

УДК 616.31-089-089.168.1-07-003.231

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИНАМИКИ ЛАКТОФЕРРИНА РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕЧЕНИЯ РАННЕГО ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА ПРИ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ В ПОЛОСТИ РТА

Е.А. Дурново, А.В. Воробьева, Н.А. Беспалова, А.С. Клочков, М.С. Марочкина, С.В. Шашурина,
ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

Дурново Евгения Александровна – e-mail: star@gma.nnov.ru

Рассматриваются диагностические возможности лактоферрина ротовой жидкости для решения задач ранней профилактики послеоперационных осложнений, повышения эффективности проводимого хирургического лечения в полости рта и оценивается эффективность проводимых лечебных мероприятий при использовании перфторуглеродных соединений.

Ключевые слова: лактоферрин, перфторуглеродные соединения, послеоперационный период, полость рта.

Diagnostic possibilities of dynamics Lactoferrin in oral liquid for the decision of problems in preventive maintenance of complications and increase of efficiency spent surgical treatment in the oral cavity is considered, at use emulsion of perfluoroorganic compounds.

Key words: Lactoferrin, perfluoroorganic compounds, early postoperative period, oral cavity.

Развитие стоматологии вообще и хирургической стоматологии в частности требует решения вопросов, связанных с профилактикой и лечением осложнений в раннем послеоперационном периоде. В настоящее время разработано множество комплексных программ по профилактике и прогнозированию осложнений при различных оперативных вмешательствах. Однако, несмотря на предпринимаемые меры профилактики, частота воспалительных осложнений в раннем послеоперационном периоде все еще остается высокой [1, 2].

Эта проблема приобретает особую актуальность при проведении хирургических вмешательств в полости рта, в так называемой изначально «инфицированной» зоне, когда операционная рана находится в постоянном контакте с внешней средой и подвергается риску дополнительной контаминации различными микробными возбудителями. С другой стороны, любым клиническим признакам проявления ранних осложнений предшествует преморбидный фон развития воспалительного заболевания, когда проведение любых профилактических мероприятий может не только снизить интенсивность начинающегося воспалительного осложнения, но в некоторых случаях и предотвратить его.

Знание об основных механизмах раневого процесса, его клинических особенностях дает возможность управлять им

и разрабатывать методы лечения и профилактики послеоперационных осложнений [3, 4]. Однако, клинически определяемые объективные признаки неблагоприятного течения послеоперационного периода вначале иногда не определяются, что не позволяет своевременно их диагностировать, проводить необходимые лечебные мероприятия, направленные на ликвидацию начинающихся воспалительных процессов. Это приводит к срыву процесса регенерации и неудачному исходу оперативного лечения.

Сегодня известно, что различные показатели местного гомеостаза полости рта могут служить достоверным и надежным критерием, характеризующим направленность и выраженность патологических процессов, развивающихся в костной ткани челюстей и на слизистых оболочках полости рта. Проведение этих исследований, их адекватная оценка не только помогут указать на своевременное развитие ранних патологических процессов, но и могут служить критерием эффективности проводимых лечебных мероприятий.

По мнению многих исследователей, изучение клинических цитохимических показателей, таких как общие фракции лизосомальных катионных белков (ЛКБ) (в том числе миелопероксидаза, лизоцим, лактоферрин, дифенсины, эластаза, коллагеназа) и ее отдельные компоненты, позволит судить о степени выраженности микробных воспалительных

процессов в полости рта [5, 6]. Физико-химической основой антимикробного действия этих белков являются электростатические силы притяжения, возникающие между основными (катионными) группами этих белков и кислотными радикалами поверхности бактерий. Контакт антимикробного агента с поверхностью бактерий является предпосылкой для последующего проникновения его во внутренние структуры клетки и реализации его цитотоксических свойств. В результате проникновения во внутренние области бактериальной оболочки и взаимодействия с плазмолеммой катионные белки парализуют важнейшие энергетические (дыхание, окислительное фосфорилирование) и биосинтетические (репликация, транскрипция, трансляция) процессы, что резко снижает жизнеспособность микроорганизмов. Наблюдаемое при этом нарушение осмотического барьера клеток, наряду с блокированием процессов синтеза ДНК, РНК и белков, усиливает конечный антимикробный эффект поликатионов. Благодаря одновременно направленным воздействиям ЛКБ на структуры и физико-химические процессы микробных клеток осуществляется быстрая гибель микроорганизмов в естественных условиях при фагоцитозе и воспалении [7].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось изучение динамики лактоферрина (ЛФ) ротовой жидкости при проведении гингивопластики свободными десневым и соединительнотканым аутоотрансплантатами как критерия, характеризующего течение раннего постоперационного периода и определяющего эффективность проводимых лечебных мероприятий.

