

Wallis ANOVA test, установившем статистическую значимость ( $p=0,00001$ ) межгрупповых различий между группами БА, БА+АГ, БА+ИБС.

Межгрупповые различия хорошо прослеживаются на рисунке, где изображены медианы, интерквартильные размахи, минимальные и максимальные значения КЭФ в изучаемых группах. На рисунке видно, что в группе больных БА+ИБС прослеживается не только самое низкое значение медианы КЭФ, но и наименьшие интерквартильные размахи. Данный факт отражает развитие преимущественно выраженной дисфункции эндотелия в группе больных БА+ИБС, что, по нашему мнению, является следствием потенцирования патологических влияний на микрососудистый эндотелий патогенетических механизмов обоих заболеваний.

Таким образом, при коморбидном состоянии БА+ИБС наблюдалось наибольшее поражение микрососудистого эндотелия как по сравнению с монозонологией (БА, АГ, ИБС), так и по сравнению с сочетанием БА+АГ.

Сочетание двух нозологических форм (БА и АГ) оказывает негативное влияние на состояние микрососудистого эндотелия при коморбидной патологии эндотелиальная дисфункция выражена в большей степени, чем при монопатологии, а именно при БА. Присоединение АГ значительно ухудшает состояние сосуда эндотелия у больных БА. В то же время наличие эндотелиальной дисфункции у части пациентов с БА может являться плацдармом для развития АГ. Кроме того, дисфункция сосуда эндотелия не только может быть следствием комор-

бидного состояния, но и может выступать в качестве предрасполагающего фактора развития ИБС у больных БА и общего для БА и ИБС патогенетического звена.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бродская Т. А., Гельцер Б. И., Невзорова В. А. Артериальная ригидность и болезни органов дыхания (патофизиологические механизмы и клиническое значение): Монография. – Владивосток: Дальнаука, 2008. – 248 с.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2011 г.) / Под ред. А. С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2012. – 108 с.
3. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / Под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова: Руководство для врачей. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 256 с.
4. Нуржанова И. В., Полунина О. С., Воронина Л. П., Полунина Е. А. Пат. 2436091 Рос. Федерация, МПК G01N 33/483. Способ оценки функционального состояния микрососудистого эндотелия у больных бронхиальной астмой / И. В. Нуржанова, О. С. Полунина, Л. П. Воронина, Е. А. Полунина; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО АГМА Росздрава. – №2010124218/15; заявл. 11.06.10; опубл. 10.12.11. Бюллетень «Изобретения. Полезные модели». № 34. – С.172.
5. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Поступила 10.02.2014

Е. А. БЕЛАЯ, Ю. Н. МАЙБОРОДА, Э. В. УРЯСЬЕВА

## ГИПОТИРЕОЗ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У КРЫС В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА

*Кафедра ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310; тел. 8 (905) 4-973-057. E-mail: uryaseva\_elvira@mail.ru*

На фоне экспериментального пародонтита у гипотиреоидных крыс морфофункциональными методами исследования прослежена динамика структурно-функциональных изменений кислородзависимых систем нейтрофилов и дегидрогеназ, связанных с циклом Кребса, гликолизом в сравнительном аспекте. Крысы были разделены на две группы. Первой группе животных никаких медикаментозных мероприятий не проводили. Второй группе на 3–4-е сутки после операции вводили мексидол в течение 10 суток. Всем животным моделировали пародонтит. Контролем служил материал интактных животных.

Оценка функционального состояния ферментных систем показала разную, но незначительную направленность изменений их активности у крыс первой и второй групп эксперимента. Наличие гипотиреоза независимо от наличия или отсутствия лечения не оказывает особого влияния на функциональную активность ферментных систем ПМЯЛ, но приводит к снижению функциональных резервов кислородзависимых комплексов.

**Ключевые слова:** дегидрогеназы, гранулоциты, гипотиреоз, экспериментальный пародонтит.

Е. А. БЕЛАЯ, Ю. Н. МАЙБОРОДА, Э. В. УРЯСЬЕВА

HYPOTHYROIDISM AND MORPHO-FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN THE RATS IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

At the background of experimental periodontitis in hypothyroid rats by means of morphological and functional methods of investigation we traced the dynamics of structural and functional changes of oxygen-dependant systems of neutrophils (MPO and CCO) and dehydrogenases associated with the Krebs cycle (SDH), glycolysis (a- GPDH) in a comparative perspective. The rats were divided into two groups. In the first group of animals no medicamentous measures were carried out. The second group was administered mexidole on the 3-4th days after surgery for 10 days. Periodontitis was modeled to all animals. The material of intact animals served as a control.

