

УДК 577.1+616.316-056.5

Гордієнко Л.П.

ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС – ПРОВІДНИЙ МЕХАНІЗМ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

На сьогодні, згідно з висновком експертів ВООЗ, у світі спостерігається епідемія ожиріння. За даними літератури, ожиріння та асоційовані з ним патологічні стани призводять до зниження функціонування слинних залоз і як наслідок зменшення салівації, підвищення в'язкості слини, розвитку ксеростомії. Порушення функціонування слинних залоз є причиною розвитку патологічних процесів в органах порожнини рота, а також призводить до порушення процесів травлення в інших відділах травного тракту. Метою дослідження було вивчення вільно-радикальних процесів та стану антиоксидантної системи у слинних залозах щурів за умов висококалорійної дієти (ВКД). Дослідження проводили на білих щурах, які протягом 20 тижнів перебували на ВКД. Через 3, 10, 12, 15, 20 тижнів від групи дослідних тварин рандомізовано відбирали щурів для отримання біологічного матеріалу, який використовували у подальших дослідженнях. Перебування на ВКД у щурів призводить до розвитку абдомінального ожиріння. За умов перебування на ВКД у слинних залозах щурів отримано достовірне підвищення вмісту реактантів тіобарбітурової кислоти, окисно-модифікованих білків, молекул середньої маси і достовірне зниження активності каталази та супероксиддисмутази, що свідчить про дисбаланс про- та антиоксидантної системи і розвиток оксидативного стресу, що супроводжується ендотоксемією.

Ключові слова: слинні залози, висококалорійна дієта, оксидативний стрес, ендотоксемія.

Робота є фрагментом НДР «Механізми розвитку патологічних змін в органах порожнини рота за різних умов та їх корекція» реєстраційний номер 0113U005913.

Вступ

На сьогодні, згідно з висновком експертів ВООЗ, у світі спостерігається епідемія ожиріння. Серед дорослого населення США надлишкову масу тіла виявлено в кожного другого мешканця, Великої Британії – у кожного третього, Німеччини – у кожного другого. Українці вже ввійшли до європейських націй, які найбільше потерпають від надлишкової маси тіла. На сьогодні ожиріння чи надлишкову масу тіла мають 35 – 36 % українських чоловіків, 41 % жінок і 15 -16 % дітей; при цьому зберігається небезпека зростання цих показників [6]. В структурі захворюваності на ожиріння первинне ожиріння (аліментарно-конституційне) займає перше місце, на його долю припадає до 95 %, на відміну від вторинного (симптоматичного) ожиріння, на долю якого припадає лише 5%. [5]. Глобальні зміни в способі життя людства, зростання в раціоні висококалорійних продуктів, хаотичний режим харчування, обмеження фізичної активності призводять до пандемії аліментарного ожиріння, що характеризується надмірним накопиченням у жировій тканині триацилгліцеролів. Загальновідомо, що слинні залози є чутливими до метаболічних та функціональних змін в організмі, особливо в патологічних умовах [8]. За даними літератури, ожиріння та асоційовані з ним патологічні стани призводять до зниження функціонування слинних залоз і як наслідок зменшення салівації, підвищення в'язкості слини, розвитку ксеростомії. Порушення функціонування слинних залоз є причиною розвитку патологічних процесів в органах порожнини рота, а також призводить до порушення процесів травлення в інших відділах травного тракту [8, 10, 12]. Важливе значення у

розвитку патологічних змін при ожирінні має надмірна активація вільно-радикальних процесів, і як наслідок, порушення балансу між про- та антиоксидантною системою і розвиток оксидативного стресу [9, 11]. У той же час недостатньо вивченою проблемою сучасної медицини є розкриття патогенетичних механізмів ушкодження слинних залоз при ожирінні.

Мета дослідження

Вивчення вільно-радикальних процесів та стану антиоксидантної системи у слинних залозах щурів за умов висококалорійної дієти (ВКД).

