

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.314.18-002.4:616.155.34(045)

ТРАНСФОРМАЦИЯ ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ ПОСЛЕ ОДОНТОПРЕПАРИРОВАНИЯ

Ю.Н. Майборода, И.А. Шаповалова, Э.В. Урясьева
Ставропольская государственная медицинская академия

В последние годы прослеживается определенная тенденция к снижению количества исследований и, соответственно, публикаций по клиническому аспекту цитохимии. Не являются исключением и стоматологические заболевания. Наши предыдущие публикации и клинические наблюдения [3, 9] демонстрируют перспективность и преимущества данного метода исследования, несмотря на сложность интерпретации результатов цитохимических показателей. Ценность цитохимических способов исследования определяется их несомненной достоверностью в нозологической и донозологической диагностике патологических состояний, в частности, при заболеваниях пародонта на ранней стадии воспалительного процесса [9, 10]. Изучение закономерностей динамики клеточных и гуморальных факторов иммунитета на фоне различных патологических изменений органов ротовой полости и зубных рядов, обуславливающих последующее применение разнообразных конструкций протезов, имеет важное значение.

Пристальное внимание к патологическим изменениям в пародонтальных тканях способствовало поискам новых способов и приемов исследования. Так, установлено, что полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ) в крови, взятой из пальца и десны больных, обладают сниженной, по сравнению с таковой у здоровых лиц, поглотительной способностью [1, 2, 8]. Наилучшие по информативности показатели состояния ферментных систем лизосом нейтрофилов были определены при получении мазков крови, взятых непосредственно из очага воспаления,

т.е. из пародонтальных карманов [4]. Фагоцитарная активность нейтрофильных лейкоцитов, полученных из жидкости десневых карманов у больных с очаговым или генерализованным пародонтитом легкой степени, оказалась ниже фагоцитарной активности лейкоцитов из десневой борозды здоровых людей. Исследование хемотаксиса показало, что оба варианта пародонтита легкой степени характеризуются ослабленной способностью нейтрофилов к миграции в сторону химического раздражителя. У больных с пародонтитом средней и тяжелой форм эта функция ПМЯЛ была повышена [19], равным образом как и при механическом повреждении во время одонтопрепарирования [1, 5]. Вместе с тем у больных пародонтитом, как правило, отмечается снижение фагоцитарной активности в зоне поражения. Примечательно то, что клиндамицин, эффективный при лечении прогрессирующих форм пародонтита, оказывает выраженное стимулирующее действие на фагоцитоз некоторых штаммов бактерий пародонтальных карманов [16, 17]. Отмечена также высокая эффективность использования доксициклина [18]. Вместе с тем сведения об оценке способности нейтрофилов из очага поражения к поглощению и уничтожению бактерий после одонтопрепарирования опорных зубов в сочетании с закрытым кюретажем пародонтальных карманов на фоне пародонтита различной степени тяжести противоречивы.

Материал и методы. Для выявления функциональной метаболической активности нейтрофилов периферической крови нами изучено содержание катионных белков (КБ), миелопероксидазы (МПО), кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз. Исследованы параллельно иммунологические показатели лейкоцитов. Цифровые показатели с вычислением среднего цитохимического коэффициента (G. Astaldi, L. Verga, 1957) обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту с помощью компьютерной программы statistica 5,0.

Майборода Юрий Николаевич,
кандидат медицинских наук,
доцент кафедры ортопедической стоматологии СтГМА.
Тел.: 89054973057. E-mail: ellya2008@rambler.ru

Цитохимические показатели нейтрофильных лейкоцитов у здоровых и больных пародонтитом

Группы обследованных		Цитохимические показатели нейтрофилов			
		КБ	МПО	КФ	ЩФ
Здоровые		1,83±0,30	1,71±0,37	1,21±0,23	1,36±0,31
1 группа	Пародонтит легкой степени	1,92±0,19 P>0,05	1,23±0,22 P<0,05	1,71±0,05 P<0,05	1,51±0,24 P<0,05
	Пародонтит средней степени	1,32±0,06 P<0,05	2,12±0,67 P<0,05	1,68±0,11 P<0,05	1,54±0,17 P<0,05
2 группа	Пародонтит легкой степени	1,72±0,02 P>0,05	1,64±0,06 P>0,05	0,96±0,02 P<0,05	1,16±0,05 P<0,05
	Пародонтит средней степени	1,49±0,06 P<0,05	1,96±0,08 P>0,05	1,51±0,04 P<0,05	1,53±0,03 P<0,05

P - достоверность по отношению к фоновой активности.

