

Summary

ACTIVATION OF MECHANISMS OF PERIODONTAL TISSUE REGENERATION BY APPLYING CELL TECHNOLOGIES

Brashkin A.P.

Keywords: bone tissue, periodontium, bone regeneration mechanisms, cytokines, mesenchymal stem cells.

This research paper presents the results obtained by studying the peculiarities of the course of periodontal inflammation and the estimate of efficiency produced by regulatory impact of mesenchymal stem cells (MSC) on the regeneration of the jawbone. The investigations were carried out on 195 male Wistar rats weighing 270 ± 58 g and aged 11-12 months with spontaneous periodontitis. Osteotrophic material in combination with MSCs and their culture supernatant fluid were applied onto the bone lesions of the rats. To clear up the mechanisms of MSCs role in inflammatory process we studied morphological parameters of healing and inflammation in modelled wounds. Regulatory effects were studied by the dynamics in changing of -1β , IL-4, IL-8, IL-6, IL-10 and TNF α . It was found out the applying MSC cultures led to the more rapid reparative process and reduced the inflammation in the wound due to the role of the culture in paracrine regulation of jawbone regeneration.

УДК 616.126.42-089.28-003.96

Котюжинская С. Г., Гоженко А. И., Свирский А. А.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИПИТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ ПРИ ЖИРОВОЙ НАГРУЗКЕ

Одесский национальный медицинский университет

ГП Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса

Постпрандиальная дислипидемия рассматривается как один из ведущих факторов, влияющих на развитие и прогрессирование атеросклероза за счет пролонгированной экспозиции липопротеинов в системном кровотоке, активации их окислительной модификации. Однако до настоящего времени латентно протекающие атерогенные отклонения в липидтранспортной системе изучены недостаточно. Целью нашего исследования было изучение состояния липидтранспортной системы и её функциональной активности в условиях нагрузки жиром у пациентов с атеросклерозом. В обследование приняли участие 51 пациент, из них 26 мужчин и 25 женщин, средний возраст $55,65 \pm 2,43$ лет, подписавших информационное соглашение. Все больные были разделены на группы по нозологическим характеристикам. Применена методика стандартной одноразовой пищевой жировой нагрузки, предложенная J. Patsch. В ходе исследования оценивали липидный спектр крови и активность липопротеинлипазы (по методу T. Olivecrona в модификации В. Н. Титова). Выявлено выраженное снижение толерантности липидтранспортной системы к жировой нагрузке, проявляющееся в значительном нарушении как прямого, так и обратного транспорта холестерина и обмена липопротеинов в целом, на фоне неадекватной активности ЛПЛ, за счет снижения эффективности липолиза у больных атеросклерозом.

Ключевые слова: липопротеины, липопротеинлипаза, жировая нагрузка, атеросклероз, постпрандиальная дислипидемия.

Работа выполнялась в рамках плановой НИР Одесского национального медицинского университета МЗ Украины «Роль и механизмы нарушения липидтранспортной системы крови в патогенезе атеросклероза» (№ госрегистрации 0110U006663).

Вступление

Многочисленные эпидемиологические исследования последних десятилетий убедительно свидетельствуют о том, что атеросклероз относится к числу наиболее массовых заболеваний современности, имеющих в большинстве стран тенденцию к росту и «омоложению» [1,5,6,11]. Вполне очевидно, что на современном этапе возрастает значимость дифференцированной диагностики, а также эффективной профилактики и лечения атеросклеротического поражения сердечнососудистой системы [2,8,10].

В происхождении атеросклероза у человека важную роль играют как эндогенные нарушения процессов синтеза, транспортировки, ферментативного превращения и катаболизма холестерина в организме, так и экзогенные влияния, в частности, различные виды пищевых нагрузок,

являющиеся неотъемлемой составляющей повседневной жизни человека.

В настоящее время доказано, что наряду с нарушениями липидного обмена, важная роль в патогенезе атеросклероза принадлежит постпрандиальным изменениям липопротеинов. Постпрандиальная дислипидемия рассматривается как один из ведущих факторов, влияющих на развитие и прогрессирование атеросклероза [4,7,9]. Установлено, что нарушение постпрандиального метаболизма липидов плазмы приводит к пролонгированной экспозиции липопротеинов в системном кровотоке, активации их окислительной модификации, что способствует увеличению риска атеросклеротического поражения сосудов [10,12].

