3. Гофман В.Р. Значение топографо-анатомических особенностей клиновидной пазухи при транссфеноидальной хирургии / В.Р. Гофман, А.В. Полежаев, В.Ю. Черебилло // Сб. науч. работ посвящ. 60-лет. кафедри ЛОР-болезней Красс. ГМА.-Красноярск, 2002. - С.56-63.
4. Гладуш Ю.И. Структурная и функциональная характеристика слизистой оболочки околоносовых пазух у животных в норме и при воспалении на фоне внешнего хронического γ-облучения / Ю.И. Гладуш, Л.Г. Розенфельд, Л.П Калиновская // Журн. вушн., нос. і горл. хвороб.- 2000. - №3. - С.52-58.
5. Харченко В.В. Строение слизистой оболочки носа / В.В. Харченко // Морфология. – 2002. – Т.121, №2-3. – С.166.
6. Харченко В.В. Структурно-функциональные особенности различных зон слизистой оболочки полости носа человека в норме и при некоторых формах воспалительной патологии: автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед наук / Харченко В.В. – Волгоград, 2005. - 25 с.

Реферат

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КЛИНОВИДНОЙ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА.

Совгиря С.Н.

Ключевые слова: псевдомногослойный реснитчатый цилиндрический эпителий, возрастные изменения.

Целью данной работы было исследование морфофункциональных особенностей слизистой оболочки клиновидной пазухи у людей пожилого и старческого возраста. Установлено, что у людей данных возрастных групп в слизистой оболочке клиновидной пазухи, которая выстелена псевдомногослойным реснитчатым цилиндрическим эпителием, развиваются дистрофические, а потом и атрофические процессы, обусловленные артериосклерозом кровоснабжающих сосудов.

Summary

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF SPHENOIDAL SINUS MUCOSA IN ELDERLY AND SENILE PERSONS

Sovhyrya S.N.

Keywords: pseudomultilayered cylindrical mucociliary epithelium, age-related changes.

This research was aimed to study morphological and functional characteristics of sphenoidal sinus mucose in elderly and senile persons. It has been found out this group of persons develops dystrophic changes in the mucosa of sphenoidal sinus which is lined with pseudomultilayered cylindrical mucociliary epithelium, and then atrophic processes caused by atherosclerosis of blood-supplying vessels.

УДК 616.311.2-008.9-092.9: 615.916'175

Фартушна А.М., Костенко В.О.

NO-ЗАЛЕЖНІ ЗМІНИ СПОЛУЧНОТКАНИННИХ СТРУКТУР ЯСЕН БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НІТРАТОМ НАТРІЮ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

У експерименті на 30 білих щурах досліджено стан вуглеводно-білкових комплексів сполучної тканини ясен щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію та змін функціонального стану NO-синтаз (NOS). Виявлено, що функціональна активність нейрональної NOS обмежує процес деполімерізації фукоглікопротеїнів у тканинах ясен за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Введення за цих умов селективного інгібітору nNOS 7-нітроіндазолу зменшує вміст фукози, зв'язаної з білками, у тканинах ясен. Функціональна активність індуцибельної NOS підвищує за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію загальну протеолітичну активність тканин ясен, сприяє дезорганізації у них сполучної тканини через деполімерізацію фуко- та сіалоглікопротеїнів. Введення за цих умов селективного інгібітору нейрональної NOS 7-нітроіндазолу зменшує загальну протеолітичну активність тканин ясен, збільшує концентрацію фукози, зв'язаної з білками, та знижує вміст N-ацетилнейрамінової кислоти. Введення субстрату NOS L-аргініну за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію обмежує загальну протеолітичну активність тканин ясен щурів, пригнічує деполімерізацію фукоглікопротеїнів і протеогліканів.

Ключові слова: хронічна інтоксикація нітратом натрію, NO-синтази, L-аргінін, вуглеводно-білкові комплекси сполучної тканини, ясна.

Стаття є фрагментом планової НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» "Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами" (№ держреєстрації 0108U010079).

