

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛОНГИДАЗЫ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ

© Блеканова В.А., Конопля А.И., Гаврилюк В.П.

Кафедра биологической химии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: wvas@mail.ru

Целью исследования явилось установление изменений физико-химических свойств эритроцитов у пациентов с обострением хронического генерализованного пародонтита и разработка эффективных способов фармакологического воздействия на данные нарушения. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом установлены изменения представительности белков и липидов в мембране красных клеток крови, направленных на уменьшение прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны, повышение общей сорбционной способности эритроцитов и их гликокаликса и снижение их метаболической активности. Использование лонгидазы как отдельно, а тем более в сочетании с диквертином и фосфогливом у больных хроническим генерализованным пародонтитом более эффективно, чем традиционная фармакотерапия корригирует нарушенные показатели физико-химических свойств эритроцитарной мембраны.

Ключевые слова: хронический генерализованный пародонтит, лонгидаза, эритроциты, белки, липиды.

USE OF LONGIDAZA FOR CORRECTING DISTURBANCES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS

Blekanova V.A., Konoplya A.I., Gavrilyuk V.P.

Biochemistry Department of Kursk State Medical University, Kursk

The research objective was the establishment of changes in physical and chemical properties of erythrocytes in patients with an exacerbation of chronic generalised periodontitis and the development of the effective ways of pharmacological influence on the given disturbances. In patients with chronic generalised periodontitis the changes in representativeness of fibers and lipids in the red blood cells membrane directed at reducing the durability and deformability of an erythrocyte membrane, increasing the sorption abilities of erythrocytes and depression of their metabolic activity have been established. The use of longidaza both separately and in a combination with Dicvertinum and Phosphogliv in patients with chronic generalised periodontitis more effectively, than the standard pharmacotherapy, normalizes the broken indicators of physical and chemical properties of an erythrocyte membrane.

Keywords: chronic generalised periodontitis, longidaza, erythrocytes, fibers, lipids.

Воспалительные заболевания пародонта необходимо рассматривать как системный процесс, протекающий на фоне местных и общих нарушений иммунной защиты и иммунопатологических процессов [1]. Иммунологические исследования показали существенные изменения адаптивного и врожденного иммунитета при хроническом генерализованном пародонтите [2, 9].

В связи с этим неоднократно осуществлялись попытки включения в комплексное лечение заболеваний пародонта препаратов иммуномодуляторов. Применение препаратов, обладающих иммуномодулирующим и антиоксидантным действием, вероятно, позволит повысить эффективность лечения, снизить частоту рецидивов у данной категории пациентов [4, 8].

Мембрана эритроцита играет ключевую роль в детерминации гомеостаза и функциональной способности клеток и тканей не только пародонта, но и иммунокомпетентных клеток [5, 8]. От физико-химического состояния эритроцитарной

мембраны зависят процесс активного транспорта ионов, особенности функционирования мембран-ассоциированных ферментов, характер взаимодействия клетки со средой, тогда как организация мембраны красных клеток крови напрямую зависит от представительности в ней белков и липидов [3, 5].

Целью исследования явилось установление изменений представительности белков и липидов в мембране эритроцитов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом; разработка способов фармакологического воздействия на нарушенные структурно-функциональных свойства эритроцитов с использованием «Лонгидазы».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под постоянным наблюдением находились 66 пациентов с обострением хронического генерализованного пародонтита (ХГП). Критериями вклю-

чения в исследование были: возраст от 20 до 50 лет, верифицированный диагноз хронический генерализованный пародонтит, пациенты, не получавшие ранее специализированной помощи по поводу исследуемых патологий, наличие сопутствующих заболеваний в стадии ремиссии, переносимость использованных в исследовании фармакологических препаратов, письменное согласие на участие в проводимых исследованиях.

Все обследованные получали традиционное лечение (включавшее профессиональную гигиену полости рта, противовоспалительную терапию растворами антисептиков, открытый или закрытый кюретаж или лоскутные операции, коррекцию окклюзии, коррекцию аномалий прикрепления мягких тканей, шинирование).

