса Ig G представлены в таблице.

Таблица
Уровень антиэндотоксиновых антител класса Ig G и распределение частоты генотипов и аллелей полиморфизма гена TLR4 Asp299Gly в группе контроля и больных ХОЗЛ

Показник	Контрольная группа n=23	ХОЗЛ n=31	1 группа n=18	2 группа n=13
Уровень антител Ig G к ЭТ усл.ед.опт.пл.				
анти-ЭТ-Ig G	0,158±0,015	0,108±0,02	0,093±0,004	0,243±0,019
p		=0,096	<0,01	<0,05
Частота генотипа n (%)				
GG	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AG	1 (4,35%)	4 (12,9%)	2 (11,1%)	2 (15,4%)
AA	22 (95,6%)	27 (87,1%)	16 (88,9%)	11 (84,6%)
χ^2 П		p = 0,28	p = 0,41	p = 0,25
χ^2 П+И		p = 0,55	p = 0,83	p = 0,60
Частота аллелей n (%)				
A	45 (97,8%)	58 (93,5%)	34 (94,4%)	24 (92,3%)
G	1 (2,2%)	4 (6,5%)	2 (5,6%)	2 (7,7%)
χ^2 П		p = 0,30	p = 0,42	p = 0,26
χ^2 П+И		p = 0,54	p = 0,83	p = 0,61

Примечание: p – достоверность различий с группой контроля

χ^2 П - χ^2 Пирсона

χ^2 П+И - χ^2 Пирсона с поправкой Йетса

(*) об обозначена достоверность различий между 1 и 2 группами p<0,01

Как видно из данных представленных в таблице в целом в группе больных ХОЗЛ носители гомозиготного генотипа Asp299Gly TLR4 составили 87,1%, в 1 группе больных ХОЗЛ - 88,9% и 2 группе - 84,6 %, что статистически достоверно не отличается от соответствующего показателя группы здоровых лиц (p=0,55, p=0,83, p=0,60 соответственно). Количество больных с гетерозиготным вариантом Asp299Gly в целом в группе больных ХОЗЛ составило 4 человека (12,9%), в 1 группе больных ХОЗЛ 2 человека (11,9%) и во 2 группе больных ХОЗЛ также 2 пациента (15,4%), что не отличается от показателя группы здоровых лиц (p=0,28, p=0,41 и p=0,25 соответственно). Между частотой встречаемости полиморфных аллелей А и G в группах больных ХОЗЛ и контрольной группой достоверных различий также не выявлено.

Наши данные в целом совпадают с результатами полученными ранее о том, что полиморфизм Asp299Gly TLR4 не превышает 10-20% среди лиц европеоидной расы, Michel O et al. (2003) изучая генетический полиморфизм TLR4 на ингаляцию ЭТ у здоровых лиц установил, наличие гипореспондерного ответа на ЭТ, более низкий уровень ЛСБ и С- реактивного белка у носителей гетерозиготных вариантов единичного полиморфизма TLR4 в положении +896 A/G и +1196T/C [1].

Как известно, полиморфизм Asp299Gly TLR4 ассоциируется с уменьшением ЛПС трансдукционного сигнала [2,9]. Имеются единичные сообщения о том, что при ХОЗЛ частота встречаемости данного поли-

морфизма Asp299Gly (rs498670) в TLR4 значительно ниже, чем в группе контроля [10].

В научной литературе существуют противоречивые данные о влиянии данного полиморфизма на показатели функции внешнего дыхания у больных ХОЗЛ. Так в исследовании проведенном Pahnwa P. (2009) показано, что полиморфизм TLR4 Asp299Gly является потенциальным фактором риска уменьшения ОФВ₁ (объема форсированного выдоха за первую секунду) и соотношения ОФВ₁/ФЖЕЛ (форсированной жизненной емкости легких) и пиковой скорости выдоха (ПСВ₂₅₋₇₅) у лиц с ожирением (индекс массы тела ≥ 30 кг/м²) [11].

LeVan T.D. et al. (2005), Budulac S. (2012) установили, что полиморфизм Asp299Gly TLR4 не имеет никакого влияния на показатели внешнего дыхания, на уменьшение ОФВ₁ и на тяжесть течения ХОЗЛ [12,13].

В научной литературе обсуждаются возможная роль гипореспондерного ответа TLR4 в патогенезе дисфункции клиренса трахеобронхиального дерева от грамотрицательных бактерий (прежде всего *H.influenza M.catarrhalis*), которые при стабильном течении ХОЗЛ выявляются у 30 % больных ХОЗЛ. White S. et al. (2004) изучали генетический полиморфизм TLR4 у 289 курильщиков с ХОЗЛ. 260 были гомозиготами по Asp299, 29 больных ХОЗЛ были гетерозиготами по Asp299Gly. Не было выявлено ни одного случая у больных ХОЗЛ гомозигот Gly299. При этом не было выявлено влияния генетического полиморфизма TLR4

Asp299Gly на показатели легочной функции и бронхальный ответ на ингалируемый ЭТ и повышенную чувствительность к грибковой, бактериальной и вирусной инфекции [14]. Douville R. N. et al. (2010), Lafferty E. et al. (2010) доказали, что продукция провоспалительных цитокинов индуцируемая ЛПС или синцитиальными вирусами у здоровых детей не зависит от TLR4 Asp299Gly и Thr399Ile полиморфизма [15,16].

Как известно, важнейшую роль в патогенезе ХОЗЛ играет активация нейтрофилов и альвеолярных макрофагов под действием различных факторов и прежде всего табачного дыма. По данным шведских исследователей в табачном дыме, кроме других известных факторов, в критических высоких концентрациях содержится ЛПС (ЭТ) грамотрицательной флоры [17]. В настоящее время доказано, что ЭТ является мощнейшим провоспалительным фактором, который потенциально может определять необычный воспалительный ответ при формировании ХОЗЛ [18].

