

А.С. ЖУРАВЛЕВ, Ю.М. КАЛАШНИК, Т.В. КОЛУПАЕВА

СОСТОЯНИЕ ГЛОТОЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИМ ФАРИНГИТОМ НА ФОНЕ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ

*Каф. оториноларингологии (зав. – проф. А.С. Журавлев)
Харьков. нац. мед. ун-та (ректор – проф. В.Н. Лесовой)*

Вопросы, связанные с количественной оценкой состояния здоровья, приобретают особое значение на фоне широкого вовлечения в лечебно-диагностический процесс техногенных факторов исследования.

В связи с этим определение уровня состояния здоровья стало возможным при изучении показателей резерва биоэнергетических характеристик организма в целом и клетки, в частности. Исследованиями, проведенными в Харьковском национальном университете им. В.Н. Каразина, было показано, что буккальные эпителиоциты, как и все эпителиальные клетки слизистой оболочки, принимают активное участие в системе гуморально-клеточного гомеостаза. Установлена связь электрокинетических свойств ядер клеток с генотипом, возрастом, влиянием температуры, содержанием в ядре РНК, ДНК и кислых белков, транскрипционной активностью ядерного генома (В.Г. Шахбазов, 2001).

Изменение электрокинетических свойств ядер буккального эпителия дает возможность судить о степени нарушения гомеостаза организма и делать выводы о динамике патологического процесса, позволяет с большой надежностью и точностью определять состояние больного (Т.В. Колупаева, 1989; И.А. Григорова, 1996).

Это объясняет тот интерес, который обусловлен изучением изменений в клетках на генетическом уровне как для скрининга экологического риска, так и для ранней верификации развития патологических процессов (Ю.В. Лозовська, 2003).

Исследованиями В.Г. Шахбазова (1971, 1986, 1997, 2001) выяснены характе-

ристики электрокинетического потенциала клеточных ядер буккального эпителия с использованием внутриклеточного микроэлектрофореза. При этом оценивался заряд ядра – показатель электроотрицательности ядер (ЭОЯ %) живой неповрежденной клетки.

Установлена тесная прямая зависимость показателя ЭОЯ %: от возраста человека, а также построена возрастная кривая для харьковской популяции с максимумом ЭОЯ % в возрасте 21-25 лет (76% электроотрицательных ядер). С возрастом показатель постепенно снижается до 18 % к 85 годам (В.Г. Шахбазов, 1985).

Обнаружено, что биоэлектрические свойства ядер являются чувствительным индикатором состояния клеток. Электрический заряд ядер снижается под действием ингибиторов биосинтетических процессов, а также под влиянием внешних повреждающих факторов – гипо и гипертермии, ультрафиолетового света, гамма - радиации (В.Г. Шахбазов, 1989, 1991; Ю.Г. Шкорбатов, 1992). В то же время показатель ЭОЯ % может повышаться и приближаться к возрастной норме при действии активаторов метаболизма, а также различных физических факторов (Т.В. Колупаева, 1992; 2008) и адекватной медикаментозной терапии (В.Г. Шахбазов, 1997; Т.В. Колупаева, 2005; В.Ф. Куцевляк, 2006).

Установлено, что буккальный эпителий в норме не отличается от других видов эпителиальных тканей по показателям ЭОЯ % от эпителия слизистой оболочки гастроудоденальной зоны, эпителия матки (В.В. Саарян, 1992; А.М. Коробов, 2002). В связи

с этим нами предпринята попытка экстраполяции этого метода на эпителиоциты глотки, учитывая их определенную общность анатомо-физиологических и функциональных характеристик.

В частности, нами изучена эффективность лечения больных хроническим гипертрофическим фарингитом в комплексе с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью по состоянию активности нативных клеток на фоне изменения электрокинетического потенциала клеточного ядра в цитобиофизическом методе.

Объект и методы исследования

В основе метода внутриклеточного микроэлектрофореза лежит определение электрокинетических свойств клеточных ядер буккального и глоточного эпителия субъекта. Клеточные фракции, взятые путем соскоба эпителия, смешивают с 0,5 мкл буферного раствора (2,89 мм CaCl_2 на 3,30 мл фосфатного буфера, рН-7,0) и помещают в электрофоретическую камеру. Исследование проводится под микроскопом при увеличении $\times 400$. Камера подключается к прибору для микроэлектрофореза. На неокисляющиеся электроды камеры, расстояние между которыми составляет 20 мм, подается напряжение электрического поля в 15-20 В при силе тока $I=0,1\pm 0,01$ мА. Частота смены полярности на электродах составляет 1 Гц.

Удельный вес клеток с ядрами, несущими отрицательный заряд и смещающимся в электрическом поле камеры в сторону анода, принят за показатель ЭОЯ %. Анализ биофизических показателей клетки проводится на основании изучения нативного неокрашенного материала (В.Г. Шахбазов, 1986).

