УДК: 616.314.18-002.4-07-08

Саенко Т.С.

СОСТОЯНИЕ ЦИТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИОННОЙ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского»

Анализ показателей цитохимической активности сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы нейтрофилов периферической крови у больных генерализованным пародонтитом I-II степени подтвердил эффективность инъекционного применения остеопластических материалов (на примере PRP и Биомина ГТлС) в комплексном лечении этой патологии. У пациентов в основных группах постинъекционные воспалительные реакции в тканях пародонта стихали в среднем на 3-4 суток быстрее, чем в контрольной. При этом, применение PRP в комбинации с Биомином ГТлС во 2-й основной группе способствовало более быстрому восстановлению анализируемых показателей. Так, уже к 3-м суткам различия уровней СДГ и ЛДГ, в сравнении с исходным, становятся недостоверными (при P>0,05), тогда как в контроле эти различия (при P□0,05) сохраняются до 5-х и даже до 7-х суток. Необходимо отметить, что приведенные сведения коррелировали с результатами клинических наблюдений.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, СДГ, ЛДГ, остеопластические материалы, Биомин ГТлС, PRP, лечение генерализованного пародонтита.

В настоящее время распространенность заболеваний пародонта увеличивается, поэтому проблема повышения эффективности лечения данной патологии сохраняет свою значимость.

В современной хирургической стоматологической практике активно используются остеопластические материалы. Для оптимизации процессов регенерации все чаще применяется обогащенная тромбоцитами плазма крови (PRP) [1, 7]. Она широко используется при проведении остеопластических операций (синус-лифтинг, аугментация альвеолярного отростка), для обработки операционного ложа перед дентальной имплантацией [7]. Доказано, что PRP оказывает выраженное остеоиндуктивное действие. В то же время, известно, что в комплексном лечении генерализованного пародонтита целесообразно использовать остеокондукторы [5], которые позволяют увеличить объем костной ткани. В последнее время на медицинском рынке появились в разнообразии отечественные синтетические остеопластические (остеокондуктивные) препараты. Одним из них является серебросодержащий материал «Биомин ГТлС».

Цель исследования

Уточнить по показателям активности дегидрогеназ нейтрофилов периферической крови характер нарушений анаэробного гликолиза и угнетения окислительных процессов на фоне применения различных методик лечения больных генерализованным пародонтитом.

Материал и методы исследования

Лечение больных проводилось в хирургическом кабинете на базе городской стоматологической поликлиники (г. Симферополя). Анализировали изменения клинических лабораторных показателей в процессе лечения и обследования 60 пациентов обоего пола в возрасте от 25 до 50 лет (20 больных в 1-й основной группе, 20 – во 2-й основной и 20 – в контрольной).

В контрольной группе проводили традиционное комплексное лечение генерализованного пародонтита I - II-й степеней с инъекционным введением экстракта алоэ в мягкие ткани по переходной складке в проекции причинных зубов.

В первой основной группе традиционный способ лечения усиливали инъекционным точечным поднадкостничным и наднадкостничным введением PRP (из расчета 0,3 мл в проекции одного зуба).

Во второй основной группе, наряду с комплексным лечением, проводили инъекционную сочетанную остеопластическую терапияю тканей пародонта PRP и взвесью препарата Биомин ГТлС. Их вводили раздельно, точечно, в ткани пародонта из расчета по 0,3 мл в проекции одного зубного сегмента. Манипуляцию проводили под инфильтрационной анестезией 0,5% раствором Лидокаина.

Известно, что ЛДГ является одним из основных ферментов анаэробного окисления, катализирующих обратимую реакцию превращения пировиноградной кислоты в молочную, а СДГ – важный фермент цикла трикарбоновых кислот Кребса, который участвует в реакции дегидрирования янтарной кислоты в фумаровую [3, 4, 6, 8].

Для изучения активности дегидрогеназ в нейтрофилах крови использовали метод Борисовой М.А. и Овчаренко Н.И. (1975) [3], когда мазки клеток гепаринизированной крови готовят после обработки соответствующими реактивами через час после инкубации. В качестве индикатора ферментного процесса применяли нитротетразолий синий (НСТ), образующий при восстановлении в клетке мелкие гранулы формазана и окрашивающий цитоплазму от серо-дымчатого до интенсивно-синего цвета. В работе использовали тонкие нативные мазки крови, высушенные на воздухе, которые после соответствующей обработки инкубировали в течение 45 мин при темпе-

ратуре 37°С. Ядра клеток докрашивали раствором метилового зеленого. Высушенные мазки микроскопировали с иммерсионным объективом на бинокулярном микроскопе «Биолам» С11. Приготовленные растворы реактивов в соответствующих концентрациях и объемах [3] наносили на мазок в следующей последовательности.