Для оценки влияния доксициклина в комплексном лечении частичных дефектов зубных рядов после одонтопрепарирования на некоторые показатели иммунитета, а также определения динамики изменений ферментных систем лизосом нейтрофилов проведено исследование показателей периферической крови в сравнительном аспекте у больных пародонтитом легкой и средней степеней воспалительно-деструктивного процесса.

Пациенты были распределены на 2 группы: в первой группе (30 человек) были лица с заболеванием пародонта легкой и средней степеней, которым до протезирования и препарирования зубов применяли стандартные методы санации полости рта; пациентам второй группы (22 человека) дополнительно проводили аппликацию в виде местной повязки с доксициклином как до одонтопрепарирования, так и после препарирования твердых тканей опорных зубов. Курс лечения доксициклином в зависимости от стадии воспалительного процесса включал 5-7 процедур. Все больные были в последующем отпротезированы различными конструкциями съемных и несъемных протезов по клиническим показаниям. Контрольную группу составили 8 пациентов с интактным пародонтом. Забор крови из пародонтальных карманов обследуемых производился в момент препарирования, через 1, 3, 7, 15 суток после процедуры одонтопрепарирования. Результаты полуколичественного исследования активности ферментных систем обрабатывали методом вариационной статистики по И.А. Ойвину (1966) с определением средних величин и их ошибок, среднего квадратического отклонения и достоверных различий критерия *t* Стьюдента при уровне статистической значимости различий не более 0,05.

Результаты и обсуждение. У больных первой группы с хроническим пародонтом средней степени содержание КБ в нейтрофильных лейкоцитах было достоверно снижено, активность КФ и ЩФ увеличена. Активность МПО была несколько снижена у лиц с пародонтитом легкой фазы воспалительной реакции и минимальной

активностью на фоне пародонта средней степени тяжести.

Полученные результаты подтверждают мнение о значительном повышении содержания КБ в нейтрофилах лейкоцитов в период обострения заболевания. Снижение содержания катионных белков объясняется стрессорным воздействием во время препарирования. Однократное стрессорное воздействие на ткани приводит к тому, что нейтрофильные гранулоциты микроциркуляторного русла становятся обладателями большого антимикробного потенциала, но их ближайший резерв в костном мозге ослаблен и функционально менее состоятелен.

При поступлении в среду содержащие микробы КБ оказывают на них бактерицидное действие, усиливая тем самым активность нейтрофилов и макрофагов [11, 12]. Существует мнение о декаптонизации гранул как о более раннем морфологическом признаке воспаления, предшествующем дегрануляции нейтрофильных лейкоцитов и усиливающим функциональную активность последних [15]. При этом нами установлена прямая корреляционная взаимосвязь между МПО и КФ в клинической группе больных с пародонтитом средней степени, что связано с более высокой чувствительностью клеток к воспалительному процессу и обусловлено наличием азурофильных гранул, содержащих МПО и КФ, в нейтрофилах.

Анализ результатов биохимических реакций пациентов второй группы показал, что исходный уровень метаболической активности клеток мало отличался, кроме КБ, от соответствующих показателей у пациентов первой группы. В дальнейшем основные изменения среднестатистических параметров мало отличались от показателей в сравнении с пациентами первой группы (табл. 1).

У больных второй группы отмечалась положительная динамика клинических и биохимических показателей, но при этом метаболическая активность нейтрофилов существенно не отличалась от данных контроля и у больных первой группы. Не наступало и нормализации содержания энзи-

