

УДК: 576.32\36:616.833.15-009.7

Цитобиофизические характеристики клеточных ядер буккального эпителия у больных с фармакорезистентными формами прозопалгий Т.В.Колупаева, Н.Ф.Посохов, О.С.Ищенко

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины» (Харьков, Украина)*

Работа посвящена изучению показателя электрофоретической активности клеточных ядер буккального эпителия у больных, страдающих фармакорезистентными прозопалгиями. В исследовании использовали метод внутриклеточного микроэлектрофореза при изучении клеток человека, разработанный в Харьковском национальном университете. Электрофоретическую подвижность ядер буккальных эпителиоцитов изучали у 86 доноров, из них 46 больных с прозопалгиями и 40 практически здоровых лиц. Анализ полученных данных показал, что электрофоретическая подвижность ядер у больных с прозопалгиями статистически значимо ниже, чем в контрольной группе. Изменения показателя электрофоретической подвижности клеточных ядер буккального эпителия у лиц, страдающих фармакорезистентными прозопалгиями, являются косвенным отражением функционального состояния организма.

Ключевые слова: *буккальный эпителий, ядро, электроотрицательность, функциональное состояние организма, прозопалгии.*

Цитобіофізичні характеристики клітинних ядер буккального епітелію у хворих з фармакорезистентними формами прозопалгій Т.В.Колупаєва, М.Ф.Посохов, О.С.Ищенко

Робота присвячена вивченню показника електрофоретичної активності клітинних ядер буккального епітелію у хворих на фармакорезистентні форми прозопалгій. У дослідженні застосовували метод внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу при вивченні клітин людини, розроблений в Харківському національному університеті. Електрофоретичну рухливість ядер буккальних епітеліоцитів вивчали у 86 донорів, з них 46 хворих з прозопалгіями і 40 практично здорових осіб. Аналіз отриманих даних показав, що електрофоретична рухливість ядер у хворих з прозопалгіями статистично значно нижче, ніж у контрольній групі. Зміни показника електрофоретичної рухливості клітинних ядер буккального епітелію в осіб з фармакорезистентними формами прозопалгій є непрямим відображенням функціонального стану організму.

Ключові слова: *буккальний епітелій, ядро, електронегативність, функціональний стан організму, прозопалгії.*

Cytobiophysical characters of nuclei in buccal epithelial cells of patients with pharmacoresistant prosopalgia T.V.Kolupaeva, N.F.Posokhov, O.S.Ishchenko

The aim of this research was to evaluate the electrophoretic activity of cell nuclei in patients with drug-resistant prosopalgia. Electrophoretic mobility of the nuclei was studied using the method of intracellular microelectrophoresis in human cells, which had been developed in the Kharkiv National University. We studied buccal epithelial cells from 86 donors (including 46 patients with prosopalgia and 40 healthy persons). The statistical analysis of the data demonstrated a significant decrease of electrophoretic mobility in patients with prosopalgia (compared to the control group). This change of electrophoretic mobility of the nuclei in buccal epithelial cells is an indirect reflection of the functional state of the organism in patients with drug-resistant prosopalgia.

Key words: *buccal epithelium, nuclei, electronegativity, functional state of organism, prosopalgia.*

Введение

Исследованиями последних лет установлено, что буккальные эпителиоциты занимают активную позицию в системе гуморального гомеостаза. В клетках буккального эпителия протекают многочисленные иммунные реакции (Боровский, Леонтьев, 1999; Brandtzaeg, Farstad, 1999).

Имеющиеся исследования свидетельствуют о том, что эпителий слизистой оболочки полости рта подвергается изменениям при общесоматической патологии, является местом первичных проявлений многих заболеваний (Агаджанян и др., 1998; Кимеле, 1984; Рыжавский, Холодок, 1995).

Отклонения морфофункциональных, физико-химических и биохимических показателей, возникающие под влиянием различных эндогенных и экзогенных факторов, приводят к изменениям дифференцировки эпителия, а также изменениям заряда ядра клетки, что в свою очередь нарушает электрокинетические свойства ядер. Эти особенности предложено учитывать при соматической патологии, скрининговой оценке состояния здоровья, действии стрессовых ситуаций, вредных факторов внешней среды, при определении биологического возраста человека (Быков, 1997; Колупаева, Цодикова, 2013; Шахбазов, Колупаева, 2000).

