

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК: 616.314.17-008.1-085.262.1-085.276

Бабай О.М.

Ефективність клінічного застосування ліпосомальної форми фосфатидилхоліну: порівняльний ультраструктурний аналіз епітелію ясен на етапах лікування хворих на генералізований пародонтит

Харківський національний медичний університет

Резюме. На основі порівняльного ультраструктурного аналізу слизової оболонки ясен (СОЯ) до та на етапах клінічного застосування препарату ліпосомальної форми фосфатидилхоліну з'ясовано, що базальний шар епітелію був відносно розширений та представлений клітинами, які зберігають будову, характерну для слизової оболонки у нормі. Наведене свідчило про підвищення репаративного потенціалу цього шару, заповненого камбіальними клітинами, для відновлення цілісності епітелію. У шипуватому шарі клітини були більш виразно пов'язані поміж собою морфологічними контактами у вигляді демосом, що забезпечувало цілісність зв'язків клітин та підтримку бар'єрних властивостей епітелію; у зернистому шарі епітелію повного відновлення клітин не виявлено, однак більшість кератиноцитів мала будову, характерну для норми. Про ефективність застосування розширеного ТСК (депонування препарату ЛФЯФ шляхом інфільтраційних ін'єкцій та пародонтальної пов'язки), також свідчило підвищення функціональної активності клітин епітелію ясен: наявність в ядрах еухроматину, який переважає над гетерохроматином, крупних функціональних ядерців, які відображають активізацію процесу біосинтезу РНК та білку на тлі розширення ядерних пор, як морфологічного еквіваленту інтенсифікації процесу ядерно-цитоплазматичного транспорту.

Ключові слова: генералізований пародонтит, ультраструктурна морфологія, лікування, ефективність.

Дослідження виконано згідно з планом НДР Харківського національного медичного університету, кафедри терапевтичної стоматології «Удосконалення та розробка нових методів діагностики та лікування хворих з патологією щелепно-лицьової області» (номер держреєстрації 0106U001858).

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Незважаючи на те, що існує значна кількість методів, які дозволяють визначити клінічну ефективність стоматологічного лікування, оцінка морфологічної складової цієї ефективності не втрачає на сьогоднішній день своєї виключної актуальності; саме тому аналіз стану тканин пародонту представляє певний інтерес для дослідників та відіграє важливу роль при виборі терапевтичної тактики. В якості універсального неспецифічного критерію, який має місце при даній патології та визначає напрямок лікування, є структурно-функціональний стан тканин пародонту, зокрема слизової оболонки ясен (СОЯ), який взаємопов'язаний з гемодинамічними порушеннями, що можуть призводити до гіпоксії тканин та їх енергодефіциту. Доведено, що для патогенетичної корекції даних змін доцільним є використання ліпосомальних форм есенціальних фосфоліпідів [4, 7]. Відомим представниками даної групи є препарати ліпосомальної форми яєчного фосфатидилхоліну (ЛФЯФХ), що мають високий біоенергетичний потенціал та антигіпоксичний ефект, а їх застосування проявляється покращенням кисневого забезпечення тканин за рахунок підвищення швидкості дифузії кисню з легенів в кров, та з крові до тканин, а також мікроциркуляції та реологічних властивостей крові [5, 10]. Існують переконливі докази ефективності заходів для цілеспрямованої корекції визначених порушень за рахунок місцевого та загального використання ЛФЯФХ; саме включення препаратів цієї групи до терапевтичних стоматологічних комплексів (ТСК) у хворих на генералізований пародонтит (ГП) запроваджено нами [2, 9, 11].

Мета дослідження полягала у виконанні порівняльного аналізу ультраструктурних змін епітелію ясен хворих на генералізований пародонтит на етапах комплексного їх ліку-

вання із застосуванням препарату ліпосомальної форми яєчного фосфатидилхоліну.