Иммунологические показатели у пациентов с пародонтитом до и после препарирования

Группа больных	Показатель	До препарирования	После препарирования			
			1 сутки	3 сутки	7 сутки	15 сутки
1-я	IgG, г/л	11,1±0,4	11,7±0,4 P>0,05	12,4±0,7 P<0,05	8,01±1,67 P<0,05	10,1±0,8 P>0,05
	IgA, г/л	2,6±0,2	1,7±0,6 P<0,05	1,4±0,8 P<0,05	1,8±0,2 P<0,05	1,92±0,7 P<0,05
	T-лимфоциты, %	20,3±2,4	49,4±1,91	46,7±2,01	48,9±1,3	47,8±1,12
2-я	IgG, г/л	10,2±0,94	9,1±0,41 P<0,05	9,4±0,72 P<0,05	10,7±0,97 P>0,05	10,7±0,97 P>0,05
	IgA, г/л	3,62±0,15	3,25±0,18 P>0,05	2,05±0,11 P<0,05	1,35±0,12 P<0,05	2,05±0,16 P<0,05
	T-лимфоциты, %	59,7±1,73	51,3±1,71	48,3±1,24	49,9±1,31	50,8±1,52

P – достоверность в сравнении с данными до одонтопрепарирования.

мов и биологически активных веществ после лечения пародонтита средней степени тяжести.

У больных с пародонтитом легкой степени в процессе лечения не отмечалось нарастания показателей КБ и МПО, что свидетельствовало о сохранении уровня функционально-метаболической активности нейтрофилов. Имело место также снижение (не до нормы) активности КФ и ЩФ, косвенно указывающее на стихание воспалительного процесса ($P>0,05$).

Не исключено, что указанные изменения связаны с гиперактивностью нейтрофила и обусловлены действием антибиотиков, лечебный эффект которых во многом обусловлен способностью подавлять фагоцитарные реакции – патогенетическую основу любого воспалительного процесса [14]. Другим возможным объяснением выявленных изменений является то, что в очагах воспаления, где нейтрофилы испытывают действие экзогенных и эндогенных факторов, период их гиперактивности еще более короткий. Мигрируя в ткани, нейтрофилы подвергаются воздействию со стороны эндотелиальных клеток и, оказавшись за пределами сосудистого русла, испытывают влияние факторов новой для себя микросреды. Это не остается без последствий для функционального состояния клеток, включая склонность к спонтанному апоптозу и гиперчувствительность к апоптогенным и антиапоптозным стимулам [13]. Применение закрытого юретажа любой разновидности в практике ортопедической стоматологии вызывает дополнительную травму мягких тканей маргинальной части десны, что выводит нейтрофил на новый уровень реактивности.

Сдвиг метаболической активности нейтрофилов в совокупности с динамикой цитохимических показателей в процессе лечения указывает на возможность формирования ремиссии. Однако судить о стойкости ремиссии и прогнозе в целом представляется затруднительным, особенно у больных с пародонтитом средней степени тяжести воспалительного процесса. Значитель-

ный разброс показателей метаболизма клеток на этапе ремиссии свидетельствует о продолжении воспаления в скрытой его фазе, хотя видимые клинические признаки этого отсутствуют.

В различные сроки (1-15 сутки) у пациентов первой группы, кроме изменений цитохимических показателей, количества гранулоцитов и лимфоцитов и их соотношения, отмечалось увеличение числа лейкоцитов в крови, что подтверждает активацию неспецифических факторов защиты. Величина соотношения нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов соответствовала состоянию их «первичной активации» [6]. Из иммунологических показателей в ходе лечения установлено достоверное увеличение концентрации IgG в сыворотке крови больных и достоверное снижение показателя относительного содержания Т-лимфоцитов ($P<0,01$), которое в значительной мере зависело от тяжести процесса (табл. 2).

Обращает внимание, что содержание в сыворотке крови IgG значительно снижается на 7 сутки после препарирования и связано, по-видимому, со снижением синтеза. К 15 суткам уровень IgG в крови возрастал. В образцах крови, полученных из микроциркуляторного русла десны больных пародонтитом, уровень IgG был выше, чем в периферической крови этих же пациентов, что указывает на системное и локальное поступление в очаг воспаления иммуноглобулина, возможно, вследствие бактериальной эндотоксемии.

Короткий период наблюдений иммунологического статуса позволяет лишь в общих чертах констатировать изменения показателей в зоне поражения.

При оценке показателей иммунной системы больных второй группы выявлено некоторое снижение уровня Т-лимфоцитов, иммуноглобулинов G и A с последующим незначительным повышением показателей клеточного и гуморального иммунитета. Лабораторные показатели не коррелировали с клиническим эффектом лечения. Необходимо отметить, что данные об уровне секреторного IgA в слюне больных пародонтитом

достаточно противоречивы [7].