Всего было обследовано 39 пациентов в возрасте от 18 до 40 лет с диагнозом: хронический гипертрофический фарингит. Причем, это были лица в одной возрастной категории, имеющие, согласно данным В.Г. Шахбазова, соответствующую величину ЭОЯ % (В.Г. Шахбазов, 1985). Из них в основной группе было 26 больных хроническим гипертрофическим фарингитом (ХГФ) на фоне гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) и в группе сравнения - 13 с изолированной формой хронического ги-

пертрофического фарингита. Все они обследовались и лечились в период обострения заболевания амбулаторно на протяжении 1-2 мес. Контрольная группа состояла из 12 человек.

В зависимости от проводимых лечебных мероприятий обследуемые основной группы были подразделены на 2 подгруппы. В 1-й подгруппе, состоящей из 12 пациентов с ХГФ и ГЭРБ, лечение по поводу хронического гипертрофического фарингита заключалось в проведении криодеструкции гранулезных образований задней стенки глотки криоаппаратом КМ-22 в течение 5-6 сеансов через день с экспозицией в 50-60 с. Они также получали ингаляционный антибиотик – биопарокс на область задней стенки глотки по 4 ингаляции 4 раза в сутки на протяжении 8-10 дней. Лечение при ГЭРБ включало использование блокатора желудочной секреции: пульцет – по 40 мг 2 раза в сутки перед едой в течение 2-4 нед. Одновременно назначался прокинетики – мотилиум по 10 мг 3-4 раза в день за 30 мин до еды на протяжении 10-12 дней.

Во 2-й подгруппе, состоящей из 13 человек с ХГФ на фоне ГЭРБ, было проведено лечение по описанной схеме, направленное только на патологический процесс в глотке. И пациенты в группе сравнения с изолированной формой ХГФ получали аналогичное лечение с целью элиминации симптомов данного заболевания.

Показатель ЭОЯ % определялся у обследуемых лиц до лечения и через 1 мес после его окончания. Полученные результаты сравнивались с возрастной нормой показателя ЭОЯ % (Т.В. Колупаева, 1992). Статистическая обработка данных проведена по методике Стьюдента-Фишера. Достоверным считалось различие между вариантами с уровнем значимости $p \leq 0,05; 0,02; 0,01$.

Результаты и обсуждение

Учитывая тесную прямую зависимость показателя ЭОЯ % от возраста человека, контрольная группа по возрастной категории была аналогичной обследуемым больным.

Нами было установлено, что глоточный эпителий в норме не отличается от буккального эпителия по показателям ЭОЯ % (табл. 1).

Таблица 1

Показатели ЭОЯ % буккального и глоточного эпителия в контрольной группе у здоровых доноров

Возраст (годы) обследуемых	Показатель ЭОЯ в эпителии здоровых лиц (M±m)	
	буккальный (у 13)	глоточный (у 12)
19-40	64,3±1,9%	64,2±1,7%

Учитывая эти данные, мы в дальнейшем производили исследование ЭОЯ % глоточного эпителия (ГЭ).

Выявлено, что до лечения в период обострения показатель ЭОЯ % ГЭ у пациентов с ХГФ и ГЭРБ 1-й и 2-й подгрупп был статистически равнозначен. Кроме того, отмечено его снижение по сравнению с возрастной нормой, что составляло, соответственно, 47,2±2,3 и 47,3±2,9%, при 64,2±1,9% в контрольной группе ($p < 0,001$). У больных с моноформой ХГФ он равен 56,6±1,2 % ($p < 0,01$) с достоверным отличием от нормальных показателей возрастных динамических колебаний (табл. 2).

Таблица 2

Показатели ЭОЯ % глоточного эпителия у обследуемых в период обострения до лечения

Показатели ЭОЯ % (M±m)			
контрольная группа (n=12)	основная группа (ХГФ + ГЭРБ)		группа сравнения (ХГФ), n=13
	1-я подгруппа (n=12)	2-я подгруппа (n=14)	
64,2±1,9	47,2±2,3 ^{oo*}	47,3±2,9 ^{oo*}	56,6±1,2 ^o

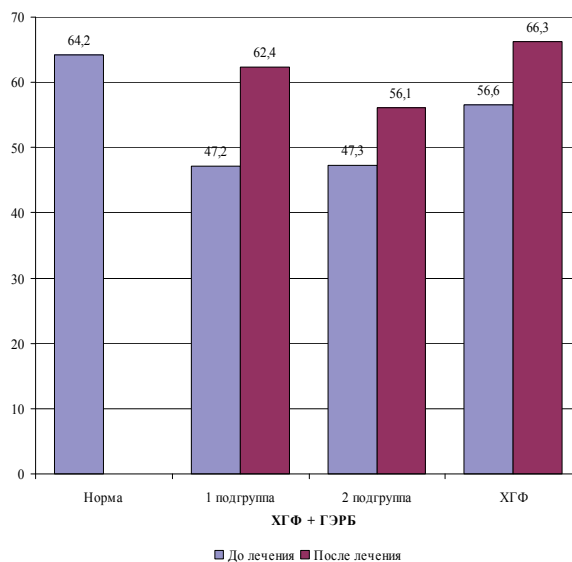
Примечание: ^o $p \leq 0,01$, ^{oo} $p \leq 0,001$ (по отношению к группе контроля), * $p \leq 0,01$ (по отношению к группе сравнения).

