

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ

Прытков В.А., Кульченко А.А., Власов А.П., Трофимов В.А., Тарасова Т.В.

¹ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

Изучена роль нарушений структурно-функционального состояния гемоглобина в прогрессировании хронического пародонтита с использованием метода РАМАН-спектроскопии, который позволяет на молекулярном уровне оценить потенциальные возможности гемоглобина, что при хроническом генерализованном пародонтите является фактором, косвенно характеризующим выраженность тканевой гипоксии и, как следствие, прогрессирование заболевания. Клинические исследования показали, что у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом отмечаются существенные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина, проявляющиеся в виде увеличения относительного количества оксигемоглобина в эритроцитах, уменьшения относительной способности гемоглобина связывать лиганды, роста относительной способности гемоглобина выделять лиганды, снижения сродства гемоглобина к лигандам, повышения уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина. Установлено, что изменения показателей структурно-функционального состояния гемоглобина сопряжены с тяжестью пародонтита, что определяет возможность их использования в качестве прогностических критериев заболевания.

Ключевые слова: хронический генерализованный пародонтит, гемоглобин, РАМАН-спектроскопия.

STRUCTURALLY FUNCTIONAL CONDITION OF THE HEMOGLOBIN AT THE CHRONIC GENERALIZED PERIODONTAL DISEASE

Prytkov V.A.¹, Kulchenko A.A.¹, Vlasov A.P.¹, Trofimov V.A.¹, Tarasova T.V.¹

Mordvinian State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Bolshevistskaya, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

The role of structural and functional disorders of hemoglobin in conditions of chronic periodontitis with the use of Raman spectroscopy, which allows the molecular level to assess the potential of hemoglobin, which in chronic generalized periodontitis contributes indirectly characterizing the severity of tissue hypoxia and, as a consequence, the progression of the disease. Clinical studies have shown that patients with chronic generalized periodontitis there were significant changes in the structural and functional state of hemoglobin, manifested in the form of increase in the relative amount of oxygenated hemoglobin in red blood cells, reducing the relative ability of hemoglobin to bind ligands, increase the relative ability of hemoglobin to allocate ligands, reducing hemoglobin affinity to ligands, increasing fluctuations methine bridges hemoglobin. Found that changes in indicators of structural and functional state of hemoglobin are associated with the severity of periodontal disease, which determines the possibility of their use as prognostic criteria for the disease.

Key words: chronic generalized periodontal disease, hemoglobin, Raman-spectroscopy.

Введение. Распространенность заболеваний пародонта в России достигает 95–100% [3]. Высокая заболеваемость, сложность и длительность лечения, значительная степень рецидивов обуславливают центральное место этой патологии в работе не только врача-пародонтолога, но и стоматолога общей практики [1; 5]. Важная роль в патогенезе пародонтита отводится мембранодеструктивным процессам, приводящим к накоплению токсических продуктов перекисного окисления липидов и свободных радикалов, неизменно поступающих в кровоток. Одной из первых мишеней мембранодестабилизирующего действия данных токсинов являются форменные элементы крови, в частности эритроциты. Структурная дестабилизация их мембран приводит к изменению структуры гемоглобина и в итоге угнетению функциональной активности, что часто является одним из механизмов

развития тканевой гипоксии и усугубления течения основного патологического процесса [4]. В связи с чем целью работы явилось определение роли нарушений структурно-функционального состояния гемоглобина в прогрессировании хронического пародонтита.

Материалы и методы исследования. Основой работы стали клинические исследования у 98 больных (32 мужчины и 66 женщин) хроническим генерализованным пародонтитом различных степеней тяжести в возрасте от 30 до 50 лет с давностью заболевания от 3 до 15 лет, проходивших лечение в Республиканской стоматологической поликлинике г. Саранска. Обследуемые были распределены по тяжести заболевания на три группы, сопоставимые по возрастно-половому составу. Первая группа (n=35) – с легкой степенью заболевания, вторая группа (n=34) – со средней степенью тяжести, третья группа (n=29) – обследуемые страдали тяжелым пародонтитом. Пациенты получали традиционную противовоспалительную терапию: после проведения профессиональной гигиены (снятие зубных отложений) в патологические зубодесневые карманы закладывалась взвесь хлоргексидина с метрогилом, проводились ротовые ванночки с диоксидином или димексидом, накладывались лечебные повязки с противовоспалительными мазями (бутадионовая, метрогил дента, холисал, лингезин). Назначалось общее противовоспалительное лечение в виде антимикробных препаратов (флагил, клиостом, метрогил), нестероидных противовоспалительных средств (индометацин), десенсибилизирующих препаратов (диазолин), витаминотерапии (А, С, Р). Затем по показаниям проводился кюретаж, избирательное пришлифовывание зубов.