Заключение. Результаты сравнения клинико-иммунологических и, особенно, цитохимических показателей в исследованных группах больных указывают на невысокую эффективность применения стандартных методических подходов в лечении хронического генерализованного пародонтита. Использование только одного антибиотика на примере доксициклина в качестве лечебного средства в составе пародонтальных повязок показало низкую эффективность подавления микрофлоры в пародонтальных карманах. Поэтому выбор терапевтических средств в комплексе должен базироваться на необходимости решения не только проблемы иммунокоррекции для восстановления внутриклеточного метаболизма, но и трансмембранного транспорта и межклеточного взаимодействия для подавления патогенной микрофлоры.

Результаты цитохимического анализа нейтрофильных гранулоцитов периферической крови могут, кроме того, служить методом детекции воспалительного процесса в скрытой фазе течения и прогнозировать исход заболевания.

Литература

- Аксенов, И.Н. Динамика клинико-цитохимического течения воспалительно-регенеративных процессов в пародонте опорных зубов / И.Н. Аксенов, И.А. Шаповалова // Лечение кариеса и его осложнений: сб. науч. тр. СГМА. - Ставрополь, 1994. - С. 10-13.
- Аксенов, И.Н. Цитохимический анализ воспалительно-регенеративных процессов в пародонте при пользовании цельнолитыми конструкциями / И.Н. Аксенов, Е.А. Брагин, Ю.Н. Майборода [и др.] // Профилактика и лечение основных стоматологических заболеваний. - Ижевск, 1995. - С. 79-81.
- Аксенов, И.Н. Реакция тканей десневого желобка на цельнолитые облицованные конструкции по данным цитоэнзимохимии / И.Н. Аксенов, Ю.Н. Майборода, Е.А. Брагин [и др.] // Сб. науч. тр. СГМА. - Ставрополь, 1997. - С. 63-65.
- Аксенов, И.Н. Цитохимическое исследование влияния цельнолитых конструкций зубных протезов на ткани пародонта / И.Н. Аксенов, Ю.Н. Майборода // Материалы юбилейной науч. конф., посвящ. 90-летию со дня рожд. проф. М.С. Макарова. - Ставрополь, 1998. - С. 29-31.
- Белая, Е.А. Морфология пульпы зуба и тканей пародонта после одонтопрепарирования / Е.А. Белая, Ю.Н. Майборода, И.Н. Аксенов // Актуал. вопр. ортопедической стоматологии, посвящ. 45-летию каф. ортопедической стоматологии СГМА. - Ставрополь, 2005. - С. 4-10.
- Гаркави, Л.Х. Роль адаптационных реакций в патологических процессах и простые критерии этих реакций у людей / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова // Регуляция энергетического обмена и устойчивость организма. - Пушкино, 1975. - С. 172-182.
- Жяконис, Й.М. Иммунологические аспекты гингивита и пародонтита: Автореф. дис. д-ра мед. наук / Й.М. Жяконис. - М., 1986. - 44 с.
- Иванюшко, Т.П. Регуляция лимфокинами фагоцитарной активности нейтрофилов у больных с воспалительными заболеваниями пародонта / Т.П. Иванюшко, Т.Б. Баярт, Л.В. Ковалечук [и др.] // Стоматология. - 1989. - №6. - С. 51-52.
- Майборода, Ю.Н. Некоторые патогенетические механизмы в течении воспалительных процессов в пародонте / Ю.Н. Майборода; И.Н. Аксенов, Е.Н. Брагин // Сб. науч. тр. СГМА. - Ставрополь, 1997. - С. 58-61.
- Майборода, Ю.Н. Состояние тканей маргинальной части десны на воздействие несъемных конструкций зубных протезов по цитоэнзимохимическим показателям / Ю.Н. Майборода, И.Н. Аксенов, И.А. Шаповалова // Здоровье и болезнь как состояние человека: сб. науч. тр. СГМА. - Ставрополь, 2000. - С. 503-508.
- Мазинг, Ю.А. Функциональная морфология катионных белков лизосом нейтрофильных гранулоцитов / Ю.А. Мазинг // Вопр. мед. химии. - 1990. - №6. - С. 8-10.
- Маянский, А.Н. Кондиционирование нейтрофила / А.Н. Маянский // Успехи соврем. биологии. - 1990. - Т. 109, вып. 1. - С. 90-105.
- Маянский, А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. - Казань, 1993. - 190 с.
- Маянский, Н.А. Апоптоз экссудативных нейтрофилов человека / Н.А. Маянский, М.И. Заславская, А.Н. Маянский // Иммунология. - 2000. - №2. - С. 11-13.
- Пигаревский, В.Е. Клиническая морфология нейтрофильных гранулоцитов / В.Е. Пигаревский, В.Н. Кокряков, Ю.А. Мазинг. - Л, 1988. - С. 76-86.
- Eick, S. Clindamycin promotes phagocytosis and intracellular killing of periodontopathogenic bacteria by crevicular granulocytes: an in vitro study / S. Eick, W. Pfister, D. Fiedler [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. - 2000. - Vol. 46, №4. - P. 583-588.
- Johansson, A. Anaerobic neutrophil-dependent killing of Actinobacillus actinomycetemcomitans in relation to the bacterial leukotoxicity / A. Johansson, I. Sandstrom, R. Cleasson [et al.] // Eur. J. Oral Sci. - 2000. - Vol. 108, № 2. - P. 136-146.
- Polson, A.M. Multi-center comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. Clinical results / A.M. Polson, S. Garret, N. Stoller [et al.] // J. Periodontol. - 1997. - Vol. 68. - P. 119-126.
- Sigusch, B. Altered chemotactic behavior of crevicular PMNs in different forms of periodontitis / B. Sigusch, S. Eick, W. Pfister