В зарубежной и отечественной литературе широко освещено использование жировой на-

грузки для изучения метаболизма липопротеидов у человека, что позволяет охарактеризовать изменения в липидтранспортной системе и провести поиск маркеров возможных атерогенных изменений, проявляющихся у человека после приёма жирной пищи [3,9,13]. Однако до настоящего времени латентно протекающие атерогенные отклонения в липидтранспортной системе изучены недостаточно.

Целью нашего исследования было изучение состояния липидтранспортной системы и её функциональной активности в условиях нагрузки жиром у пациентов с атеросклерозом.

Материалы и методы исследования

В обследование приняли участие 51 пациент, из них 26 мужчин и 25 женщин в возрасте от 45 до 62 лет (средний возраст $55,65 \pm 2,43$ лет). Все больные были разделены на группы: в группу с диффузным кардиосклерозом при нормальных величинах артериального давления (АТ) вошло 13 больных, среди них 7 мужчин и 6 женщин (средний возраст $57,62 \pm 1,52$ лет). Группу больных с диффузным кардиосклерозом в сочетании с гипертонической болезнью (АТ+ГБ) составило 6 мужчин и 7 женщин (средний возраст $56,23 \pm 1,96$ лет). Группой сравнения служили больные со стабильной ИБС без инструментальных признаков коронарного атеросклероза – 15 человек (7 мужчин и 8 женщин, средний возраст $58,22 \pm 1,27$ лет). В качестве контроля обследованы практически здоровые люди – 12 человек (8 мужчин и 7 женщин, средний возраст $42,97 \pm 1,18$ лет). Выделенные группы сопоставимы по возрасту и полу. Каждый пациент дал информационное согласие на участие в исследовании.

Однократную жировую нагрузку проводили по методике J. R. Patsch (1983), которая заключалась в прием натощак в течение 5 минут 20% сливок с 50 г белого хлеба (из расчета 65 г эмульгированного жира на 1 м² поверхности тела). Кровь забирали натощак, через 3 и 6 часов после приема пищи.

Содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), уровень холестерина в липопротеидах высокой плотности (ХС-ЛПВП) определяли ферментативным методом с использованием тест-наборов фирмы Soramay Diana (Польша). Концентрацию ХС-ЛПВП устанавливали после осаждения фракций липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) под действием гепарина и ионов марганца. Содержание ХС в ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП рассчитывали математически по формуле Фридвальта.

Активность липопротеинлипазы плазмы крови определяли титрованием по методу Т. Olivecrona (1992) в модификации В. Н. Титова

(2003), полученной из локтевой вены спустя 15 минут после введения гепарина фирмы «Биолек» (Украина) в дозе 50 МЕ/кг. Показателем активности фермента является количество освобожденных жирных кислот из триглицеридов в течение 1 часа (ммоль/л/ч).

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ липидного спектра крови у пациентов исследованных групп выявил выраженную гипертриглицеридемию в группах АТ+ГБ и АТ относительно показателей здоровых добровольцев, где уровень ТГ был повышен на $69,76 \pm 2,81$ % и $63,56 \pm 2,69$ % соответственно. У пациентов с ИБС концентрация ТГ была выше показателей группы контроля на 40,31 %, но находилась в границах допустимых норм (рис. 1).

Для ранней постпрандиальной фазы (через 3 часа после нагрузки) был характерен прирост ТГ у обследованных всех групп, что подтверждает отсутствие различий в этот период по сравнению с исходными показателями в группе контроля и является физиологичным. Однако следует отметить, что наибольший уровень прироста ТГ от исходных данных наблюдался у пациентов с АТ, а минимальный – с ИБС ($+1,68 \pm 0,21$ и $+1,46 \pm 0,17$ против $+1,54 \pm 0,11$ ммоль/л в группе контроля, соответственно).

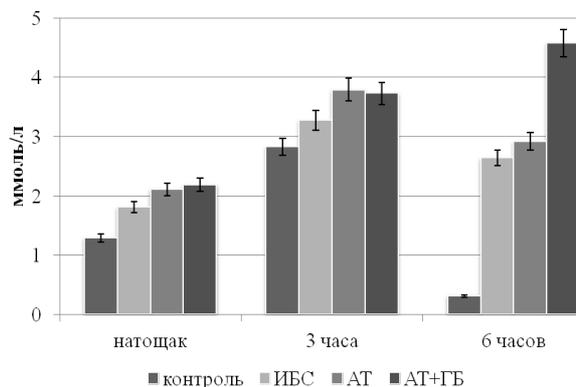


Рис. 1. Динамика изменения ТГ у пациентов исследуемых групп в зависимости от времени после жировой нагрузки.

