УДК 616.314.17-002+616.155.194]:616.155.3

ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА В СОЧЕТАНИИ С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ

Славинский И.А., Каде А.Х.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, e-mail: Ivan.A.Slavinsky@gmail.com

Клинико-цитохимическое исследование показало, что для воспалительных заболеваний пародонта характерно напряжение функционально-метаболического потенциала нейтрофильных лейкоцитов крови, которое проявляется повышением активности НАДФН-оксидазы со снижением активности миелопероксидазы по сравнению с нейтрофилами здоровых людей. Эти изменения указывают на высокий уровень активации нейтрофилов и значительно более выражены при пародонтите, чем при хроническом катаральном гингивите. Железодефицитная анемия существенно влияет на тяжесть течения воспалительных заболеваний пародонта из-за развития сидеропенической дисфункции нейтрофильных лейкоцитов. Эта дисфункция обусловлена угнетением железосодержащих компонентов антибактериальных систем нейтрофилов – миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы. Стойкая ремиссия у больных возникает после комплексного гематологического лечения препаратами железа с поддерживающей пародонтологической терапией. Предиктором неэффективности стандартного стоматологического лечения может быть выраженное снижение активности НАДФН-оксидазы в нейтрофилах периферической крови. Для профилактики тяжёлых осложнений тактика лечения таких больных должна быть направлена на выявление возможного дефицита железа в организме и на коррекцию сидеропенической дисфункции нейтрофильных лейкоцитов.

Ключевые слова: воспалительные заболевания пародонта, железодефицитная анемия, нейтрофильные лейкоциты, сидеропеническая дисфункция, миелопероксидаза, НАДФН-оксидаза.

FUNCTIONAL-METABOLIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH PARODONT INFLAMMATORY DISEASES COMBINED WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA

Slavinsky I.A., Kade A.Kh.

Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: Ivan.A.Slavinsky@gmail.com

Clinical and cytochemical research showed that inflammatory periodontal diseases are characterized by stress of the functional and metabolic potential of blood neutrophils, which is manifested by increased activity of NADPH-oxidase with a decrease in myeloperoxidase activity compared to neutrophils of healthy people. These changes indicate a high level activation of neutrophils and significantly more pronounced in periodontitis than in chronic catarrhal gingivitis. Iron deficiency anemia significantly affects the severity of inflammatory periodontal diseases due to the development of sideropenic dysfunction of neutrophils. This dysfunction is due to inhibition of iron-containing components of the neutrophils' antimicrobial systems – myeloperoxidase and NADPH-oxidase. Stable remission in patients develops after comprehensive hematologic treatment with iron drugs and supportive periodontal therapy. The predictor of standard dental treatment failure can be a marked NADPH-oxidase activity reduction in peripheral blood neutrophils. For the prevention of severe complications treatment strategy for such patients should be aimed at detection of the possible iron deficiency and correction of sideropenic neutrophils dysfunction.

Keywords: periodontal inflammatory diseases, iron deficiency anemia, neutrophilic leukocytes, sideropenic dysfunction, myeloperoxidase, NADPH-oxidase.

Воспалительные заболевания пародонта – наиболее частая причина потери зубов вследствие выраженного деструктивного процесса с развитием стойких нарушений функции зубочелюстной системы [9; 14]. Они создают предпосылки к появлению в ротовой полости очагов хронической инфекции, к возникновению заболеваний других органов со снижением качества жизни пациентов [11]. Лечение этих болезней сопряжено со сложностями,

существенно возрастающими при наличии у больных железодефицитной анемии, несвоевременная диагностика которой часто приводит к утрате зубов.

Железодефицитная анемия – одно из самых массовых заболеваний. Её частота среди всех анемий достигает 90–95% [1; 12], а распространенность у женщин репродуктивного возраста достигает 30–60% [5]. В отличие от других видов анемии у больных железодефицитной анемией развивается не только анемический, но и сидеропенический синдром. Помимо гемоглобина, железо входит в состав ряда ферментных систем организма, которые обеспечивают тканевое дыхание и реакции иммунитета. Дефицит железа повышает восприимчивость к бактериальным инфекциям [6]. Установлено, что железодефицитная анемия не только способствует развитию воспалительных заболеваний пародонта, но утяжеляет их течение и исходы [10], а стоматологическое лечение становится практически бесперспективным.