**ТРАНСФОРМАЦИЯ ИММУНОЦИТО
ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙТРОФИЛОВ
ПРИ ПАРОДОНТИТЕ ПОСЛЕ
ОДОНТОПРЕПАРИРОВАНИЯ****Ю.Н. МАЙБОРОДА, И.А. ШАПОВАЛОВА,
Э.В. УРЯСЬЕВА**

Цитоиммунохимическими методами исследования у больных пародонтитом прослежена динамика изменений ферментных систем лизосом нейтрофилов и иммуноглобулинов IgG и IgA периферической крови в ходе комплексного лечения частичных дефектов зубных рядов после одонтопрепарирования. Анализ показал недостаточную эффективность применения стандартных методических приемов в комплексном лечении больных на фоне воспалительно-деструктивных процессов в пародонте. Одонтопрепарирование в сочетании с закрытым кюретажем вызывает дополнительную травму области маргинальной части десны, что выводит лизосомальные системы ПМЯЛ на новый уровень реактивности. Применение только одного антибиотика в составе пародонтальных повязок не вызывает деструктивных изменений в мембранах микробов и слабо подавляет микрофлору в пародонтальных карманах. Показатели иммунологических ферментных систем нейтрофилов достоверно не коррелируют с клиническим эффектом лечения.

Ключевые слова: пародонтит, одонтопрепарирование, ферментные системы нейтрофилов, иммуноглобулины

**TRANSFORMATION OF
IMMUNOCYTOCHEMICAL PARAMETERS OF
NEUTROPHILS IN PARIODONTITIS PATIENTS
AFTER ODONTOPREPARATION****MAIBORODA Y.N., SCHAPOVALOVA I.A.,
URYASYEV E.V.**

Dynamics of lysosomal enzymes systems of peripheral blood neutrophils and immunoglobulins G and A was assessed using cytoimmunochemical method during the period of complex treatment of partial defects of dentitions after odontopreparation. The analysis has revealed insufficient effect of standard treatment approach in complex therapy of patients with inflammatory destrtuctive processes in periodontium. Odontopreparation combined with closed curettage causes additional trauma of gingival marginal resulting in the new level of reactivity of polymorphonuclear leukocytes lysosomal systems. A single antibiotic bandage failure to destruct microbial cell walls and weakly inhibit periodontal microflora. Parameters of immunologic enzymes systems of neutrophils hasn't correlate authentically with clinical effect of treatment.

Key words: periodontitis, odontopreparation, enzymes systems of neutrophils, immunoglobulins