Прозопалгии относятся к частой патологии в практике невропатологов, нейрохирургов, стоматологов, отоларингологов. Тяжелые формы прозопалгий наблюдаются примерно у 50 человек из 100 тыс. населения. Из-за выраженности болевого синдрома такие больные вынуждены в течение длительного времени принимать большое количество медикаментов, в том числе обладающих выраженным побочным действием. Все это закономерно приводит к метаболическим нарушениям, усугубляет общее состояние больных, ухудшает прогноз.

Оценка общесоматического статуса таких больных основывается на комплексе результатов общесоматического обследования и лабораторно-инструментальных данных. Однако быстрая оценка общесоматического состояния больного представляет непростую задачу. В связи с этим актуальным является применение у больных с прозопалгиями информативных, недорогих и технически несложных методов оценки степени тяжести их общего состояния.

К таким методам может быть отнесен метод цитобіофізическої діагностики (Колупаева, Шахбазов, 1992).

Цель исследования: изучение показателя электрофоретической подвижности клеточных ядер букального эпителия у больных с фармакорезистентными формами прозопалгий.

Материал и методы

Объектом исследования стали 86 человек, из них 46 пациентов с фармакорезистентными формами прозопалгий в возрасте от 25 до 85 лет. Диагноз заболеваний ставили на основании жалоб, анамнеза, локального, неврологического и общесоматического статуса, лабораторных и инструментальных исследований. Изучали электрофоретическую подвижность (ЭФП) клеточных ядер букальных эпителиоцитов (Колупаева, Шахбазов, 1992). Для определения уровня болевого синдрома оценивали интенсивность боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), где 0 – отсутствие боли, а 10 – невыносимая боль (Grant et al., 1999).

В контрольную группу вошли 40 человек, которые вели активный образ жизни и были относительно здоровы, на момент обследования они отмечали хорошее самочувствие.

Динамика изменений ЭФП ядер букальных эпителиоцитов неоднозначна на протяжении всей жизни человека, поэтому контрольная группа была сопоставима с основной по возрастному критерию.

Метод определения ЭФП клеточных ядер букального эпителия имеет ряд преимуществ по сравнению с рутинными методами лабораторной диагностики в связи с простотой и удобством сбора материала, неинвазивностью и безболезненностью процедуры.

Исследование основано на методике внутриклеточного микроэлектрофореза при изучении клеток человека. Мазок нативных клеток букального эпителия помещали в камеру для электрофореза и добавляли в препарат 0,1 мкл специального буферного раствора с рН 7. Камеру подключали к прибору «Биотест». В каждом препарате при увеличении $\times 400$ просматривали не менее 100 клеток и определяли процент электроотрицательных ядер (ЭОЯ%).

Анализ выборок на нормальность распределения был проведен посредством применения критерия χ^2 с коррекцией Йетса. Данные представлены в виде среднего $M \pm$ стандартное отклонение SD. Для определения значимости различий между независимыми группами использовали двухвыборочный t-тест с одинаковыми дисперсиями. Во всех случаях равенство дисперсий в группах проверялось посредством применения критерия Фишера-Снедекора. Статистически значимым считали различие при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Прозопалгии (лицевые боли) возникают при поражении различных отделов нервной системы лица. Разнообразие этиологических факторов и множество патогенетических механизмов формирования болевого синдрома предопределяет большое разнообразие клинических форм прозопалгий (Посохов, 2012).

Обследование больных проводилось во время обострения заболевания. В этот период у всех пациентов наблюдали высокий уровень боли по ВАШ: от 7 до 10 баллов (средний балл составил 8,44). Из 46 человек, обратившихся за помощью, было 14 мужчин и 32 женщины. У 27 из 46 больных диагностировали невралгию тройничного нерва, у 6 – невралгию тройничного нерва, у 5 – ганглионит крылонебного узла, у 3 – синдром поверхностной височной артерии, у 2 – ганглионит цилиарного узла, у 2 – деафферентационную прозопалгию и у 1 – прозопалгию центрального генеза. У 10 человек длительность заболевания была от 1 до 3 лет, у 18 – от 3 лет до 10 лет, у 5 – от 10 до 19 лет, у 6 – от 20 до 29 лет, у 2 – от 30 до 39 лет и у 1 пациента – 40 лет.