Дослідження останніх років вказують на високу розповсюдженість основних стоматологічних захворювань у населення в екологічно несприятливих регіонах, у т.ч. забруднених неорганічними нітросполуками [2]. Встановлено, що універсальний механізм дії нітратів пов'язаний з утворенням оксиду азоту (NO) [4,9]. Останній характеризується важкопрогнозованим характером дії, бере участь у патогенезі захворювань пародонта [12,16].

Фібрилярні компоненти сполучної тканини - колагенові волокна - та основна речовина – глікопротеїди та протеоглікани - характеризуються високою чутливістю до впливу патогенних чинників ендо- та екзогенної природи [10].

Оскільки основу тканин ясен складає сполучна тканина, доцільним є визначення мономерів її вуглеводно-білкових комплексів для обгрунтування патогенетичних механізмів розвитку патологічних змін за умов хронічної інтоксикації ніт-

ратом натрію. Так, фукоза є одним із мономерів в олігосахаридних ланцюгах фукоглікопротеїнів, N-ацетилнейрамінова кислота – сіалоглікопротеїнів. Глікозаміноглікани є небілковими компонентами протеогліканів. Активація катаболізму сполучнотканинних структур відображається підвищенням вмісту мономерів протеогліканів – гексуронових кислот та N-ацетилнейрамінової кислоти, зниженням концентрації фукози, зв'язаної з білками, в тканинах і рідинах організму [5,6,8,10].

Дані про вплив NO на стан білково-вуглеводних комплексів сполучнотканинних структур є нечисленними та досить суперечливими [5,6,8]. Відомий тісний патогенетичний зв'язок ушкодження тканин шлунка та пародонта, що виявляється у однотипному розвитку в них метаболічних змін, зокрема, активації протеолітичних і вільнорадикальних процесів та деполімеризації сполучнотканинних структур досліджуваних тканин [8].

Мета роботи

Вивчення стану вуглеводно-білкових комплексів сполучної тканини ясен щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію та змін функціонального стану NO-синтаз.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 30 білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г.

У першій серії необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія); у другій серії – після відтворення хронічної інтоксикації нітратом натрію; у третій, четвертій. п'ятій і шостій серіях на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію тваринам вводилися відповідно неселективний інгібітор NO-синтаз (NOS) – метиловий ефір нітро-L-аргініну (L-NAME), селективний інгібітор нейрональної NOS (nNOS) – 7-нітроіндазол (NI), селективний інгібітор індуцибельної NO-синтази (iNOS) – аміногуанідин та субстрат NO-синтазної реакції – L-аргінін.

Зазначені вище сполуки вводили 2 рази на тиждень протягом експерименту: L-NAME - у дозі 5 мг/кг [14], 7-NI – 30 мг/кг [14], аміногуанідин – 20 мг/кг [17], L-аргінін – 500 мг/кг [3].

Нітрат натрію вводили тваринам у дозі 200 мг/кг маси тіла у вигляді водного розчину. Введення здійснювали внутрішньошлунково за допомогою спеціального зонду щоденно, 1 раз на добу, протягом 90 діб. Використання цієї методики дозволяє відтворити надлишкове утворення NO та депонування його у вигляді парамагнітних комплексів з гемовим та негемовим залізом [4]. Евтаназію тварин виконували методом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом.

Стан сполучнотканинних структур ясен оцінювали на підставі визначення вмісту фукози, зв'язаної з білками [1], сіалової (N-ацетилнейрамінової) кислоти [7] та гексуронових кислот [13]. Загальну протеолітичну активність визначали за методом, який ґрунтується на визначенні приросту гліцину, що утворюється в результаті гідролізу казеїну супернатантом гомогенату тканин [11]. Протеолітичну активність розраховували в мкмолях відщепленого гліцину за 1 хв. інкубації на 1 г тканини. Отримані дані оброблювали варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Через 90 діб від початку введення білим щурам нітрату натрію відмічається суттєве зниження концентрації фукози, зв'язаної з білками, - на 28.7% ($p<0,001$) – до 10.7±0.3 мкмоль/г (див. табл.). Вміст N-ацетилнейрамінової кислоти достовірно збільшується - на 23.9% ($p<0,02$) – до 5.7±0.2 мкмоль/г, що відбиває процес дезорганізації сполучнотканинних структур внаслідок деполімеризації неколагенових білків – фукоглікопротеїнів і сіалоглікопротеїнів [5,6,8,10].