Из приведенных данных видно, что у пациентов 1-й и 2-й подгруппы в основной группе с ХГФ и сопутствующими патологическими проявлениями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в период обострения заболевания достоверное различие с нормой было значительно выше, чем при

заболеваниях глотки без признаков поражения ЖКТ, и достоверно отличалось между этими группами (47,3±2,9% и 47,2±2,3% – в основной группе; 56,6±1,2% – в группе сравнения; $p < 0,01$).

После проведенного курса лечения во всех группах происходит повышение показателя ЭОЯ %, что свидетельствует о достаточной эффективности назначенной терапии.

Сравнительный анализ выявил, что после проведенного лечения выраженное повышение ЭОЯ % с нормализацией показателей происходит у больных 1-й подгруппы и группы сравнения (рис.).



Показатели ЭОЯ % глоточного эпителия у больных ХГФ на фоне ГЭРБ в динамике.

В свою очередь, после проведенного лечения у пациентов 2-й подгруппы отмечается менее выраженное улучшение показателей ЭОЯ % (56,1±2,23% – в основной группе, 64,2±1,9% – в контрольной группе; ($p \leq 0,02$).

При рассмотрении эффективности терапии, наибольшее различие достоверности в динамике лечения отмечалось у пациентов 1-й подгруппы (после лечения – 62,4±2,5, до лечения – 47,2±2,3%; $p < 0,001$) и группы сравнения (66,3±1,3% – после лечения, 56,6±1,2% – до лечения; $p < 0,001$) при изначально более высоких показателях в группе с изолированной формой ХГФ (табл. 3).

Сравнительная характеристика показателей ЭОЯ % глоточного эпителия у обследуемых до и после проведенного лечения

Показатели ЭОЯ % (M±m)							Достоверность различий p <		
Контрольная группа (n=12)	основная группа ХГФ + ГЭРБ				группа сравнения ХГФ (n=13)				
	1-я подгруппа (n=12)		2-я подгруппа (n=14)						
	до	после	до	после	до	после			
1	2	3	4	5	6	1-2	3-4	5-6	
64,2±1,9	47,2±2,3 ^{oo}	62,4±2,5	47,3±2,9 ^{oo}	56,1±2,23 ^{**}	56,6±1,2 ^o	66,3±1,3	0,001	0,05	0,001

Примечание: **p≤0,02, ^op≤0,01, ^{oo}p≤0,001 (по отношению к группе контроля).

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Выявлено, что при хроническом гипертрофическом фарингите имеется значимое снижение показателя ЭОЯ %.

2. Наиболее заметные отрицательные изменения электрокинетических свойств ГЭ отмечаются у больных ХГФ на фоне ГЭРБ.

3. Установлено, что применение методов лечения больных ХГФ на фоне ГЭРБ с учетом патогенетических звеньев хрониче-

ского воспаления глотки оказывает нормализующее влияние на показатель ЭОЯ %.

4. Использование лечения, направленного только на хронический фарингит, у больных ХГФ с ГЭРБ не позволяет достичь заметной положительной динамики ЭОЯ%.

Применение метода внутриклеточного электрофореза клеточных ядер глоточного эпителия дает возможность более рационально подбирать режимы лечения и контролировать состояние больных в динамике.