У больных железодефицитной анемией выявлены дефекты иммунной системы: снижение уровня лизоцима, компонентов комплемента, иммуноглобулинов; уменьшение содержания в крови различных популяций лимфоцитов с развитием вторичного иммунодефицита комбинированного характера [3]. Есть данные об изменениях в нейтрофильных лейкоцитах, а также о нарушении их фагоцитарной и бактерицидной функции в условиях дефицита железа [13]. Патогенетические механизмы этих процессов остаются мало изученными.

Нейтрофильные лейкоциты, непосредственно участвующие в развитии воспалительной реакции и в иммунной защите, несут в своей зернистости компоненты антибактериальных систем, которые содержат железо и зависимы от его содержания в организме. Это, прежде всего, миелопероксидазная и НАДФН-оксидазная системы [8]. Поэтому тестирование функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов крови необходимо для выявления особенностей патогенеза и на этой основе уточнения тактики лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с железодефицитной анемией.

Цель исследования – повысить эффективность лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с железодефицитной анемией на основе диагностики и коррекции дисфункции нейтрофильных лейкоцитов.

Материал и методы

Клинико-цитохимический мониторинг состояния тканей пародонта и нейтрофильных лейкоцитов крови проведен у 73 пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом, из которых 39 человек имели нормальный уровень гемоглобина крови, а 34 страдали железодефицитной анемией. Из 35 больных хроническим генерализованным

пародонтитом нормальный уровень гемоглобина крови был у 19 человек, а железодефицитная анемия – у 16. Для сравнения цитохимических показателей исследованы нейтрофильные лейкоциты 42 здоровых людей без признаков патологии пародонта – контрольная группа.

Лечение пациентов включало в себя удаление зубных отложений, проведение местной противовоспалительной, антимикробной и кератопластической терапии. При необходимости проводили ортопедическое и хирургическое лечение. Диагноз железодефицитной анемии подтверждался гематологическими анализами, а также определением уровня сывороточного железа, ферритина, насыщения трансферрина железом. Больные с железодефицитной анемией проходили курс лечения у врачей-гематологов и терапевтов. Эффективность пародонтологического лечения определяли на основании результатов визуально-инструментальной оценки состояния десны, мониторинга индексной оценки состояния пародонта, рентгенологической оценки состояния альвеолярной кости.

Для цитохимического определения активности миелопероксидазы использовали дианизидиновый метод [7]. Активность НАДФН-оксидазы выявляли с помощью НСТ-теста [2]. Компьютерная морфометрия произведена с помощью системы для анализа клеточного изображения с программным пакетом «CitoW». Выполняли контрастирование изображения по гистограмме яркости, бинаризацию изображения с его автоматическим сканированием для измерения суммарной площади и средней оптической плотности продукта цитохимической реакции. Для характеристики результатов компьютерной морфометрии применен интегральный цитохимический показатель (ИЦП) – произведение оптической плотности продукта реакции и его суммарной площади в цитоплазме [4]. Этот показатель отражает общую активность фермента в измеренных компьютером нейтрофильных лейкоцитах.

Вариационные ряды измерений преобразовывали в сводные электронные таблицы и производили консолидацию этих таблиц. Выполняли расчет среднего арифметического значения, средней ошибки среднего арифметического, стандартного отклонения. Для определения статистической достоверности различий между средними величинами двух выборок вычисляли критерий Стьюдента с показателем достоверности различия (p).

Результаты исследования и их обсуждение

Проведен параллельный клинико-цитохимический мониторинг состояния тканей пародонта и нейтрофильных лейкоцитов крови у больных, которые находились под диспансерным наблюдением по поводу хронического генерализованного катарального гингивита и хронического генерализованного пародонтита.