Определение активности ЛДГ. Растворы: цианида натрия, лактата натрия, НСТ, гемодез, никотинамидадениннуклеотида (НАД). Последний готовили непосредственно перед применением. Отложение гранул формазана наблюдалось в местах локализации ЛДГ. Интенсивность окраски варьировала от серо-дымчатого до интенсивного синего цвета. Ядра клеток были хорошо контурированы.

Определение активности СДГ. Растворы: НСТ, сукцината натрия, фосфатного буфера. Отмечалась четкая локализация гранул формазана. Об активности СДГ судили по интенсивности их отложения. Средний цитохимический показатель (СЦП) вычисляли по формуле [2]:

$$\text{СЦП} = \frac{(x_1 \times 1) + (x_2 \times 2) + (x_3 \times 3) + (x_4 \times 4)}{100}$$

, где х – количество клеток из 100 просмотренных нейтрофилов в одном мазке с определенной степенью активности фермента;

1, 2, 3, 4 – степени активности; 100 – число просмотренных нейтрофилов в одном мазке.

При этом выделяли четыре степени активности ($4_{ст}$ – нейтрофил полностью покрыт гранулами формазана; $3_{ст}$ – 3/4 активности; $2_{ст}$ – 1/2 активности и $1_{ст}$ – 1/4 активности).

Результаты и обсуждение

Изучение показателей цитохимической активности ферментов гликолиза до проведения инъекции у представителей всех групп позволило вывести среднее значение их исходного уровня: 1,69 ± 0,07 усл. ед. для СДГ и 2,21 ± 0,11 усл. ед. для ЛДГ. Полученные нами результаты не имели существенных расхождений с нормативными показателями этих энзимов, описанными в литературе [3, 4, 6, 8].

На первые сутки после инъекционной терапии отмечено достоверное снижение СДГ и рост ЛДГ – активности как в основных ($P_1 < 0,05$), так и в контрольной группах ($P_1 < 0,001$) (табл. 1, 2; рис. 1, 2). При этом в 1-й основной группе уровень СДГ достиг 1,39 ± 0,05 усл. ед. (понизился на 17,75%), а показатель ЛДГ составил 2,62 ± 0,12 усл. ед. (возрос на 18,55%). Во 2-й основной группе значение СДГ вышло на уровень 1,42±0,08 усл. ед. (-15,98%), а ЛДГ – 2,55±0,12 усл. ед. (+15,38%). В контроле соответствующие показатели выглядели следующим образом: СДГ – 1,38 ± 0,06 усл. ед. (-18,35%), ЛДГ – 2,78 ± 0,15 усл. ед. (+25,79%). Достоверных межгрупповых различий ($P_2 > 0,05$, $P_3 > 0,05$, $P_4 > 0,05$) на протяжении всего периода наблюдений отмечено не было.

На 3-й день уровень СДГ, в сравнении с 1-ми сутками, незначительно увеличился как в 1-й (до 1,45 ± 0,06 усл. ед.) и 2-й (1,49 ± 0,06 усл. ед.) основных группах, так и в контрольной (до 1,43 ± 0,08 усл. ед.). Показатель ЛДГ в 1-й и 2-й основных группах снизился до 2,58 ± 0,11 усл. ед. (+16,74%) и 2,49 ± 0,11 усл. ед. (+12,67%), соответственно. В контроле – до 2,68 ± 0,13 усл. ед. (+21,26%), при $P_1 < 0,001$. Достоверность различий ($P_1 < 0,05$) в обеих основных группах, в сравнении с исходным уровнем, сохранялась.

Таблица 1

Показатели активности лактатдегидрогеназы (в усл. ед.) в нейтрофилах периферической крови в основных и контрольной группах.