Известно, что передача сигнала от комплекса ЭТ+ЛСБ (липополисахаридсвязывающий белок) происходит с непосредственным участием TLR рецепторов 4 типа (TLR4), ибо CD 14 рецептор не имеет внутрицитоплазматического домена. ЭТ сигнал, переданный в клетку через TLR4 приводит в конечном итоге к активации внутриклеточного транскрипционного фактора NF- κ B, который перемещается в ядро клетки и связывается с κ B-последовательностями ДНК, что стимулирует синтез ОНФ, IL-1 β , IL-6 [19]. Клеточный ответ на ЭТ во многом определяется структурой внеплазматического домена TLR4, которая по данным литературы определяется генетическим полиморфизмом TLR4.

Анализируя полученные нами данные можно отметить, что большинство больных ХОЗЛ по генетическому полиморфизму TLR4 Asp299Gly на ЭТ имеют предрасположенность к гиперреспондерному клеточному ответу на эндотоксин. Аналогичная закономерность характерна для групп больных с антительным гипореспондерным ответом на ЭТ (1 группа) и антительным нормо и гиперреспондерным ответом на ЭТ (2 группа).

Вместе с тем, ранее нами получены данные о том, что антительные гиперреспондеры и нормореспондеры имеют более низкие показатели системного воспаления такие, как уровень СРБ, ЛСБ и более легкое течение ХОЗЛ в сравнении с антительными гипореспондерами [20]. Объяснить этого парадокс, можно нейтрализацией ЭТ антителами на уровне мукозального барьера (более высокий уровень секреторного антиэндотоксинового Ig A) и на уровне системного кровотока (более высокий уровень антиэндотоксинового IgG во 2 группе) [21]. Поэтому нейтрализация ЭТ антителами приводит к значительно меньшему образованию комплекса ЭТ+ЛСБ и меньшей активации рецепторного комплекса CD14/TLR4 во 2 клинической группе. С другой стороны, у антительных гипореспондеров в 1 клинической группе чрезмерное воздействие ЭТ на клеточные структуры может происходить через другие виды рецепторов к ЭТ (β_2 интегриновые рецепторы (CD11/ CD18), скавенджер рецепторы, L-селектины и другие), приводя к выраженной активации NF- κ B [22].

Выводы

1. Гомозиготный генотип AA полиморфизма Asp299Gly TLR4 является наиболее часто встречающимся при ХОЗЛ, который был выявлен у 27 больных ХОЗЛ (87,1%), 16 больных в 1 клинической группе (88,9%) и 11 больных во 2 группе (84,6%). Гетерозиготный вариант генотипа AG полиморфизма Asp299Gly TLR4 был выявлен у 4 больных ХОЗЛ (12,9%) из них у 2 в 1 клинической группе (11,1%) и 2 во 2 группе (15,4%). Гомозиготного варианта GG генотипа не выявлено ни у одного больного ХОЗЛ.

2. Достоверных различий частота генетического полиморфизма Asp299Gly TLR4 у больных ХОЗЛ и в популяции здоровых лиц постоянно проживающих в АР Крым не обнаружено.

3. Не было выявлено особенностей генетического полиморфизма Asp299Gly TLR 4 между группами больных ХОЗЛ с различным уровнем антительного ответа на ЭТ.

Література

1. Michel O. Systemic responsiveness to lipopolysaccharide and polymorphisms in the toll-like receptor 4 gene in human beings. / Michel O., LeVan T., Stern D., Dentener M., Thorn J. et al. // J Allergy Clin Immunol. - 2003 - Vol. 112. - N11. - P. 923-929.
2. Schmitt C. Polymorphisms of TLR4: rapid genotyping and reduced response to lipopolysaccharide of TLR4 mutant alleles/ Schmitt C., Humenay A., Becker C.M., Brune K., Pahl A. // Clin Chem. - 2002. - Vol 48. - N. 11. - P. 1661-1667.
3. Наказ МОЗ України від 19.03.2007 №128 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ппульмонологія». - К., 2007. - 146.
4. Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Бакова А.А. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення змісту С-реактивного білка в крові. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №139.- К., УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2010. - 4с.
5. Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамотрицателних бактерій. - Заявл. 29.12. 2003; Опубл.15.09. 2004. - Бюл. №9
6. Епринцев А.Т. Идентификация и исследование экспрессии генов (учебно-методическое пособие для вузов) // Епринцев А.Т., Попов В.Н., Федорин Д.Н. - Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета. - 2008. - 64 с.
7. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін. під ред. проф. Кайдашева І.П. - Полтава : Полімет, 2003. - 320 с.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.- М.: МедиаСфера, 2002.- 312 с.
9. Arbour N.C TLR4 mutation is associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans/ Arbour N.C., Lorenz E., Schutte B.C., Zabner J., Kline J.N., et al. // Nature Genetics. 2000. - Vol 25. - N. 1. -P.187-191.
10. Klein W. Association of the ASP299GLY TLR4 polymorphism with COPD/Klein W, Duerig N, Bauer T, Gillissen A, Schultze-Werninghaus G, Epplen T. J. // Respir Med. - 2006. - Vol 100. - N. 5. - P. 892-896.
11. Pahwa P. Association of the TLR4 Asp299Gly polymorphism with lung function in relation to body mass index / Pahwa P., Karunanayake C. P, Rennie D. C., Chen Y., Schwartz D.A. // BMC Pulm Med. 2009 - Vol. 46. - N.9.- P. 1186-1196.
12. LeVan T.D. Polymorphisms in the CD14 Gene Associated with Pulmonary Function in Farmers/LeVan T.D., Von Esen S, Romberger D.J., Lambert G.P, Martinez F.D. // Am J Resp Crit Care Med. - 2005. Vol. 171 N.4. - P. 773-779.