При обращении и в контрольные сроки (5-е и 10-е сутки) всем пациентам выполняли общеклинические, биохимические исследования, а также методы функциональной диагностики. Состояние пародонта оценивали при осмотре и по индексальным показателям. Акцент исследований в работе сделан на изучение структурно-функционального состояния гемоглобина с привлечением РАМАН-спектроскопии. Измерения проводили на рамановском спектрометре *in via Basis* фирмы Renishaw с короткофокусным высокосветосильным монохроматором (фокусное расстояние не более 250 мм). Для возбуждения рамановских спектров использовали лазер с длиной волны излучения 532 нм, мощностью излучения 100 мВт. Регистратор данных - CCD детектор (1024x256 пикселей) с решеткой 1800 штр/мм. Оцифрованные спектры обработаны в программе WIRE 3.3.

Наличие полос в РАМАН-спектре при исследовании конформации и свойств гемоглобина отражает структурно-функциональное состояние гемоглобина и позволяет на молекулярном уровне оценить его потенциальные возможности, что при хроническом генерализованном пародонтите является фактором, косвенно характеризующим выраженность тканевой гипоксии и, как следствие, прогрессирование заболевания [2].

Полученные цифровые данные обработаны методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, корреляционная зависимость оценена с помощью критерия r .

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование показало, что пациенты с легкой степенью тяжести хронического пародонтита предъявляли жалобы на кровоточивость десен при механическом раздражении, неприятный запах изо рта, дискомфорт. Было диагностировано хроническое катаральное воспаление межзубных сосочков и краевой десны, глубина пародонтальных карманов составляла до 3,2 мм, выявлялось большое количество мягкого зубного налета, над- и поддесневой зубной камень. На рентгенограмме деструкция костной ткани межальвеолярных перегородок не превышала $1/3$ длины корня зуба, остеопороз альвеолярной кости был выражен незначительно. Патологической подвижности зубов, их смещения не выявлялось. Общее состояние пациентов не страдало.

Изучение индексальных показателей состояния тканей пародонта выявило увеличение папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), индекса гигиены аппроксимальных поверхностей (АРІ) и индекса кровоточивости (SBI) на 1001,4, 498,2 и 395,1% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с нормальными показателями. Проведение вакуум-пробы Кулаженко показало укорочение времени образования гематомы в десне на 37,5% ($p < 0,05$) относительно нормы. Упрощенный гигиенический индекс (ОHI-s) и пародонтальный индекс (ПИ) превышали норму на 57,0 и 867,2% ($p < 0,05$) соответственно. Балльная оценка по результатам пробы Шиллера-Писарева была сопоставима с нормальными цифрами.

При средней степени тяжести хронического пародонтита пациенты жаловались на резкую кровоточивость десен при чистке зубов, почти постоянную при откусывании твердой пищи, появление неприятных ощущений в десне: зуд, жжение, иногда боль, ломоту в зубах и деснах, неприятный запах изо рта, а также на недомогание, раздражительность, плохой сон и аппетит. Осмотр выявил наличие мягкого зубного налета, над- и поддесневого зубного камня. Объективно отмечались гиперемия с цианотическим оттенком свободной и прикрепленной десны, неплотное прилегание десневых сосочков к зубу. Десневые сосочки изменяли конфигурацию за счет клеточной инфильтрации, отека, при зондировании глубина патологических зубодесневых карманов составляла до 4,3 мм, из них выделялся серозно-гнойный экссудат. Отмечалась патологическая подвижность зубов преимущественно I, реже II степени. На рентгенограмме отмечалась деструкция костной ткани межзубных перегородок до $1/2$, очаги остеопороза, расширение периодонтальной щели в пришеечной области.

Индексальные показатели состояния тканей пародонта ухудшались относительно данных предыдущей группы. Было выявлено увеличение папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса РМА, индекса гигиены аппроксимальных поверхностей АРІ и индекса кровоточивости SBI на 2125,6, 1412,2 и 1408,5% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с нормальными показателями. Проведение вакуум-пробы Кулаженко показало укорочение времени образования гематомы в десне на 64,1% ($p < 0,05$) относительно нормы. Упрощенный гигиенический индекс и пародонтальный индекс превышали норму на 144,1 и 4784,3% ($p < 0,05$) соответственно. Балльная оценка по результатам пробы Шиллера-Писарева была выше нормы на 143,1% ($p < 0,05$).