Группы сравнения	Условные обозна-чения	Исходный уровень	Сроки наблюдений (сутки после операции)			
			1-е	3-и	5-е	7-е
1-я основная PRP (n = 20)	M ± m	2,21 ± 0,11	2,62 ± 0,12	2,58 ± 0,11	2,42 ± 0,13	2,33 ± 0,12
	%		+18,55	+16,74	+9,5	+5,43
	P_1		< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05
2-я основная PRP + Биомин ГТлС (n = 20)	M ± m	2,21 ± 0,11	2,55 ± 0,12	2,49 ± 0,11	2,36 ± 0,13	2,28 ± 0,12
	%		+15,38	+12,67	+6,78	+3,16
	P_1		< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
3-я (контрольная) (n = 20)	M ± m	2,21 ± 0,11	2,78 ± 0,15	2,68 ± 0,13	2,56 ± 0,11	2,41 ± 0,14
	%		+25,79	+21,26	+15,83	+9,05
	P_1		< 0,001	< 0,001	< 0,05	> 0,05
	P_3		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_4		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примечания: P_1 – степень достоверности по отношению к исходному уровню;
P_2 – степень достоверности между 1-й и 2-й основными группами;
P_3 – степень достоверности между 1-й основной и контрольной группами;
P_4 – степень достоверности между 2-й основной и контрольной группами.

К 5-м суткам в основных группах эти различия стали недостоверными ($P_1 > 0,05$), что в цифровых значениях выражалось следующим образом: показатели СДГ и ЛДГ в 1-й группе вышли на уровень 1,56 ± 0,07 усл. ед. (-7,69%), и 2,42 ± 0,13 усл. ед. (+9,5%); во второй группе сравнения – 1,57 ± 0,09 усл. ед. (-7,1%) и 2,36 ± 0,13 усл. ед. (+6,78%), соответственно. В контроле достоверность по-прежнему сохранялась значимой ($P_1 < 0,05$): СДГ – 1,49 ± 0,06 усл. ед. (-11,84%), ЛДГ – 2,56±0,11 усл. ед. (+15,83%).

Таблица 2
Показатели активности сукцинатдегидрогеназы (в усл. ед.) в нейтрофилах периферической крови в основных и контрольной группах.

Группы сравнения	Условные обозна-чения	Исходный уровень	Сроки наблюдений (сутки после операции)			
			1-е	3-и	5-е	7-е
1-я основная PRP (n = 20)	M ± m	1,69 ± 0,07	1,39 ± 0,05	1,45 ± 0,06	1,56 ± 0,07	1,61 ± 0,08
	%		-17,75	-14,2	-7,69	-4,74
	P_1		< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05
2-я основная PRP + Биомин ГТлС (n = 20)	M ± m	1,69 ± 0,07	1,42 ± 0,08	1,49 ± 0,06	1,57 ± 0,09	1,63 ± 0,07
	%		-15,98	-11,84	-7,1	-3,56
	P_1		< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_2		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
3-я (контрольная) (n = 20)	M ± m	1,69 ± 0,07	1,38 ± 0,06	1,43 ± 0,08	1,49 ± 0,06	1,54 ± 0,07
	%		-18,35	-15,39	-11,84	-8,88
	P_1		< 0,001	< 0,05	< 0,05	> 0,05
	P_3		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	P_4		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примечания:
P_1 – степень достоверности по отношению к исходному уровню;
P_2 – степень достоверности между 1-й и 2-й основными группами;
P_3 – степень достоверности между 1-й основной и контрольной группами;
P_4 – степень достоверности между 2-й основной и контрольной группами.

Различия в ферментативной картине активности по показателям СДГ и ЛДГ к 7-м суткам в группах сравнения в сопоставлении с показателями 1-х суток постинъекционного периода продемонстрировали большую выраженность (табл. 1, 2; рис. 1, 2). На фоне использования разработанных нами способов лечения в 1-й основной группе показатели СДГ (1,61 ± 0,08 усл. ед.) и ЛДГ (2,33 ± 0,12 усл. ед.) практически приблизились к уровням нормы (различия составили -4,74% и +5,43%, соответственно). Эта динамика активнее проявлялась во 2-й основной группе (СДГ – -5,6%, ЛДГ – +3,16%). В контрольной группе СДГ поднялась до отметки 1,54 ± 0,07 усл. ед. (сохранив дефицит -8,8%), ЛДГ – до 2,41 ± 0,14 усл. ед. (при +9,05%). При этом в группах сравнения разница с исходным уровнем стала недостоверной (P_1 > 0,05).