Матеріал і методи дослідження

Матеріалом для проведеного морфологічного дослідження стали тканини слизової оболонки ясен (СОЯ) 40 осіб (10 – клінічно здорових осіб та 30 - хворих на ГП І-ІІ ступеня тяжкості у стадії загострення). Ділянка ясен висікалася під час операції видалення зуба за медичними показаннями. Це дозволило набрати первинний морфологічний матеріал для проведення мікроскопічного дослідження. У дослідженні були залучені виключно хворі, які дали інформовану згоду; біоптати забиралися на різних етапах клінічного моніторингу: до лікування КМ-I (10 осіб), через 30 днів після лікування (КМ-III: 10 осіб), через 6 міс (КМ-IV: 10 осіб) після лікування. Лікування проведено з використанням спеціального терапевтичного стоматологічного комплексу (ТСК), яким окрім лікувальних заходів згідно до клінічного протоколу [1, 11] передбачалось депонування препарату ЛФЯФХ шляхом інфільтраційних ін'єкцій та, додатково, пародонтальної пов'язки [9].

Для електронно-мікроскопічних досліджень СОЯ фрагменти тканини (розміром 1,0 мм³) були префіксовані в 5,0% параформальдегід - глутаральдегідному фіксаторі Карновського з подальшою постфіксацією в 1,0% розчині чотириокису осмію. Матеріал було дегідратовано в серії спиртів висхідної концентрації і ацетоні, після чого заключено в суміш епоксидних смол «епон-аралдїт» [6]. Напівтонкі та ультратонкі зрізи (товщиною 1 мк і 50-70 нм, відповідно) виготовляли на ультрамікромомі УМТП-3М. Забарвлення напівтонких зрізів виконували в 1,0% розчині метиленового синього і 1,0% розчині бури (1:1), з подальшим забарвленням основним фуksiном – за Арагісію [3]. Контрастування ультратонких зрізів проводили в насиченому розчині уранілацетату та за Рейнольдсом [11], після чого їх досліджували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу ЕМВ-100 БР. Фотовідбитки з негативів електроннограм виготовляли за допомогою цифрової фотокамери Canon EOS-300 D.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз напівтонких зрізів СОЯ у хворих на ГП виявив значне ниткоподібне стоншування епітеліального пласту, сосочки власної пластинки СОЯ були представлені пухкою сполучною тканиною, та містили значну кількість кровонесних капілярів, що розташовувалися майже біля поверхні епітеліального пласту (це, певно, сприяло підвищенню кровотоковості ясен). На ділянках стоншування епітелію розташовувалася міжклітинний набряк, формувалася десрукція і загибель клітин поверхневого, зернистого, шипуватого і базального шарів.

Електронно-мікроскопічно в зернистому, шипуватому та базальному шарах епітелію СОЯ виявлялися близько розташовані клітини, між якими відсутні десмосомальні контакти, оскільки руйнування десмосом призводило до відокремлення клітин і формування внутрішньо епідермальних порожнин, заповнених набряковою рідиною, що є результатом її випоту із судин власної пластинки СОЯ. Спостерігалася, як первинна втрата контактів між кератиноцитами (акантоліз), так і вторинна – міжклітинний набряк чи спонгіоз, що формується унаслідок проникнення серозної рідини в міжклітинні простори шипуватого шару епітелію.

Кількість цитоплазматичних остистих відростків у епітеліоцитів була зменшеною, а відростки – короткими; виявлявся осередковий лізис цитоплазматичної мембрани епітеліоцитів з присутністю епітеліоцитів, що містять в значній мірі лопатеве, місцями фрагментоване, клітинне ядро.

При цьому базальна мембрана, розташовувалась між епітелієм і власною пластинкою СОЯ, була багатоконтурна та переривчаста.

В ізольованих епітеліоцитах базального шару, що мали ділянки деструкції клітинної мембрани, була присутня осередкова деструкція і деградування каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. У частини хворих, в популяції кератиноцитів зернистого, шипуватого та базального шару епітелію була присутня велика кількість клітин з вираженими деструктивними змінами. Такі клітини містили інтенсивно лопатево ядро з численними подовженими тяжами; були присутні ділянки лізису ядерної мембрани та мала місце фрагментація ядра. У цитоплазмі кератиноцитів виявлялися фрагментація і осередковий лізис кератинових тонофібрил, набування та деструкція каналців, а також, у частині випадків, осередки деструкції та вакуолізації цитоплазми. В окремих кератиноцитах вакуолізація займала практично всю цитоплазму, а цитоплазматична мембрана додатково містила ділянки деструкції; при цьому виявлено, що щільність клітинних контактів між кератиноцитами була зниженою, спостерігалася відсутність чіткості контурів десмосом, а в окремих десмосомах – навіть відсутність контакту на тлі асиметрії десмосом

