

В.М.Бабенко

Дніпропетровська державна медична академія

УДК 616.314.17:616.248:615.357-071-08

ВИКОРИСТАННЯ ЦИТОХІМІЧНОГО ТА ЦИТОЛОГІЧНОГО МЕТОДІВ В ДІАГНОСТИЦІ ТА ПРЕВЕНТИВНОМУ ЛІКУВАННІ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ НА ТЛІ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОЇДНОЇ ТЕРАПІЇ

Ключові слова: генералізований пародонтит, бронхіальна астма, глюкокортикостероїдна терапія, цитологічний метод, сукцинатдегідрогеназа, α -гліцерофосфатдегідрогеназа.

Резюме. Метою дослідження була оцінка показників цитохімічного та цитологічного методів для розпізнавання та динамічного спостереження за результатами превентивного лікування генералізованого пародонтиту у хворих на бронхіальну астму на тлі глюкокортикостероїдної терапії.

За результатами обстеження 117 хворих на генералізований пародонтит (95 хворих на генералізований пародонтит та бронхіальну астму, та 22 особи групи порівняння) встановлено, що рівень СДГ та α -ГФДГ змінюється згідно клінічному перебігу генералізованого пародонтиту, що дозволяє об'єктивно оцінити ефективність лікування, повноту завершення запального процесу в пародонті. Доведено, що цитохімічні зміни та цитологічна картина корелюють з важкістю генералізованого пародонтиту у хворих на бронхіальну астму на тлі глюкокортикостероїдної терапії та можуть бути застосовані для діагностики та динамічного спостереження.

Морфологія. – 2009. – Т. III, № 3. – С. 37-41.

© В.М.Бабенко, 2009

Надійшла: 12.07.2009

Прийнята: 29.08.2009

Babenco V.M. Application of the cytochemical and cytologic methods in diagnosing and preventive treatment of generalized periodontitis in patients suffering from bronchial asthma and receiving glucocorticosteroid therapy.

Summary. The aim of the investigation was to estimate indices of cytochemical and cytologic methods for diagnosing of generalized periodontitis and dynamic following of preventive treatment results in patients suffering from bronchial asthma and receiving glucocorticosteroid therapy.

The results of studying 117 patients with generalized periodontitis (95 patients suffering from generalized periodontitis and bronchial asthma; 22 patients in the group for comparison) showed that the level of succinate dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase alters according to the clinical course of generalized periodontitis, which allows to objectively evaluate treatment efficacy and completeness of arresting the inflammatory process in the parodontium. It was proved that cytochemical changes and cytologic picture correlate with severity of generalized periodontitis in patients suffering from bronchial asthma and receiving glucocorticosteroid therapy. Such changes may be used for diagnosing and dynamic following of the patients.

Key words: generalized periodontitis, bronchial asthma, glucocorticosteroid therapy, cytologic method, succinate dehydrogenase, α -glycerophosphate dehydrogenase.

Вступ

Тенденція генералізованого пародонтиту (ГП) до поширення, складний патогенез, схильність до затяжного перебігу, наявність супутньої патології внутрішніх органів, вплив лікарських препаратів, які застосовують при лікуванні загальносоматичних захворювань (Kantarci A., Van Dyke Th.E., 2007; Самойленко А.В., Бабенко В.М., 2008; Peruzzo D.C., Benatti V.B., 2008), зокрема при бронхіальній астмі (БА), яка супроводжується хронічним запальним процесом дихальних шляхів та потребує проведення тривалої протизапальної терапії, з використанням

глюкокортикостероїдів (ГКС) (Перцева Т.О., Кіресва Т.В., 2008), недостатня ефективність методів профілактики та лікування зумовлює актуальність проблеми ГП.

Млявий перебіг ГП, пригнічення запальної реакції є наслідком базисної терапії БА астми ГКС (Бабенко В.М., 2005), тому важлива роль в діагностиці, профілактиці та лікуванні ГП належить удосконаленню методів раннього розпізнавання та адекватного контролю за ефективністю лікувальних дій. Для уникнення суб'єктивної оцінки при динамічному дослідженні хворих на ГП доцільно використовувати об'єктивний цито-

логічний метод (Григорьян А.С., Грудянов А.І., 2000; Фролова О.Л., 2004).