Материал и методы

Работа основывается на анализе результатов обследования и оперативного лечения 80 человек с недостаточной зоной прикрепленной кератинизированной десны при заболеваниях пародонта. Так как основной задачей нашего исследования являлось изучение диагностической ценности выбранного нами критерия с целью определения эффективности проводимых лечебных мероприятий и проведения клинично-лабораторных параллелей между его динамикой и состоянием послеоперационной раны, все больные были разделены на группы в зависимости от метода комплексного лечения: 1-я группа – пациенты, которым проводилась гингивопластика свободным десневым трансплантатом с применением эмульсии перфторуглеродов (СДТ+ПФ) в виде инъекций, аппликаций и экспозиций аутоотрансплантатов во время операций; 2-я группа – гингивопластика только свободным десневым трансплантатом (СДТ); 3-я группа – гингивопластика свободным соединительно-тканым трансплантатом с применением эмульсии перфторуглеродов (ССТ+ПФ) в виде инъекций, аппликаций и экспозиций аутоотрансплантатов во время операций; 4-я группа – гингивопластика свободным соединительнотканым трансплантатом (ССТ). Группу контроля составили 17 здоровых лиц без патологии тканей пародонта, отсутствие воспалительных заболеваний пародонта, отсутствие десневых рецессий, ширина прикрепленной десны не менее 3 мм, наличие толстого или среднего десневого биотипа, отсутствие ортопедических конструкций, отсутствие пришеечных кариозных дефектов и пришеечных пломб, возраст до 25 лет).

В послеоперационном периоде (на 1-, 3-, 5-, 7-е сутки наблюдения) проводился забор ротовой жидкости больных

с целью изучения динамики уровня лактоферрина (ЛФ) методом иммуноферментного анализа с применением поликлональных тел к лактоферрину и определения среднего цитохимического коэффициента (СЦК) в лизосомальном

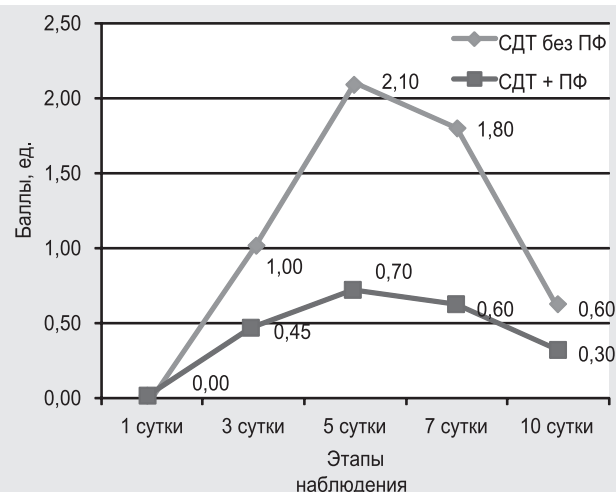


РИС. 1.

Оценка изменений свободного десневого аутоотрансплантата в динамике в группах 1 (СДТ+ПФ) и 2 (СДТ), выраженная в баллах.

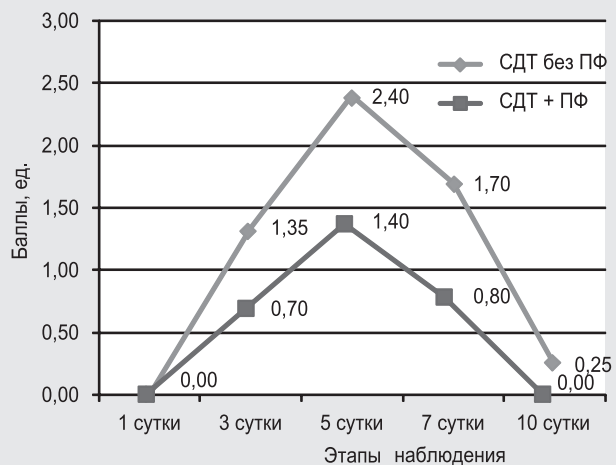


РИС. 2.