Разнонаправленная динамика изменений количества ТГ наблюдалась и через 6 часов после нагрузки в группах исследования. Так, снижение уровня, но с разной степенью интенсивности, отмечалось как у больных ИБС, так и АТ. При этом следует отметить, что уровень ТГ продолжал оставаться высоким и ни в одной из групп обследованных не снизился до показателей натощак, кроме контрольной. У пациентов с АТ+ГБ через 6 часов после жировой нагрузки концентрация ТГ продолжала расти ($+0,85 \pm 0,03$ ммоль/л).

Выраженность гиперхолестеринемии натощак в группах АТ и АТ+ГБ можно охарактеризовать как умеренную, у пациентов с ИБС показатели находились на верхней границе нормы (рис. 2).

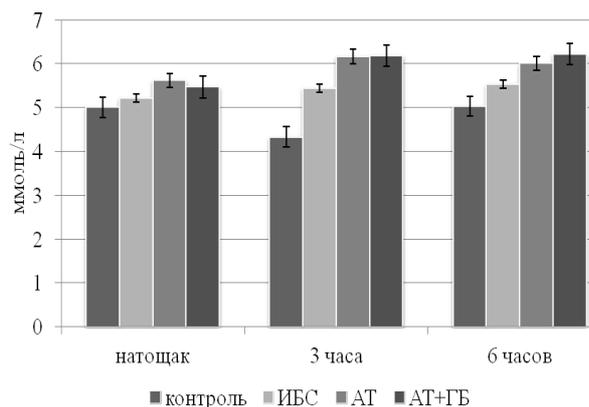


Рис. 2. Динамика изменения ОХС у пациентов исследуемых групп в зависимости от времени после жировой нагрузки.

В то же время исходные уровни ОХС достоверно не отличались в исследуемых группах, хотя наибольшие значения регистрировались у пациентов с АТ ($5,62 \pm 0,92$ против $5,01 \pm 0,16$ ммоль/л в группе контроля).

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что по истечении 3 часов после жировой нагрузки наибольшее изменение претерпел уровень ОХС в группе добровольцев – снижался на $0,68 \pm 0,12$ ммоль/л относительно исходных данных, в то время как у больных всех групп нарастал. Достоверные изменения были отмечены в группах АТ и АТ+ГБ ($+0,55 \pm 0,03$ и $+0,71 \pm 0,02$ ммоль/л, соответственно, $p < 0,05$). Следует отметить, что степень прироста ОХС у больных ИБС была минимальной ($+0,22 \pm 0,03$ ммоль/л) относительно других групп.

Уровень гиперхолестеринемии через 6 часов после проведения теста продолжал нарастать у больных групп АТ+ГБ и ИБС (на $0,04 \pm 0,01$ и $0,10 \pm 0,02$ ммоль/л, соответственно), при этом в группе АТ+ГБ оставался максимально высоким (на $1,19 \pm 0,07$ ммоль/л, $p < 0,05$) по сравнению с данными контрольной группы. У пациентов с АТ, несмотря на высокий уровень ОХС относительно группы контроля, наблюдалась тенденция снижения концентрации (на $0,16 \pm 0,03$ ммоль/л), при этом уровень ОХС не достигал своих исходных величин и был значительно выше аналогичных данных по сравнению с контрольными показателями.

Сравнительный анализ динамики изменения уровней ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП выявил прогрессивный характер атерогенных сдвигов липидного профиля плазмы крови у обследованных пациентов. Так, у всех групп больных натощак наблюдался высокий уровень ХС ЛПНП, который значительно превышал аналогичные показатели в контрольной группе. Следует отметить, что максимальные величины наблюдались

в группе АТ+ГБ и ИБС не только относительно контрольных величин, но и больных с атеросклерозом.

Ранняя постпрандиальная фаза характеризовалась однонаправленной тенденцией увеличения концентрации ХС ЛПНП во всех группах, при этом степень прироста была максимальной в группе АТ+ГБ (на $1,34 \pm 0,11$ против $0,16 \pm 0,02$ ммоль/л в группе контроля, $p < 0,05$) и практически не отличалась между больными АТ и ИБС (на $0,21 \pm 0,02$ и $0,25 \pm 0,03$ ммоль/л соответственно).