Evaluation of the functional state of the enzyme systems showed different, but minor trend of their activity changes in the rats of the first and the second groups of the experiment. The presence of hypothyroidism, regardless of the presence or absence of treatment, does not have much effect on the functional activity of the enzyme systems of PMNL, but leads to a decrease in functional reserves of oxygen-dependant complexes.

**Key words:** dehydrogenases, granulocytes, hypothyroidism, experimental periodontitis.

Современная концепция этиологии и патогенеза воспалительных процессов в пародонте рассматривает широкий комплекс механизмов, обосновывающих различные патологические состояния органов рта и относящихся к системно-соматическим факторам риска. На фоне измененной реактивности организма действие экзогенных и эндогенных патогенов вовлекает [1, 2] в биологическую реакцию воспаления не только иммунокомпетентные клетки, но и весь комплекс ферментативно-эндокринных изменений, запускающих перестройку функции эндокринной системы. Эндокринологические аспекты стоматологических заболеваний сопровождаются развитием сложного патофизиологического состояния, представляющего собой компенсаторную реакцию *in vitro*, адаптирующего соматические клетки к имеющемуся при воспалении дефициту энергии с изменением функционального состояния клеток моноцитарно-фагоцитарной системы [8, 9, 13, 18, 22]. При гипотиреозе отмечается ряд системных иммунных нарушений, т. к. длительная заместительная терапия тиреоидными гормонами приводит к блокаде щитовидной железы [5].

Провоспалительные интерлейкины, продуцируемые клетками иммунной системы при воспалении, участвуют в метаболизме тиреоидных гормонов, на фоне которых увеличивается уровень активных нейтрофилов и тем самым продуцируются активные метаболиты кислорода, способные осуществлять йодизацию трийодтиронина до тироксина в присутствии ионов йода [1, 10, 11, 14, 17, 18, 23]. Данные литературы [10, 11, 14] свидетельствуют о частом поражении пародонта при нарушении функции щитовидной железы, а форма патологического процесса зависит от тяжести и длительности гипотиреоза [8].

Частота распространения пародонтита на фоне эндокринной патологии и недостаточно изученное функциональное состояние кислородзависимых и кислороднезависимых нейтрофильных гранулоцитов явились целью настоящего исследования.

### Материалы и методы

Исследования проводились на белых крысах линии Вистар массой тела 250–300 г, полученных из вивария. Животные находились на обычном полноценном рационе питания в едином температурном и световом режиме. Экспериментальные исследования проводили в весенне-летний период. Гипоти-

реоз в эксперименте осуществляли путем операции тиреоэктомии у 45 крыс. Операцию проводили под общим наркозом. В зависимости от целей исследования в сравнительном аспекте крысы были разделены на 2 группы. Первой группе животных (20 крыс) никаких медикаментозных мероприятий не проводили. Второй группе (25 крыс) на 3–4-е сутки после операции вводили в бедро задней лапки утром и вечером препарат «мексидол» в течение 10 суток. Всем животным моделировали пародонтит, вызванный острой механической травмой мягких тканей десны. Все манипуляции выполняли согласно Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Контролем служили материалы от 10 интактных крыс адекватного возраста и находившихся на общевиварном рационе.

Кровь для получения мазков брали из переходной складки верхних или нижних резцов инсулиновым микрошприцем в количестве 0,2–1,0 мл. Мазки крови окрашивали на миелопероксидазу (МПО) по Р. Лилли, сукцинатдегидрогеназу (СДГ) по М. Берстону в модификации Ф. Хейхоу и Д. Кваглино, альфа-глицерофосфатдегидрогеназу (α-ГФДГ) по Р. Гессу. Кровь брали через 7, 14, 21 и 45 суток эксперимента.

Для оценки активности ферментов в клетках крови применялась методика Y. Astaldi и L. Verga [15] с вычислением среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по формуле:

$$\text{СЦК} = \frac{3a + 2b + 1v + 0}{100},$$

где цифры 3, 2, 1, 0 показывают степень интенсивности реакции (от +++ до 0), а буквы – число клеток с той или иной интенсивностью реакции; 100 – число просмотренных нейтрофилов в одном мазке. Выделяли 4 степени активности (4-я степень – нейтрофил полностью покрыт гранулами диформаза; 3-я степень – 3/4 активности; 2-я степень – 1/2 активности; 1-я степень – 1/4 активности).