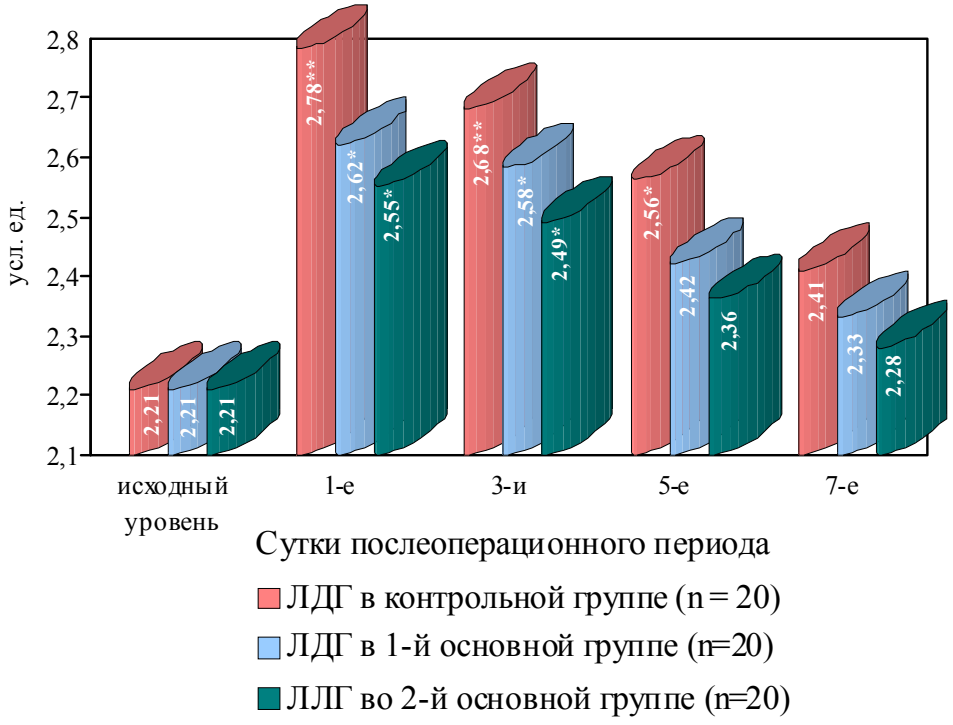

Рис. 1.Показатели протеолитической активности спектра лактатдегидрогеназы нейтрофилов в группах сравнения.
*Примечания: * – достоверность различий в сравнении с контролем, при P_2 < 0,05;*
*** – достоверность различий в сравнении с контролем, при P_2 < 0,001.*

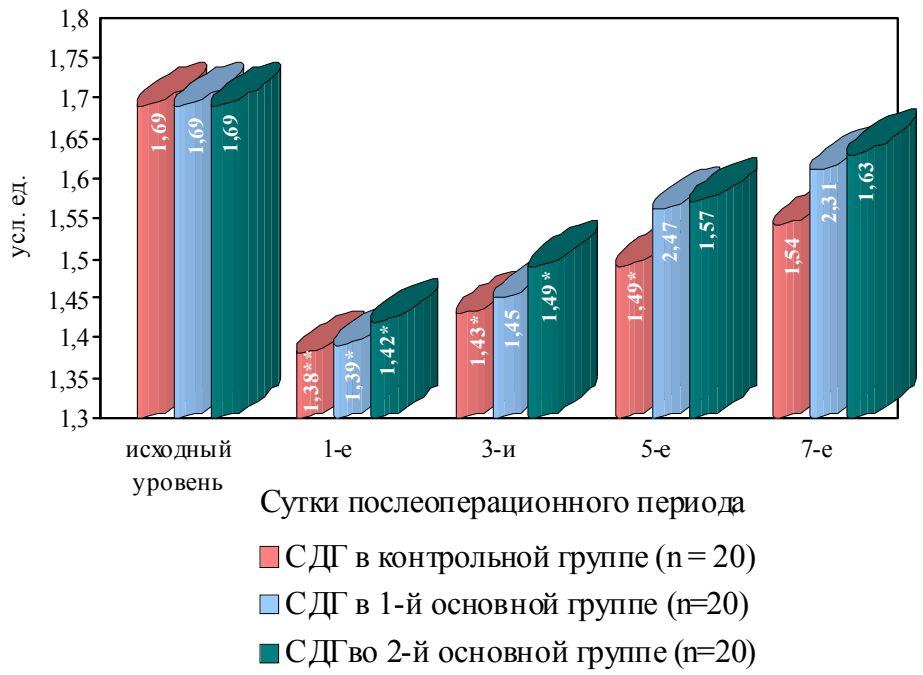

Рис. 2.П Показатели протеолитической активности спектра сукцинатдегидрогеназы нейтрофилов в группах сравнения.