При этом 19 больных ХГП дополнительно к традиционному лечению получали лонгидазу (3000 МЕ внутримышечно через 48 часов № 5), а 22 пациента дополнительно к «Лонгидазе» получали «Диквертин» (40 мг внутрь через 4 часа № 40) и «Фосфоглив» (2 капс. внутрь через 6 часов № 30).

Лабораторные методы исследования крови проводились по общепринятым методикам при первичном обращении и через 14 суток. В качестве контроля исследовали кровь пациентов, не страдающих воспалительными заболеваниями пародонта.

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу E. Beutler [12]. Определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [11] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [10]. О функциональном состоянии эритроцитов судили также по накоплению малонового диальдегида (МДА) [11].

Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [13]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [15]. Белки окрашивали кумаси голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [14]. Липиды выделяли методом тонкослойной хроматографии [6].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных ХГП при первичном обращении в мембране красных клеток крови выявлены изменения представительности белков: снижение уровня β -спектрина, анионтранспортного белка, белка полосы 4.5 и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, но повышение представи-

тельности белка полосы 4.1, паллидина, дематина, актина, тропомиозина (табл. 1). Выявленные изменения приводили к повышению ССЭ и уровня внутри клеток МДА (табл. 1).

На фоне традиционного лечения у пациентов с ХГП в мембране красных клеток крови нормализовался уровень β -спектрина, анионтранспортного белка, белка полосы 4.5, тропомиозина, что снизило до уровня нормы общую сорбционную способность эритроцитов (табл. 1).

В настоящее время хронический генерализованный пародонтит занимает одно из ведущих мест в патологии полости рта, при этом наблюдается значительный рост частоты заболеваемости среди населения [1]. Воспалительные заболевания пародонта необходимо рассматривать как системный процесс, протекающий на фоне местных и общих нарушений метаболического и иммунного статусов [2]. В связи с этим неоднократно осуществлялись попытки включения в комплексное лечение заболеваний пародонта препаратов иммуномодуляторов. Применение препаратов, обладающих иммуномодулирующим, антиоксидантным и мембранопротективным действием, вероятно, позволит повысить эффективность лечения, снизить частоту рецидивов. Среди отечественных препаратов, обладающих данными свойствами, можно выделить «Лонгидазу». Известно, что он оказывает активирующее действие на специфическую резистентность организма, фагоцитоз, гуморальный и клеточный иммунитет, тогда как его мембранопротективный эффект в настоящее время изучен недостаточно, кроме этого интересным является эффективность использования иммуномодуляторов в комплексе с антиоксидантами и мембранопротекторами, при этом в качестве первого нами был взят «Диквертин», а в качестве второго – «Фосфоглив».

После использования «Лонгидазы» в эритроцитарной мембране у пациентов с ХГП повышалась представительность паллидина, тропомиозина, снижалась, но не до уровня нормы, представительность дематина, тогда как использование «Лонгидазы», «Диквертина» и «Фосфоглива» позволило дополнительно нормализовать в мембране эритроцитов уровень паллидина, актина, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, тропомиозина, что нормализовало общую сорбционную способность эритроцитов, их гликокаликса и концентрацию внутри клеток МДА (табл. 1).

Кроме этого, у больных ХГП при обследовании до лечения в мембране эритроцитов выявлены изменения представительности липидного спектра. Так, при поступлении в эритроцитарной мембране данной категории пациентов повышена представительность холестерина, свободных жирных кислот, триглицеридов, лизофосфати-

Представительность белков в мембране эритроцитов и их сорбционные свойства у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом ($M \pm m$)