Уровень ХС ЛПНП через 6 часов после жировой нагрузки был достоверно выше во всех группах больных относительно контрольных данных. Динамика изменений носила разнонаправленный характер. Так, наблюдалось снижение концентрации ХС ЛПНП в группах пациентов с АТ+ГБ и АТ (на $0,26 \pm 0,09$ и $0,04 \pm 0,01$ ммоль/л соответственно), как и в контрольной группе (на $1,08 \pm 0,43$ ммоль/л), но при этом показатели оставались выше фоновых данных.

Следует отметить, что у здоровых лиц уровень ХС ЛПНП становился достоверно ниже исходных показателей. Концентрация ХС ЛПНП увеличивалась через 6 часов после жировой нагрузки в 3,4 раза у больных ИБС по сравнению с данными контрольной группы и была достоверно выше показателей групп исследования.

Аналогичная динамика изменений наблюдалась и со стороны концентрации ХС ЛПОНП у данных групп исследования.

У больных всех групп выявлены достоверно более низкие уровни антиатерогенного ХС ЛПВП натощак по сравнению с лицами контрольной группы на фоне высоких уровней атерогенных липопротеидов. Следует отметить, что исходные уровни ЛПВП при этом достоверно не отличались между собой в группах больных ИБС и АТ+ГБ, и значительно был ниже у пациентов с АТ (рис. 3).

Через 3 часа после жировой нагрузки количество ХС ЛПВП во всех группах больных снижалось, в отличие от контрольной группы, где уровень ХС ЛПВП оставался на исходном уровне. Стоит отметить, что максимальная степень снижения уровня была у больных АТ и АТ+ГБ относительно данных контрольной группы (на $0,07 \pm 0,02$ и $0,31 \pm 0,09$ ммоль/л, соответственно). При этом степень уменьшения содержания ЛПВП у больных ИБС была одинакова с показателями группы АТ, несмотря на достоверно высокий титр ЛПВП относительно остальных групп исследования ($p < 0,05$).

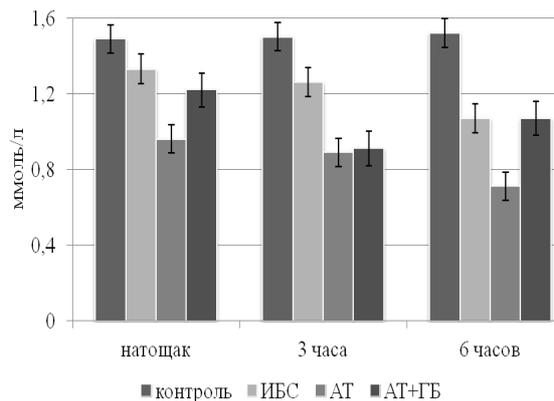


Рис. 3. Динамика изменения ХС ЛПВП у пациентов исследуемых групп в зависимости от времени после жировой нагрузки.

Как видно из представленных данных, реакция липидов на тест с жировой нагрузкой спустя 6 часов носила атерогенный характер во всех исследуемых группах относительно контроля, что проявлялось еще более выраженным дефицитом ХС ЛПВП. Выявленный атерогенный ответ липидного спектра на жировую нагрузку в данный период времени у лиц с АТ+ГБ частично нивелировался за счет более высокого постпрандиального ответа ЛПВП.

В группах больных ИБС и АТ динамика ХС ЛПВП усугубляла постпрандиальную дислипидемию за счет уменьшения адекватного их образования (на $0,18 \pm 0,04$ и $0,19 \pm 0,03$ ммоль/л соответственно относительно 3 часов и $0,26 \pm 0,15$ и $0,25 \pm 0,09$ ммоль/л по сравнению натощак).

Проведенные исследования показали увеличение ферментативной активности ЛПЛ на протяжении всего времени исследования во всех группах без исключения относительно исходного уровня (рис. 4). При этом наибольшая активность ЛПЛ наблюдалась в контрольной группе во вторую фазу постпрандиальной нагрузки.