По результатам нашего исследования было установлено, что у всех больных с фармакорезистентными формами прозопалгий ЭФП клеточных ядер буккального эпителия значительно снижалась по сравнению с контрольной группой (таблица).

Таблица.
Электрофоретическая подвижность клеточных ядер буккального эпителия в группах наблюдения

Возрастная группа, лет	Контрольная группа			Пациенты с прозопалгиями		
	Количество обследуемых лиц	Возраст, лет	Показатель ЭОЯ%	Количество обследуемых лиц	Возраст, лет	Показатель ЭОЯ%
25–40	5	31,8±2,6	68,2±2,1	4	32,0±2,2	57,0±2,5*
41–60	20	53,3±2,0	34,0±1,8	23	52,8±2,6	22,5±1,9*
61–85	15	72,6±2,4	21,8±1,9	19	73,0±2,4	9,3±2,3*

Примечание: * – уровень статистической значимости $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Как известно, важным фактором, воздействующим на клетки буккального эпителия, является слюна. Количество слюны, ее химический состав меняются в широких пределах в зависимости от времени суток, возраста, принятой пищи, эмоционального состояния человека, состояния центральной и вегетативной нервной системы, а также от наличия сопутствующих заболеваний.

Рецепторный аппарат буккальных клеток подвергается воздействию протеолитических и гликозидазных ферментов секрета ротовой полости. Их содержание повышается во время критических состояний (Weinmeister, Dal Nogare, 1994). Следствием метаболических и гормональных сдвигов могут быть изменения дифференцировки эпителия (Быков, 1997).

На ЭФП клеточных ядер буккального эпителия могут оказывать воздействие многочисленные нейрогуморальные сдвиги, происходящие в организме больных с прозопалгиями. В свою очередь биологически активные вещества посредством взаимодействия с мембранными рецепторами и проникновения в клетку влияют на степень конденсации хроматина, состояние генетического аппарата и метаболических систем клетки.

В частности, инсулин, гепарин, приводящие к деконденсации хроматина, повышают ЭОЯ% буккальных клеток, а катехоламины, гидрокортизон, мелатонин, ингибиторы метаболизма вызывают конденсацию хроматина и снижение ЭОЯ% (Шкорбатов, 2004). С одной стороны, изменения заряда ядра и структуры хроматина обеспечивают регуляцию функциональной активности клеточного ядра. С другой стороны, на величине заряда клетки могут отражаться изменения кинетики трансмембранного перемещения ионов. Уменьшение концентрации хлорида натрия и избыток ионов кальция в межклеточной среде сопровождается сдвигами электрокинетического потенциала клетки (Самойлов, 2007).

Важным аспектом влияния на клетку внешних факторов является изменение барьерной функции мембран клеток. Этот процесс связан с внутриклеточными механизмами регуляции, с регуляцией активности клеточного ядра. Показано, что изменения состояния организма человека

сопровождается изменениями состояния клеточного ядра (Шкорбатов, 2004). Электрокинетический потенциал клеточных ядер букального эпителия можно рассматривать как интегральный показатель обмена веществ в организме.

Заключення

На основании полученных результатов установлено, что у больных с фармакорезистентными формами лицевых болей в клетках букального эпителия наблюдается снижение ЭОЯ%, в среднем на 12%.

Так как показатель ЭОЯ% является информативным маркером состояния физиологических и патофизиологических реакций в организме, его определение целесообразно использовать для оценки степени тяжести больных, оценки состояния организма на клеточном уровне.