Показатели	1	2	3	4	5
	Здоровые	Больных ХГП			
		До лечения	После СЛ	После СЛ + «Лонгидаза»	После СЛ + «Лонгидаза» + «Диквертин» + «Фосфоглив»
α -Спектрин, мг%	114,3 \pm 4,01	112,3 \pm 3,48	114,9 \pm 6,8	127,8 \pm 11,6	126,3 \pm 13,7
β -Спектрин, мг%	106,6 \pm 5,2	91,6 \pm 2,67 ^{*1}	100,6 \pm 4,1 ^{*2}	103,2 \pm 11,3 ^{*2}	122,3 \pm 13,2 ^{*1,4}
Анкирин, мг%	113,3 \pm 3,02	121,1 \pm 6,13	118,6 \pm 3,69	120,6 \pm 11,4	108,7 \pm 12,3
Анионтранспортный белок, мг%	189,6 \pm 7,45	166,6 \pm 7,6 ^{*1}	187,7 \pm 8,61 ^{*2}	176,9 \pm 20,6 ^{*2}	185,6 \pm 17,8 ^{*2}
4.1, мг%	43,3 \pm 4,13	51,8 \pm 3,8 ^{*1}	51,8 \pm 3,31 ^{*1}	52,1 \pm 4,8 ^{*1}	50,4 \pm 2,9 ^{*1}
Паллидин, мг%	56,6 \pm 3,1	64,1 \pm 2,23 ^{*1}	62,2 \pm 2,47 ^{*1}	74,5 \pm 6,5 ^{*1,3}	55,2 \pm 4,6 ^{*2,4}
4.5, мг%	98,2 \pm 4,4	84,9 \pm 3,6 ^{*1}	100,2 \pm 7,2 ^{*2}	108,11 \pm 9,7 ^{*2}	81,72 \pm 7,2 ^{*1,3,4}
Дематин, мг%	20,1 \pm 2,12	35,4 \pm 2,54 ^{*1}	34,7 \pm 2,7 ^{*1}	28,6 \pm 3,1 ^{*1,3}	28,2 \pm 2,1 ^{*1,3}
Актин, мг%	102,1 \pm 5,24	125,1 \pm 7,8 ^{*1}	118,6 \pm 5,7 ^{*1}	117,2 \pm 11,3 ^{*1}	89,8 \pm 7,4 ^{*2,4}
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, мг%	37,8 \pm 2,1	31,3 \pm 2,42 ^{*1}	34,5 \pm 2,6	35,6 \pm 4,2	31,5 \pm 1,8 ^{*2,4}
Тропомииозин, мг%	68,8 \pm 4,63	82,3 \pm 3,71 ^{*1}	72,3 \pm 3,91 ^{*2}	91,4 \pm 8,5 ^{*1,3}	73,8 \pm 6,9 ^{*2,4}
Глутатион-S-трансфераза, мг%	49,3 \pm 3,12	46,6 \pm 2,33	55,9 \pm 3,8 ^{*2}	50,2 \pm 4,3 ^{*2}	48,5 \pm 3,1 ^{*2}
СЕГ, 10 ⁻¹² г/эр.	1,42 \pm 0,11	1,68 \pm 0,21	1,82 \pm 0,19 ^{*1}	1,78 \pm 0,24 ^{*1}	1,27 \pm 0,18 ^{*2,4}
ССЭ, %	32,8 \pm 1,23	38,5 \pm 1,48 ^{*1}	32,1 \pm 1,7 ^{*2}	38,9 \pm 2,9 ^{*1,3}	33,3 \pm 2,8 ^{*2,4}
МДА, нмоль * 10 ⁶ эр.	3,54 \pm 0,15	5,59 \pm 0,35 ^{*1}	5,42 \pm 0,45 ^{*1}	5,08 \pm 0,47 ^{*1}	3,72 \pm 0,24 ^{*2,4}

Примечание: звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Таблица 2

Представительность липидов в мембране эритроцитов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом ($M \pm m$)