Хронический генерализованный катаральный гингивит. У пациентов без

железодефицитной анемии до лечения активность миелопероксидазы снижена в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой здоровых людей ($p<0,001$), активность НАДФН-оксидазы увеличена в 1,4 раза ($p<0,001$). Через 1 месяц после начала лечения визуально-инструментальная оценка состояния тканей пародонта выявила признаки ремиссии. Показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов крови больных подверглись существенным изменениям в направлении их нормализации. Активность миелопероксидазы увеличилась в 1,4 раза ($p<0,001$), в то время как активность НАДФН-оксидазы снизилась в 1,4 раза ($p<0,001$). Эти показатели не имеют статистически значимых отличий от таковых контрольной группы ($p>0,05$).

У пациентов, страдающих железодефицитной анемией, до лечения активность миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах снижена в 2,1 раза по сравнению с нейтрофилами здоровых людей ($p<0,001$), активность НАДФН-оксидазы также снижена в 2,3 раза ($p<0,001$). При сравнении показателей с таковыми у больных без железодефицитной анемии обращают на себя внимание следующие особенности. При наличии железодефицитной анемии снижение активности миелопероксидазы более выражено. Активность НАДФН-оксидазы снижена, а не повышена (2,67±0,05 против 8,71±0,11 отн. ед.).

При осмотре через 1 месяц после начала лечения отсутствие ремиссии наблюдалось у большинства больных этой группы. Показатели активности железосодержащих ферментов нейтрофилов в процессе лечения не претерпели существенных изменений. Таким образом, лечение не только не сопровождалось нормализацией активности миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы, но даже не появилось сколько-нибудь выраженной тенденции к их нормализации.

Через 4 месяца после начала лечения препаратами железа у всех пациентов наблюдалась ремиссия гингивита. В нейтрофильных лейкоцитах крови произошла нормализация всех показателей функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов. ИЦП миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы не обнаружили статистически значимых отличий от нейтрофилов контрольной группы здоровых людей ($p>0,05$). Представленные данные свидетельствуют о том, что стандартное стоматологическое лечение у больных хроническим генерализованным катаральным гингивитом, страдающих железодефицитной анемией, в большинстве случаев оказывается неэффективным. Добиться стойкой ремиссии у таких пациентов можно только при сочетании стоматологического и гематологического лечения с применением препаратов железа.

Хронический генерализованный пародонтит. У пациентов без железодефицитной анемии до лечения выявлены глубокие изменения показателей функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов крови. Активность

миелопероксидазы значительно снижена – в 4,9 раза (p<0,001) по сравнению с нейтрофилами здоровых людей. Активность НАДФН-оксидазы повышена в 2,5 раза (p<0,001).

Через 2 месяца после начала лечения из 19 больных у 18 наблюдалась ремиссия. В нейтрофильных лейкоцитах периферической крови больных активность маркеров функционально-метаболической активности обнаружила выраженную тенденцию к нормализации. В процессе лечения активность миелопероксидазы возросла в 3,3 раза (p<0,001), активность НАДФН-оксидазы снизилась в 2,0 раза (p<0,001). Тем не менее полной нормализации показателей мы не наблюдали. Активность обоих ферментов статистически значимо отличалась от показателей контрольной группы.

У больных с железодефицитной анемией до лечения нейтрофильные лейкоциты крови обнаружили значительно изменённый уровень показателей своей функционально-метаболической активности. Активность миелопероксидазы была резко снижена – в 13,7 раза (p<0,001). Уровень активности НАДФН-оксидазы понизился в 2,6 раза (p<0,001). Обследование после 2 недель пародонтологического лечения показало отсутствие эффекта даже на фоне улучшения уровня гигиены полости рта. Осмотр через 2 месяца также обнаружил отсутствие признаков ремиссии. Пациенты предъявляли жалобы на сохраняющуюся кровоточивость десен, подвижность и гиперестезию зубов, боли в деснах. Сохранялись пародонтальные карманы глубиной от 2 до 5,5 мм, а также подвижность зубов 1-2 степени у больных пародонтитом средней степени тяжести. В нейтрофилах крови больных за время лечения активность железосодержащих ферментов не подверглась статистически значимым изменениям.