Список литературы

- Агаджанян А.А., Быкова И.А., Галенков А.К. Результаты цитологического исследования мазков-отпечатков СОПР при заболеваниях внутренних органов // Новости клинической цитологии России. – 1998. – Т.2, № 3–4. – С. 125–127. /Agadzhanyan A.A., Bykova I.A. Galenkov A.K. Rezul'taty tsitologicheskogo issledovaniya mazkov-otpechatkov SOPR pri zabolovaniyakh vnutrennikh organov // Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii. – 1998. – Т.2, № 3–4. – С. 125–127./
- Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. – М: Медицинская книга, 2001. – 304с. /Borovskiy Ye.V., Leont'yev V.K. Biologiya polosti rta. – M: Meditsinskaya kniga, 2001. – 304s./
- Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. – 1997. – Т.76, №3. – С. 12–17. /Bykov V.L. Funktsional'naya morfologiya epitelialnogo bar'yera slizistoy obolochki polosti rta // Stomatologiya. – 1997. – Т.76, №3. – С. 12–17./
- Кимеле Э. Цитологическая диагностика в стоматологии. – Рига, 1984. – 62с. /Kimele E. Tsitologicheskaya diagnostika v stomatologii. – Riga, 1984. – 62s./
- Колупаева Т.В., Шахбазов В.Г. Изменение электрического потенциала клеточного ядра в онтогенезе человека // Биохимия и физиология возрастного развития организма. – Киев: Наук. думка, 1992. – С. 282–287. /Kolupayeva T.V., Shakhbazov V.G. Izmeneniye elektricheskogo potentsiala kletchnogo yadra v ontogeneze cheloveka // Biokhimiya i fiziologiya vrazhnogo razvitiya organizma. – Kiev: Nauk. dumka, 1992. – С. 282–287./
- Колупаева Т.В., Цодикова О.А. Застосування фотонно-магнітних матриць Коробова А. – Коробова В. «Барва-Флекс/24ФМ» для фототерапії // Фотобіологія та фотомедицина. – 2013. – Т.Х, № 1,2. – С. 16–20. /Kolupayeva T.V., Tsodikova O.A. Zastosuvannya fotonno-magnitnykh matryts' Korobova A. – Korobova V. «Barva-Fleks/24FM» dlya fototerapii // Fotobiologiya ta fotomeditsyna. – 2013. – Т.Х, № 1,2. – С. 16–20./
- Посохов Н.Ф. Клинико-анатомическая классификация прозопагий // Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л.Поленова. – СПб, 2012. – Т.IV. – С.336. /Posokhov N.F. Kliniko-anatomicheskaya klassifikatsiya prozopagiy // Rossiyskiy neyrokhirurgicheskiy zhurnal im. prof. A.L.Polenova. – SPb, 2012. – Т.IV. – С.336./
- Рыжавский Б.Я., Холодок Г.Н. Изменения букального эпителия при некоторых заболеваниях у детей // Клиническая лабораторная диагностика. – 1995. – №2. – С. 39–40. /Ryzhavskiy B.Ya., Kholodok G.N. Izmeneniya bukkal'nogo epiteliya pri nekotorykh zabolovaniyakh u detey // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. – 1995. – №2. – С. 39–40./
- Самойлов В.О. Медицинская биофизика. – СПб, 2007. – 500с. /Samoylov V.O. Meditsinskaya biofizika. – SPb, 2007. – 500s./
- Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В. Спосіб експрес-тестування здоров'я людини. Патент 28113С2 України // Промислова власність України. – 2000. – №2, ч.1. – С. 31–32. /Shakhbazov V.G., Kolupayeva T.V. Sposib ekspres-testuvannya zdorov'ya lyudyny. Patent 28113S2 Ukrainy // Promyslova vlasnist' Ukrainy. – 2000. – №2, ch.1. – С. 31–32./
- Шкорбатов Ю.Г. Структурні та електрокінетичні властивості ядер клітин букального епітелію людини у зв'язку з дією фізико-хімічних факторів та зміною функціонального стану організму. Автореф. дис. ... докт. біол. наук. – Київ, 2004. – 40с. /Shkorbatov Yu.G. Strukturni ta elektrokinetychni vlastyivosti yader klityn bukal'nogo epiteliyu lyudyny u zv'yazku z diyeyu fizyko-khimichnykh faktoriv ta zminoyu funktsional'nogo stanu organizmu. Avtoref. dys. ... dokt. biol. nauk. – Kyiv, 2004. – 40s./
- Brandtraeg P., Farstad I.N. Mucosal Immunology. – San Diego: Academic Press, 1999. – P.439.
- Grant S., Aitchison T., Henderson E. et al. A comparison of the reproducibility and the sensitivity to change of visual analogue scales // Chest. – 1999. – Vol.116. – P. 1208–1217.
- Weinmeister K.D., Dal Nogare A.R. Buccal cell carbohydrates are altered during critical illness // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1994. – Vol.150. – P. 131–134.

Представлено: І.К.Волошин-Гапонов / Presented by: I.K.Voloshyn-Garponov

Рецензент: О.В.Наглов / Reviewer: O.V.Naglov

Подано до редакції / Received: 25.04.2014