

4. Волчегорский И.А., Рассохина Л.М., Мирошниченко И.Ю. Антиоксиданты при экспериментальном сахарном диабете // Пробл. эндокринологии. 2008. №5. С.43–49.
5. Изучение генотоксичности дигидрокверцетина in vivo / Жанатаев А.К. [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2008. №3. С.309–312.
6. Компьютерная томография и гистологические изменения в легких при сахарном диабете / Шойхет Я.Н. [и др.] // Бюл. СО РАМН. 2008. №2. С.63–67.
7. Подгребельный А.Н., Смирнов О.М., Дедов И.И. Роль фибробластов в развитии сахарного диабета и его осложнений // Пробл. эндокринологии. 2005. Т.51, №2. С.14–22.
8. Респираторная медицина / под ред. А.Г.Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. Т.1. 800 с.
9. Соколов Е.И., Демидов Ю.И. Газообменная функция легких у больных СД 1 типа // Тер. архив. 2008. №3. С.63–68.
10. Особенности течения хронической обструктивной болезни легких у больных сахарным диабетом / Титова Е.А. [и др.] // Пульмонология. 2008. №5. С.60–65.
11. Уминский А.А., Хавстеен Б.Х., Баканева В.Ф. Биохимия флавоноидов и их значение в медицине. М.: Пушино, ООО «Фотон – век», 2007. 264 с.
12. Incidence and prevalence of diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis undergoing lung transplantation before and after lung transplantation / Hadjiliadis D. [et al.] // Clin. Transplant. 2005. Vol.19, №6. P.773–778.
13. Pulmonary complications in diabetes mellitus / Kaparianos A. [et al.] // Chron. Resp. Dis. 2008, №5, P.101–108.
14. The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes / Toso C. [et al.] // Diabetologia. 2008. Vol.51, №11. P.1937–1946.
15. Willams R. J., Spencer J.P., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? // Free Radic. Biol. Med. 2004. Vol.36, №7. P.838–849.

Поступила 01.04.2011

Сергей Семенович Целуйко, зав. кафедрой гистологии и ЦНИЛ АГМА,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;
Sergey S. Tseluyko,
95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;
E-mail: agma.agma@yandex.ru



УДК 576.31:612.211-008.8(616-001.18+612.015.6)

С.В.Зиновьев, А.П.Кондрахина, В.С.Козлова

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГРАММЫ НАЗАЛЬНОГО СЕКРЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОФЛАВОНОИДОВ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ,
Благовещенск

РЕЗЮМЕ

Выполнено цитологическое и кристаллографическое исследование назального секрета у 86 здоровых лиц после холодового воздействия. При сканирующей электронной микроскопии в назальном секрете выявляется присутствие кристаллов натрия хлорида, струвитов, цистиновых кристаллов, мочевины, солей кальция. Выраженность кристаллизации назального секрета коррелирует с парциальным весом в назальной цитограмме клеток цилиндрического эпителия и сегментоядерных

лейкоцитов. Применение дигидрокверцетина приводит к достоверному снижению выраженности кристаллизации назального секрета и уменьшению содержания эпителиальных клеток. Кристаллографическая характеристика назального секрета может служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм и оценочным критерием эффективности различных способов коррекции холодовой адаптации.

Ключевые слова: цитологическая и кристаллографическая характеристика, назальный секрет, адаптация к холоду, биофлавоноиды.

SUMMARY

S.V.Zinov'ev, A.P.Kondrakhina, V.S.Kozlova

**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC
OF CRYSTALLOGRAM OF NASAL SECRETION
AT BIOFLAVONOIDS AND COLD INFLUENCE
ON HUMAN ORGANISM**

Cytological and crystallographic study of nasal secretion in 86 healthy patients after cold influence has been done. At scanning electronic microscopy crystals of natrium chloride, struvites, cystine crystals, urea and calcium salts were found in the nasal secretion. The intensity of crystallization of the nasal secretion correlates with the partial weight in the nasal cytogram of cells of cylindrical epithelium and segmentonuclear leukocytes. The introduction of dihydroquercetin leads to a significant decrease of crystallization intensity of the nasal secretion and to the reduction of epithelial cells contents. Crystallographic characteristic of the nasal secretion can be a marker of cold influence on the human organism and an evaluating criterion of effectiveness of different methods of cold adaptation correction.