Структурні зміни тканин пародонта при ГП розвиваються на тлі суттєвих енергетичних порушень та тканинної гіпоксії (Кузнєцова Н.Л., Михайлов А.Є., 2009). При цьому зміни в активності ензимів та порушення їх біосинтезу виникають раніше, ніж грубі порушення в клітинах. Тому для об'єктивної оцінки енергетичного потенціалу клітин пародонту, вивчення стану метаболізму, загальної характеристики інтенсивності циклу Кребса та його резервного стимулятора – α -глицерофосфатного шунта в тканинах пародонта, ефективності лікувальних дій можна визначити рівень активності цитохімічних показників окислювально-відновних ферментів лімфоцитів сукцинатдегідрогенази (СДГ; К.Ф. 1.3.99) та α -глицерофосфатдегідрогенази гіалоплазматичної (α -ГФДГ; К.Ф. 1.1.2.1) (Сінчихин С.П., Коколіна В.Ф., 2005).

До цього часу комплексне вивчення клінічних, цитологічних та цитохімічних змін у хворих на ГП, асоційованого з БА з урахуванням дії ГКС-терапії для ранньої діагностики та превентивного лікування ГП не проводилося.

Мета

Вивчити та оцінити в динаміці клінічні, цитохімічні та цитологічні показники перебігу ГП у хворих на БА та результати превентивного лікування ГП у хворих на БА на тлі ГКС-терапії.

Матеріали та методи

Згідно меті було проведено клініко-лабораторне обстеження 117 хворих на ГП початкового – III ступеню важкості. З них було 22 пацієнта хворих на ГП без супутньої патології та 95 хворих на ГП та БА II-IV ступеню. Середній вік хворих – $42,31 \pm 6,40$ років.

Досліджених було розподілено на групи згідно зі способом лікування БА: 1-а група – 45 хворих, які отримували інгаляційні ГКС; 2-а група – 26 хворих, які отримували системні ГКС; 3-я група – 24 хворих, які не отримували гормони, у лікуванні використовували тільки інгаляційні та пероральні бронходилататори у великих дозах. Були виділені підгрупи згідно способу лікування ГП: 1А/2А – 23/14 пацієнтів, яким проводили введення мірамістину апікаційно под індивідуальні капи; 1У/2У – 22/12 пацієнтів, яким застосовували ультрафонофорез (УФФ) мірамістину. В групу порівняння – 4-у групу – увійшли 22 хворих на ГП без супутньої патології внутрішніх органів (середній вік хворих був $40,46 \pm 6,52$ років). За статево-віковими характеристиками усі групи були ідентичними.

При клінічному обстеженні пацієнтів в динаміці визначали індекс гігієни ОНІ-S (Green-Vermillion, 1964), пробу Шиллера-Писарева, стійкість капілярів за Кулаженком, індекс кровоточивості SBI (Muhlemann N.R., Son, 1971), РМА (Parma C., 1960) та ПІ (Russel, 1956). Стан кіст-

кової тканини оцінювали за ортопантомографією.

На підставі клініко-лабораторних і функціонально-діагностичних досліджень пульмонологом була проведена верифікація діагнозу бронхіальна астма. Прийом ГКС з'ясувався з анамнезу та даних історії хвороби. Дослідження функції зовнішнього дихання проводилось за допомогою комп'ютерної спірометрії на спіроаналізаторі MasterLab фірми «Erich Jeger» (Німеччина) (Стручков П.В., Вінницька та співавт., 1996). Про ступінь змін оксигенації тканин свідчили показники рівня сатурації кисню (SpO_2), яку визначали апаратом "Nonin" Hand Held Pulse Oximeters (Великобританія). У всіх обстежених хворих сатурація кисню була від 94% та вище, що свідчило про відсутність порушень насиченості крові киснем.

Для виявлення активності дегідрогеназ (СДГ та α -ГФДГ) у лімфоцитах мазків крові навколозубних тканин застосовувався метод кількісної цитохімії з використанням п-нітротетразолія фіолетового. Метод заснований на відновленні тетразолієвих солей при окислюванні відповідного субстрату. При цьому акцептор електронів із розчину випадає в осад, створюючи в місцях ферментативної активності яскраво пофарбовані гранули. Аналіз активності ферментів проводився шляхом оцінки 50 морфологічно однорідних клітин по числу гранул формазана в кожній. Для кількісної оцінки підраховували середнє значення гранул, що і було показником активності даного ферменту.