Цифровые данные активности ферментных систем обрабатывали общепринятым методом вариационной статистики по И. А. Ойвину (1966) с использованием критерия Стьюдента и коэффициента корреляции для выявления взаимосвязи признаков между ферментными системами. Цифровые данные были заложены и обработаны на компьютере по стандартной программе «Statistika 5.0» и «Microsoft Excel».

## Результаты и обсуждение

На начальном этапе работы сравнивали соотношение функциональной активности кислородзависимой биоцидности и дегидрогенеза нейтрофилов крови, связанных с циклом Кребса и гликолиза у интактных крыс и у животных с экспериментальным гипотиреозом. Развитие воспалительного процесса в пародонте экспериментальных животных вызывало сдвиг в картине периферической крови. В группе животных с экспериментальным гипотиреозом цифровые соотношения функциональной активности биологических веществ полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) периферической крови практически мало отличались достоверностью показателей активности кислородзависимых систем нейтрофилов у интактных крыс. Исследование кислородзависимой биоцидности нейтрофилов и дегидрогенез на 7-е сутки эксперимента у крыс обеих групп также не выявило различий показателей ферментных систем нейтрофилов. Исключение составили снижение активности а-ГФДГ у животных 2-й группы. Через 7 дней после операции моделирования пародонтита у крыс 1-й группы наблюдались изменения в виде отека десны, гиперемии десны, а 6 крыс из 20 имели нагноения в месте нанесения повреждения. К 14-м суткам после операции подобная картина отмечалась у части крыс 2-й группы эксперимента.

При изучении показателей ферментных систем и оксидоредуктаз было выявлено, что они изменяются в достаточно широком диапазоне и всегда коррелировали между собой, особенно у животных 1-й группы на протяжении 45 суток исследования. Обнаруженные различия, очевидно, отражают неодинаковый процесс лейкоцитарно-эндотелиального баланса при экспериментальном пародонтите и гипотиреозе. Так, к 14-м суткам у крыс 1-й группы изменение активности носило противоположный характер в виде повышения а-ГФДГ и снижения МПО, ЦХО и СДГ по сравнению с исходными значениями. Повышение активности а-ГФДГ достоверно отличалось от контрольной группы. У крыс 2-й группы параметры снижения активности носили более плавный характер на фоне слабой силы прямой и обратной их корреляционной связи, которые сохраняли числовые значения в незначительной вариации до конца эксперимента.

На 21-й день наблюдения патологические изменения в слизистой оболочке крыс 1-й группы носили диффузный характер, усиливался отек с увеличением посттравматических нагноений в месте повреждения, отмечалась сильная кровоточивость. Животные были малоподвижны, сонливы, вялы, у них отсутствовал аппетит и выпадала шерсть.

У крыс 2-й группы постсимптоматические симптомы отмечались у 4 из 25. Несмотря на видимое внешнее благополучие в виде уменьшения признаков развития экссудативного воспаления в мягких тканях пародонта у животных данной группы воспаление в десне сопровождалось уменьшением активности кислородзависимых ферментов, диспропорцией и асинхронной активностью СДГ и а-ГФДГ. Цифровые показатели кислородзависимых ферментов и оксидоредуктаз в динамике морфологических изменений лейкоцитарных гранулоцитов и лимфоцитов на 21-е сутки эксперимента наглядно демонстрировали небольшую разницу в изменении этих показателей у крыс 1-й и 2-й групп исследования. В некоторой степени нормализация активности, приближающаяся в своих значениях