*Примечания: * – достоверность различий в сравнении с контролем, при $P_2 < 0,05$;*
*** – достоверность различий в сравнении с контролем, при $P_2 < 0,001$.*

Таким образом, полученные данные по изучению цитохимической активности дегидрогеназ продемонстрировали свою информативность и могут служить дополнительным диагностическим критерием в оценке течения репаративных процессов в ходе проведения комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита I-II степени тяжести.

Изучение динамики цитохимических показателей активности дегидрогеназ нейтрофилов периферической крови позволило установить выраженное местное противовоспалительное действие использованных нами препаратов: PRP-геля (в 1-й основной группе) и комбинации PRP-геля с Биомином ГТлС (во 2-й основной группе).

Инъекционное применение остеопластических материалов способствовало более быстрому восстановлению анализируемых показателей. Так уже к 5-м суткам различия уровней СДГ и ЛДГ, в сравнении с исходным, становятся недостоверными (при P > 0,05), что выразительней прослеживается во 2-й основной группе.

Заключение

Полученные нами данные подтверждают тот факт, что местное под- и наднадкостничное введения PRP-геля и комбинации PRP с Биомином ГТлС для лечения генерализованного пародонтита позволяет создать в участке введения этих препаратов в ткани высокую концентрацию факторов роста, управляющих местными процессами регенерации, при этом мы наблюдали выраженное противовоспалительное действие, которое усиливается при наличии ионов серебра (2-я основная группа). Это предупреждает развитие стрессовой гипергликемии, усиливает компенсаторную активность анаэробного гликолиза, снижая угнетение процессов окисления в цикле Кребса, предотвращая развитие ацидоза, что имеет важное лечебное значение. Свойства использованных препаратов взаимно дополняют друг друга и сдерживают течение деструктивных патологических процессов в пародонте. Необходимо отметить, что приведенные сведения коррелировали с результатами клинических наблюдений. У больных в основных группах были менее выражены симптомы местных воспалительных реакций (отек, гиперемия, боль, повышение локальной температуры в тканях пародонта в зоне инъекции остеопластических материалов).

Вывод

Динамика изменений цитохимической активности дегидрогеназ нейтрофилов периферической крови позволяет установить, что введение остеопластических материалов оказывает выраженное общее противовоспалительное действие, предупреждает нарушение окислительно-восстановительных процессов и развитие ацидоза. Об этом свидетельствуют значения ЛДГ и СДГ нейтрофилов периферической крови в основных группах, которые нормализовались уже к 5-м суткам наблюдений (в контроле – к 7-м).

Литература

1. 16th Annual Meeting Academia Osseointegration, March 22-24, 2001. – Toronto, Canada. P. 354.
2. Astaldi G. The glicogen content of the cells of lymphatic leukemia / G. Astaldi, L. Verga // Acta haematol. – 1957. – V.17, №3. – P. 129-136.
3. М.А. Борисова. Новые суправитальные способы цитохимического определения лактатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы в клетках крови / М.А. Борисова, Н.И. Овчаренко, А.С. Спахов // Лаб. дело. – 1975. – №12. – С. 723-725.

4. И.А Комиссаров. Цитохимическое изучение кислой фосфатазы и окислительных ферментов лимфоцитов периферической крови детей / И.А Комиссаров, Р.П. Нарциссов // Лаб. дело. – 1968. – №7. – С. 390-394.
5. А.В Павленко. Применение остеопластических материалов и обогащенной тромбоцитами плазмы в целях повышения эффективности лоскутных операций при лечении генерализованного пародонтита / А.В. Павленко, И.А. Бугоркова // Современая стоматология. – 2006. – №3. – С. 45-48.
6. Э. Пирс Гистохимия: Теоретическая и прикладная: Пер. с англ. / Под ред. В.В. Португалова / Э. Пирс. – М. : Ин. лит-ра, 1962. – 962 с.
7. Т.Г. Робустова. Имплантация зубов (хирургические аспекты): Монография / Т.Г Робустова. – М. : Медицина, 2003. – 560 с.
8. В.В. Соколов. О взаимосвязи активности ферментов в лимфоцитах крови при силикозе и силикотуберкулезе / В.В. Соколов, Р.П. Нарциссов, Л.А. Иванов // Лаб. дело. – 1972. – №8. – С. 455-458.