При цитологічному дослідженні матеріал для мазків-відбитків брали з язичної поверхні з області зубоясенної борозни або пародонтальної кишені за допомогою мішені: клиноподібного фрагмента гумки-ластика з розміром вузької частини не більш 1 мм. Мішені берегли в скляному закритому посуді в 50% розчині етилового спирту. Перед виготовленням відбитків з ясен мішень витягали пінцетом і висушували струмінню сухого повітря. Потім, легко притискаючи мішень до досліджуваної ділянки, брали цитологічний матеріал і переносили його у вигляді відбитків на предметне скло, висушували й фарбували за Паппенгеймом-Крюковим (Григорьян А.С., Грудянов А.І., 2000).

Статистичне опрацювання матеріалу проводили на персональному комп'ютері за допомогою програми «STATISTICA» (v.6). Результати вважалися вірогідними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Результати цитохімічного дослідження відображені на рисунку 1. Звертає на себе увагу різнонаправлена активність досліджуваних ферментів. На фоні зниженої активності СДГ виявляється підвищена активність α -ГФДГ.

У пацієнтів 1-ої групи середня активність СДГ, α -ГФДГ в лімфоцитах склала $1,92 \pm 0,09$ та

3,28±0,21, що вірогідно відрізняється від показників групи спостереження 2,24±0,07 та 2,36±0,07 (p1-4=0,007). Найбільш розбалансовані показники у хворих 2-ї групи: найнижчі значення активності СДГ 1,57±0,09 (p2-1=0,008, p2-4=0,0001) та найвищі α -ГФДГ 3,94±0,24 (p2-1=0,042, p2-4=0,0001). Ферментативна активність

пацієнтів 3-ї групи за рівнем СДГ складала 1,76±0,05, що нижче ніж у 1-ї групі та вище ніж у 2-ї, але різниця не була вірогідною (p3-1=0,125; p3-2=0,187). Вміст α -ГФДГ хворих 3-ї групи був найнижчим серед всіх обстежених 2,02±0,11 та вірогідно відрізнявся (p3-1=0,0001; p3-2=0,0001; p3-4=0,034).

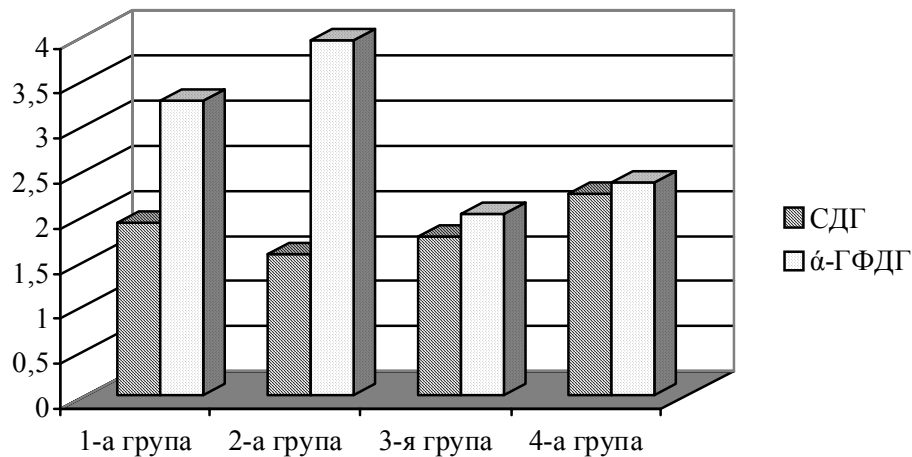


Рис. 1. Цитохімічні показники перебігу генералізованого пародонтиту у хворих на бронхіальну астму на тлі глюкокортикостероїдної терапії.

Виявлені процеси, які проходили на клітинному рівні та встановлені за допомогою цитохімічного визначення ферментативної активності лімфоцитів, мали ряд клінічних особливостей.

Звертає на себе увагу те, що пародонтологічні індекси та проби мали максимальне значення у хворих на ГП без супутньої патології та у хво-

рих 3-ї групи. У той же час у пацієнтів 1-ї та 2-ї групи реєструвалася слабо виражена запальна реакція в тканинах пародонта, незалежно від ступеня тяжкості генералізованого пародонтиту.