к показателям контрольной группы, отмечалась у животных 2-й группы. Снижение активности ЦХО гранулоцитов на фоне повышения активности МПО и низкого уровня их корреляционной связи свидетельствует о взаимосвязи возможного нарастания внутриклеточной гипоксии гранулоцитов и лимфоцитов с интенсификацией патологического процесса. Функциональная активность кислородзависимых систем (МПО, ЦХО) и оксидоредуктаз к 45-м суткам наблюдения в обеих группах не достигала контрольных величин, особенно у крыс 1-й группы, у которых отмечалась полная деградация на фоне гормональных нарушений. При применении антиоксидантного препарата цифровые показатели хотя и сохраняли сходные уровни по отношению к активности ферментов 1-й группы животных, но были выше к концу наблюдений. У животных 2-й группы, получавших лечение на фоне моделирования экспериментального пародонтита, уменьшались все признаки развития экссудативного воспалительного процесса. Однако обращает внимание тот факт, что функциональная активность ферментных систем гранулоцитарного аппарата ПМЯЛ у крыс обеих групп на весь период наблюдения носила зигзагообразный характер, несмотря на то что у животных 2-й группы к 45-м суткам отмечалась более высокая активность ферментов в сравнении с 1-й группой.

Объяснение этому явлению, возможно, следует рассматривать с позиции митохондриального окисления, являющегося одним из важных источников активности метаболитов кислорода, а степень повреждения пропорциональна их уровню [3, 7]. А важным источником активности метаболитов кислорода является ПМЯЛ, НАДФН-оксидаза которых генерирует супероксидный анион-радикал, обеспечивая тем самым реализацию их микробиоцидного и цитотоксического потенциала. Гипотиреоидные крысы более устойчивы к тканевому повреждению и оксидативному стрессу, чем эутиреоидные [14, 16, 19, 23]. Течение острых воспалительных заболеваний сопровождается нарушением тиреоидного статуса по типу синдрома низкого трийодтиронина [10]. Отмечено дозозависимое влияние тироксина и трийодтиронина на продукцию супероксидного кислорода и активность МПО нейтрофилов [21] и подтверждено результатами исследования [20], в котором наблюдали снижение продукции супероксидного радикала в нейтрофилах у больных тиреозомией. Активные формы кислорода нарушают синтез белков и ряда ферментов и могут инициировать перекисное окисление липидов (ПОЛ) клеточных мембран [4, 12]. При гипотиреозе в очаге воспаления отмечается снижение уровня малонового диальдегида. Кроме того, у животных с пониженной функцией щитовидной железы гипотиреоз способен предотвратить снижение уровня воспалительного глутатиона – антиоксиданта, занимающего первое место среди органических антиоксидантов [6, 7, 23]. Тиреоидные гормоны регулируют метаболические процессы в липидах, вязкость мембранных липидов в митохондриях, уровень которых при гипотиреозе снижается.

Остается открытым вопрос: является ли повышение антиоксидантной активности ферментных систем крови при гипотиреозе компенсаторным моментом, отражающим наличие в организме повышенного фона реакций ПОЛ или это следствие выхода в кровяное русло продуктов измененного метаболизма за счет нарушенного митохондриального окисления?

В нашей работе показано сначала усиление активности нейтрофилов в очаге повреждения в десне у крыс с гипотиреозом в течение 7 суток после травмы с последующим плавным и неоднозначным снижением активности ферментных реакций в последующие сроки наблюдения, что свидетельствовало об ухудшении процессов оксигенации тканей. При этом оценка функционального состояния ферментных систем показала разную, но незначительную направленность изменений их активности у крыс 1-й и 2-й групп эксперимента.

Обращает на себя внимание, что у животных, получавших мексидол после моделирования пародонтита, хотя и уменьшались признаки развития экссудативного воспаления в мягких тканях пародонта, но сохранялась низкая активность МПО, ЦХО и СДГ, не достигавшая контрольных показателей к концу эксперимента.