Аналіз напівтонких зрізів слизової оболонки ясен у хворих на ГП, після проведеного лікування виявлена наявність значної щільності клітин в базальному та шипуватому шарі епітелію. Базальний шар був розширений при порівнянні з СОЯ: відомо, що він відіграє важливу роль в процесі регенерації, оскільки містить камбіальні елементи епітелію. Цей шар епітелію представлений клітинами кубічної або призматичної форми, які мають ознаки, характерні для клітин цього шару в нормі. В цитоплазмі базальних клітин виявлена присутня невисока щільність кератинових філаментів, внаслідок чого цитоплазма мала світлий колір.

Електронно-мікроскопічне дослідження показало, що клітини базального шару мали овальні ядра з 2-3 ядерцями, що містили у незначній кількості гетерохроматин, який був локалізований довкола ядерної мембрани та у вигляді невеликих брилець розподілений по всій площі ядра; еухроматин займав основну територію ядра. Цитоплазма цих клітин мала невисоку електронну щільність, що обумовлена наявністю поодиноких тяжів кератогаліну в цитоплазмі. Клітини були розташовані на незначній відстані одна від одної та контактували між собою за допомогою десмосом пластинчастої будови. Десмосоми були локалізовані на численних цитоплазматичних відростках – так званих остистих відростках, що забезпечувало як трофічний, так і щільний зв'язок між клітинами. Лише поодинокі клітини в цьому шарі мали невеликі електронно-щільні ядра без диференціації на еухроматин та гетерохроматин.

Електронно-мікроскопічний аналіз шипуватого шару СОЯ виявив, що на відміну від базального, він містить крупні епітеліоцити неправильної форми, що характерно для норми. Виявлено, що в популяції кератиноцитів була присутня значна кількість епітеліоцитів, що містили велике еухромне ядро та різної щільності ядерця. У ядрі більшості клітин містилося одне крупне, або 2-3 помірному розміру ядерця. Присутність ядерць в клітинах свідчило про активізацію біосинтезу РНК, яка відіграє важливу роль в процесі біосинтезу білків. Як і в базальному шарі, клітини шипуватого шару контактували між собою десмосомами пластинчастої організації, що свідчило про часткове відновлення цілісності структури цього шару. У цитоплазмі епітеліоцитів були присутні численні осміофільні тонофібрили, а між клітинами виявлялися десмосомальні контакти; кератинові тонофібрили епітеліоцитів проникали в цитоплазматичні відростки клітин, контактуючи, таким чином, з десмосомами.

Епітелій ясен на переході між зернистим та шипуватим шаром виявлявся переважно вузький, містив невеликі клітини, в цитоплазмі яких кератинові філаменти були орієнто-

вані паралельно зернистому шару епітелію. Ядра кератиноцитів мали невеличкі ядерця. Виявлялися клітини з двома або більшою кількістю ядерць. В структурі ядер переважало еухроматин, що свідчило про їх функціональну активність; на підвищення активності ядерно-цитоплазматичного транспорту вказувала, також, наявність розширених порових комплексів. Як у шипуватому шарі, так і на ділянці його переходу в зернистий, були наявні десмосоми, що забезпечують контакт між клітинами та біохімічний і біофізичний зв'язок між ними. В зернистому шарі виявлялися поодинокі кератиноцити з ознаками деструктивних змін, про що свідчила наявність зигзагоподібної ядерної мембрани, а також цитоплазми з великою кількістю вакуолей та осередками гомогенізації.

Висновки

1. Аналіз напівтонких та ультратонких зрізів слизової оболонки ясен хворих на ГП до та після лікування за удосконаленою методикою [9] виявив, що базальний шар епітелію був відносно розширений та представлений клітинами, які зберігають будову, характерну для слизової оболонки у нормі. Це свідчить про підвищення репаративного потенціалу цього шару, заповненого камбіальними клітинами, для відновлення цілісності епітелію.

2. Після лікування за удосконаленою методикою [9], у шипуватому шарі клітини були більш виразно пов'язані між собою морфологічними контактами у вигляді десмосом, що забезпечувало цілісність зв'язків клітин та підтримку бар'єрних властивостей епітелію. При цьому, у зернистому шарі епітелію повного відновлення клітин не виявлено, однак більшість кератиноцитів мала будову, характерну для норми.