13. Budulac S. Toll-Like Receptor (TLR2 and TLR4) Polymorphisms and Chronic Obstructive Pulmonary Disease/ Budulac S., Boezen H. M., Hiemstra P.S., Lapperre T.S., Vonk J.M. et.al.// PLoS One. 2012; 7(8): e43124. Published online 2012 August 28. Режим доступа до журн.: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0043124/>
14. Whyte I. M. K. Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms and COPD/ Whyte I. M. K., Wilson A G, Dower S K, Hubbard R, Hall I// Thorax. – 2004.- Vol. 59 N.1. –P.81–85.
15. Douville R. N. TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile Polymorphisms: No Impact on Human Immune Responsiveness to LPS or Respiratory Syncytial Virus / Douville R. N., Lissitsyn Y., Hirschfeld A. F., Becker A. B., Kozyrskyj A. L., // PLoS ONE. – 2010- V. 5 N. 8. – P. e12087.
16. Lafferty E. The role of toll-like receptors in acute and chronic lung inflammation Lafferty E., Qureshi S.T., Schnare M. //Journal of Inflammation 2010ю - Vol. 57 N.7. Режим доступа до журн. : <http://www.journal-inflammation.com/content/7/1/57>.
17. Larsson L., Szponar B., Pehrson C.//Tobacco smoking increases dramatically air concentrations of endotoxin, // Indoor Airю 2004. - Vol. 14ю – N. 6. - P. 421–424.
18. Hackett T.L. Dynamics of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine release during acute inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: an *ex vivo* study / Hackett T.L., Holloway R., Holgate S.T., Warner I.A.// *Respiratory Research*. - 2008 –Vol. 47, N. 9 – P.465-453.
19. Кайдашев И. П. NF-кВ-сигнализация как основа развития системного воспаления, инсулинорезистентности, липотоксичности, сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза. / И. П. Кайдашев // Международный эндокринологический журнал. – 2011. – № 3 (35). – С. 35–44.
20. Білоглазов В.А., Али Мохамад Таха, Гордиенко А.И. Антиэндотоксиновый иммунитет и С-реактивный белок у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких с различным иммунным ответом на эндотоксин грамотрицательной флоры// Иммунологія та алергологія. Наука і практика. 2011. №4. – 53-57 с.
21. Білоглазов В.А., Али Мохамад Таха Мукозальный антиэндотоксиновый иммунитет и липополисахаридсвязывающий белок у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких Проблемы екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. Київ-Луганськ, випуск 1 (109). - 2012. С. 78-87.
22. Antal-Szalmás P Evaluation of CD 14 in host defence// European Journal of Clinical Investigation- 2000. – Vol.30. - N.2 – P 167-179.

Summary

ASP299GLY POLYMORPHISM TOLL-LIKE RECEPTORS TYPE 4 IN COPD PATIENTS WITH DIFFERENT ANTIBODIES RESPONSES TO ENDOTOXIN

Ali Mochamad Tasha

Key words: gene polymorphism, Toll-like receptors, chronic obstructive pulmonary diseases

The levels of endotoxin antibodies (anti-ET) and polymorphism Asp299Gly toll like type 4 (TLR4) in 31 COPD patients were investigated by ELISA and allele specific PCR tests correspondingly. According to the levels of anti-ET-IgG COPD patients were divided into two groups. The 1st group included 18 patients which had lower levels of anti- ET-IgG ($2 \delta < Me \pm m$) - antibody ET hyporesponders. In the 2nd group 13 patients had normal or increased anti- ET IgG levels (antibody ET normohyperresponders). 23 healthy donors were also examined. Homozygous genotypes AA were found in 27 COPD patients (87,1%), 16 patients from the 1st group (88,9%) and 11 patients from the 2nd group (84,6%). There were no differences between COPD groups and healthy persons. 4 heterozygotes from COPD patients and 2 heterozygotes in each group were observed without no significant difference between COPD and healthy group. No one was Gly 299 homozygous for TLR4 polymorphism. The presence of Asp299 Gly polymorphism of TLR4 did not have any significant impact of antibodies responsiveness to ET.

State University "Crimea State Medical University named after S. I. Georgievsky", Simferopol

Матеріал надійшов до редакції 12.11.2012 р.

© Фартушна А.М., Костенко В.О.

УДК 616.311.2-008.9-092.9: 615.916'175

СТАН ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ТКАНИНАХ ЯСЕН БІЛИХ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРАТОМ НАТРІЮ

Фартушна А.М., Костенко В.О.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В експерименті на 40 білих крысах досліджено стан процесів свободнорадикального окислення, антиоксидантної системи та енергетичного обміну в тканинах десни в динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію (14, 30 і 90 сутки). Виявлено, що в умовах експерименту в тканинах десни відзначається прогресивне збільшення продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальної (починаючи з 14-х суток інтоксикації) та мікросомальним (на 90-е сутки інтоксикації) електронно-транспортними ланцюгами. На 14-е сутки хронічної інтоксикації нітратом натрію в тканинах десни виявляється збільшення активності антиоксидантного фермента каталази без ознак активації процесів пероксидного окислення ліпідів. В подальшому (на 30-е і 90-е сутки інтоксикації) спостерігається активація цього процесу (збільшення концентрації ТБК-активних сполучень) на фоні суттєвого зниження антиоксидантного потенціалу (збільшення приросту концентрації ТБК-активних сполучень за час 1.5-годинної інкубації в прооксидантному буферному розчині, зменшення активності каталази). Довготривале введення надмірного кількості нітрату натрію гальмує енергетичний метаболізм в тканинах десни крыс (зменшується концентрація в тканинах АТФ та АДФ, збільшується вміст АМФ). В динаміці змін енергетичного обміну в десні при хронічній нітратній інтоксикації відзначається певна фазильність: період активації біоенергетичних процесів, що проявляється зростом енергетичного потенціалу, змінюється на 30-е сутки експерименту періодом їх прогресуючого угнетення.

Ключові слова: хронічна інтоксикація нітратом натрію, свободнорадикальне окислення, антиоксидантна система, енергетичний обмін, десна.

Епідеміологічні дослідження вказують на високу розповсюдженість основних стоматологічних захворювань у населення в екологічно несприятливих регіонах [1]. Захворювання пародонта (у т.ч. ясен) поширюються по частоті та поширеності після карієсу. Частота гінгівітів у дітей та підлітків досягає від 30 до 80% випадків, у дорослих – 32-46% [5].