Результати дослідження лікування ГП у хворих на БА на тлі різних видів ГКС терапії наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка цитохімічних показників в залежності від методу лікування генералізованого пародонтиту у хворих на бронхіальну астму на тлі глюкокортикостероїдної терапії

Групи	СДГ		α -ГФДГ		
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	
1	1У n=22	1,94±0,07 p*=0,005	2,43±0,07	3,29±0,29 p*=0,005	2,42±0,07
	1А n=23	1,89±0,10 p*=0,026	2,14±0,11	3,26±0,21 p*=0,045	2,84±0,09
2	2У n=12	1,57±0,09 p*=0,038	1,88±0,11	3,95±0,22 p*=0,05	3,30±0,23
	2А n=14	1,56±0,08 p*=0,057	1,77±0,07	3,93±0,250 p*=0,09	3,37±0,20

Примітка: p* – до та після лікування в цій групі

При застосуванні мірамістину зареєстровано нарощування активності СДГ та зниження α -ГФДГ, але при УФФ мірамістину динаміка більш позитивна ніж при аплікаційному введенні. Підвищення активності СДГ свідчить про активацію основного сукцинатаоксидазного метаболічного

шляху отримання енергії. Зниження активності α -ГФДГ вірогідно є компенсаторним та свідчить про зниження анаеробних та посилення аеробних процесів отримання енергії. Цитохімічне дослідження показало, що тканинна гіпоксія в пародонті у хворих вірогідно зменшилась, що можна

вважати задовільним результатом лікування.

При аналізі цитограм враховувалися всі категорії клітинних елементів: епітеліальні клітини з явищами цитопатології, контаміновані мікробами сполучнотканинні клітини, мононуклеари, лейкоцити та фібробласти.

У всіх обстежених при низькому рівні гігієни порожнини рота (ОНІ-S>2) в мазках-відбитках спостерігалися ознаки контамінування клітин мікроорганізмами та визначалися темно офарбовані аморфні маси.

Ступінь ураження пародонту у хворих на БА на тлі ГКС терапії відображають явища дистрофії, некробіозу та некрозу епітеліальних клітин. На препаратах зустрічаються клітини із значною вакуолізацією цитоплазми, з дрібнокрапельною вакуолізацією та з частковою або повною деструкцією ядра. Кількість епітеліальних комплексів клітин у вигляді пластинок з дрібним компактним ядром та незафарбованою цитоплазмою нижче, ніж у хворих 3-ої групи, які не отримують протизапальну ГКС терапію. Типовим є поява в цитограмах мононуклеарів без цитоплазми та крупних епітеліальних клітин з включеннями лейкоцитів та моноцитів в цитоплазмі.

У хворих 3-ої групи в цитограмах переважають комплекси епітеліальних клітин (більш 10 клітин). Наявність комплексів цих клітин свідчить про посилення процесу десквамації та супроводжує розривлення епітеліального пласту. Фібробластоподібні клітини зустрічаються частіше, ніж у хворих 1-ої та 2-ої групи. Також визначена значна кількість лейкоцитів та моноцитів. В полях зору можна спостерігати окремі фагоцитовані залишки цих клітин в цитоплазмі плоскоепітеліальних клітин.

Після проведеного лікування ГП у хворих 1-ої та 2-ої груп при вивченні мазків-відбитків спостерігалось зменшення кількості клітин з вакуо-

лізованою цитоплазмою, фагіруючих епітеліоцитів, мононуклеарів, лейкоцитів та моноцитів, базofilно офарблених часток та гранул мікробного походження, які розташовувалися поза епітеліальними клітинами. Поряд з цим відмічена поява в цитограмах фібробластів переважно з різко зафарбованою базofilною цитоплазмою, що пов'язане з накопиченням в цитоплазмі рибонуклеотидів за рахунок активізації клітинного метаболізму. Ці ознаки посилення репаративних процесів вказували на ранній початок активізації відновлювальних процесів в тканинах пародонту. Покращення цитологічної картини корелювало з покращенням клінічних ознак та пародонтологічних індексів.

Підсумок

Як показало наше дослідження, при розвитку запального процесу в пародонті у хворих на БА спостерігається низка клінічних, цитохімічних та цитологічних змін, які пов'язані між собою та вказують на важкість та характер патологічного процесу.