Таким образом, исследование показало, что наличие гипотиреоза у экспериментальных животных независимо от наличия или отсутствия лечения не оказывает особого влияния на соотношение функциональной активности ферментных систем ПМЯЛ, но приводит к снижению функциональных резервов кислородзависимых биологических комплексов и не согласуется с данными патогистологических исследований [11] у крыс с экспериментальным гипотиреозом и пародонтитом. Данные обстоятельства, возможно, связаны с отсутствием четких сведений о состоянии иммунной системы у крыс. Поэтому перспективным направлением дальнейших исследований станет определение показателей иммунной системы крыс на фоне гипотиреоза и экспериментального пародонтита.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев О. В. Изменения физиологических показателей одомашненных крыс с экспериментальным пародонтитом // Вятский мед. вестн. – 2012. – № 4. – С. 16–19.
2. Авдеев О. В. Морфологічні зміни пародонта у щурів при розвитку гіперреактивності // Здобудки клінічні і експериментальної медицини. – 2010. – № 2 (13). – С. 16–18.
3. Болезни пародонта. Патогенез, диагностика, лечение / А. С. Григорьян, А. И. Грудянов, Н. А. Рабухина, О. А. Фролова. – М.: МИА, 2004. – 320 с.
4. Владимиров Ю. А. Биологические мембраны. – М.: Наука, 2002. – 377 с.
5. Касаткина Э. П. Йоддефицитные заболевания: клиника, генез, профилактика // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 2005. – № 1. – С. 9–13.
6. Ковач И. В. Биохимические показатели сыворотки крови крыс при экспериментальном гингивите, кариесе, вызванных токсическими факторами // Вісні стоматології. – 2005. – № 2. – С. 11–14.
7. Ковач И. В. Состояние антиоксидантной системы при воспалении десен крыс под действием токсических факторов // Соврем. стоматология. – 2005. – № 2. – С. 156–159.
8. Ковач И. В. Частота заболеваний пародонта и биохимические показатели смешанной слюны у больных диффузным ток-

сическим зобом / И. В. Ковач, Т. С. Махмудов, Г. Э. Керимова // Пародонтология. – 2009. – № 2. – С. 11–13.

9. Михалева Л. М. Хронический пародонтит. Клиническая морфология и иммунология. – М.: Триада -Фарм, 2004. – 126 с.
10. Москвина Т. С. Эффективность лечения пародонтита у больных с нарушением функции щитовидной железы // Стоматология. – 2001. – № 1. – С. 47–50.
11. Оганян А. В. Клинико-морфологические изменения в зубочелюстной системе при экспериментальном гипотиреозе // Дент. клуб. – 2011. – № 7. – С. 41–49.
12. Окислительный стресс // Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – С. 53–62.
13. Тумов В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы // Клинич. лаб. диагностика. – 2003. – № 12. – С. 3–10.
14. Функциональная активность нейтрофилов у крыс с воспалительным процессом в пародонте на фоне пониженной функции щитовидной железы / Л. В. Вохминцева, С. С. Рымарь, Н. Н. Маянская, П. А. Железный // Стоматология. – 2009. – № 2. – С. 4–7.
15. Ягода А. В. Клиническая цитохимия / А. В. Ягода, Н. А. Локтев, Ю. Н. Майборода. – Ставрополь: изд. СтГМА, 2005. – 484 с.
16. Allen T. Oxidative stress by inorganic arsenic: modulation by thyroid hormones in rat / T. Allen, S. Rana // Ccomp biochem. Toxicol pharmacol. – 2003. – Vol. 135. – P. 157–162.
17. Boelen A. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine, contributes to the pathogenesis of non-thyroidal illness mainly via the central part of the hypothalamus – pituitary-thyroid axis / A. Boelen, J. Kwakkel // Eur. j. endocrinol. – 2002. – Vol. 151. № 4. – P. 497–502.
18. Boelen A. Simultaneous changes in central and peripheral components of the hypothalamus – pituitary – thyroidaxis in lipopolysaccharide-induced acute illness in mice / A. Boelen, J. Kwakkel, D. C. Thijssen-Timmer // J. endocrinol. – 2004. – Vol. 82. – P. 315–323.
19. Isman C. A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C. A. Isman, B. C. Yegen, I. Alican // J. endocrinol. – 2003. – Vol. 177. № 3. – P. 471–476.
20. Marino F. Thyroid hormone regulation of cell migration and oxydative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy / F. Marino, L. Guasti, M. Cosentino // Life. sci. – 2006. – Vol. 78. № 10. – P. 1071–1077.
21. Mezxosi E. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes / E. Mezxosi, J. Szabo // J. endocrinol. – 2005. – Vol. 185. № 1. – P. 121–129.
22. Newell M. K. Cellular methabolism as a basis for immune privilege / M. K. Nevell, E. Villalobs-Menuey, S. C. Schweitzer // J. immune based ther vaccines. – 2006. – Vol. 4. – P. 1–2.
23. Tenorio-Valazquez V. M. Hypothyroidism attenuates protein tyrosine nitration, oxidative stress and renal damage induced by ischemia and reperfusion; effect unrelated to antioxidant enzymes activites / V. M. Tenorio-Valazquez, D. Barrea, M. Franco // BMC. nephrol. – 2005. – Vol. 6. – P. 12.

Поступила 17.02.2014