

УДК 616.314+089,843.5

© О. А. Непрелюк, С. И. Жадько, П. Н. Колбасин, 2010.

ЦИТОХИМИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОРТОПЕДИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ УСТАНОВКИ ИМПЛАНТАТОВ НА ФОНЕ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА И 12 ПЕРСТНОЙ КИШКИ

О. А. Непрелюк, С. И. Жадько, П. Н. Колбасин

Кафедра ортопедической стоматологии (заведующий кафедрой - профессор С.И. Жадько), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», г. Симферополь

CYTOCHEMICAL MONITORING OF PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS IN ORTHOPEDIC PATIENTS AFTER INSTALLATION OF IMPLANTS IN THE PRESENCE OF GASTRIC ULCER AND DUODENAL ULCER

O. A. Neprelyuk, S. I. Zhadko, P. N. Kolbasin

SUMMARY

Cytochemical study of peripheral blood neutrophils from the patients with orthopedic implants after installation allowed to come to the conclusion that presence of background somatic pathology (peptic ulcer and duodenal ulcer) appears in more manifesting changes of cytochemical activity of peripheral blood neutrophils and reduces repair processes. The usage of immunomodulator «Erbisol» reinforces the processes of regeneration after installation of implants.

ЦИТОХІМІЧНИЙ МОНИТОРИНГ НЕЙТРОФІЛІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ОРТОПЕДИЧНИХ ХВОРИХ ПІСЛЯ УСТАНОВКИ ІМПЛАНТАТІВ НА ТЛІ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ ШЛУНКА І ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ

О. А. Непрелюк, С. І. Жадько, П. М. Колбасін

РЕЗЮМЕ

Цитохімічні дослідження нейтрофілів периферичної крові у ортопедичних хворих після встановлення імплантатів дозволило прийти до висновку, що наявність у ортопедичних хворих фонові соматичної патології (виразкова хвороба шлунка і 12-ти палої кишки) проявляється більш маніфестними змінами цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові і значно знижує процеси репарації. Застосування імуномодулятора «ЕРБІСОЛ» посилює процеси репарації після установки імплантатів.

Ключевые слова: нейтрофилы, имплантаты, цитохимия, язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки.

В дентальной имплантологии несмотря на значительные успехи и научные достижения, по прежнему остаются актуальными вопросы, связанные с профилактикой развития воспалительных осложнений в тканевом комплексе опорных зон ортопедических конструкций [6]. Клинический успех ортопедического лечения пациентов с применением дентальных имплантатов возможен лишь при условии эффективной реабилитации окружающих тканевых структур и зависит в частности от морфофункционального состояния и реактивности опорных мягких тканей [6,7].

Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что несмотря на большое число работ теоретического и экспериментально-клинического характера недостаточно изученными остаются воп-

росы, связанные с развитием ранних воспалительных осложнений в периимплантатных мягких тканях опорных зон ортопедических конструкций и их влиянием на сроки начала протезирования, особенно у пациентов с фоновой соматической патологией [6,7]. По данным ряда авторов, среди поражений внутренних органов именно патология желудочно-кишечного тракта вызывает наибольшие изменения в полости рта, и не только потому, что эти заболевания чаще диагностируются среди населения, но и из-за тесной анатомо-функциональной связи их с полостью рта [1,2].

По данным многочисленных исследований изменения в желудочно-кишечном тракте являются стартовыми в возникновении стоматологических заболеваний. Вместе с тем и изменения полости рта, в

свою очередь также могут приводить к органическим изменениям в системе желудочно-кишечного тракта [3,4,5].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования явилось проведение цитохимического мониторинга нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки внутрикостных имплантатов на фоне язвенной болезни желудка и 12-ти перстной кишки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом нашего исследования служила периферическая кровь пациентов, которым была проведена дентальная имплантация. Для проведения исследования было обследовано 87 пациентов (37 женщин и 50 мужчин) в возрасте от 21- 64 лет. Подбирая пациентов, мы учитывали общее состояние организма, перенесенные и сопутствующие заболевания, анатомо- физиологическое состояние полости рта. Пациенты были разделены на 3 группы: в 1-ю группу вошли ортопедические больные без соматической патологии – 20 пациентов; во 2 группу – ортопедические больные с соматической патологией (язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки) – 27 пациентов; 3 группу составили 25 пациентов, требующих ортопедическую помощь и с фоновой соматической патологией, которым в течении первых 30 суток после имплантации через день в/м вводился иммуномодулятор «Эрбисол» по 1 мл. Кроме того, обследовано 15 практически здоровых лиц (норма), не страдающих дентальной патологией- контрольная группа. Ортопедическое лечение проводили по двухэтапной методике имплантации винтовыми эндооссальными имплантатами «Уимпл».