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 101 білих щурах з початковою масою 210–215 г. Упродовж першого тижня всі тварини отримували стандартну їжу «Purina rodent chow» і воду ad libitum. На 8-й день щурів рандомізовано було поділено на дві групи. Тварини 1-ї (контрольної) групи протягом наступних 20 тижнів отримували стандартне харчування, що містить 20,6 % жирів, 32,4 % білків, 47 % вуглеводів, і воду ad libitum. Щури II групи перебували на ВКД, яка складалась із стандартного харчування (47%), солодкого концентрованого молока (44 %), олії (8 %), крохмалю (1 %) (дієта #С 11024) і води ad libitum [13]. Через 3, 10, 12, 15 та 20 тижнів від групи дослідних тварин рандомізовано відбирали щурів для отримання біологічного матеріалу, який використовували у подальших дослідженнях. У гомогенаті слинних залоз щурів визначали вміст окисно-модифікованих білків (ОМБ) [3], ТБК-реактантів [7], молекул середньої маси (МСМ) [2], активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] [1] та каталази [КФ 1.11.1.6] [4]. Результати до-

сліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента.

Результати та їх обговорення

Через 20 тижнів від початку експерименту у щурів визначали індекс маси тіла та масу вісцерального жиру.

Встановлено, що у щурів контрольної групи протягом 20 тижнів експерименту маса збільшилася на 27,5% , але індекс маси тіла і маса вісцерального жиру не змінилися. Через 20 тижнів у щурів II групи, які перебували на ВКД, маса збільшилася на 36,6 %. Маса вісцерального жиру у щурів цієї групи достовірно збільшилась у 1,93 разу порівняно з контролем. За умов ВКД на 3-й тиждень від початку експерименту у слинних залозах щурів вміст ТБК-реактивів та ОМБ залишався на рівні значень контрольних тварин (табл. 1). Однак вже на 10-й тиждень вживання ВКД спостерігалось достовірне зростання у 2,09 разу вмісту ТБК-реактивів та у 1,83 разу вмісту ОМБ порівняно з контролем та залишались достовірно підвищеними до кінця експерименту (табл. 1).

Активізація процесів вільно-радикального окиснення призводить до ендогенної інтоксикації та

до збільшення вмісту молекул середньої маси. Нами встановлено, що на 3-й тиждень вживання ВКД у тканинах слинних залоз щурів вміст МСМ залишався на рівні контрольних значень, однак на 10 тиждень вживання ВКД достовірно підвищився у 1,49 разу, вміст МСМ порівняно з контролем та залишався достовірно підвищеним до кінця експерименту (табл. 1). Таким чином, отримані нами результати свідчать, що тривале перебування на ВКД супроводжується посиленням вільно-радикальних процесів у тканинах слинних залоз щурів, що призводить до ендотоксемії.

Встановлено, що на 3-й тиждень перебування на ВКД показники активності СОД у тканинах слинних залоз щурів не відрізнялися від значень контрольних щурів (табл. 2). Тоді як на 10-й тиждень перебування на ВКД у тканинах слинних залоз щурів активність СОД достовірно збільшилась у 1,35 разу порівняно з контролем (табл. 2). На 12-й тиждень експерименту у тканинах слинних залоз щурів активність СОД залишалась достовірно збільшеною у 1,09 разу порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 1

Вміст ТБК-реактивів, окисно-модифікованих білків та молекул середньої маси у тканинах слинних залоз щурів за умов висококалорійної дієти, (M±m)