3. Про ефективність застосування розширеного ТСК (депонування препарату ЛФЯФ шляхом інфільтраційних ін'єкцій та пародонтальної пов'язки [9]), також свідчило підвищення функціональної активності клітин епітелію ясен: наявність в ядрах еухроматину, який переважає над гетерохроматином, крупних функціональних ядерць, які відображають активізацію процесу біосинтезу РНК та білку на тлі розширення ядерних пор, як морфологічного еквіваленту інтенсифікації процесу ядерно-цитоплазматичного транспорту.

Література

1. Антонов С.В. Стоматологія: нормативно-правові акти та документи / Упор. та автор коментаря С.В. Антонов // Київ: Центр медичного права. – 2009. – 696 с.
2. Бабай О.М. Эффективность применения «Липина» в комплексном лечении генерализованного пародонтита / О.М. Бабай, Ю.М. Краснопольский / Стоматолог. – 2003. – №5. – С.32-38
3. Григорьян А.С. Ключевые звенья патогенеза заболеланий пародонта в свете данных цитоморфометрического метода исследований / А.С. Григорьян, А.И. Грудьянов // Стоматология. - 2001. - № 1. - С.5-9
4. Каплун А.П. Липосомы и другие нано-частицы как средство доставки лекарственных веществ / А.П. Каплун, Ле Банг Шон, Ю.М. Краснопольский // ВМХ. – 1999. – №3. – С.3-13.
5. Килимниченко О.І. Застосування ліпіну в комплексному лікуванні гіпоксії різноманітної етіології: Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.30 / Донецький держ. мед. університет. – Днепропетровськ. – 1998. – 17 с.
6. Куниин А.А. Клиническая гистохимия барьерной функции слизистой оболочки десны при пародонтите / А.А. Куниин, Ю.А. Ипполитов, Л.И. Лепехина, Э.Г. Быков // Стоматология. - 2001. - № 1. - С.13-16.
7. Кушніренко С. Властивості ліпосом і їх застосування у клінічній медицині / С. Кушніренко // Ліки України. – 2003. – №1. – С.18-20.
8. Леонтьев В.К. Здоровые зубы и качество жизни / В.К. Леонтьев // Стоматология для всех. - 1999. - №2/3. - С.30-34.
9. Пат. № 55454 Україна, С2: А61К6/00, А61К31/685, А61К31/07, А61К31/355. Спосіб лікування запальних та запально-деструктивних процесів у пародонті / О.М. Бабай, Ю.М. Краснопольский,

А.М. Бабай (UA); власник: О.М. Бабай, Ю.М. Краснопольський, А.М. Бабай (UA) // Заявка №99126560 від 02.12.1999; опубл. 15.04.2003, Бюл. №4.

10. Перова Г.І. Експериментально-клінічне обґрунтування застосування лецитин-антиоксидантного комплексу при лікуванні генералізованого пародонтиту: Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.22 - стоматологія / Одеський національний медичний університет. – Одеса. – 2002. – 21 с.

11. Babay O.M. Comparative clinical and morphological analysis of the periodontitis of different genesis / Babay O.M., U.V. Merkulova, T.V. Deieva / Експериментальна та клінічна медицина. – 2015. – №2 (67). – С. 60-63.

Бабай О.М.

Эффективность клинического применения липосомальной формы фосфатидилхолина: сравнительный ультраструктурный анализ эпителия десен на этапах лечения больных генерализованным пародонтитом

Харьковский национальный медицинский университет

Резюме. На основі сравнительного ультраструктурного аналізу слизистої оболочкі десен (СОД) до і на етапах клінічного застосування препарату липосомальної форми фосфатидилхолина (ЛФФ) встановлено, що після застосування препарату базальний шар епітелію СОД був відносно розширеним і представлений клітками, що зберігають будову, характерну для СОД в нормі. Вказане свідчить про підвищення репаративного потенціалу цього шару, заповненого камбіальними клітками, для відновлення цілості епітелію. В шиповатому шарі виявлені клітки, які в більшій ступені взаємопов'язані між собою морфологічними контактами в вигляді дермосом, що забезпечувало цілісність і підтримку бар'єрних властивостей епітелію; в зернистому шарі епітелію повного відновлення кліток не виявлено, однак більшість кератиноцитів по будові наближалась до норми. Об'єктивності застосування розширеного терапевтичного стоматологічного комплексу (депозиція препарату ЛФФ шляхом інфільтраційних ін'єкцій і пародонтальної пов'язки), також свідчувало підвищення функціональної активності кліток епітелію десен: наявність в ядрах еухроматина, який переважає над гетерохроматином,