Недостатньо з'ясований патогенез захворювань ясен у мешканців екологічно несприятливих регіонів, зокрема, забруднених нітратами територій. Встановлено, що універсальний механізм дії нітратів пов'язаний з утворенням оксиду азоту (NO) [2,4]. Останній характеризується важкопрогнозованим характером дії на активність вільнорадикального окиснення, енергетичний обмін, проліферативні процеси, бере участь у патогенезі захворювань пародонта [7,15]. Зміни окислювальних процесів у тканинах ясен у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію залишаються нез'ясованими.

Метою цієї роботи було вивчення стану процесів вільнорадикального окиснення, антиоксидантної системи та енергетичного обміну в тканинах ясен білих щурів у динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 40 білих щурах лінії Вістар масою 180-210 г. У першій серії необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія); у другій, третій і четвертій – після відтворення хронічної інтоксикації нітратом натрію відповідно протягом 14, 30 та 90 діб.

Нітрат натрію вводили тваринам щоденно протягом терміну експерименту в дозі 200 мг/кг маси тіла у вигляді водного розчину. Введення здійснювали внутрішньощунково за допомогою спеціального зонду. Використання цієї методики дозволяє відтворити над-

лишкове утворення NO та депонування його у вигляді парамагнітних комплексів з гемовим та негемовим залізом [2]. Евтаназію тварин виконували методом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом.

Утворення супероксидного аніон-радикала (O_2^-) у тканинах ясен оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з індукторами у вигляді нікотинамідаденідинуклеотиду відновленого (НАДН) та нікотинамідаденідинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН) [6].

Рівень ПОЛ у тканинах оцінювали по утворенню в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації [3]. Активність антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторагодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю каталази [3].

Концентрацію аденозинтрифосфату (АТФ) у клітинах ясен визначали за допомогою вимірювання оптичної густини реагуючих речовин, яка пропорційна вмісту АТФ у пробі [12]. Вміст аденозинди- та монофосфату (АДФ і АМФ) визначали в одній пробі за допомогою сполучених реакцій [10]. На основі одержаних результатів обчислювали значення енергетичного потенціалу за формулою D.E. Atkinson [9].

Отримані дані піддавали статистичній обробці. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки прово-

дили з використанням програм "Microsoft Excel 2007" та "StatisticSoft 6.0".

Результати та їх обговорення

При відтворенні 14- та 30-добової інтоксикації нітратом натрію продукція $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальним елект-

ронно-транспортним ланцюгом (ЕТЛ) (табл. 1) істотно не змінюється, проте підвищується його утворення мітохондріями – відповідно до 24.42 ± 1.01 нмоль/г-с (на 14.4%, $p < 0.05$) та 27.67 ± 1.03 нмоль/г-с (на 29.7%, $p < 0.001$).

Таблиця 1
Зміни вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту в тканинах ясен білих щурів за умов надлишкового надходження до організму нітрату натрію ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Інтактна група	Час введення нітрату натрію		
		14 діб	30 діб	90 діб
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/г-с мікросомальним ЕТЛ	18.42 ± 0.64	19.57 ± 0.96	20.26 ± 1.07	$22.34 \pm 0.58^*$
Продукція $\cdot\text{O}_2^-$ мітохондріальним ЕТЛ	21.34 ± 0.82	$24.42 \pm 1.01^*$	$27.67 \pm 1.03^*$	$30.26 \pm 0.97^*$
ТБК-реактанти, мкмоль/г до інкубації	27.1 ± 2.8	26.5 ± 3.3	$35.3 \pm 2.5^*$	$37.3 \pm 2.1^*$
після інкубації	44.0 ± 3.3	43.3 ± 4.1	$57.2 \pm 3.2^*$	$60.0 \pm 2.6^*$
приріст	16.9 ± 1.3	16.8 ± 1.6	$21.9 \pm 1.2^*$	$22.7 \pm 1.0^*$
Каталаза, мкат/г	2.84 ± 0.28	$3.57 \pm 0.14^*$	$1.99 \pm 0.13^*$	$1.56 \pm 0.10^*$

Примітка. У табл. 1-2: * – $p < 0.05$ у порівнянні з даними інтактної серії.

За умов 90-добової інтоксикації нітратом натрію достовірно збільшується продукція $\cdot\text{O}_2^-$ не тільки мітохондріальним ЕТЛ – до 30.26 ± 0.97 нмоль/г-с (на 41.8%, $p < 0.001$), але і мікросомальним – до 22.34 ± 0.58 нмоль/г-с (на 21.3%, $p < 0.001$).

Збільшення продукції $\cdot\text{O}_2^-$ за умов утворення великої кількості NO з екзогенного джерела створює передумови для генерації високотоксичного пероксинітриту ($\cdot\text{ONOO}^-$), який, як сильний окиснювач, може здійснювати нітрування та нітразування біомолекул [17].

При відтворенні 14-добової інтоксикації нітратом натрію достовірних змін концентрації ТБК-реактантів та їхнього приросту не виявлено. У той же час активність каталази достовірно збільшується – до 3.57 ± 0.14 мкат/г с (на 25.7%, $p < 0.05$). Це, вочевидь, є реакцією на утворення надлишкової кількості АФК, оскільки активність цього ферменту індукується на рівні трансляції H_2O_2 [14].

За умов 30-денного введення нітрату натрію відмічається вірогідне зростання концентрації ТБК-реактантів до інкубації – до 35.29 ± 2.5 мкмоль/г (на 30.2%, $p < 0.05$) – та після 1,5-годинної інкубації тканин ясен в залізоаскорбатному буферному розчині – до 57.2 ± 3.2 мкмоль/г (на 30.0%, $p < 0.02$).