Групи тварин	Вміст ТБК-реактивів, мкмоль/г	Вміст окисно-модифікованих білків, у.о.	Вміст молекул середньої маси, у.о
1. Контроль 3 тижні (n=10)	26,925 ± 1,001	0,131±0,004	0,136±0,005
2. ВКД 3 тижні (n=10)	27,165 ± 1,136	0,135±0,005	0,140±0,005
3. Контроль 10 тижнів (n=10)	27,646 ± 1,202	0,140±0,005	0,135±0,005
4. ВКД 10 тижнів (n=10)	57,696 ± 1,133	0,256±0,005	0,201±0,005
5. Контроль 12 тижнів (n=10)	29,329 ± 1,001	0,144±0,006	0,138±0,006
6. ВКД 12 тижнів (n=10)	55,532 ± 1,264	0,250±0,005	0,208±0,005
7. Контроль 15 тижнів (n=10)	30,771 ± 1,122	0,143±0,004	0,140±0,007
8. ВКД 15 тижнів (n=10)	52,167 ± 1,343	0,247±0,006	0,214±0,007
9. Контроль 20 тижнів (n=8)	30,050 ± 1,016	0,141±0,005	0,141±0,005
10. ВКД 20 тижнів (n=13)	50,669 ± 1,346	0,241±0,008	0,217±0,006
Статистичний показник	P 1-2 > 0.05 P 3-4 > 0.05 P 5-6 > 0.05 P 7-8 > 0.05 P 9-10 > 0.05	P 1-2 > 0.05 P 3-4 > 0.05 P 5-6 > 0.05 P 7-8 > 0.05 P 9-10 > 0.05	P 1-2 > 0.05 P 3-4 > 0.05 P 5-6 > 0.05 P 7-8 > 0.05 P 9-10 > 0.05

Таблиця 2

Активність супероксиддисмутази та каталази у тканинах слинних залоз щурів за умов висококалорійної дієти, (M±m)

Групи тварин	Активність супероксиддисмутази, од/г	Активність каталази, нкат/г
1. Контроль 3 тижні (n=10)	0,827 ± 0,015	2,930±0,063
2. ВКД 3 тижні (n=10)	0,815 ± 0,015	2,970±0,080
3. Контроль 10 тижнів (n=10)	0,820 ± 0,016	3,010±0,087
4. ВКД 10 тижнів (n=10)	1,107 ± 0,007	2,411±0,058
5. контроль 12 тижнів (n=10)	0,850 ± 0,014	2,957±0,055
6. ВКД 12 тижнів (n=10)	0,926±0,010	2,278±0,058
7. Контроль 15 тижнів (n=10)	0,828 ± 0,013	2,890±0,066
8. ВКД 15 тижнів (n=10)	0,556±0,028	2,131±0,063
9. Контроль 20 тижнів (n=8)	0,834±0,016	2,880±0,097
10. ВКД 20 тижнів (n=13)	0,442 ± 0,013	1,906±0,059
Статистичний показник	P 1-2 > 0.05 P 3-4 > 0.05 P 5-6 > 0.05 P 7-8 > 0.05 P 9-10 > 0.05	P 1-2 > 0.05 P 3-4 > 0.05 P 5-6 > 0.05 P 7-8 > 0.05 P 9-10 > 0.05

На 15-й тиждень ВКД у тканинах слинних залоз щурів спостерігалось достовірне зменшення у 1,49 разу цього показника порівняно з контролем і залишалось достовірно зниженим до кінця експерименту (табл. 2).

За умов ВКД у тканинах слинних залоз щурів на 3-й тиждень експерименту активність каталази не відрізнялась від значень контрольних щурів (табл. 2). На 10-й тиждень експерименту у тканинах слинних залоз щурів активність каталази достовірно знижувалась у 1,25 разу порівняно з контролем (табл. 2) та залишалась достовірно зниженою порівняно зі значеннями активності цього ферменту у контрольних щурів протягом усього експерименту (табл. 2). Отже, тривале перебування на ВКД супроводжується виснаженням антиоксидантної системи у тканинах слинних залоз щурів.

Висновки

Таким чином, тривале перебування на ВКД призводить до накопичення вісцерального жиру та розвитку абдомінального ожиріння і викликає патологічні зміни у тканинах слинних залоз, а саме: активацію вільно-радикального окиснення та розвиток оксидативного стресу, що супроводжується ендотоксемією.

Перспективи подальших досліджень

Для вивчення механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов висококалорійної дієти дослідити в тканинах слинних залоз щурів стан NO-ергічної системи, білоксинтезуючу

функцію, а також провести патоморфологічні дослідження.