Таблиця

Вплив інгібіторів і субстрату NO-синтаз на стан вуглеводно-білкових комплексів сполучної тканини ясен за умов надлишкового надходження до організму нітрату натрію (M±m, n=30)

Показники	Інтактна група	Нітрат (90 діб)	Нітрат + L-NAME
Фукоза, що зв'язана з білками, мкмоль/г	15.0±0.4	10.7±0.3 *	11.9±0.4 *
N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г	4.6±0.3	5.7±0.2 *	5.3±0.5
Гексуронові кислоти, мкмоль/г	10.4±0.4	12.4±0.3 *	12.1±0.4
Загальна протеолітична активність, мкмоль/г × хв	2.25±0.19	2.91±0.11 *	2.55±0.3

*Примітка. * – $p<0,05$ у порівнянні з відповідною групою тварин інтактної серії;*
*** – $p<0,05$ у порівнянні з у порівнянні з серією з 90-добовим введення нітрату.*

На 90 добу від початку введення білим щурам нітрату натрію вміст гексуронових кислот залишається достовірно підвищеним - на 19.2% ($p<0,01$) – до 12.4±0.3 мкмоль/г, що також відбиває процес дезорганізації сполучнотканинних структур (внаслідок деполімеризації протеогліканів) [5,6,8,10]. Величина загальної протеолітичної активності достовірно збільшується – відповідно на 29.3% ($p<0,02$) – до 2.91±0.11 мкмоль/г × хв.

Протеолітичні ферменти розглядаються як особлива форма фізіологічної регуляції, яка здійснюється у вигляді повного та обмеженого протеолізу. При повному протеолізі виявляється деградацію білків, головним чином, аномальних та пошкоджених. У той же час обмежений протеоліз є універсальним механізмом, відповідальним за утворення, інактивацію та модифікацію гормонів, ферментів та інших фізіологічно активних речовин [15]. Слід зазначити, що надмірна активація протеолізу є важливою ланкою патогенезу деструктивних, запальних та імунопатологічних процесів.

Звертає на себе увагу, що зміни функціональної активності NOS істотно впливають на стан фуко- та сіалоглікопротеїнів сполучної тканини

ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Так, введення на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію неселективного інгібітору NOS L-NAME достовірно збільшує концентрацію фукози, зв'язаної з білками, - на 11.2% ($p<0,05$) – до 11.9±0.4 мкмоль/г. Введення за цих умов селективного інгібітору nNOS 7-NI достовірно зменшує вміст фукози, зв'язаної з білками, - на 13.1% ($p<0,02$) – до 9.3±0.4 мкмоль/г. Тобто саме активність nNOS обмежує процес деполімерізації фукоглікопротеїнів за умов надлишкового утворення великої кількості NO з екзогенного попередника. Введення на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію селективного інгібітору iNOS аміногуанідину достовірно збільшує концентрацію фукози, зв'язаної з білками, - на 15.0% ($p<0,02$) – до 12.3±0.5 мкмоль/г. За цих умов виявляється достовірне зменшення вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти - на 12.3% ($p<0,05$) – до 5.0±0.2 мкмоль/г. Це вказує на роль iNOS як додаткового патогенетичного фактора, що зумовлює процес дезорганізації сполучної тканини ясен шляхом деполімерізації як фуко-, так і сіалоглікопротеїнів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію.

У той же час, зміни функціональної активності NOS істотно не позначаються на стані протеогліканів сполучної тканини ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Вміст гексуронових кислот при введенні неселективного та селективних інгібіторів NOS не зазнає достовірних змін у тканинах ясен за цих умов.

Введення на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію неселективного інгібітору NOS L-NAME та селективного інгібітору nNOS 7-NI істотно не позначається на величині загальної протеолітичної активності. Проте введення за цих умов селективного інгібітору iNOS аміногуанідину достовірно зменшує загальну протеолітичну активність - на 18.9% ($p<0,01$) – до 2.36±0.12 мкмоль/г $\times$ хв.