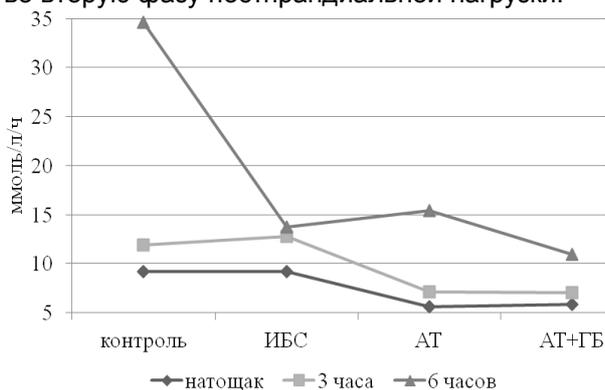


Рис. 4. Активность липопротеинлипазы в исследуемых группах в зависимости от времени жировой нагрузки.

Следует отметить, что у пациентов с атеросклерозом, несмотря на невысокий начальный уровень ЛПЛ, через 6 часов после нагрузки активность фермента была максимальной по сравнению с другими группами больных, хотя и в 3 раза ниже контрольных величин.

В то же время уровень активности ЛПЛ натощак в группе ИБС был сопоставим с контрольными величинами, превышал незначительно активность в середине теста и контрольные показатели, и показатели остальных групп, однако к 6 часам после нагрузки уровень ЛПЛ был ниже данных в группе АТ.

Наши исследования показали, что выявленные нарушения со стороны активности ЛПЛ в разные фазы жировой нагрузки приводят к снижению эффективности липолиза, что нарушает механизм транспорта холестерина и обмена липопротеинов в целом.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о патологических изменениях в липидтранспортной системе в постпрандиальном периоде у больных атеросклерозом. Проведение алиментарной нагрузки жиром привело к пролонгированному (более 6 часов) повышению содержания ТГ в плазме, свидетельствующему о нарушении толерантности к жиру, что в свою очередь усиливает проявление атерогенности ХС ЛПНП.

На основании низкого фонового уровня ХС ЛПВП и отсутствия повышения ХС ЛПВП после жировой нагрузки у обследованных пациентов, можно предположить нарушение элиминации богатых ТГ липопротеидов в постпрандиальном периоде на фоне возможной недостаточной активности ЛПЛ. Следовательно, пищевая жировая нагрузка ведет не только к постпрандиальной гиперлипемии, но и к изменениям в системе ЛПВП-опосредованного оттока холестерина у пациентов обследуемых групп.

Обращает на себя внимание и тот факт, что в постпрандиальном периоде пролонгированная липемия наблюдалась в группе больных ИБС, где фоновые показатели уровней липидов плазмы не превышали оптимальных уровней, что, по нашему мнению, свидетельствует о скрытых нарушениях обмена плазменных липидов.

При атеросклеротических нарушениях выявлено выраженное снижение толерантности липидтранспортной системы к жировой нагрузке, проявлявшееся в значительном нарушении как прямого, так и обратного транспорта холестерина на фоне неадекватной активности липопротеинлипазы.

Литература

1. Аронов Д. М. Атеросклероз и коронарная болезнь сердца / Д. М. Аронов, В. П. Лупанов. – М. : Триада-Х, 2009. – 248 с.
2. Волкова Н. И. Артериальная гипертензия и метаболические нарушения / Н. И. Волкова, И. С. Джериева // Клиническая медицина. – 2010. – № 2. – С. 4-8.
3. Зыкова Т. А. Особенности триглицеридемии в условиях пищевого стресса у женщин репродуктивного возраста с семейным анамнезом ишемической болезни сердца и сахарного диабета типа 2 / Т. А. Зыкова, А. В. Стрелкова, Л. В. Уледева [и др.] // Вестн. Репр. – 2010. – № 3-4. – С. 30-33.
4. Гіпертригліцеридемія як чинник атерогенезу: значимість і механізми дії / Т. В. Талаєва, В. В. Амброскіна, Т. А. Крячок [та 92н.] // Фізіол. Журн. – 2008. – Т. 54, № 5. – С. 61-70.