У цей же час виявляється суттєве підвищення приросту концентрації ТБК-реактантів за час інкубації – до 21.9 ± 1.2 мкмоль/г (на 29.6%, $p < 0.02$). Це вказує на розвиток антиоксидантної недостатності у тканинах ясен, що також підтверджується зниженням активності каталази – до 1.99 ± 0.13 мкат/г (на 29.9%, $p < 0.02$).

Вважається, що зниження активності каталази може бути пов'язано із зв'язуванням цього ферменту з продуктом метаболізму нітратів – NO – та утворенням менш активної ферікаталази-NO [11].

На 90 добу інтоксикації нітратом натрію виявлені зміни прогресують. Концентрація ТБК-реактантів до інкубації зростає – до 37.3 ± 2.1 мкмоль/г (на 37.6%, $p < 0.02$) – та після 1,5-годинної інкубації тканин ясен в залізоаскорбатному буферному розчині – до 60.0 ± 2.6 мкмоль/г (на 36.4%, $p < 0.01$). Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації підвищується – до 22.7 ± 1.0 мкмоль/г (на 34.3%, $p < 0.01$). Активність каталази знижується – до 1.56 ± 0.1 мкат/г (на 45.1%, $p < 0.01$).

Виснаження антиоксидантного потенціалу, в певній мірі, може бути зумовлене також NO-залежним пригніченням активності СОД через здатність NO взаємодіяти з іоном міді активного центру ферменту [13], порушенням глутатіонової й аскорбатної систем, зниженням вмісту вітаміну Е [8]. Адже всі перелічені сполуки є компонентами антиоксидантного захисту в тканинах пародонта.

Порушення енергетичного обміну розглядаються як один з головних механізмів ушкодження тканин за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію, який реалізується через утворення у ході біотрансформації нітрат- та нітрит-іонів оксиду азоту [2,4].

Через 14 діб від початку введення білим щурам нітрату натрію концентрація АТФ у тканинах ясен вірогідно зростає на 11.2% ($p < 0.02$) – до 2.08 ± 0.04 мкмоль/г (табл. 2).

Концентрація АМФ зменшується на 19.1% ($p < 0.001$) – до 0.72 ± 0.03 мкмоль/г. Відмічається зміна співвідношення аденіннуклеотидів, що супроводжується збільшенням величини енергетичного потенціалу – на 6.8% ($p < 0.02$) – до 0.663 ± 0.014 , що також підтверджує посилення ресинтезу макроергів. Такі зміни, вочевидь, відображують активацію біоенергетичних процесів при адаптації організму до впливу токсичного агенту.

Таблиця 2
Зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у тканинах ясен за умов надлишкового надходження до організму нітрату натрію ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Інтактна група	Час введення нітрату натрію		
		14 діб	30 діб	90 діб
АТФ, мкмоль/г	1.87±0.03	2.08±0.04 *	1.35±0.03 *	1.21±0.03 *
АДФ, мкмоль/г	1.26±0.03	1.35±0.06	1.11±0.04 *	0.98±0.03 *
АМФ, мкмоль/г	0.89±0.02	0.72±0.03 *	1.88±0.06 *	2.12±0.06 *
Сума аденін-нуклеотидів, мкмоль/г	4.02±0.09	4.14±0.18	4.34±0.15	4.31±0.13
Енергетичний потенціал	0.621±0.007	0.663±0.014 *	0.438±0.016 *	0.394±0.011 *

Через 30 діб від початку введення білим щурам нітрату натрію відмічається суттєве зниження концентрації АТФ і АДФ – відповідно на 27.8% ($p<0,001$) та 11.9% ($p<0,02$) – до 1.35 ± 0.03 та 1.11 ± 0.04 мкмоль/г. Вміст АМФ зростає – в 2.1 рази ($p<0,001$) – до 1.88 ± 0.06 мкмоль/г, що свідчить про обмеження активності ресинтезу АТФ у тканинах ясен.

Енергетичний потенціал у цей термін зменшується – на 29.5% ($p<0,001$) – до 0.438 ± 0.016 , що свідчить про обмеження активності ресинтезу АТФ у тканинах ясен.

Така спрямованість зрушень зберігається в динаміці розвитку хронічної нітратної інтоксикації. Найбільш тяжкі порушення біоенергетичних процесів відмічаються за умов 90-денного введення нітрату натрію. В цей термін вміст АТФ і АДФ зменшується – відповідно на 35.3% ($p<0,001$) та 22.2% ($p<0,001$) – до 1.21 ± 0.03 та 0.98 ± 0.03 мкмоль/г. Концентрація АМФ зростає – в 2.4 рази ($p<0,001$) – до 2.12 ± 0.06 мкмоль/г.

Енергетичний потенціал у цей термін зменшується – на 36.6% ($p<0,001$) – до 0.394 ± 0.011 , що свідчить про прогресування порушення ресинтезу АТФ у тканинах ясен.

Порушення біоенергетичних процесів у яснах за умов надлишкового надходження у організм нітрату натрію, вочевидь, опосередковуються утворенням продукту їх метаболізму – NO, який у великих концентраціях пригнічує у клітинах активність аконітази в циклі трикарбонових кислот, мітохондріальних ферментних комплексів (МФК) – НАДН-убіхіноноксидоредуктази (МФК-1), сукцинат-убіхіноноксидоредуктази (МФК-2), ключового ферменту гліколізу – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази [16]. Нітрозилювання FeS груп (що беруть участь в транспорті електронів від флавінового компонента на убіхінон) в активному центрі МФК-1 і МФК-2 порушує окиснення основних субстратів тканинного дихання. Не виключається інгібуюча дія NO на інші флавінові ферменти, які містять FeS центри (наприклад, ацидо-КоА-дегідрогеназу, α -гліцерофосфатдегідрогеназу). Аконітаза (аконітат-гідратаза) пригнічується NO, ймовірно, за рахунок зв'язування з іоном двовалентного заліза, що входить в активний центр цього ферменту.