Key words: cytological and crystallographic characteristic, nasal secretion, adaptation to cold, bioflavonoids.

Паренхиматозная и мезенхимальная дистрофия являются базовым общепатологическим процессом, в основе которого лежит структурная модификация морфобиохимической организации тканей и клеток человеческого организма. Сейчас остаются недостаточно изученными молекулярные механизмы развития дистрофии тканей и клеток в случае воздействия низкой температуры окружающей среды на организм [4, 5]. Важной является задача поиска экспериментальных моделей, которые позволяют описать морфобиохимические механизмы структурного гомеостаза при влиянии холода. По мнению ряда авторов, при холодовом стрессе происходят существенные нарушения метаболизма в тканях внутренних органов человека, которые приводят к развитию заболеваний органов дыхания [1]. Следовательно, экспериментальные и клинические исследования, направленные уточнение механизмов метаболических нарушений при холодовом воздействии, а так же разработку новых способов диагностики патологического процесса и методов его коррекции, являются актуальными.

Известно, что биофлавоноид дигидрокверцетин, выступая в качестве модулятора возникающих в организме при холодовом стрессе метаболических нарушений, обладает значительном эффектом [1]. В то же время механизм его положительного воздействия на слизистую оболочку носа (одного из ведущих антропоморфозов, исполняющих функцию терморегуляции) еще мало изучен. Одним из микрометодов для исследования местного метаболизма тканей слизистой оболочки органов дыхания является кристаллографическое исследование назального секрета [2, 5]. На наш взгляд, кристаллография назального секрета интересна в качестве способа, с помощью которого

можно изучить механизмы адаптационной реакции органов дыхания на воздействие низких температур окружающей среды и провести оценку эффективности методов коррекции адаптационного синдрома.

Цель исследования: дать кристаллографическую и цитологическую характеристику назального секрета при воздействии низкой температуры окружающей среды и биофлавоноидов на организм человека.

Материалы и методы исследования

Исследование назального секрета проведено у 86 практически здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 30 лет. Работа одобрена Этическим комитетом ГОУ ВПО Амурской государственной медицинской академии. Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом МЗ РФ от 19.06.2003, №266.

Учитывая, что низкая температура окружающей среды способствует раздражению слизистой оболочки органов дыхания, 30 участников исследования (1 группа) в конце декабря во время уличной прогулки закаливались воздействием низкой температуры окружающей среды (в среднем -30°C). В целях коррекции холодового стресса, другие 26 человек (2 группа) в течение 14 дней перед исследованием перорально принимали фармакопейную форму дигидрохверцитина (Лавиокард, Россия) в дозе 600 мг/сут. После чего эта группа испытуемых в январе подвергалась закаливанию воздействию низкой температуры по указанному выше методу. Еще 30 человек, которые были обследованы в летний период, составили контрольную группу.

У добровольцев сразу после воздействия низкой температуры окружающей среды на организм из нижнего носового хода с помощью ватной палочки, смоченной дистиллированной водой, извлекали назальный секрет. Затем его наносили на предметное стекло, на подложку из алюминиевой фольги. После высыхания жидкости сухой остаток изучали под световым микроскопом и с помощью сканирующего электронного микроскопа S-3400 (Hitachi, Япония). Мазки клеток назального секрета фиксировали в парах формалина, окрашивали по Романовскому-Гимза. Морфометрический анализ кристаллографической картины проводился на микрофотографиях с помощью программного обеспечения Optica Vision Pro. Количество кристаллов в назальном секрете оценивали по системе баллов с учетом рекомендаций для овариального теста [3]. Степень выраженности «симптома папоротника» определяется баллами: 0 баллов (-) – кристаллизация отсутствует, слизь аморфная; 1 балл (+) – кристаллизация со смазанным нечетким рисунком в виде отдельных стеблей и игл кристаллов; 2 балла (++) – четко выраженная структура листа папоротника с тонким и ясным рисунком; 3 балла (+++) – крупные кристаллы, массивные стебли, ветви расходятся под углом 90°. Статистическая обработка результатов исследования

проводилась с помощью t-критерия Стьюдента и корреляционного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