Показатели	1	2	3	4	5
	Здоровые	Больных ХГП			
		До лечения	После СЛ	После СЛ + «Лонгидаза»	После СЛ + «Лонгидаза» + «Диквертин» + «Фосфоглив»
Холестерин, мг%	47,0 \pm 1,38	52,3 \pm 2,2 ^{*1}	51,3 \pm 1,72 ^{*1}	45,3 \pm 0,55 ^{*2,3}	47,5 \pm 1,4 ^{*2,3}
Эфиры холестерина, мг%	46,2 \pm 1,62	41,5 \pm 2,53 ^{*1}	44,5 \pm 2,3	51,2 \pm 2,1 ^{*1,3}	45,5 \pm 1,3 ^{*4}
Свободные жирные кислоты, мг%	2,98 \pm 0,1	3,33 \pm 0,15 ^{*1}	3,64 \pm 0,17 ^{*1}	3,45 \pm 0,05 ^{*1}	2,7 \pm 0,2 ^{*2,4}
Моно и диглицериды, мг%	9,6 \pm 0,49	10,2 \pm 0,37	9,3 \pm 0,21	9,4 \pm 0,5	9,1 \pm 1,0
Триглицериды, мг%	14,5 \pm 0,67	16,6 \pm 0,87 ^{*1}	16,7 \pm 0,19 ^{*1}	17,5 \pm 1,25 ^{*1}	12,1 \pm 1,8 ^{*2,4}
Фосфатидилхолин, мг%	23,1 \pm 0,71	20,1 \pm 0,86 ^{*1}	19,9 \pm 1,19 ^{*1}	19,8 \pm 1,65 ^{*1}	25,3 \pm 1,92 ^{*2,4}
Фосфатидилэтаноламин, мг%	23,5 \pm 0,97	19,7 \pm 0,86 ^{*1}	20,2 \pm 1,48 ^{*1}	21,7 \pm 1,04 ^{*1}	24,9 \pm 0,65 ^{*2,4}
Лизофосфатидилхолин, мг%	5,4 \pm 0,17	6,02 \pm 0,1 ^{*1}	5,0 \pm 0,12 ^{*1,2}	4,8 \pm 0,1 ^{*1,2}	5,2 \pm 0,1 ^{*2,4}
Фосфатидилинозитол, мг%	19,7 \pm 0,69	16,7 \pm 0,91 ^{*1}	19,7 \pm 0,43 ^{*2}	19,0 \pm 0,28 ^{*2}	20,0 \pm 0,3 ^{*2}
Сфингомиелин, мг%	11,1 \pm 0,52	9,5 \pm 0,26 ^{*1}	9,92 \pm 0,23 ^{*1}	10,7 \pm 0,8 ^{*2,3}	11,23 \pm 0,25 ^{*2,3}

Примечание: звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

дилхолина и снижение уровня эфиров холестерина, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозитола и сфингомиелина (табл. 2).

На фоне традиционного лечения у пациентов с ХГП в эритроцитарной мембране выявлена нормализация представительности фосфатидилинозитола и снижение ниже уровня нормы представительности лизофосфатидилхолина (табл. 2).

Использование в лечение пациентов с ХГП «Лонгидазы» нормализует в эритроцитарной мембране представительность холестерина, сфингомиелина и повышает представительность эфиров холестерина, тогда как использование помимо «Лонгидазы» еще и «Диквертина» и «Фосфоглива» дополнительно нормализует уровень эфиров холестерина, свободных жирных кислот, триглицеридов, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина (табл. 2).

Нарушения липидного и белкового обмена занимают важное место в развитии хронических воспалительных заболеваний [3, 5]. Основной путь прогрессирования хронических и острых воспалительных заболеваний вне зависимости от этиологического фактора, приводящего к повреждению клеток органов и тканей, – это процессы перекисного окисления липида на местном (локальном) уровне, имеющие место и при пародонтите [1, 4]. Развитию изменений на системном уровне предшествует мембранодеструкция клеток-мишеней (пародонта) и клеток крови, развивающаяся в результате интенсификации процессов липопероксидации и накопления высокоцитотоксичных продуктов перекисного окисления липидов. Гиперактивация процессов пероксидации липидов сопровождается значительным изменением состава и степени окисленности мембранных фосфолипидов, что в конечном итоге приводит к нарушению целостности липидного бислоя клеточных мембран и снижению активности фосфолипидзависимых энзиматических систем [5]. В условиях активного протекания свободнорадикальных процессов, что подтверждается полученными результатами, наиболее резко уменьшается количество фосфолипидов, содержащих в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты. Избирательная делипидизация мембран вызывает увеличение соотношения между содержанием холестерина и фосфолипидов в бислое, что способствует нарушению физико-химических свойств цитомембран, увеличению их микровязкости [3, 4, 5].