Оценка изменений свободного соединительнотканного аутоотрансплантата в динамике в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ), выраженная в баллах.

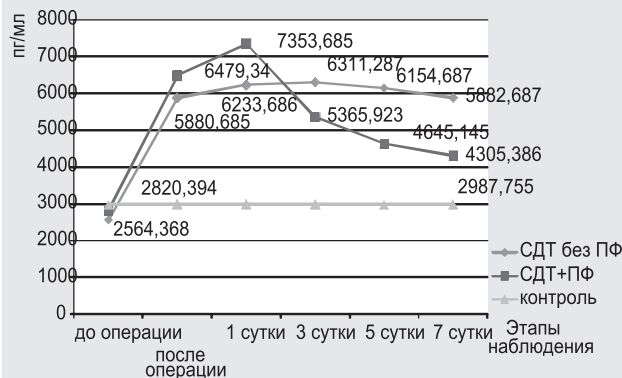


РИС. 3.

Динамика концентрации лактоферрина в ротовой жидкости при оперативном лечении с использованием СДТ слизистой оболочки полости рта.

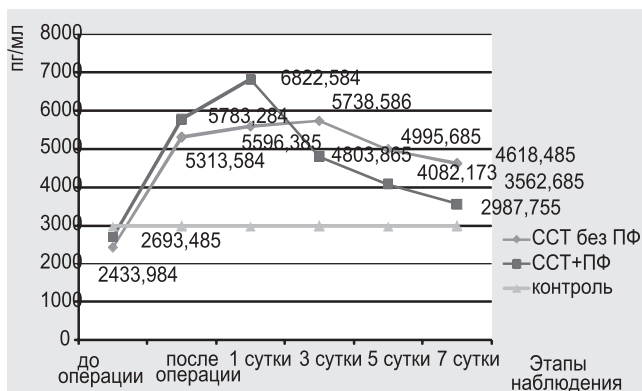


РИС. 4.
Динамика концентрации лактоферрина в ротовой жидкости при оперативном лечении с использованием ССТ слизистой оболочки полости рта.

катионном тесте по методу В.Е. Пигаревского (1987). Параллельно в эти же сроки осуществлялось наблюдение за интенсивностью клинических проявлений в области операционной раны. Данные фиксировались в специально разработанную карту обследования больного. Оценивались следующие критерии, характеризующие ранние послеоперационные осложнения: инфицирование раны, формирование гематомы, инфильтрата. В области пересаженных лоскутов определяли: а) отсутствие некротических изменений; б) поверхностные изменения (десквамация эпителия); в) некроз края лоскута; г) некроз площади (S) лоскута в %; д) полный некроз трансплантата. В зависимости от характера и степени выраженного клинического признака его оценивали в баллах с последующим подсчетом общего балла.

Результаты и их обсуждение

В 1-е сутки послеоперационного периода изменений свободного десневого аутоотрансплантата выявлено не было в обеих группах. Наблюдение в дальнейшие сроки показало, что максимум изменений при гингивопластике свободным лоскутом приходилось на 5-е сутки и составило 0,7 балла в группе 1 (СДТ+ПФ) и 2,10 балла в группе сравнения 2 (СДТ), что было выше показателя группы 1 в 3 раза. В сроки на 7-е и 10-е сутки также отмечается значительная разница между показателями 1-й (СДТ+ПФ) и 2-й (СДТ) групп – 0,6 и 1,8 балла (7 день) и 0,3 и 0,6 балла (10-й день) соответственно; следовательно в группе 1 (СДТ+ПФ) аутоотрансплантат меньше подвергался отрицательным изменениям по сравнению с группой 2 (СДТ) после операции (рис. 1). Обращает внимание, что в группе 1, где в комплексе лечения использовались соединения перфторуглеродов, изменения аутоотрансплантата носили в основном поверхностный характер (в 65% случаев (13 человек), наблюдалась десквамация эпителия, в 10% случаев (2 человека) произошел некроз эпителия), изменения аутоотрансплантата, такие как некроз соединительной ткани частичный или на всю глубину лоскута, влияющие на отдаленный результат, присутствовали в 25% случаев (5 человек). В группе 2, где перфторуглеродные соединения не использовались, наблюдалась иная картина. Лишь в 10% случаев (2 человека) происходил некроз эпителия, а в остальных случаях (90%) в процесс некротических изменений вовлекалась соединительная ткань свободного десневого аутоотрансплантата.