По методу нативной кристаллографии исследуется сухой остаток капель жидкости, нанесённой на предметное стекло [4]. Известно, что кристаллография биологических жидкостей является фундаментальным способом диагностики заболеваний крови, глаз, органов дыхания, предстательной железы, почек, ротовой полости, овариального цикла [2, 3, 4, 5]. В то же время не совсем понятна кристаллохимия кристаллов, которые характеризуют гистофизиологию биологических жидкостей органов дыхания. Ранее, мы с помощью растровой микроскопии препаратов бронхоальвеолярного лаважа у экспериментальных животных уточнили тип изучаемых кристаллов. В кристаллограмме бронхоальвеолярного лаважа обнаруживаются кристаллы, которые характерны для осадка мочи: мочевины, натрия хлорида, цистеиновые, струвиты, соли кальция, лизоцим и др. [2].

В случае фиксации парами формалина отмечается высокая устойчивость кристаллов к действию красителя Романовского-Гимза. При световой микроскопии и растровой электронной микроскопии препаратов назального секрета в полях зрения обнаруживаются клетки и кристаллы разнообразной формы: лист папоротника, древовидные, прямоугольные и т.д. В кристаллограмме назального секрета обнаруживаются кристаллы: мочевины, натрия хлорида, цистеина, струвиты, солей кальция, лизоцим и др. При световой микроскопии отмечается отложение кристаллов на периферии клеток, что подтверждается и при растровой микроскопии.

Феномен кристаллизации назального секрета подвергается изменениям в зависимости от вида воздействия на организм испытуемых. В контрольной группе у 19 (64,3%) обследованных назальный секрет имеет аморфный вид. В 11 (35,7%) случаях этой группы в назальном секрете появляются слабые следы кристаллизации при среднем увеличении микроскопа ($\times 500$) – кристаллизация со смазанным нечетким рисунком в виде отдельных стеблей или игл кристаллов с шириной $1,95 \pm 0,20$ мкм и длиной $4,36 \pm 0,30$ мкм. При небольшом увеличении микроскопа ($\times 125$) обнаруживается четко выраженная структура листа папоротника с тонким и ясным рисунком с шириной кристаллов

$2,37 \pm 0,50$ мкм и длиной ветвей, отходящих от стебля кристалла $5,39 \pm 1,90$ мкм. В контрольной группе выраженность кристаллизации назального секрета составляет $0,51 \pm 0,17$ балла.

У лиц в 1 группе степень выраженность кристаллизации назального секрета усиливается. У 16 (54,8%) участников исследования в секрете появляются кристаллы, которые обнаруживаются при еще меньшем увеличении микроскопа ($\times 50$). В препаратах обнаруживаются крупные кристаллы, с массивными стеблями и шириной кристаллов до $10,66 \pm 2,1$ мкм, что достоверно отличается от показателей в контрольной группе ($p < 0,01$). От стебля отходят ветви, которые расходятся под углом 90° с длиной ветви $18,65 \pm 2,80$ мкм, что также достоверно отличается от контроля ($p < 0,01$). Выращенность кристаллизации назального секрета составляет $1,43 \pm 0,22$ балла, что достоверно отличается от значений данного показателя в контрольной группе ($p < 0,01$).

При анализе показателей во 2 группе феномен кристаллизации назального секрета отмечается у 7 (28,0%) обследованных. Характерным является потеря четко выраженной структуры листа папоротника, либо происходит распад кристаллов на фрагменты со средней шириной кристалла $2,33 \pm 0,40$ мкм, что достоверно отличается от результатов в 1 группе ($p < 0,01$). У лиц 2 группы выраженность кристаллизации назального секрета составляет $0,47 \pm 0,18$ балла, что достоверно ниже в сравнении с результатами, полученными в 1 группе ($p < 0,01$).

Нами установлено, что результаты кристаллографического исследования статистически достоверно коррелируют с результатами цитологического исследования назального секрета. У обследованных в 1 группе в парциальной цитограмме существенно повышается содержание эпителиальных клеток до $37,4 \pm 6,6\%$ от общего количества клеток, что достоверно выше значений в контрольной группе – $6,08 \pm 2,9\%$ ($p < 0,01$). Парциальный вес сегментоядерных лейкоцитов составляет $41,7 \pm 5,6\%$, что несколько выше сравнении с контролем – $33,86 \pm 10,5\%$ ($p > 0,05$). При этом установлен достоверный коэффициент корреляции между выраженностью кристаллизации секрета, парциальным содержанием клеток цилиндрического эпителия и количеством сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов (табл.).