Реферат

СТАН ЦИТОХІМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ І ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗА НЕЙТРОФІЛІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ ПІСЛЯ ІН'ЄКЦІЙНОЇ ОСТЕОПЛАСТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ

Саєнко Т.С.

Ключові слова: лактатдегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа, СДГ, ЛДГ, остеопластічні матеріали, Біомін ГТлС, PRP, лікування генералізованого пародонтиту .

Аналіз показників цитохімічної активності сукцинатдегідрогенази і лактатдегідрогенази нейтрофілів периферичної крові у хворих на генералізований пародонтит I- II ступеня підтвердив ефективність ін'єкційного застосування остеопластичних матеріалів (на прикладі PRP і БІОМІН ГТлС) в комплексному лікуванні цієї патології. У пацієнтів в основних групах постін'єкційні запальні реакції в тканинах пародонту вщухали в середньому на 3-4 доби швидше, ніж у контрольній. При цьому застосування PRP в комбінації з БІОМІН ГТлС в 2-й основній групі сприяло більш швидкому відновленню аналізованих показників. Так, вже до 3 -ї доби відмінності рівнів СДГ і ЛДГ, у порівнянні з вихідним, стають недостовірними (при P>0,05), тоді як у контролі ці відмінності (при P>0,05) зберігаються до 5- х і навіть до 7 -х діб. Необхідно відзначити, що наведені відомості корелювали з результатами клінічних спостережень.

Summary

CYTOCHEMICAL STATE AND SUCCINATE DEHYDROGENASE AND LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS IN PATIENTS AFTER OSTEOPLASTIC INJECTION THERAPY OF GENERALIZED PERIODONTITIS

Saenko T.S.

Key words: lactate dehydrogenase, SDH, succinate dehydrogenase, LDH, lactate dehydrogenase, osteoplastic materials Biomin GTiS, PRP, generalized parodontitis, treatment approach.

Background: Nowadays the up-to-date parodontics widely uses the latest technologies to optimize the processes of regeneration in the parodontal tissues. The researches and reports highlight the results of dental applications of platelet-rich plasma (PRP), whose effectiveness has been pronen, especially if it is applied to the osteoconductive material.

Objective: to obtain more specific information on the type of disturbances in anaerobic glycolysis and suppression of oxidative processes under the applying different treatment approaches for patients with generalized periodontitis by studying the indices of dehydrogenase activity of peripheral blood neutrophils.

Materials and methods: Treatment of patients was carried out in surgical dental offices of Simferopol municipal dental hospital. We analyzed changes in clinical laboratory values during while examining and treating 60 patients of both sexes aged 25 − 50. 20 patients made up the 1st experimental group, 20 patients made up the 2nd experimental group and the control group comprised 20 patients as well. The patients of the control group underwent conventional treatment of GP of I-II degree with the aloe injections (under- and supraspinously) (1 ml). For the 1st experimental group, conventional multimodality treatment was reinforced by injection of PRP, prepared in vitro from blood taken from the patient 30 minutes before the procedure. Representatives of the 2nd experimental group were injgected with PRP in combination with a synthetic osteoplastic silver-material (Biomin GTiS).

Results: Studying the dynamics of cytochemical indicators for dehydrogenase activity of peripheral blood neutrophils allowed us to reveale that inflammatory responses in the parodontal tissues subsided in the patients of the experimental group on average 3-4 days earlier compered to the patients of the control group. It should be noted that the above information correlated with clinical observations. In this case, the use of PRP in combination with Biomin GTiS in the 2nd main group promoted more rapid recovery of the analyzed parameters. Thus, by 3rd day different levels of SDH and LDH in comparison with the original become unreliable (at P > 0,05), whereas in the control of these differences (at P < 0,05) are stored to 5 and x even up to the 7 th day.

Conclusions: Thus, PRP enables to create a site of its injection into a high concentration of growth factors that control local processes of regeneration. This biostimulator produces immunocorrective, osteoinductive and anti-inflammatory effects. "Biomin GTiS" is osteoplastic material possesses osteoconductive effect, as its composition contains silver which provides local anti-microbial and anti-inflammatory action. The positive impact of drugs on the reparative processes is confirmed by the findings of cytochemical dehydrogenase activity of peripheral blood neutrophils, which show a rapid decrease in the dynamics of stress hyperglycemia, increased compensatory activity of anaerobic glycolysis, with inhibition of oxidation in the Krebs cycle, which prevents the development of acidosis and is of great therapeutic and preventive value.