- Денисенко А. Д. Роль активности липопротеинлипазы, гиперинсулинемии и уровня неэстерифицированных жирных кислот в развитии дислипидемий / А. Д. Денисенко, Т. В. Виноградова, Е. В. Агеева // Медицинский академический журнал. – 2005. – № 4. – С. 43-49.
- Калинкин М. Н. Атеросклероз: патофизиология, лечение, первичная профилактика / М. Н. Калинкин, В. С. Волков, В. В. Захарин. – Тверь: РИЦ ТГМА, 2009. – 215 с.
- Максименко А. В. Функции и состояние эндотелиального гликокаликса в норме и патологии / А. В. Максименко, А. Д. Турашев // Атеросклероз и дислипидемии. – 2011. – № 2. – С. 4-17.
- Титов В. Н. Атеросклероз – проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и эндозкологии / В. Н. Титов // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 129, № 2. – С. 124-143.
- Adipocyte modulation of high-density lipoprotein cholesterol / Y. Zhang, F. C. McGillicuddy, C. C. Hinkle [et al.] // Circulation. – 2010. – Vol. 121, N 11. – P. 1347-1355.
- Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis / A. V. Khera, M. Cuchel, M. de la Lera-Moya [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 364, № 2. – P. 127-135.
- Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies / D. Wormser, S. Kaptoge, E. di Angelantonio [et al.] // Lancet. – 2011. – Vol. 377 (9771). – P. 1085-1095.
- Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet / X. Zhang, R. Qi, X. Xian [et al.] // Circ. Res. – 2008. – Vol. 102. – P. 250-257.
- Yasuda T. Update on the role of endothelial lipase in high-density lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis / T. Yasuda, T. Ishida, D. J. Rader // Circ. J. – 2010. – Vol. 74. – P. 2263-2270.

Реферат

ПАТОГЕНЕТИЧНИ АСПЕКТИ ЛІПІДТРАНСПОРТНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА АТЕРОСКЛЕРОЗ ПРИ ЖИРОВОМУ НАВАНТАЖЕННІ

Котюжинська С.Г., Гоженко А.І., Свірський О.О.

Ключові слова: ліпопротеїди, ліпопротеїнліпаза, жирове навантаження, атеросклероз, постпрандіальна дисліпідемія.

Постпрандіальна дисліпідемія розглядається як один з провідних факторів, що впливають на розвиток і прогресування атеросклерозу, за рахунок пролонгованої експозиції ліпопротеїнів у системному кровотоці, активації їх окислювальної модифікації. Однак до теперішнього часу атерогенні відхилення в ліпідтранспортній системі латентної дії вивчені недостатньо. Метою нашого дослідження було вивчення стану ліпідтранспортної системи та її функціональної активності в умовах навантаження жиром у пацієнтів з атеросклерозом. В обстеженнях взяв участь 51 пацієнт, з них 26 чоловіків і 25 жінок, середній вік $55,65 \pm 2,43$ років, що підписали інформаційне угоду. Всі хворі були розділені на групи за нозологічними характеристиками. Застосована методика стандартного одноразового харчового жирового навантаження, запропонована J. Patsch. У ході дослідження оцінювали ліпідний спектр крові і активність ліпопротеїнліпази (за методом Т. Olivecrona в модифікації В. Н. Титова). Виявлено виражене зниження толерантності ліпідтранспортної системи до жирового навантаження, що виявлялося в значному порушенні як прямого, так і зворотного транспорту холестерину і обміну ліпопротеїнів в цілому на тлі неадекватної активності ліпопротеїнліпази, за рахунок зниження ефективності ліполізу у хворих на атеросклероз.

Summary

PATHOGENETIC ASPECTS OF LIPID-TRANSPORTING SYSTEM IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS UNDER LIPID LOAD

Kotyuzhynska S.G., Gozhenko A.I., Svirskly O.O.

Keywords: lipoproteins, lipoprotein lipase, lipid load, atherosclerosis, postprandial dyslipidemia.

Postprandial dyslipidemia is considered as one of the leading factors that influence the development and progression of atherosclerosis due to prolonged exposure of lipoproteins in the circulation system, as well as the activation of their oxidative modification. However up to date atherogenic abnormalities in lipid-transporting system of latent action have been studied insufficiently. The present study was aimed to investigate the statet of lipid-transporting system and its functional activity in terms of fat load in patients with atherosclerosis. The study involved 51 patients, including 26 males and 25 females, the mean age was $55,65 \pm 2,43$ years, who gave written consent. All the patients were divided into groups according to nosological characteristics. The methodology of standard one-time food fat load proposed by J. Patsch was applied. During the study we evaluated the blood lipid profile and lipoprotein lipase activity (by the method of T. Olivecrona in V.N. Titov's modification). It was revealed marked reduction of tolerance of lipid-transporting system to lipid load, which was manifested by significant impairment of both direct and reverse cholesterol transport and lipoprotein metabolism in general against the background of inadequate activity of lipoprotein lipase, by reducing the efficiency of lipolysis in patients with atherosclerosis.