Все больные хроническим генерализованным пародонтитом в сочетании с железодефицитной анемией были направлены на лечение у врачей-терапевтов и гематологов с назначением препаратов железа. Этим пациентам также был проведен курс поддерживающей пародонтологической терапии. При осмотре через 4 месяца после начала лечения препаратами железа у большинства пациентов этой группы наблюдалась ремиссия пародонтита. У больных практически отсутствовала кровоточивость при зондировании зубо-десневого желобка и подвижность зубов; десна была бледно-розового цвета, плотно прилегала к зубам; пародонтальные карманы не определяли или они были небольшой глубины и без гнойного отделяемого.

В крови больных после лечения препаратами железа выявлены выраженные изменения показателей функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов в направлении их нормализации. При сравнении с данными, полученными до начала лечения, установлено, что активность миелопероксидазы возросла в 9,8 раза (p<0,001), активность НАДФН-оксидазы также увеличилась в 3,1 раза (p<0,001). По сравнению с показателями

контрольной группы активность миелопероксидазы оставалась сниженной в 1,4 раза ($p<0,01$), активность НАДФН-оксидазы была повышена в 1,2 раза ($p<0,01$). Эти различия были аналогичны тем, которые установлены после лечения больных пародонтитом без железодефицитной анемии.

Заключение

Цитохимическое исследование с применением компьютерной морфометрии клеточного изображения выявило выраженные изменения в показателях функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов крови больных.

Для воспалительных заболеваний пародонта характерно напряжение функционально-метаболического потенциала нейтрофильных лейкоцитов периферической крови, которое проявляется статистически достоверным изменением цитохимических показателей по сравнению с нейтрофилами здоровых людей. При хроническом генерализованном катаральном гингивите активность миелопероксидазы снижена в 1,4 раза, активность НАДФН-оксидазы повышена в 1,4 раза, активность щелочной фосфатазы повышена в 2,6 раза. При хроническом генерализованном пародонтите активность миелопероксидазы снижена в 4,9 раза, активность НАДФН-оксидазы повышена в 2,5 раза, активность щелочной фосфатазы повышена в 4,1 раза.

С наступлением ремиссии после традиционного пародонтологического лечения нормализация индексов оценки состояния тканей пародонта (PMA, PBI, CPITN и OHI-S) происходит параллельно с изменением функционально-метаболической активности нейтрофилов крови. У пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом цитохимические показатели статистически достоверно возвращаются к нормальным значениям. При хроническом генерализованном пародонтите возникает выраженная тенденция к их нормализации: активность миелопероксидазы повышается в 3,3 раза, активность НАДФН-оксидазы снижается в 2,0 раза, активность щелочной фосфатазы снижается в 2,2 раза.

Железодефицитная анемия существенно влияет на тяжесть поражения тканей пародонта. Об этом свидетельствует возрастание значения папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (PMA) на 29,1% у больных хроническим генерализованным катаральным гингивитом и на 13,2% у больных хроническим генерализованным пародонтитом, а также индекса кровоточивости (PBI) на 49,7% при гингивите и на 17,8% при пародонтите по сравнению с пациентами без железодефицитной анемии. В нейтрофилах больных активность миелопероксидазы ниже показателей здоровых людей в 2,1 раза при гингивите и в 13,7 раза при пародонтите. Активность НАДФН-оксидазы также снижена в 2,3 раза при гингивите и в 2,6 раза – при пародонтите. Активность щелочной фосфатазы при обоих заболеваниях

повышена соответственно в 2,2 раза и в 3,9 раза.

При сочетании воспалительных заболеваний пародонта с железодефицитной анемией ремиссия после традиционного стоматологического лечения не наступила у 79,4% больных хроническим генерализованным катаральным гингивитом и у 100% больных хроническим генерализованным пародонтитом. Показатели активности миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы в нейтрофилах крови у этих больных оставались на низком уровне, не обнаруживая статистически достоверных изменений в процессе лечения. Стойкая ремиссия возникла только после комплексного гематологического лечения препаратами железа с поддерживающей пародонтологической терапией. При этом активность миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы в нейтрофильных лейкоцитах статистически достоверно возросла и достигла уровня показателей у больных без железодефицитной анемии.