Література

1. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.] ; За ред. І.П. Кайдашева. – Полтава : Полімет, 2003. – 320 с.
2. Габриэлян Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 131-140.
3. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24-26.
4. Корольюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Корольюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
5. Манская Е.Г. Клиническая характеристика первичного ожирения у молодых женщин / Е.Г. Манская // Проблемы эндокринной патологии. – 2014. – № 2. – С. 47-52.
6. Пасієшвілі Л.М. Імунний дисбаланс як підґрунтя прогресування стеатогепатиту у хворих на артеріальну гіпертензію та ожиріння / Л.М. Пасієшвілі, Т.Ф. Хорошавина // Український терапевтичний журнал. – 2014. – № 2. – С. 40-44.
7. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68.
8. Тарасенко Л.М. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) / Л.М.Тарасенко, Г.А. Суханова, В.П. Мищенко [и др.]. – Томск: Издательство НТЛ, 2002. – 124 с.
9. Bondia-Pons I. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity / I. Bondia-Pons, L. Ryan, J.A. Martinez // J Physiol Biochem. – 2012. – Vol. 68, № 4. – P. 701-711.
10. Modeer T. Association between obesity, flow rate of saliva, and dental caries in adolescents / T. Modeer, C. Blomberg, B. Wondimu [et al.] // Obesity. – 2010. – Vol. 18, № 12. – P. 2367-2373.
11. Savini I. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state / I. Savini, M.V. Catani, D. Evangelista // Int J Mol Sci. – 2013. – Vol. 14, № 5. – P. 10497-10538.
12. Ueda H. The roles of salivary secretion, brain-gut peptides, and oral hygiene in obesity / H. Ueda, T. Yagi, H. Amitani [et al.] // Obes Res Clin Pract. – 2013. – Vol. 7, № 5. – P. 321-329.
13. West D.B. Dietary obesity in nine inbred mouse strains / D.B. West, C.N. Boozer, D.L. Moody [et al.] // Am J Physiol. – 1992. – № 262. – P. 1025-1032.

Реферат

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС – ВЕДУЩИЙ МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОЖИРЕНИИ

Гордиенко Л.П.

Ключевые слова: слюнные железы, высококалорийная диета, оксидативный стресс, эндотоксемия.

На сегодня, согласно заключению экспертов ВОЗ, в мире наблюдается эпидемия ожирения. По данным литературы, ожирение и ассоциированные с ним патологические состояния приводят к снижению функционирования слюнных желез и как следствие уменьшению слюноотделения, повышению вязкости слюны, развитию ксеростомии. Нарушение функционирования слюнных желез является причиной развития патологических процессов в органах полости рта, а также приводит к нарушению процессов пищеварения в других отделах пищеварительного тракта. Целью исследования было изучение свободно-радикальных процессов и состояния антиоксидантной системы в слюнных железах крыс при высококалорийной диете (ВКД). Исследования проводились на белых крысах, которые в течение 20 недель находились на ВКД. Через 3, 10, 12, 15, 20 недель от группы опытных животных рандомизированно отбирали крыс для получения биологического материала, который использовали в дальнейших исследованиях. Пребывание на ВКД у крыс приводит к развитию абдомінального ожирения. При ВКД в слюнных железах крыс получено достоверное повышение содержания реактантов тиобарбитуровой кислоты, окислительно-модифицированных белков, молекул средней массы и достоверное снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы, что свидетельствует о дисбалансе про- и антиоксидантной системы и развитии оксидативного стресса, который сопровождается эндотоксемией.

Summary

OXIDATIVE STRESS AS LEADING MECHANISMS IN DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE SALIVARY GLANDS UNDER MODELLED OBESITY

Hordinenko L.P., Kondroie M.M.

Key words: salivary glands, high-calorie diet, oxidative stress, endotoxemia.