Висновки

1. У динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію у тканинах ясен білих щурів відмічається прогресивне збільшення продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним (починаючи з 14-ї доби інтоксикації) та мікросомальним (на 90-ту добу інтоксикації) електронно-транспортними ланцюгами. На 14-ту добу хро-

нічної інтоксикації нітратом натрію в тканинах ясен виявляється збільшення активності антиоксидантного ферменту каталази без ознак активації процесів пероксидного окиснення ліпідів. У подальшому (на 30-ту та 90-ту добу інтоксикації) спостерігається активація цього процесу на тлі істотного зниження антиоксидантного потенціалу.

2. Тривале введення надлишкової кількості нітрату натрію пригнічує енергетичний метаболізм у тканинах ясен щурів. У динаміці змін енергетичного обміну в яснах при хронічній нітратній інтоксикації відмічається певна фазність: період активації біоенергетичних процесів, що виявляється зростанням енергетичного потенціалу, змінюється на 30-ту добу експерименту періодом їх прогресуючого пригнічення.

Література

1. Годованець О.І. Особливості клінічного перебігу хронічного катарального гінгівіту в дітей, що проживають на території з підвищеним рівнем нітратів у питній воді / О.І. Годованець, М.М. Рожко, З.Б. Попович // Галицький лікарський вісник. – 2007. – №3. – С.15-17.
2. Костенко В.О. Механізми порушення окисних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників / В.О. Костенко, А.Г. Костенко, С.В. Денисенко [та ін.] // Клін. та експ. патол. – 2004. – Т.3, № 2 (Ч.1). – С.202-204.
3. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В.Беркало, О.В.Бобович, Н.О.Боброва та ін.]; За ред. І.П.Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
4. Реутов В.П. Цикл оксида азота как механизм стабилизации содержания NO и продуктов его превращения в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, А.И. Гоженко [и др.] // Актуал. пробл. трансп. мед. – 2008. – № 1 (11). – С. 22-28.
5. Фера О.В. Особливості розвитку захворюваності органів ротової порожнини серед дітей міста Ужгород віком 6-12 років / О.В. Фера, М.О. Фера, Г.-С.І. Свальявчик, О.М. Рошко // Наук. вісн. Ужгородськ. ун-ту, Сер. «Медицина». – 2012. – Вип. 1. – С. 155-161.
6. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, №1. – С.96-97.
7. Чайковська І.В. Роль порушень метаболізму оксид азоту в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту / І.В. Чайковська // Арх. клін. та експерим. мед. – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 226-228.
8. Шугалей І.В. Влияние интоксикации нитритом натрия на активность ферментов антиоксидантной защиты и процессы пероксидации в эритроцитах мыши / И.В. Шугалей, И.В. Львов, И.В. Целинский, В.И. Баев // Укр. биохим. журн. – 1992. – Т.64, №2. – С. 111-114.
9. Atkinson D.E. The energy charge of the adenylate pools as a regulatory parameter: Interaction with feedback modifiers / D.E. Atkinson // Biochemistry. – 1968. – V.7, №11. – P. 4030-4034.
10. Jaworeck D. Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat / D. Jaworeck, W. Gruber, H.U. Bergmeyer

11. Kim Y.S. Superoxide reactivates nitric oxide-inhibited catalase / Y.S. Kim, S. Han // *Biol Chem.* – 2000. – V.381, №12. – P. 1269-1271.
12. Lamprecht W. ATP; Bestimmung mit Hexokinase und Glucose-6-phosphat - Dehydrogenase / W. Lamprecht, I. Trautschold // *Methoden der enzymatischen Analyse.* – Bd. II. – Weinheim : Verlag – Chemie, 1974. – S. 2151-2159.
13. Monzani E. Binding of nitrite and its reductive activation to nitric oxide at biomimetic copper centers / E. Monzani, G.J. Anthony, A. Koolhaas [et al.] // *J Biol Inorg Chem.* – 2000. – V.5, №2. – P. 251-261.
14. Ponrdenz E. Alteration of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide / E. Ponrdenz, R. Kahl // *Free Radical Biol Med.* – 1998. – V.24, №1. – P. 27-38.
15. Sá Siqueira M.A. Nitric oxide and oral diseases: can we talk about it? / M.A. de Sá Siqueira, R.G. Fischer, C.M. da Silva Figueredo [et al.] // *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* – 2010. – V.8, №2. – P. 104-112.
16. Shiva S. Nitric oxide partitioning into mitochondrial membranes and the control of respiration at cytochrome c oxidase / S. Shiva, P.S. Brookes, R.P. Patel [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* – 2001. – V. 98, №13. –P. 7212-7217.
17. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // *Nature Reviews.* – 2007. – V. 6. – P. 662-680.

Summary

THE CONDITION OF OXIDATION PROCESSES IN GINGIVAL TISSUES OF WHITE RATS IN THE DYNAMICS OF CHRONIC SODIUM NITRATE INTOXICATION

A.M. Fartushna, V.O. Kostenko

Key words: chronic sodium nitrate intoxication, free radical oxidation, antioxidant system, energy metabolism, gum.

40 white rats were used to study the condition of free radical oxidation, antioxidant and energy metabolism in gingival tissues in the dynamics under chronic sodium nitrate intoxication (on the 14th, 30th and 90th days). It has been revealed that under the experimental conditions in gingival tissues the progressive increases in production of superoxide anion radical by mitochondrial (starting on the 14th day of intoxication) and microsomal (on the 90th day of intoxication) electron transport chains have been detected. On the 14th day of chronic sodium nitrate intoxication the increasing activity of the antioxidant enzyme catalase without activation of lipid peroxidation has been revealed in gingival tissues. Later on (the 30th and 90th days of intoxication) this process (increasing of the concentration of TBA-active compounds) was observed to become more active due to the significant reduction in antioxidant capacity (increase in the increment of TBA-active compounds concentration for the 1.5-hour incubation in the pro-oxidant buffer solution, and decrease in the catalase activity). Prolonged administration of excessive sodium nitrate inhibits the energy metabolism in the gingival tissues of rats (lowering of ATP and ADP concentration in the tissues, and decrease of AMP content). The dynamics of changes in energy metabolism in the gums under chronic nitrate intoxication enables to reveal certain staging: the period of activation of bioenergy processes, manifested by the growth of the energy potential, changes on the 30th day of the experimental period of their progressive depression.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 15.11.2012 р.