Особенностью патогенеза воспалительных заболеваний пародонта в сочетании с железодефицитной анемией является глубокая депрессия активности миелопероксидазы и НАДФН-оксидазы – железосодержащих компонентов внутриклеточных антибактериальных систем нейтрофильных лейкоцитов из-за дефицита железа в организме. Возникает сидеропеническая дисфункция нейтрофилов, которая характеризуется угнетением их фагоцитарной функции, обусловливает тяжесть течения воспалительных заболеваний пародонта и становится причиной неэффективности их лечения. Цитохимический маркер дисфункции – инверсия показателя активности НАДФН-оксидазы, то есть его снижение по сравнению с нейтрофилами здоровых людей в 2,3 раза при хроническом генерализованном катаральном гингивите и в 2,6 раза – при хроническом генерализованном пародонтите.

Тактика лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта в сочетании с железодефицитной анемией для профилактики тяжёлых осложнений должна быть направлена на раннее выявление дефицита железа в организме и на коррекцию сидеропенической дисфункции нейтрофильных лейкоцитов. Инверсия цитохимического показателя активности НАДФН-оксидазы в нейтрофилах является признаком, который может быть предиктором неэффективности изолированного пародонтологического лечения, необходимости гематологического обследования и комплексной терапии этих больных.

Список литературы

1. Дворецкий Л.И. Железодефицитная анемия в реальной клинической практике // Фарматека. – 2012. – № 2. – С. 78-84.

2. Нестерова И.В. Клинико-диагностическое значение NBT–теста при стафилококковых пневмониях у детей // Педиатрия. – 1980. – № 5. – С. 50.

3. Сарсания С.И. Нюансы диагностики и лечения железодефицитной анемии / С.И. Сарсания, А.Л. Тихомиров, Е.В. Ночевкин [и др.] // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10. – № 2-3. – С. 23-34.

4. Славинский А.А. Локализация компонентов антибактериальных систем в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов: компьютерный анализ клеточного изображения // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 9. – С. 106-107.

5. Стражев С.В. Анализ эффективности лечения железодефицитной анемии при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и женской репродуктивной системы / С.В. Стражев, О.Е. Луговая // Гематология и трансфузиология. - 2010. - № 3. - С. 20-24.

6. Усова Н.Ю. Факторы риска развития железодефицитной анемии / Н.Ю. Усова, Н.М. Балабина // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 103. – № 4. – С. 7-10.

7. Шафран М.Г. К цитохимическому определению пероксидазной активности в клетках крови и костного мозга / М.Г. Шафран, В.Е. Пигаревский, Э.Н. Блинкова // Цитология. – 1979. – Т. 21, № 10. – С. 1206–1208.

8. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes // Immunity. – 2010. – Vol. 33. – № 5. – P. 657-670.

9. Celeste R.K. The relationship between levels of income inequality and dental caries and periodontal diseases / R.K. Celeste, J. Fritzell, P. Nadanovsky // Cad. Saude Publica. – 2011. – Vol. 27. – № 6. – P. 1111-1120.

10. Chakraborty S. Impact of iron deficiency anemia on chronic periodontitis and superoxide dismutase activity: a cross-sectional study / S. Chakraborty, S. Tewari, R.K. Sharma [et al.] // J. Periodontal. Implant Sci. – 2014. – Vol. 44. – № 2. – P. 57-64.

11. Laudenbach J.M. Common dental and periodontal diseases: evaluation and management / J.M. Laudenbach, Z. Simon // Med. Clin. North Am. – 2014. – Vol. 98. – № 6. – P. 1239-1260.

12. Miller J.L. Iron deficiency anemia: a common and curable disease // Cold Spring Harb Perspect. Med. – 2013. – Vol. 3. – № 7.

13. Yazdani M. Association between neutrophil geletinase-associated lipocalin and iron deficiency anemia in children on chronic dialysis / M. Yazdani, A. Merrikhi, Z.N. Beni [et al.] // J. Res. Med. Sci. – 2014. – Vol. 19. – № 7. – P. 624-628.

14. Yoshimura K. Mechanisms for bone resorption induced by periodontal pathogens / K. Yoshimura, Y. Miyamoto, R. Kamijo // Clin. Calcium. – 2012. – Vol. 22 . – № 11. – P. 1685-1692.