За нашими даними, введення субстрату NOS L-аргініну суттєво впливає на стан сіалоглікопротеїнів сполучної тканини ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Так, введення L-аргініну на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію достовірно зменшує вміст N-ацетилнейрамінової кислоти - на 14.0% ($p<0,02$) – до 4.9±0.2 мкмоль/г. За цих умов введення L-аргініну не призводить у тканинах ясен до достовірної зміни величини вмісту фукози, зв'язаної з білками. Тобто, L-аргінін за умов надлишкового утворення NO з екзогенного джерела здатний пригнічувати у тканинах ясен деполімерізацію сіалоглікопротеїнів, але суттєво не впливає на стан фукоглікопротеїнів.

У той же час, введення L-аргініну також позначаються на стані протеогліканів сполучної тканини ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Так, введення L-аргініну на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію достовірно зменшує вміст гексуронових кислот - на 8.1% ($p<0,05$) – до 11.4±0.3 мкмоль/г. Це вказує, що L-аргінін за умов надлишкового утворення NO шляхом відновлення нітрат- і нітрит-іонів здатний також пригнічувати у тканинах ясен деполімерізацію протеогліканів.

Введення L-аргініну на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію достовірно зменшує загальну протеолітичну активність - на 21.6% ($p<0,01$) – до 2.28±0.12 мкмоль/г $\times$ хв.

Пригнічення розпаду білково-вуглеводних комплексів сполучнотканинних структур розглядається як важливий механізм захисного впливу L-аргініну на тканини органів травлення: пародонта і шлунка [8], тонкої кишки [5]. Проте висувається думка, що такий ефект L-аргініну може бути реалізований як через окисний (NO-синтазним), так і через аргіназний механізм [5], що потребує подальших досліджень.

Висновки

1. Хронічна інтоксикація нітратом натрію характеризується підвищенням загальної протеолітичної активності, дезорганізацією сполучнотканинних структур тканин ясен, пов'язаної з деполімерізацією фуко- та сіалоглікопротеїнів і протеогліканів.

2. Функціональна активність nNOS обмежує процес деполімерізації фукоглікопротеїнів у тканинах ясен за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію. Введення за цих умов селективного інгібітору nNOS 7-NI зменшує вміст фукози, зв'язаної з білками, у тканинах ясен. Функціональна активність iNOS підвищує за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію загальну протеолітичну активність тканин ясен, сприяє дезорганізації у них сполучної тканини через деполімерізацію фуко- та сіалоглікопротеїнів. Введення за цих умов селективного інгібітору nNOS 7-NI зменшує загальну протеолітичну активність тканин ясен, збільшує концентрацію фукози, зв'язаної з білками, та знижує вміст N-ацетилнейрамінової кислоти.

3. Введення L-аргініну за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію обмежує загальну протеолітичну активність тканин ясен щурів, а також процес розпаду в них білково-вуглеводних комплексів сполучнотканинних структур, а саме пригнічує деполімерізацію фукоглікопротеїнів і протеогліканів.

Література

1. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии / Асатиани В.С. – М., 1965. – 272 с.
2. 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 // Галицьк. лік. вісн. - 2007. - №3. - С.15-17.
3. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цирюк [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2004. – Вип. 38. – С . 201-204.
4. 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.