Інформація для авторів

З метою дотримання міжнародних правил оформлення, авторам рекомендується ознайомитися з "Єдиними Вимогами до Рукописів для Біомедичних Журналів" на www.icmje.org.

У якості невід'ємної частини процесу публікації, автори, рецензенти і редактори повинні повідомити про будь-які конфлікти інтересів і надати детальну інформацію, підписавши форму Заяви про Службову Етику та надіславши її на адресу редакції журналу. Автори рукописів зобов'язані поважати право приватності пацієнта. Перед початком дослідження пацієнт повинен заповнити і розписатися у формі Заяви про Інформовану Згоду. До статті додається акт експертної комісії про відсутність конфіденційної інформації та направлення установи. В направленні засвідчується, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.

Статті публікуються українською, російською або англійською мовами. Авторський оригінал подається у двох примірниках, що складаються із основного тексту (стаття – 15 сторінок, огляд – 20 сторінок, коротке повідомлення – 7 сторінок); списку літератури (статті – до 20, огляди – до 50, короткі повідомлення – до 15 джерел); таблиць; ілюстрацій (не більше 4); назв рисунків; анотацій українською, російською та англійською мовами (орієнтовно 250 слів), що повинні містити обґрунтування мети, матеріалів та методів, результати дослідження.

На першій сторінці зазначаються: шифр УДК; прізвища авторів, ініціали, наукові ступені та звання; назва статті; установи, де працюють автори, місто; ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті. Назва статті російською, українською та англійською мовами повинна бути стислою і не перевищувати 120 символів. Підзаголовок є прийнятним. Текст статті повинен бути структурований наступним чином: вступ, мета, матеріал і методи, результати та висновок. На останній сторінці тексту власноручні підписи всіх авторів: прізвище, ім'я та по-батькові, поштова адреса, номери телефонів (службовий, домашній), за якими редакція буде контактувати із авторами. Подаючи статтю до редакції, автори тим самим підтверджують оригінальність роботи. Це означає, що авторські права або будь-які інші права власності третіх осіб не порушуються. Підписами автори засвідчують, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями. Текст друкується шрифтом не менше 2,8 мм на білому папері через два інтервали, на аркушах формату A4 (210×297 мм), поля з усіх боків по 20 мм. Крім двох роздрукованих копій, матеріал потрібно надати на компакт-диск, текст статті повинен бути у форматі Microsoft Word. Латинські терміни, іншомовні слова повинні бути надруковані курсивом. Тільки загальноновживані скорочення можуть подаватися без пояснення. Скорочення у назві статті не є прийнятними. Всі величини приводяться в одиницях SI, однак допустимими є й інші загальноновживані позначення та одиниці вимірювання (l, min., h, C, Da, cal). Ілюстрації (рисунки, фотографії) повинні бути пронумеровані. Назви рисунків повинні бути надруковані на окремій сторінці. Малюнки повинні бути виконані з використанням інструментів, доступних у текстових редакторах або в Excel. Фотографії повинні бути високоякісними. Таблиці розміщуються на окремих аркушах, нумеруються послідовно, кожна сторінка супроводжується коротким заголовком. Рисунки є доповненням до тексту статті і не повинні повторювати інформації, поданої у рукописі. На звороті рисунків олівцем ставлять їхні порядкові номери, зазначають прізвище першого автора, скорочену назву статті. Список літератури оформлюється на окремих сторінках без скорочень. Автори подаються за абеткою, спочатку джерела кирилицею, потім латиницею. Посилання у тексті позначаються цифрами у [квадратних] дужках. Порядок оформлення списку літератури: для монографій – Прізвище, ініціали. Назва книги. Місце видання: видавництво, рік видання. Кількість сторінок; для журналів – Прізвище, ініціали. Назва статті. Назва журналу. Том, номер. Рік: сторінки, на яких вміщено статтю.

Одночасно, автори надають повний переклад тексту, підписуночних підписів і табличних матеріалів англійською мовою. У переліку використаної літератури посилання, наведені кирилицею, транслітеруються із застосуванням програми "Trans 1.02" або подібних програм.

Усі рукописи журналу рецензовані незалежними експертами. Процедура рецензування включає перевірку статті протягом двох тижнів двома спеціалістами, призначеними редакційною радою. Рукопис із рецензією надсилається автору для внесення коректив перед остаточним поданням статті до редакції журналу.

Після публікації статті автори передають авторські права редакції журналу. Редакція залишає за собою право змінювати і виправляти рукопис, однак внесені корективи не повинні змінювати загального змісту та наукового значення статті.

Залучаючи до дослідження пацієнтів, автори несуть відповідальність за виконання етичних стандартів Гельсінкської декларації 1975 із поправками 2005 року. Рукопис повинен містити наступний пункт: "Ми заявляємо, що під час дослідження права пацієнтів були враховані у відповідності до вимог Гельсінкської конвенції". При виникненні сумнівів щодо відповідності рукопису до вимог Гельсінкської декларації, автори будуть зобов'язані відзвітуватися про сумнівні аспекти дослідження і обґрунтувати підстави свого підходу.