Today, according to WHO experts, the world has witnessed the epidemic of obesity. According to the specific literature, obesity and associated pathological conditions lead to a decrease in proper functioning of the salivary glands, and as a consequence to reduction of salivation, increased saliva viscosity and dry mouth. Malfunctions of the salivary glands are the cause of pathological processes in the organs of the oral cavity and disruption of digestive processes in other parts of the gastrointestinal tract. The aim of this research was to study the free-radical processes and the condition of antioxidant system in the salivary glands of rats kept on high-calorie diet (HCD). The study was carried out on white rats kept on HCD during the 20 weeks. In 3, 10, 12, 15, 20 weeks of the experiment the animals were randomly selected for the biological material that was used in further studies. Keeping on HCD leads to the development of abdominal obesity in the rats. The study of salivary glands in rats demonstrates significant increase of thiobarbituric acid reactants, oxidation-modified proteins, molecules of average weight and significant decrease in the activity of catalase and superoxide dismutase, indicating an imbalance of pro- and antioxidant system and oxidative stress, which is accompanied by endotoxemia.

УДК 611.34

Гринь В.Г., Дейнега Т.Ф., Тарасенко Я.А., Свінцицька Н.Л.

ОСОБЛИВОСТІ АНАТОМІЧНОЇ ТА ГІСТОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ ЧЕРВОПОДІБНОГО ВІДРОСТКУ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна

У дослідженні використаний метод тотальної пластинації препаратів апендикса в епоксидній смолі Епон - 812 з подальшим виготовленням з отриманих блоків шліфів, забарелених метиленовим синім, які вивчені в світловому мікроскопі. Встановлено, що в плодovому періоді розвитку в епітеліальних криптах слизової оболонки апендикса, що формуються, переважаючими елементами є секреторні клітини Панета.

Ключові слова: плід, червоподібний відросток, клітини Панета.

Червоподібний відросток як невід'ємна частина сліпої кишки становить собою лімфоепітеліальний орган, що входить до складу периферичного відділу імунної системи, який належить слизовим оболонкам травного тракту. У контексті цієї проблеми постає питання про перинатальний період формування червоподібного відростка. Згідно з даними літератури гістогенетичні процеси в цей період цілком спрямовані на розвиток його як лімфоепітеліального органа. При цьому у внутрішньоутробний період поява лімфоїдної тканини в ньому лише злегка намічена, а сформовані лімфатичні вузлики з центрами розмноження виникають тільки після народження, що пов'язане з антигенною стимуляцією організму. На жаль, у літературі розвиток придатка сліпої кишки в період переходу завершальної фази ембріогенезу на початкову стадію постнатального життя представлено занадто поверхово, аби можна було судити про істинну морфологічну картину зазначеного вище функціонального перетворення.

Тому метою дослідження є вивчення морфологічної будови червоподібного відростку людини у плодovий період розвитку.

Матеріал і методи

Матеріалом дослідження слугували: три ілеоцекальні відділи кишечника плодів 11 тижнів,

один – 13 тижнів, один – 14 тижнів та останні два віком від 15,5 до 16 тижнів [6], які отримані у Полтавському обласному патологоанатомічному бюро будучи зареєстровані комісією з біоетики ВДНЗ України «УМСА» (протокол № 96 від 18.09.2011 р.).

Після фіксації в 10 % розчині нейтрального формаліну і відмивання від нього дані препарати піддавали дегідратації по зростаючій концентрації спирту з плавним переходом в ацетон. Подальша процедура полягала в поетапному просочуванні тканин епоксидною смолою Епон - 812 відповідно до методів підготовки матеріалу для трансмісійної електронної мікроскопії, але з подвійним подовженням часу на кожному етапі [5]. Після завершальної витримки препаратів в термостаті їх поміщали в прозорі пластикові форми з чистою епоксидною смолою, які повертали в термостат для остаточної полімеризації. Через деякий час епоксидні блоки витягали з пластикових форм і піддавали попередньому обстеженню і фотодокументації. Мікроскопічне вивчення апендиксів здійснено за допомогою одержання різних по товщині шліфів. Після ретельної полірування торцевих поверхонь їх фарбували 1% розчином метиленового синього на 1% розчині бури і вивчали за допомогою біокулярної лупи МБС-9 і світлового мікроскопа «Конус», оснащених цифровою фотоприставкою.