5. Левков А. А. NO-залежні зміни метаболізму біополімерів сполучної тканини в тканинах тонкої кишки за умов гострої тонкокишкової непрохідності / А.А. Левков, В.О. Костенко // Загал. патол. та патол. фізіол. – 2010. – Т.5, № 3. – С.65-70.
6. Луценко Б.О. Стан протективних білків слизової оболонки шлунку білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / Б.О. Луценко // Світ мед. та біол. – 2007. – №2. – С.26-28.
7. 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.
8. Непорада К.С. Сполучнотканинні структури пародонта та шлунка при гострому стресі у тварин з різною стресостійкістю і їх корекція тиреліберином / К.С. Непорада // Гастроентерологія : міжвідом. зб. – 2000. – Вип. 31. – С. 107-112.
9. 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.
10. Тарасенко Л.М. Метаболическое обеспечение пародонта при эмоциональном стрессе / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада // Укр. стоматол. альманах. – 2001. -№5. – С.20-22.
11. Уголев А.М., Определение протеолитической активности / А.М. Уголев, Н.Н. Иезуитова, Ц.Г. Масевич // Исследование пищеварительного аппарата у человека. – Л. : Наука, 1969. – С. 176-181.
12. Чайковська І.В. Роль порушень метаболізму оксид азоту в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту / І.В. Чайковська // Арх. клін. та эксперим. мед. – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 226–228.
13. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, Н.И. Соловьева [и др.] // Лаб. дело. – 1987. – №5.- С.330-332.
14. 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.
15. Proteolytic Enzymes: A Practical Approach / R.J. Beynon, J.S. Bond, eds. – [2nd ed.]. – Oxford : Oxford University Press, 2001. – 340 p.
16. 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.
17. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – V. 80, №4. – P. 329-336.

Реферат

NO-ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ СТРУКТУР ДЕСНЫ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НИТРАТОМ НАТРИЯ

Фартушная А.Н., Костенко В.А.

Ключевые слова: хроническая интоксикация нитратом натрия, NO-синтазы, L-аргинин, углеводно-белковые комплексы соединительной ткани, десна.

В эксперименте на 30 белых крысах исследовано состояние углеводно-белковых комплексов соединительной ткани десны крыс при хронической интоксикации нитратом натрия и изменениях функционального состояния NO-синтаз (NOS). Выявлено, что функциональная активность нейрональной NOS ограничивает процесс деполимеризации фукогликопротеинов в тканях десны при моделировании хронической интоксикации нитратом натрия. Введение в этих условиях селективного ингибитора nNOS 7-нитроиндазола уменьшает содержание фукозы, связанной с белками, в тканях десны. Функциональная активность индуцибельной NOS повышает в условиях хронической интоксикации нитратом натрия общую протеолитическую активность тканей десны, способствует дезорганизации в них соединительной ткани вследствие деполимеризации фуко- и сиалогликопротеинов. Введение в этих условиях селективного ингибитора нейрональной NOS 7-нитроиндазола уменьшает общую протеолитическую активность тканей десны, повышает концентрацию фукозы, связанной с белками, и снижает содержание N-ацетилнейраминовой кислоты. Введение субстрата NOS L-аргинина в условиях хронической интоксикации нитратом натрия ограничивает общую протеолитическую активность тканей десны крыс, ингибирует деполимеризацию фукогликопротеинов и протеогликанов.

Summary

NO-DEPENDENT CHANGES IN CONNECTIVE-TISSUE STRUCTURES OF WHITE RATS' GUMS UNDER CHRONIC SODIUM NITRATE INTOXICATION

Fartushnaya A.N., Kostenko V.A.

Key words: chronic sodium nitrate intoxication, NO-synthases, L-arginine, carbohydrate-protein complexes of connective tissue, gums.

30 white rats were used to study the state of carbohydrate-protein complexes of gingival connective tissue in rats under the chronic sodium nitrate intoxication and the changes of functional status of NO-synthases (NOS). It has been revealed the functional activity of neuronal NOS limits the process of fucoglycoproteins depolymerization in gingival tissues under chronic sodium nitrate intoxication. In this case the introduction of selective neuronal NOS inhibitor 7-nitroindazole reduces the content of fucose, bound to proteins in gum tissues. Functional activity of inducible NOS increases the total proteolytic activity of gum tissue under the chronic sodium nitrate intoxication, promotes disorganization of the gingival connective tissue due to the fuco- and sialoglycoproteins depolymerization. Therefore the introduction of selective nNOS inhibitor 7-nitroindazole reduces the total proteolytic activity of gum tissue, increases the concentration of fucose, bound to proteins, and reduces the content of N-acetylneuraminic acid. The introduction of NOS L-arginine substrate under the chronic sodium nitrate intoxication limits the total proteolytic activity of gum tissue in rats as well as inhibits fucoglycoproteins and proteoglycans depolymerization.