Мембрана эритроцита играет ключевую роль в детерминации гомеостаза и функциональной способности клетки. От физико-химического состояния эритроцитарной мембраны зависят процесс активного транспорта ионов, особенности функционирования мембранассоциированных

ферментов, характер взаимодействия клетки со средой.

Выполнение эритроцитом различных функций требует от этой клетки соответствия определенным характеристикам. К ним в первую очередь относится способность к длительному сохранению структурной и функциональной целостности мембраны, способность к сохранению высокой концентрации и функциональной полноценности гемоглобина, поддержанию функционально обоснованного взаимодействия между различными формами гемоглобина и структурами клеточной мембраны, сохранению формы клетки и ее обратимой деформируемости, позволяющей эритроциту быстро перемещаться в сосудистых и межклеточных пространствах и эффективно доставлять клеткам кислород и другие соединения, сохранению структуры эпителиев и их архитектоники, являющихся необходимым условием эффективного взаимодействия с различными клетками организма [3, 5].

Наряду с сохранением стабильности указанных параметров, эритроцит должен быть способен к обратимому изменению их в определенных пределах в постоянно флуктуирующих условиях внешней для этой клетки среды.

Реализация всех указанных особенностей эритроцитов обеспечивается составом и структурой их мембраны и своеобразием протекающих в них биохимических процессов, обеспечивающих целостность клеток и выполнение ими транспортных и регуляторных функций [3].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение традиционного лечения в условиях хронического генерализованного пародонтита не оказывает выраженный корректирующий эффект в отношении белкового и липидного спектров мембран эритроцитов, что необходимо учитывать при разработке способов фармакологической коррекции у пациентов с данной нозологией, тогда как сочетанное использование «Лонгидазы», «Диквертина» и «Фосфоглива» оказывает достаточно выраженный мембранопротективный эффект в условиях хронического генерализованного пародонтита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блашкова С.Л., Макарова Н.А. Применение полиоксидония в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91, № 5. – С. 666-669.
2. Булкина Н.В., Лукина Л.В., Островская Л.Ю. и др. Опыт применения иммунокорректирующей терапии в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // Саратовский научно-

- медицинский журнал. – 2011. – Т. 7, 1 (прил.). – С. 280-281.
3. *Гаврилюк В.П., Конопля А.И., Костин С.В.* Иммунометаболические нарушения у детей с разлитым аппендикулярным перитонитом с различной степенью тяжести // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2010. – № 4. – С. 38-42.
 4. *Григорьян А.С., Грудянов А.И., Рабухина Н.А., Фролова О.А.* Болезни пародонта. – М., 2004. – 320 с.
 5. *Конопля А.И.* Взаимосвязь структуры и функции эритроцитов с иммунным гомеостазом. – Курск: КГМУ, 2008. – 40 с.
 6. *Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И.* Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205-206.
 7. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 243 с.
 8. *Пинегин Б.В., Латышева Т.В.* Иммунодефицитные состояния: возможности применения иммуномодуляторов // Лечащий врач. – 2001. – № 3. – С. 48-50.
 9. *Попова Н.В., Гайдарова Т.А.* Состояние иммунного статуса больных хроническим генерализованным пародонтитом // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 5(75). – С. 146-150.
 10. *Семко Г.А.* Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118.
 11. *Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В.* Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
 12. *Beutler E.* How do red cell enzymes age a new perspective // Brit. J. Haemat. – 1985. – Vol. 61. – P. 377-384.
 13. *Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J.* The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119-130.
 14. *Fairbanks G., Steck T.* Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane // Biochemistry. – 1971. – Vol. 10. – P. 2606-2616.
 15. *Laemli U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227. – P. 680.