- Григорова И.А., Жуков В.И., Колупаева Т.В., Шахбазов В.Г. Патент № 8271А. Способ оценки состояния больных с ишемическим инсультом головного мозга // Бюллетень №1. – 1996.
- Колупаева Т.В., Коробов А.М. Застосування фотонних технологій на етапі санаторно-курортного лікування // Матеріали ХХХ Міжнародної науково-практичної конференції «Применение лазеров в медицине и биологии». – Ялта, 2008. – С.130.
- Колупаева Т.В., Мезенцев С.А., Шахбазов В.Г. Новые диагностические подходы к оценке уровня здоровья человека // Биоэлектрические свойства клеточного ядра и состояния организма. – Харьков, 1989. – С. 18.
- Колупаева Т.В., Цодікова О.А., Тондій Л.Д., Шахбазов В.Г. Патент № 4476 Спосіб використання хромотерапії в етапній терапії і реабілітації часто хворюючих дітей // Бюлетень №1. – 2005.
- Колупаева Т.В., Шахбазов В.Г. Изменения электрического потенциала клеточного ядра в онтогенезе человека // Биохимия и физиология возрастного развития организма. – Киев: Наук. думка, 1992. – С. 282-285.
- Коробов А.М., Колупаева Т.В., Шахбазов В.Г., Черняева К.О. Патент № 48804А Способ терапевтического лечения гипоплазии матки и задержки полового развития // Бюлетень №8. – 2002.
- Куцевляк В.Ф., Колупаева Т.В., Любченко О.В. № 18956U Способ диагностики степени тяжести генерализованного пародонтита // Бюллетень №11. – 2006.
- Лозовська Ю.В. Морфологічні особливості інтерфазних ядер букального епітелію у людей з дисгормональною патологією, пов'язаною з інтоксикацією: Автореф. дис. ... канд. біол. наук – К., 2003. – 18 с.
- Саарян В.В., Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В. и др. А.с. 1789926. Способ определения состояния слизистой оболочки гастроудоденальной зоны при язвенной болезни // Открытия. Изобретения. – 1992. – №1.

10. Шахбазов В.Г. Экологическая и биофизическая генетика. Избранные труды / Под ред. В.Ф.Чешко. Харьков. – Штрих, 2001. – 436 с.
11. Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В., Набоков А.Л. А.с. № 1169614 Способ определения биологического возраста человека // Открытия, изобретения. – 1985. – №28. – С. 15.
12. Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В., Набоков А.Л. Новый метод определения биологического возраста человека // Лабораторное дело. – 1986. – № 7. – С. 404-407.
13. Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В., Набоков А.Л., Шкорбатов Ю.Г., Страшнюк В.Ю. А.С. 1451600 Способ определения повреждения клеток экстремальными физическими воздействиями // Открытия. Изобретения. – 1989. – №2.
14. Шахбазов В.Г., Колупаева Т.В., Страшнюк В.Ю., Мазник Н.А. Влияние малых доз облучения на электрокинетические свойства клеточных ядер человека в зависимости от возраста // Молекулярная генетика и биофизика – 1991. – Вып. 16. – С. 30-35.
15. Шахбазов В.Г., Лобынцева Г.С. Биоэлектрические свойства ядра и ядрышка в клетках растений в связи с генотипом, физиологическим состоянием и действием высокой температуры // Биофизика, 1971. – Т. 16, вып.3. – С. 457-461.
16. Шахбазов В.Г., Малая Л.Т., Колупаева Т.В. Патент № 17507А Спосіб прогнозування перебігу інфаркту міокарда // Бюлетень №5. – 1997.
17. Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. Биоэлектрические свойства клеточных ядер // Успехи современной биологии. – 1992. – Т.112, № 4. – С. 499-511.

Поступила в редакцию 20.05.09.

© А.С. Журавлев, Ю.М. Калашник, Т.В. Колупаева, 2009

СТАН ГЛОТКОВОГО ЕПІТЕЛІУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГІПЕРТРОФІЧНИЙ ФАРИНГІТ НА ТЛІ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ ХВОРОБИ

*Журавльов А.С., Калашник Ю.М., Колупаєва Т.В.
(Харків)*

Резюме

Досліджувалась фізіологічна активність ядер клітини глоткового епітелію у пацієнтів з хронічним гіпертрофічним фарингітом як ізольованим, так і з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою. Виявлено, що при усіх формах ХГФ мають місце значні порушення електронегативності ядер (ЕНЯ %), які найбільш виражені при ХГФ на тлі ГЕРХ. Досягнуто відновлення ЕНЯ % глоткового епітелію клітин при комплексному лікуванні хворих на ХГФ з врахуванням ГЕРХ, як патогенетичного фактору. Також визначено, що використання методу внутрішньоклітинного електрофорезу дає можливість контролювати стан хворих у динаміці.

THE STATE OF PHARYNGEAL EPITHELIUM IN PATIENTS WITH CHRONIC HYPERTROPHIC PHARYNGITIS ACCOMPANIED BY GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE

*Zhuravlyov A.S., Kalashnik Y.M.,
Kolupaeva T.V. (Kharkov)*

Summary

The studies of physiological activity of cell nuclei in pharyngeal epithelium have been carried out with patients both with isolated chronic hypertrophic pharyngitis (CHP) and in combination with gastroesophageal reflux disease (GERD). It was revealed that considerable disturbances of nuclear electronegativity (ENN%) occur in all forms of CHP, and are the most expressed in GERD presence. There was achieved an ENN% turnover of pharyngeal epithelium cells in a combined treatment of CHP and GERD, as a pathogenetic agency. Also, the studies found that the implementation of the method of intracellular electrophoresis enables to control the dynamic state of patients.