Случаев полного некроза свободного десневого аутоотрансплантата в группах 1 (СДТ+ПФ) и 2 (СДТ) отмечено не было. Осложнения оперативного лечения при использовании СДТ на этапах лечения были отмечены в группе 1 (СДТ+ПФ) в 2 случаях (10%), а в группе 2 (СДТ) у 6 человек (30%).

При оценке динамики изменений свободных соединительнотканых аутоотрансплантатов в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ) были установлены достоверные отличия ($p < 0,05$) показателей как между данными группами на всех сроках наблюдения, так и внутри групп (рис. 2).

Таким образом, в 1-е сутки послеоперационного периода изменений свободного соединительнотканного аутоотрансплантата выявлено не было в обеих группах, в дальнейшем отмечены существенные достоверные отличия ($p < 0,05$) данного показателя в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ) на всех сроках наблюдения. В сроки послеоперационного наблюдения балл, определяющий степень выраженности изменений свободного соединительнотканного аутоотрансплантата, составил $0,70 \pm 0,04$ (3-и сутки), $1,40 \pm 0,09$ (5-е сутки), $0,08 \pm 0,07$ (7-е сутки) в группе 3 (ССТ+ПФ), что значительно меньше показателей группы сравнения 4 (ССТ). На 10-е сутки в группе 3 (ССТ+ПФ) изменений аутоотрансплантатов не наблюдалось, а в группе 4 (ССТ) они присутствовали у 5 (20%) пациентов.

Хочется отметить, что изменения аутоотрансплантата присутствовали в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ) в 100% случаев, что связано с особенностями приживления свободного соединительнотканного лоскута (Кострюков Д.А., 2008), но степень их выраженности в данных группах носила различный характер. В группе 3, где в комплексе лечения использовалась эмульсия перфторуглерода, изменения аутоотрансплантата носили в основном поверхностный характер (в 65% случаев – 13 человек), в 30% случаев (6 человек) произошел некроз края лоскута, обращенного к зубному ряду, и лишь в одном случае (5%) произошел некроз части соединительнотканного аутоотрансплантата. В группе 4, где соединения перфторуглеродов не использовались, наблюдалась иная картина. Лишь в 25% случаев (5 человек) изменения аутоотрансплантата носили поверхностный характер, а у большинства пациентов (70%, 14 человек) некротизировался край лоскута, обращенный к зубному ряду. В одном случае (5%) в группе 4 (ССТ) произошел некроз части соединительнотканного лоскута. Случаев полного некроза соединительнотканного аутоотрансплантата в обеих группах (3 и 4) зарегистрировано не было.

Степень выраженности некротических изменений свободного соединительнотканного аутоотрансплантата играет значительную роль при его использовании с целью устранения десневой рецессии, так как при некрозе видимой части трансплантата уменьшается площадь перекрытия корня зуба.

Изменения концентрации лактоферрина на этапах лечения представлены в таблице 1.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что динамика показателя концентрации лактоферрина в ротовой жидкости достоверно отличалась между группами, в то время как внутри групп достоверных отличий выявлено не было (рис. 3).

Повышение концентрации лактоферрина отмечалось уже сразу после оперативного вмешательства, на следующие сутки после операции значения показателя в группах 1 (СДТ+ПФ) и 2 (СДТ) достигали максимума в динамике и

составили $7353,685 \pm 568,581$ пг/мл и $6233,686 \pm 500,381$ пг/мл соответственно, при этом показатель группы 1 (СДТ+ПФ) составил 117,97% по отношению к аналогичному показателю группы сравнения 2 (СДТ). На 3-, 5-, 7-е сутки концентрация лактоферрина в ротовой жидкости уменьшалась, составив в данные сроки $5365,923 \pm 531,469$ пг/мл, $4645,145 \pm 460,440$ пг/мл, $4305,386 \pm 447,706$ пг/мл соответственно в группе 1 (СДТ+ПФ) и $6311,287 \pm 507,157$ пг/мл, $6154,687 \pm 639,329$ пг/мл, $5882,687 \pm 657,374$ пг/мл в группе сравнения 2. Отмечено, что показатель концентрации лактоферрина был достоверно ниже в группе 1 (с применением эмульсии перфторуглерода в послеоперационном периоде), чем показатели группы 2, на 31,64% (3-и сутки), на 50,53% (5-е сутки), на 52,79% (7-е сутки).

Динамика концентрации лактоферрина в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ) представлена на рис. 4.