У лиц во 2 группе парциальный вес эпителиаль-

Таблица

Характеристика корреляционных взаимосвязей клеточного состава назальной цитограммы и показателей кристаллизации назального секрета

Показатели	Клетки цилиндрического эпителия	Степень кристаллизации назального секрета
Клетки цилиндрического эпителия	-	$r = -0,39$; $p < 0,05$
Клетки нейтрофильных лейкоцитов	$r = -0,80$; $p < 0,001$	$r = 0,54$; $p < 0,01$

ных клеток в цитограмме назального секрета снижается и составляет $16,16 \pm 5,93\%$, что достоверно отличается от результатов обследования в 1 группе ($p < 0,05$). Среднее значение парциального веса сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов во 2 группе имеет тенденцию к снижению в сравнении с показателями в 1 группе ($p > 0,05$) и составляет $32,12 \pm 6,99\%$.

Таким образом, результаты микроскопического исследования нативной кристаллограммы назального секрета свидетельствуют о том, что кристаллограмма биосред может характеризовать метаболизм тканей дыхательных путей при воздействии холода на организм человека и иметь определенное значение для оценки эффективности предлагаемых способов коррекции адаптационного синдрома. Мы считаем, что кристаллохимическое исследование биологических жидкостей в перспективе может претендовать на роль одного из ведущих способов клинико-лабораторного исследования органов дыхания.

Выводы

1. При сканирующей электронной микроскопии в назальном секрете здоровых лиц выявляется присутствие кристаллов, которые характерны для мочевого осадка – натрия хлорида, струвитов, цистиновых кристаллов, мочевины, солей кальция и др. При воздействии холодом происходит нарастание выраженности кристаллизации, применение биофлавоноида дигидрокверцетина приводит к снижению степени кристаллизации назального секрета.

2. Выраженность кристаллизации назального сек-

рета коррелирует с парциальным весом клеток цилиндрического эпителия и сегментоядерных лейкоцитов в назальной цитограмме.

3. Кристаллографическая характеристика назального секрета может служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм и оценочным критерием эффективности различных способов коррекции холодовой адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доровских В.А., Целуйко С.С. Антиоксидантные препараты различных химических групп в регуляции стрессирующих воздействий. Благовещенск: АГМА, 2004. 268 с.

2. Морфологическая характеристика кристаллограммы жидкости бронхоальвеолярного лаважа при действии постоянного магнитного поля / Зиновьев С.В. [и др.] // Казанская наука. 2010. №10. С.358–359.

3. Татарчук Т.Ф., Сольский Я.П. Эндокринная гинекология (клинические очерки). Киев: Заповіт, 2003. 300 с.

4. Кристаллографический скрининг слезной жидкости при инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / Тюльганова Е.Б. [и др.] // Дальневост. мед. журн. 2004. №4. С.56–58.

5. Шатохина С.Н., Зенгер В.Г. Морфология жидких сред организма – новое направление оториноларингологии // Рос. оториноларингол. 2004. №5. С.188–191.

Поступила 04.04.2011

Сергей Викторович Зиновьев, старший научный сотрудник,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;
Sergey V. Zinov'ev,
95 Gorkogo Str., Blagoveshchensk, 675000;
E-mail: agma@amur.ru



УДК (616.233+616.24)-02-053.2-056:578.5

Е.А.Козлова, О.И.Морозова, Г.Н.Холодок, В.К.Козлов

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ

Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания
Сибирского отделения РАМН – НИИ охраны материнства и детства

РЕЗЮМЕ

С использованием метода полимеразной цепной реакции проведено исследование генетического полиморфизма Tgr113His в гене митохондриальной

эпоксидгидролазы у 73 детей с внебольничной пневмонией, находившихся на стационарном лечении в клинике Хабаровского филиала ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ ОМиД в 2010-2011 гг. Группу