Тяжелая степень хронического генерализованного пародонтита характеризовалась появлением боли в деснах, затрудненным жеванием. Больные были подавлены неприятным запахом изо рта, смещением зубов, появлением щелей между зубами, подвижностью и выпадением отдельных зубов, резкой кровоточивостью десен, периодическим появлением гнойников (абсцессов). Предъявляли жалобы на нарушение общего состояния: слабость, недомогание, раздражительность. Отмечались значительно выраженные признаки воспаления тканей пародонта вплоть до образования одиночных или множественных абсцессов, глубина пародонтального кармана достигала 5-6 мм. Наблюдалось значительное отложение мягкого зубного налета и зубного камня, особенно поддесневого. В большинстве случаев наблюдалось разрастание грануляций из пародонтальных карманов, смещение зубов. Подвижность зубов достигала II-III степени. На рентгенограмме убыль костной ткани альвеолярного отростка составляла 2/3 и более длины зуба, определялись очаги остеопороза, костные карманы. Были выражены веерообразное смещение зубов, поворот вокруг оси, а также травматическая окклюзия. Индексальные показатели состояния тканей пародонта были значительно изменены (рис. 1).

Проведение РАМАН-спектроскопии показало, что у больных пародонтитом отмечаются существенные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина при средней и тяжелой степени тяжести заболевания (табл. 1). Так, соотношение интенсивностей полос, характеризующих количество оксигемоглобина в крови, которое отражает способность связывать кислород, растет с увеличением тяжести заболевания, причем данный показатель оказался больше по сравнению со здоровыми обследованными на 19,6-28,5% ($p < 0,05$). Показатель, отражающий способность гемоглобина связывать лиганды, у пациентов с пародонтитом уменьшается с увеличением степени тяжести данной патологии. Отношение полос в РАМАН-спектре, которое отражает сродство гемоглобина к лигандам, в том числе к кислороду, у пациентов второй и третьей группы меньше по сравнению с данным показателем у здоровых людей, причем оно уменьшается по мере

увеличения тяжести заболевания. Также наблюдается рост относительной способности гемоглобина выделять лиганды на 25,8% ($p < 0,05$) (при тяжелом пародонтите) и повышение уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина на 22,5-37,5% ($p < 0,05$).

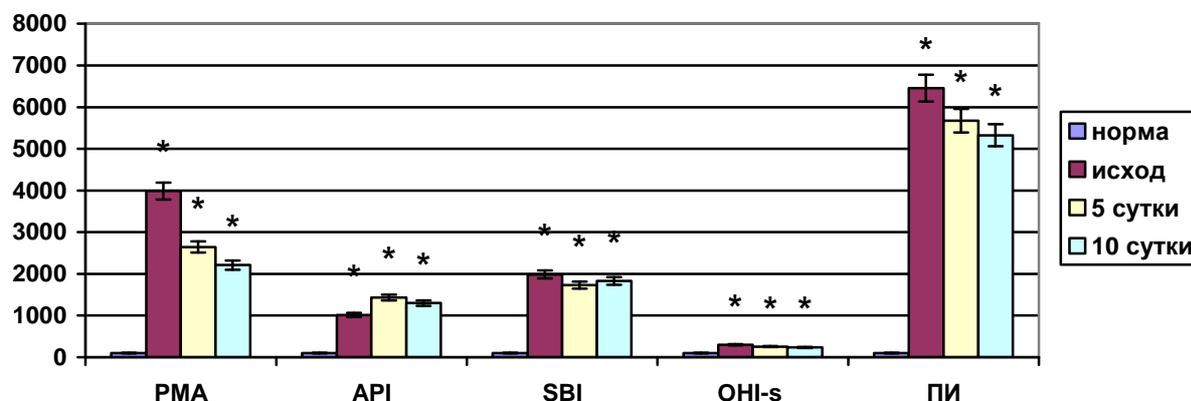


Рис. 1. Динамика индексальных показателей на фоне тяжелого хронического пародонтита. Примечание: * - достоверные изменения относительно нормы

Следует отметить, что показатель, отражающий конформационные изменения пирролов, у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом растет по мере утяжеления патологии. Данный показатель несет информацию о выраженности симметричных и асимметричных колебаний пиррольных колец гемоглобина, что в конечном итоге может играть роль в клинической картине пародонтита, поскольку эти изменения молекулярной структуры гемоглобина, несомненно, будут влиять на его функциональные свойства. Данный факт говорит о том, что у пациентов с пародонтитом легкой степени тяжести конформационные колебания меньше, молекула гемоглобина более компактная (с жесткой структурой), и эритроцит легче может захватывать лиганды, в том числе и кислород, что играет огромную роль в кислородном обеспечении тканей, в частности пародонта. Но при пародонтите средней степени тяжести и тяжелом пародонтите колебания метиновых мостиков более выражены и молекулы более вытянутые. В этих условиях присоединение кислорода к гемоглобину уже становится затруднительным, что усиливает риск прогрессирования заболевания и утяжеления патологических проявлений со стороны пародонта (рис. 2).