При проведении исследования мы использовали препарат «Эрбисол»- иммуномодулятор, репарат, адаптоген. Этот препарат содержит низкомолекулярные «сигнальные» фрагменты мембранных гликопротеинов, выполняющих функцию «маркеров физиологического состояния клеток», которые при патологических нарушениях гомеостаза активируют иммунную систему. Препараты класса Эрбисол воздействуют только на разбалансированные системы, пораженные органы и ткани и остаются практически индифферентными для здорового организма, не вызывая побочных реакций. Забор периферической крови для исследования проводился на 1,3,6,12, месяцев после установки имплантатов.

Несомненный интерес представляло изучение активности дегидрогеназ- ферментов цикла Кребса и гликолиза: сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), значения которых рассматривались нами как неспецифический показатель повреждения клеток. Общеизвестно, что сукцинатдегидрогеназа и лактатдегидрогеназа относятся к числу важнейших клеточных ферментов. Сукцинатдегидрогеназа прочно связана с внутренней митохондриальной мембраной клеток и катализирует реакцию, при

которой янтарная кислота (сукцинат) дегидрируется в фумаровую кислоту (фумарат). Лактатдегидрогеназа находится в цитолизе клетки и в анаэробных условиях катализирует реакцию восстановления пировиноградной кислоты (пироуват) в молочную (лактат), являющуюся конечным продуктом гликолиза. Поскольку цитохимические методы исследования указанных ферментов в клетках крови подробно описаны в литературе, то здесь указаны принципы их определения.

Дегидрогеназы – ферменты, которые отщепляют водород от соответствующего субстрата и переносят его на акцептор. Этот механизм действия используется в цитохимических методах, при которых в систему вводится индикатор, принимающий на себя водород. Индикатор при этом должен иметь окраску и выпадать в осадок. Для этих целей наиболее часто применяют водорастворимые соли тетразолия: неотетразольный хлорид (НТ), синий тетразолий (СТ), нитротетразольный синий (НСТ) и другие, которые под воздействием восстанавливающих веществ превращаются в водорастворимый окрашенный формазан, позволяющий установить внутриклеточную локализацию дегидрогеназ под световым микроскопом.

Сущность цитохимического метода изучения дегидрогеназ в клетках крови состоит в том, что последние должны помещаться в среду (либо подвергаться обработке), содержащую субстрат, кофермент, ингибитор ферментов, краситель. В указанной среде клетки крови инкубируются в течении 45-60 минут при температуре 37°C. Фермент СДГ не требует кофермента, так как образующийся продукт (фумарат) не тормозит реакцию, и, следовательно, не нужно вводить какой либо агент, связывающий его.

Оригинальная методика изучения активности дегидрогеназ в нейтрофилах крови предложена в работах [8], когда мазки клеток гепаринизированной крови делали после обработки соответствующими реактивами через час после инкубации. В наших исследованиях в качестве индикатора ферментного процесса использован нитротетразолий синий (НСТ), образующий при восстановлении в клетке мелкие гранулы формазана, окрашивающие цитоплазму от дымчато-серого до насыщенного синего цвета.

В работе использовали тонкие нативные мазки крови, высушенные на воздухе, которые после соответствующей обработки, инкубировали в течении 45 минут при температуре 37°C. Ядра клеток докрашивали раствором метиленового зеленого. Высушенные мазки микроскопировали под иммерсионным объективом на микроскопе МБИ-15. Приготовленные растворы реактивов в соответствующих концентрациях и объемах наносили на мазок следующей последовательности.

Определение активности ЛДГ. Растворы: цианида натрия, лактата натрия, НСТ, гемодез, никотинамидадениндинуклеотида (НАД). Последний готови-

Таблица 1

Цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки имплантатов на фоне язвенной болезни желудка и 12-ти перстной кишки (усл. ед.).

Группы наблюдений	Показатель	Сроки наблюдений (месяцы)			
		1	3	6	12
1 группа – Ортопедические больные без соматической патологии n=20	СДГ	1,53±0,05	1,39±0,07	1,65±0,04	1,81±0,06
	P	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	ЛДГ	2,65±0,14	2,71±0,17	2,51±0,10	2,34±0,13
	p	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
2 группа – Ортопедические больные с соматической патологией n=27	СДГ	1,50±0,03	1,34±0,05	1,42±0,04	1,64±0,07
	p	<0,05	<0,01	<0,05	>0,05
	ЛДГ	2,67±0,11	2,87±0,15	2,75±0,17	2,51±0,09
	p	<0,05	<0,01	<0,05	>0,05
3 группа – ортопедические больные с соматической патологией с применением «Эрбисола» n=25	СДГ	1,51±0,07	1,38±0,05	1,61±0,06	1,80±0,04
	p	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
	ЛДГ	2,66±0,16	2,75±0,13	2,59±0,14	2,42±0,12
	p	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
Контроль (здоровые) n=15	СДГ	1,85 ±0,06			
	ЛДГ	2,28±0,15			

Примечание: p- достоверность по отношению к контролю.

ли непосредственно перед применением. Отложение гранул формазана наблюдалось в местах локализации ЛДГ. Интенсивность окраски варьировала от дымчато-серого до интенсивного синего цвета. Ядра клеток были хорошо контурированы.