Динамика показателя концентрации лактоферрина при оперативном лечении с помощью соединительнотканного трансплантата в группах 3 и 4 была аналогична последней при использовании свободного десневого лоскута (показатели достоверно отличались на всех этапах наблюдения) между группами 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ).

Снижение уровня лактоферрина в более ранние сроки в группе с применением перфторуглеродных соединений свидетельствует об окончании острой фазы воспалительной реакции и начале восстановительных процессов, поскольку более обширные повреждения тканей сопровождаются повышенной концентрацией лактоферрина, возникает активная дегрануляция нейтрофилов под влиянием бактериальных эндотоксинов, пирогенов и нарастающего отека тканей [7, 8].

В то же время, хочется обратить внимание на тот факт, что показатели концентрации лактоферрина были несколько ниже при оперативном лечении с использованием ССТ (3 и 4 группы), по сравнению с трансплантацией СДТ, несмотря на то, что достоверных отличий нами не выявлено. Это можно объяснить меньшей площадью раневой поверхности (в основном за счет донорского участка) и характером раны (рана практически закрыта) при использовании ССТ, вслед-

ствие чего можно ожидать менее выраженной воспалительной реакции.

ТАБЛИЦА 2.

Средние значения основных показателей функциональной активности оральных нейтрофилов у пациентов на 5 сутки после оперативного лечения

	Контроль	1-я группа (СДТ+ПФ)	2-я группа (СДТ)	3-я группа (ССТ+ПФ)	4-я группа (ССТ)
ЛКБ (усл.ед.)	2,51±0,02	2,38±0,03*	2,35±0,04*	2,44±0,02*	2,42±0,02*

Примечание: * - статистически достоверно по сравнению с показателями контроля ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 3.

Показатели активности лизосомальных катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах ротовой полости (5-е сутки наблюдения)

Группы наблюдения	НГ ротовой полости % активных клеток		
	1	2	3
Контроль	0	20,1±1,7	81,9±1,7
Воспалительная реакция при гингивопластике с использованием аутоотрансплантатов	2,3±1,1*	18,8±2,24	80,1±2,69

Примечание: * - статистически достоверно по сравнению с показателями контроля ($p < 0,05$); 1 - низкоактивные клетки; 2 - среднеактивные клетки; 3 - высокореактивные клетки.

Поскольку лактоферрин имеет свойства связываться с микроорганизмами через железо и при этом инактивироваться, имеет значение процентное соотношение нейтрофильных гранулоцитов, содержащих активные фракции ЛФ. Содержание ЛКБ в лизосомально-катионном тесте и является косвенным отражением ферментативной активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) в очаге воспаления.

Данные количественных показателей фракций ЛКБ, выраженных в условных единицах, представлены в таблице 2.

Из таблицы видно, что у больных средние показатели ЛКБ в оральных нейтрофилах были достоверно несколько ниже, чем в контрольной группе – соответственно $2,38 \pm 0,03$ усл. ед. и $2,35 \pm 0,04$ усл. ед. в группах 1 (СДТ+ПФ) и 2 (СДТ) и $2,44 \pm 0,02$ усл. ед. и $2,42 \pm 0,02$ усл. ед. в группах 3 (ССТ+ПФ) и 4 (ССТ).

ТАБЛИЦА 1.

Динамика уровня лактоферрина в ротовой жидкости на этапах послеоперационного наблюдения

Показатель лактоферрина \ Сроки лечения	Контроль	До лечения	После операции	1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки
1-я группа (СДТ+ПФ)							
Среднее значение, пг/мл	2987,755±323,178	2820,394±251,843	6479,340±508,060	7353,685±568,581	5365,923±531,469 ²	4645,145±460,440	4305,386±447,706 ²³
% от контроля	100%	94,40%	216,86%	246,13%	179,60%	155,47%	144,10%
2-я группа (СДТ)							
Среднее значение, пг/мл	2987,755±323,178	2564,368±282,574	5880,685±569,709	6233,686±500,387*	6311,287±507,157*	6154,687±639,329*	5882,687±657,374*
% от контроля	100%	85,83%	196,83%	208,64%	211,24%	206,00%	196,89%
3-я группа (ССТ+ПФ)							
Среднее значение, пг/мл	2987,755±323,178	2693,485±209,835	5783,284±507,082 ²³⁴	6822,584±497,747 ¹³⁴	4803,865±412,756 ¹²	4082,173±476,922 ¹²	3562,685±510,884 ¹²³
% к контролю	100%	90,15%	193,57%	228,35%	160,79%	136,63%	119,24%
4-я группа (ССТ)							
Среднее значение, пг/мл	2987,755±323,178	2433,984±285,124	5313,584±591,004 [@]	5596,385±544,155 [@]	5738,586±502,093 [@]	4995,685±410,336 [@]	4618,485±408,290 ^{@23}
% от контроля	100%	81,47%	177,85%	187,31%	192,07%	167,21%	154,58%