крупних функціональних ядрішечок, як проявлення активізації процесу біосинтезу РНК і білків на фоні розширення ядерних пор – морфологічного еквівалента інтенсифікації процесу ядерно-цитоплазматичного транспорту.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, ультраструктурная морфология, лечение, эффективность.

О.М. Babay

Efficacy of Clinical Application of Phosphatidylcholine Liposomes: Comparative Ultrastructural Analysis of Gingival Epithelium at Different Stages of Treatment of Patients with Generalized Periodontitis

Department of Therapeutic Dentistry

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Abstract. On the basis of comparative ultrastructural analysis of the gingival mucosa (GM) before and during the stages of clinical application of phosphatidylcholine liposome there was revealed that the basal layer of the epithelium was relatively expanded and represented by cells that preserved the structure typical for normal mucous membrane. It indicated an increase in reparative potential of this layer filled with cambial cells to restore epithelial integrity. In the stratum spinosum cells were more distinctly joined to each other with desmosomes that provided the integrity of the connections between cells and maintenance of barrier properties of the epithelium; in the stratum granulosum complete recovery of cells was not observed, however, the structure of most keratinocytes resembled the normal one. The efficacy of using advanced therapeutic dental complex (TDC) (deposition of egg phosphatidylcholine liposomes (EPCL) by means of infiltrative injections and periodontal bandage) was also indicated by an increase in functional activity of gingival epithelial cells: the presence of large functional nucleoli in the nuclei of euchromatin which predominates over heterochromatin reflecting the activation of the RNA and protein biosynthesis on the background of the expansion of the nuclear pores as morphological equivalent of the intensification of the nuclear-cytoplasmic transport process.

Keywords: generalized periodontitis; ultrastructural morphology; treatment; efficacy.

Надійшла 15.02.2016 року.

УДК 616.51-036-078:57.088.6'17

A.A. Berehova

Content of Mediators of Trophotropic Systems at Psoriatic Patients with Different Degree of Severity of Clinical Event

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

beregovaya78@mail.ru

Abstract. Psoriasis as one of the most widely-spread dermatosis is still an urgent problem of modern dermatology.

Aim. To assess, on the different levels of psoriasis' clinical event, condition of trophotropic system by the detection serotonin's, histamine's and histidine's content in the daily urine.

Materials and methods. 97 patients were examined and divided into groups according to the PASI classification: I – 35 patients with light degree of severity, II – 32 with mean, III – 30 with severe. Control group consisted of 30 relatively healthy people. Serotonin's, histamine's and histidine's detection was made in one test of daily urine according to the guideline of Ts.I. Herasymova. At the first stage their partition was made with the method of column chromatography. Content was calculated according to the fluorescence standard.

Results. The obtained results indicate considerable participation of histamine reactive system in the psoriasis' pathogenesis. Implementation of the last is connected with strong psycho-emotional stress, which develops in psoriasis patients in response to itching, first of all.

There has been discovered the trophotropic mediators' response:

histamine and serotonin in the process of psoriasis' development has adaptive character. Indirect predominance of histamine reactive system above serotonergic system has been found. In psoriasis' pathogenesis disturbances of vegetative mediators' balance play a leading part that in the conditions of its progress leads to the deadaptation and development of pathological reaction, which hook up regulative and metabolic processes.

Conclusions. Progressing of psoriasis during gradual transition from light to severe degree of clinical course is followed by activation of trophotropic functions. The obtained results put up a question about timely correction of trophotropic systems condition in psoriatic patients aiming to slow down its progression.

Keywords: serotonin, histamine, histidine, trophotropic system.

Psoriasis, as one the most widespread dermatosis, is still an urgent problem of modern dermatology. Prevalence of psoriasis in the world, due to the data of International Federation of Pso-