Використання мірамістину, переважно УФФ препарату, в лікуванні ГП призводить до стабілізації пародонтологічних показників та цитологічної картини запалення в пародонті у хворих на БА на тлі ГКС терапії, призводить до підвищення активності СДГ та зниженню активності α -ГФДГ, що свідчить про оптимізацію роботи дихального ланцюгу мітохондрій, а також активізує репаративні процеси, що в свою чергу зменшує гіпоксію в тканинах пародонту.

Перспективи подальших розробок

пов'язані з застосуванням цитохімічного та цитологічного методів дослідження як в діагностиці глибини ураження та динаміки запальних змін, так і в оцінці місцевої дії профілактичних та лікувальних препаратів.

Літературні джерела

Бабенко В. М. Вивчення особливостей перебігу та впливу лікування глюкокортикостероїдами на перебіг генералізованого пародонтиту у хворих на бронхіальну астму / В. М. Бабенко // Медичні перспективи. - 2005. - Т. 10., - №1. - С. 92-95.

Григорьян А. С. Цитологические показатели как критерии оценки состояния пародонта / А. С. Григорьян, А. И. Грудянов, З. П. Антипова // Стоматология. - 2000. - №3. - С. 17-21.

Кузнецова Н. Л. Патогенетическое лечение и профилактика прогрессирования хронического генерализованного пародонтита / Н. Л. Кузнецова, А. Е. Михайлов, С. И. Блохина // Современная стоматология. - №2, 2009. - С. 51-58.

Пат. 38185 Україна, u200809691. Спосіб лікування генералізованого пародонтиту / Са-

мойленко А.В., Бабенко В.М.; заявл. 24.07.2008; опубл. 25.12.2008, Бюл. № 24.

Перцева Т. А. Новые технологии и стандарты терапии у больных пульмонологического профиля / Т. А. Перцева, Т. В. Киреева // Астма та алергія. - 2008. - №1-2. - С. 48-53.

Синчихин С. П. Определение активности окислительно-восстановительных ферментов лимфоцитов крови у юных женщин в конце беременности для прогноза состояния их новорожденных / С. П. Синчихин, В. Ф. Коколина // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2005. - №2. - С. 24-27.

Стручков П. В. Введение в функциональную диагностику внешнего дыхания / П. В. Стручков, Р. С. Виницкая, И. А. Люкевич. - М., 1996. - 68 с.

Фролова О. Л. Актуальные задачи развития диагностических методов в клинике пародонтологии / О. Л. Фролова // Стоматология. - 2004. - №4. - С. 22-24.

Kantarci A. Resolution of inflammation in periodontitis / A. Kantarci, Th. E. Van Dyke // J. Perio-

dontology. - 2007. - Vol. 76, № 11. - P. 2168-2174.

Peruzzo D. C. Chronic stress may modulate periodontal disease: a study in rats / D. C. Peruzzo, B. B. Benatti, B. Isabela // J. Periodontology. - 2008. - Vol. 79, № 4. - P. 697-704.

Бабенко В.Н. Использование цитохимического и цитологического методов в диагностике и превентивном лечении генерализованного пародонтита у больных бронхиальной астмой на фоне глюкокортикостероидной терапии.

Резюме. Целью исследования была оценка показателей цитохимического и цитологического методов для распознавания и динамического наблюдения за результатами превентивного лечения генерализованного пародонтита у больных бронхиальной астмой на фоне глюкокортикостероидной терапии.

По результатам обследования 117 больных генерализованным пародонтитом (95 больных генерализованным пародонтитом и бронхиальной астмой, 22 больных группы сравнения) установлено, что уровень СДГ и α -ГФДГ изменяется согласно клиническому течению генерализованного пародонтита, что позволяет объективно оценить эффективность лечения, полноту завершения воспалительного процесса в пародонте. Доказано, что цитохимические изменения и цитологическая картина коррелируют с тяжестью генерализованного пародонтита у больных бронхиальной астмой на фоне глюкокортикостероидной терапии и могут быть использованы для диагностики и динамического наблюдения.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, бронхиальная астма, глюкокортикостероидная терапия, цитологический метод, сукцинатдегидрогеназа, α -глицерофосфатдегидрогеназа.