Примечания: * - достоверно отличается от аналогичного показателя 1-й группы (СДТ+ПФ), @ - достоверно отличается от аналогичного показателя 3-й группы (ССТ+ПФ), 1 - достоверно отличается от показателя непосредственно после операции, 2 - достоверно отличается от показателя на 1-е сутки после операции, 3 - достоверно отличается от показателя на 3-и сутки после операции, 4 - достоверно отличается от показателя на 5-е сутки после операции, 5 - достоверно отличается от показателя на 7-е сутки после операции.



На основании анализа полученных результатов было выявлено снижение числа высокореактивных клеток в ротовой полости на высоте воспалительной реакции в полости рта (таблица 3). Уровень ЛКБ зависит от варианта реактивности организма, а также тесно связан с площадью раневой поверхности, распространенностью воспалительной реакции. Снижение уровня СЦК оральных НГ на фоне воспалительной реакции и наблюдение в препаратах оральных нейтрофилов внеклеточно расположенных катионных белков может свидетельствовать о наличии в популяции оральных НГ «старых», уже отработавших (декатионизированных) клеток, использовавших содержимое гранул для уничтожения бактерий [9, 10].

Заключение. Таким образом, нами были зарегистрированы особенности динамики уровня лактоферрина ротовой жидкости при различных вариантах клинического течения местного раневого процесса в полости рта при гингивопластике свободными десневыми и соединительнотканым ауто-трансплантатами. Использование представленного параметра в качестве диагностического критерия возможно и целесообразно не только при оценке эффективности проводимых различных лечебных мероприятий, но и как прогностического теста, позволяющего на ранних этапах зафиксировать возможность развития местных воспалительных осложнений, что позволит своевременно назначить адекватные профилактические мероприятия.



ЛИТЕРАТУРА

1. Базикян Э.А. Принципы прогнозирования и профилактики осложнений при дентальной имплантации (клинико-лабораторные исследования): Автореф. дис. докт. мед. наук. М. 2001. 34 с.
2. Branemark P.I. Microvascular function at reduced flow rates. *J Tissue Viability*. 2006. Aug. № 16 (3). P. 16-8.
3. Гильямирова Ф.Н., Радомская В.М., Бабичев А.В. Ключевые механизмы повреждения и адаптации в организме при многофакторном влиянии экотоксикантов. *Вопросы мед. химии*. 2007. № 4. С. 344-347.
4. Дурново Е.А. Диагностика и лечение больных с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области с учётом состояния неспецифической и иммунологической резистентности организма. Дисс. ... д.м.н. М. 2003. 297 с.
5. Дурново Е.А., Артифесова А.А., Орлинская Н.Ю., Фурман И.В. Морфологические критерии эффективности лечения больных с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области. *Стоматология*. 2003. № 3. С. 12-14.
6. Майбородин И.В., Колесников И.С., Шеплев Б.В., Рашмова Т.М., Ковынцев А.Н., Ковынцев Д.Н., Шевела А.И. Морфология прилежащих тканей десны после дентальной имплантации с применением препаратов фибрина. *Стоматология*. 2009. № 88. С. 9-13.
7. Дурново Е.А., Фурман И.В. Влияние перфторана на свёртываемость крови при комплексном лечении острых гнойных заболеваний челюстно-лицевой области. *Нижегородский медицинский журнал*. 2003. № 1. С. 85-87.
8. Кузнецова И.Н. Влияние эмульсии перфторуглеродов на реологические параметры крови. *Биофизика*. 2001. Т. 46. Вып. 4. С. 761-764.
9. Дурново Е. А. Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области: диагностика и лечение с учетом иммунореактивности организма. Монография. 2007.
10. Богданова Л.Е., Маевский Е.И., Сенина Р.Я., Пушкин С.Ю. и др. Краткий обзор клинического применения перфторана. *Пушино*. 2008. С. 30-36.