Якщо дослідження виконується без залучення лабораторних тварин, рукопис повинен містити наступний пункт: "Ми заявляємо, що ми не проводимо досліджень на тваринах". Дослідження, які проводяться на тваринах, повинні відбуватися у відповідності із встановленими інституціональними нормами використання лабораторних тварин. Науковці повинні керуватися принципами гуманного ставлення до тварин, що використовуються в дослідках. Необхідно подати наступну інформацію: вид тварин, генетичний статус: лінія (згідно правил стандартного позначення ліній лабораторних тварин); категорія лабораторних тварин або їх мікробіологічний статус; маса та вік тварин на початку експерименту; карантин або тривалість періоду акліматизації під час перевезення тварин на великі відстані; утримання тварин під час експерименту (параметри мікроклімату, температура, вологість, об'єм повітря, світловий режим, тип клітки, тип підстилки). Автори повинні підтвердити відповідність нормативам утримання та годування тварин (Європейська конвенція по захисту хребтових тварин, що використовуються з експериментальною або іншою метою. – Страсбург, 1986), наявність сертифікату якості, а також повідомити джерело набутих тварин. Необхідно описати всі процедури, які виконуються на тварині, дози препаратів, що вводилися, хірургічні втручання та інші дії, а також відмітити використання при цьому методів анестезії (див. інформацію про Права Людини і Тварини).

Ці правила поширюються на всі види рукописів, у тому числі статті, короткі доповіді, коментарі до клінічних випробувань. Рукописи, які не відповідають цим вимогам, будуть повернені авторам для корекції.

Information for authors

In order to comply with the international regulations, the authors are strongly encouraged to consult the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" at www.icmje.org.

As an integral part of the publication process, the authors, reviewers and editors are required to confirm whether they have any conflicts of interest to declare, and to provide details of these in the following Conflict of Interest Statement Form. The authors of the articles will respect the patients' right to privacy. Upon the familiarization with the abovementioned details, the patient must complete the Standard Statement of Informed Consent Form. The lack of confidential data must be certified by the act of expert committee attached to the article. The referral from the corresponding establishment with the statement that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals must be sent with it as well.

Articles in Ukrainian, Russian or English are accepted for publication in The Medical and Ecological Problems. The article is submitted to journal in two copies. The article comprises the text of the research (15 pages for articles, 20 pages for reviews, 7 pages for brief reports); the list of cited literature (20 positions at most for articles; 50 positions at most for reviews; 15 positions at most for brief reports); tables, figures (no more than 4); legends and captions; summaries in Ukrainian, Russian and English (approximately 250 words) providing the arguments in support of the aim of the research, explanation of materials and methods, the results and conclusions.

The first page contains UDC code, author's record (name, initials, scholar degrees, title, the title of the article, institution, city) and keywords – from 5 to 10 words or phrases revealing the content of the article. Title of the paper in Russian, Ukrainian and English should be concise, it must not exceed 120 characters. A subtitle is acceptable. The text of original papers must be divided into paragraphs, including introduction, the aim of the research, materials and methods, results and conclusions. The last page must be manually signed by author(s) of the article, featuring first name, last name and patronymic, address, telephone numbers (office, home) for Editorial office to keep contact with. By submitting a paper to the editor, authors thereby confirm the original form of the articles, which means that the copyright or any other property rights of the third parties are not violated. The author(s) sign the article thereby certifying that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals. The text of the manuscript must be in printing type no less than 2,8 mm, double-spaced, on A4-size sheets (210x297 mm); margins from each side – 20 mm. Along with 2 printed copies, the manuscript is provided in Microsoft Word format on electronic media. Latin notions and foreign words must be typed in italics. Only common abbreviations may be left unexplained. No abbreviations are acceptable in the title. All values are set in SI units; however, other generally used abbreviations and units (l, min., h, C, Da, cal) are also accepted. Figures (drawings, photographs) must be numbered. Figure captions are to be printed on a separate page. Drawings should be prepared using tools available in Word processors or in Excel. Photographs must be of high quality. Tables should be on separate sheets, numbered consecutively and headed by a concise title. Figures are adjuncts to the text and should not repeat material presented therein. On the reverse side of the figures it is necessary to write with a pencil their sequence numbers, name of the first author and the short title of the article. The list of cited literature is provided on a separate page without abbreviations. The authors are stated in alphabetical order, at first the sources in Cyrillic alphabet, then in Roman alphabet. The references in the text are indicated in [square] brackets. The cited works are to be compiled in the following way: for monographies – Name, initials. Book name. Place of publication. Publishing house, year. Total number of pages; for journals – Name, initials. Article name. Abbreviated name of journal. Volume, number: pages containing the article.

At the same time the authors provide full translation of the article's text, picture captions and table materials into English. In the list of references, the Cyrillic positions must be transliterated with the use of "Trans 1.02" or similar programs.

The original papers are peer-reviewed. Usually editorial staff chooses two readers who review papers during two weeks. The manuscript with review is sent to authors and after being corrected is delivered to editorial office for final acceptance.

Upon publication of the paper, the authors transfer the copyright to the Editorial office of the journal. The Editorial office reserves the right to alter and correct the manuscript considered for publication in the way that will not change its overall content and value.

When reporting experiments on human subjects, authors should indicate whether the procedures were performed in accordance with the ethical standards of Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2005. Therefore the manuscript must include the following clause: "We declare that during research the rights of patients were taken into consideration according to Helsinki Convention". If doubts for that matter arise, the authors must account for the doubtful aspects of the study and explain the reasons for their approach.

If the research does not presuppose experiments on laboratory animals, the article must include the following statement: "We declare that we do not perform research on animals". When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guides for care and use of laboratory animals were respected. The authors must follow the principles of humane attitude to animals used in experiments. They must submit the following information: type of animals, genetic status: the line (according to standard rules of defining the lines of laboratory animals); the category of laboratory animals or their microbiological status; weight and age of animals at the beginning of the experiment; quarantine or acclimatization period during transportation over long distances; maintenance conditions during the experiment (microclimate parameters, temperature, humidity, air volume, light conditions, cage type, type of bedding material). The authors must prove the compliance with normative standards on animals maintenance and foddering (European Convention for the Protection of vertebral animals used in experiments or other purposes. – Strasbourg, 1986) and provide the information as to the acquisition source of animals, as well as the quality certificate. It is necessary to describe all procedures performed on animals, introduced doses of medications, surgical interventions and other actions, the use of anesthesia methods (See Statement of Human and Animal Rights).

The abovementioned requirements must apply to all original papers, including original research, brief reports, case reports and also for comments on clinical trials. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to authors for correction.