Определение активности СДГ. Растворы: НСТ, сукцинат натрия, фосфатного буфера. Отмечалась четкая локализация гранул формазана. Об активности СДГ судили по интенсивности отложения гранул формазана.

Для оценки активности ферментов в клетках крови применялась методика Astaldi[6] с вычислением среднего цитохимического показателя (СЦП) по формуле:

$$\text{СЦП} = \frac{(X \times 1) + (X \times 2) + (X \times 3) + (X \times 4)}{100}$$

где x - количество клеток из 100 просмотренных нейтрофилов в одном мазке с определенной степенью активности фермента;

1,2,3,4 – степень активности;

100 – число просмотренных нейтрофилов в одном мазке.

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

Весь полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с выведением критерия Стьюдента, достоверными считали показатели при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ цитохимических показателей в нейтрофилах периферической крови у ортопедических больных после установки имплантатов показал, что во всех 3-х группах наблюдений к 1-му месяцу наблюдалось статистически значимое по отношению к контролю ($p < 0,05$) снижение аэробного окисления и рост анаэробного гликолиза.

К 3-му месяцу наблюдений отмечалось значительное снижение аэробного окисления в нейтрофилах периферической крови во всех исследуемых группах, но наиболее манифестно во 2-ой группе, где СЦП показатель СДГ составил $1,34 \pm 0,05$ усл.ед., что было на 27,5% ниже контроля ($p < 0,01$), при этом со стороны активности ЛДГ (анаэробный гликолиз) наблюдалась обратная закономерность, он увеличивался на 25,9% ($p < 0,01$) и составил $2,87 \pm 0,15$ усл.ед.

К 6-му месяцу наблюдений у пациентов 1-ой группы (ортопедические больные без соматической патологии) и 3 группы (ортопедические больные с соматической патологией и применением иммуномодулятора «Эрбисола» наблюдалась нормализация цитохимической активности нейтрофилов, где они приобретали по отношению к контролю статистически не значимый характер ($p > 0,05$) (табл. 1).

Однако к этому сроку у пациентов 2 группы цитохимический дисбаланс оставался высоким и носил статистически значимый характер, а приближение цитохимических показателей к контролю в этой группе наблюдалось только к 12 месяцу наблюдений.

Проведенные исследования цитохимической активности нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки имплантатов показали, что сама установка имплантатов сопровождается снижением аэробного окисления и ростом анаэробного гликолиза. Наличие соматической патологии ведет к более выраженному и длительному цитохимическому дисбалансу.

ВЫВОДЫ

1. Установка имплантатов является травматичным и энергоемким процессом, о чем свидетельствует статистически значимое снижение аэробного окисления (СДГ) и рост анаэробного гликолиза (ЛДГ).

2. Наличие у ортопедических больных фоновой соматической патологии (язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки) проявляется более манифестными изменениями цитохимической активности нейтрофилов периферической крови, что значительно снижает процессы репарации.

3. Применение иммуномодулятора «Эрбисол» усиливает процессы репарации и ускоряет процессы адаптации после установки имплантатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артемьев Е.Н. Значение взаимозависимости внутренних и стоматологических заболеваний // Сов. Медицина.- 1968.- N. 10.- С. 16-20.
2. Банченко Г.В. Сочетанные заболевания слизистой оболочки полости рта и внутренних органов.- Москва: Медицина, 1979.- 190с.
3. Рыбаков А.И., Банченко Г.В. Заболевания слизистой оболочки полости рта.- Москва: Медицина, 1978.- 232с.
4. Винникова Н.И. Влияние хронического воспалительного процесса при пародонтозе на организм человека // Материалы научно-практической конференции врачей-стоматологов Северного Кавказа.- Махачкала.- 1975.- С. 85-87.
5. Семендяева М.Е., Алешина Т.В., Матвеев Г.Н., Заболотина О.А. Одонтогенные очаги как одна из причин заболеваний органов желудочно-кишечного тракта // Сочетанные гастроэнтерологические заболевания. Взаимосвязанные поражения органов ротовой полости и органов пищеварения (труды 27 конференции).- Смоленск.- 1999.- С. 183-186.
6. Матвеева А.И., Кулаков А.А. Некоторые аспекты осложнений при использовании зубных имплантатов // Сборник научных трудов.- Самара, 1992.- С. 114- 116.
7. Гветадзе Р.Ш., Матвеева А.И. Диагностика и прогнозирование функционального состояния тканей протезного ложа в дентальной имплантологии // Проблемы стоматологии и нейростоматологии.- М., 1999.- №2.- С.38-40.
8. Борисова М.А., Овчаренко Н.И., Шпак С.И. и др. Суправитальные способы цитохимического определения активности -глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в лейкоцитах периферической крови. Лабораторное дело. 1983. №9. С 8-10
9. Борисова М.А., Овчаренко Н.И., Спахов А.С. Новые Суправитальные способы цитохимического определения сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в клетках крови. Лабораторное дело. 1975. №12. С 723-725.