Таблица 1

РАМАН-спектроскопия гемоглобина пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом при обращении ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые добровольцы	Группы пациентов		
		I (легкая степень)	II (средняя степень)	III (тяжелая степень)

Относительное количество оксигемоглобина в эритроцитах I1375/(I1355+I1375)	0,56±0,02	0,60±0,02	0,67±0,03	0,72±0,02
Относительная способность гемоглобина связывать лиганды I1355/I1550	0,54±0,01	0,50±0,02	0,46±0,01	0,39±0,02
Относительная способность гемоглобина выделять лиганды I1375/I1580	0,58±0,02	0,60±0,03	0,64±0,02	0,73±0,03
Сродство гемоглобина к лигандам кислорода (I1355/I1550)/(I1375/I1580)	0,89±0,03	0,84±0,04	0,77±0,02	0,68±0,03
Колебания метиновых мостиков гемоглобина I1375/I1172	1,20±0,05	1,28±0,04	1,47±0,06	1,65±0,08

Примечание: жирный шрифт – достоверность различия по отношению к группе сравнения при $p < 0,05$.

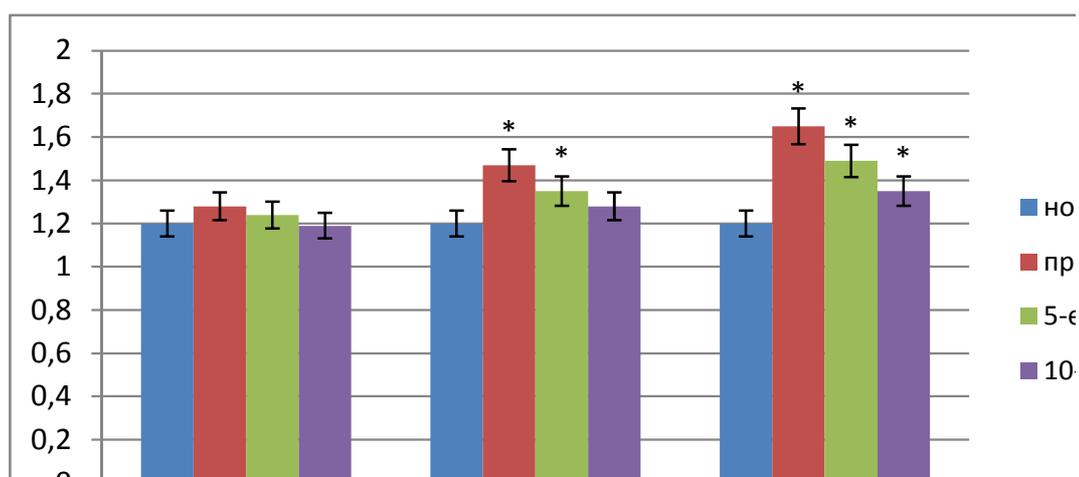


Рис. 2. Колебания метиновых мостиков гемоглобина I1375/I1172 (I, II, III – группы исследования, * - достоверность отличия к норме при $p < 0,05$)

Таким образом, установлено наличие конформационно-функциональных изменений в молекуле гемоглобина при хроническом генерализованном пародонтите. Выявленные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина коррелировали с тяжестью заболевания ($r=0,79-0,87$), что свидетельствует о возможности использования данных показателей как критерия прогрессирования хронического пародонтита. Наиболее высокие значения коэффициента корреляции выявлены при оценке таких показателей, как сродство гемоглобина к лигандам и колебания метиновых мостиков гемоглобина.

Выводы

1. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом отмечаются изменения структурно-функционального состояния гемоглобина, которые сопряжены с тяжестью заболевания.

2. Изменения структурно-функционального состояния гемоглобина при пародонтите выражаются в виде увеличения относительного количества оксигемоглобина в эритроцитах, уменьшения относительной способности гемоглобина связывать лиганды, роста относительной способности гемоглобина выделять лиганды, снижения сродства гемоглобина к лигандам, повышения уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина. Наиболее уязвимыми к изменениям являются такие показатели, как сродство гемоглобина к лигандам и колебания метиновых мостиков гемоглобина.

Список литературы

1. Безрукова И.В. Клиника, диагностика и лечение быстро прогрессирующего пародонтита // Новое в стоматологии. – 2001. – № 5. – С. 65-69.
2. Власов А.П. [и др.] Структурно-функциональное состояние гемоглобина при гестозе // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. – URL: www.science-education.ru/106-7340 (дата обращения: 09.02.2013).
3. Жулев Е.Н. Клиника, диагностика и ортопедическое лечение заболеваний пародонта. – Нижний Новгород : НГМА, 2003. – 276 с.
4. Сторожок С.А., Санников А.Г. Молекулярные дефекты белков мембраны эритроцита // Вопросы медицинской химии. – 1996. – Т. 42. – № 2. – С. 103-110.
5. Цепов Л.М. Заболевания пародонта: взгляд на проблему. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 192 с.

Рецензенты:

Смолькина Антонина Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Рубцов Олег Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск.