

УДК 577.15:612.377.5

## Цитохімічні критерії оцінки процесів адаптації після фіксації різних видів незнімних протезів з опорою на імплантати

О.Л. Ірза

*Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгіївського, Сімферополь***Ключові слова:** нейтрофіли, імплантати, різні види незнімних протезів.

В сучасності стоматологічної наукою і практикою накопичений значний досвід у ортопедичній реабілітації хворих за допомогою застосування дентальних імплантатів. Поряд з позитивними результатами імплантації спостерігаються і різні ускладнення при застосуванні цього методу [5]. На сьогоднішній день більшість дентальних імплантатів виготовляються з титану. При зростанні алергічних реакцій на різні метали і сплави металів, що застосовуються в стоматології, титан розглядається як вирішальна альтернатива. Завдяки чудовій біосумісності і неймовірній стабільності титану, цей метал звернув на себе увагу. Але, незважаючи на перераховані унікальні властивості, не можна виключити розвиток несприятливих електрохімічних процесів при використанні деяких стоматологічних сплавів в протезах на титанових імплантатах. У ротовій порожнині металеві імплантати можуть викликати електрохімічну реакцію. Ми не можемо розглядати порожнину рота окремо від всього організму, електрохімічні реакції між імплантатом і зубним протезом можуть приводити до дисбалансу цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові. Найважливішою проблемою стає фактор сумісності присутніх в порожнині рота металевих сплавів різних за складом та хімічною природою [1,2,3,4].

Метою нашого дослідження є вивчення цитохімічних показників ней-

трофілів периферичної крові як критерію оцінки процесів адаптації при протезуванні різними видами незнімних конструкцій з опорами на імплантати.

### Матеріал і методи

Матеріалом нашого дослідження була периферична кров пацієнтів, яким була проведена дентальна імплантація по двухетапній методиці з подальшим протезуванням різними незнімними конструкціями. Для проведення дослідження було обстежено 86 чоловік (42 жінки та 44 чоловіки) у віці 21-54 років. Підбираючи пацієнтів, ми враховували загальний стан організму, перенесені і супутні захворювання, анатомо-фізіологічні особливості порожнини рота. Пацієнти були розділені на 2 групи: до 1 групи увійшли 63 пацієнти, яким після проведеної імплантації були зафіксовані металокерамічні протези на основі кобальтохромового сплаву (КХС) «Дуцералой». У другу групу - 23 людини, пацієнти, яким при протезуванні були виготовлені безметалеві керамічні протези з опорою на імплантати. У кожній групі було виділено по 2 підгрупи: підгрупа А - без додаткових терапевтичних заходів; підгрупа Б - пацієнтам після фіксації незнімної конструкції щодня в/м сідничний м'яз вводився препарат «Ербісол» по 1 мл, курсом 10 днів.

Крім того, було обстежено 15 практично здорових осіб (норма), не

страждаючих дентальною патологією - контрольна група.

Ортопедичне лікування проводили по двухетапній методиці імплантації гвинтовими ендосальними імплантатами «Уімпл» з подальшим протезуванням різними незнімними конструкціями.

При проведенні дослідження ми використовували препарат «Ербісол» - імуномодулятор, репаративний і адаптоген. Цей препарат містить низькомолекулярні «сигнальні» фрагменти мембранних глікопротеїнів, що виконують функцію «маркерів фізіологічного стану клітин», які при патологічних порушеннях гомеостазу активують імунну систему. Препарати класу Ербісол впливають лише на розбалансовані системи, уражені органи і тканини і залишаються практично індиферентними для здорового організму, не викликаючи побічних реакцій.

Забір периферичної крові для дослідження проводився на 1,2,3,4,5,6 місяцях після протезування. Безперечний інтерес викликало вивчення активності дегідрогеназ - ферментів циклу Кребса і гліколізу: сукцінатдегідрогенази (СДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ), значення, яких розглядалися нами як неспецифічний показник пошкодження клітин. Загальновідомо, що сукцінатдегідрогеназа і лактатдегідрогеназа належать до найважливіших клітинних ферментів. Сукцінатдегідрогеназа міцно пов'язана з внутрішньою мітохондральною

Цитохімічні показники нейтрофілів периферичної крові хворих з різними видами незнімних протезів з опорою на імпланти (ум. од.)

Групи спостережень	Показник	Терміни спостережень (місяці)					
		1	2	3	4	5	6
<b>1 група – металокерамічні протези n=63</b> <b>А підгрупа – без застосування Ербісола n=31</b> <b>Б підгрупа – с застосуванням Ербісола n=32</b>	СДГ	1,54±0,04 p>0,05	1,28±0,06 p<0,05	1,12±0,03 p<0,01	1,18±0,07 p<0,01	1,31±0,08 p<0,05	1,49±0,05 p>0,05
	ЛДГ	2,26±0,12	2,51±0,10	2,77±0,11	2,81±0,13	2,65±0,12	2,43±0,10
	СДГ	1,53±0,07 p>0,05	1,25±0,05 p<0,05	1,19±0,04 p<0,01	1,34±0,06 p<0,05	1,54±0,07 p>0,05	1,60±0,06 p>0,05
	ЛДГ	2,28±0,12	2,25±0,11	2,71±0,13	2,63±0,10	2,41±0,12	2,29±0,12
<b>2 група – безметалеві керамічні протези n=23</b> <b>А підгрупа – без застосування Ербісола n=11</b> <b>Б підгрупа – с застосуванням Ербісола n=12</b>	СДГ	1,56±0,05 p>0,05	1,33±0,08 p<0,05	1,25±0,07 p<0,05	1,45±0,09 p>0,05	1,59±0,05 p>0,05	1,62±0,06 p>0,05
	ЛДГ	2,25±0,10	2,53±0,12	2,62±0,13	2,43±0,14	2,25±0,10	2,18±0,11
	СДГ	1,53±0,04 p>0,05	1,26±0,08 p<0,05	1,39±0,07 p>0,05	1,55±0,09 p>0,05	1,62±0,05 p>0,05	1,64±0,04 p>0,05
	ЛДГ	2,22±0,12 p>0,05	2,49±0,13 p<0,05	2,44±0,14 p>0,05	2,32±0,09 p>0,05	2,19±0,11 p>0,05	2,15±0,10 p>0,05
<b>Контроль n=15</b>	СДГ	1,65±0,07					
	ЛДГ	2,14±0,11					

p- достовірність по відношенню до контролю

мембраною кліток і каталізує реакцію, при якій янтарна кислота (сукцинат) дегідратується у фумарову кислоту (фумарат). Лактатдегідрогеназа знаходиться в цитолізі клітки і в анаеробних умовах каталізує реакцію відновлення пірвіноградної кислоти (піроуват) в молочну (лактат), що є кінцевим продуктом гліколізу.

Оскільки цитохімічні методи дослідження вказаних ферментів в клітинах крові детально описані в літературі, то тут вказані принципи їх визначення. Дегідрогенази - ферменти, які відщеплюють водень від відповідного субстрата і переносять його на акцептор. Цей механізм дії використовується в цитохімічних методах, при яких у систему вводиться індикатор, що переймає на себе водень. Індикатор при цьому повинен мати забарвлення і випадати в осад. Для цих цілей найчастіше застосовують водорозчинні солі тетразолію: неотетразольний хлорид (НТ), синій тетразолій (СТ), нітротетразольний синій (НСТ) та інші, які під дією оновлюючих речовин перетворюються на водорозчинний забарвлений формазан, що дозволяє встановити внутріклітинну локалізацію дегідрогенази під світловим мікроскопом. Суть цитохімічного методу вивчення дегідрогенази в клітинах крові полягає в тому, що останні повинні поміщатися в середу (або надаватися обробці), що містить субстрат, кофермент, інгібітор ферментів, фарбник. У вказаному середовищі клітки крові інкубуються

протягом 45-60 хвилин при температурі 37°C. Фермент СДГ не вимагає кофермента, оскільки продукт (фумарат), що утворюється, не гальмує реакцію, і, отже, не потрібно вводити агент, що зв'язує його.

Оригінальна методика вивчення активності дегідрогеназ в нейтрофілах крові запропонована в роботах [7,8], коли мазки клітин гепаринізованно крові робили після обробки відповідними реактивами за годину після інкубації. У наших дослідженнях як індикатор ферментного процесу використаний нітротетразольний синій (НТС), створюючий при відновленні в клітці дрібні гранули формазана, що забарвлюють цитоплазму від димчасто-сірого до насиченого синього кольору. У роботі використовували тонкі нативні мазки крові, висушені на повітрі, які після відповідної обробки, інкубували протягом 45 хвилин при температурі 37°C. Ядра клітин дофарбовували розчином метиленового зеленого. Висушені мазання мікроскопіровали з імерсійним об'єктивом на мікроскопі МБ1-15. Приготовані розчини реактивів у відповідних концентраціях і об'ємах наносили на мазок наступної послідовності.

Визначення активності ЛДГ, Розчини: ціаниду натрію, лактату натрію, НСТ, гемодез, нікотінамідаденіндинуклеотіда (НАД). Останній готували безпосередньо перед вживанням.

Відкладення гранул формазана спостерігалось в місцях локалізації ЛДГ. Інтенсивність забарвлення варіювала від димчасто-сірого до інтенсивного синього кольору. Ядра клітин добре контуровали.

Визначення активності СДГ. Розчини: НСТ, сукцинату натрію, фосфатного буфера. Спостерігалась чітка локалізація гранул формазана. Про активність СДГ судили по інтенсивності відкладення гранул формазана. Для оцінки активності ферментів в клітинах крові застосовувалася методика Astaldi [6] з обчисленням середнього

$$\text{СЦП} = \frac{(x * 1) + (x * 2) + (x * 3) + (x * 4)}{1000}$$

цитохімічного показника (СЦП) за формулою:

Де x - кількість клітин зі 100 переглянутих нейтрофілів в одному мазку з з певною мірою активності ферменту;

1,2,3,4 - міра активності;

100 - число переглянутих нейтрофілів в одному мазку.

При цьому виділяли чотири міри активності (4ст - нейтрофіл повністю покритий гранулами формазана; 3ст -  $\frac{3}{4}$  активності; 2 ст -  $\frac{1}{2}$  активності і 1ст -  $\frac{1}{2}$  активності). Весь отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з виведенням критерію Ст'юдента, достовірними вважали показники при p<0,05.

## Результати дослідження і їх обговорення

Аналіз цитохімічних показників в нейтрофілах периферичної крові у ортопедичних хворих з використанням різних видів незнімних протезів з опорою на імплантати показав, що в 1 і 2 групах спостережень до 1 місяця спостерігалися статистично не значимі ( $p > 0,05$ ) зниження аеробного окислення і зростання анаеробного гліколізу по відношенню до контролю.

До 2 місяця спостерігались значне зниження аеробного окислення у всіх групах (показники СДГ в групах: 1А – на 22,4%, 1Б – на 24,2%, 2А – на 19,4%, 2Б – на 23,6%) по відношенню до контролю, і збільшення показників активності ЛДГ, що свідчить про зростання анаеробного гліколізу, в 1А – на 17,3%, в 1Б – на 17,7%, в 2А – на 18,2%, в 2Б – на 16,3% ( $p < 0,05$ ).

До 3 місяця спостерігались прогресуючі зміни ферментативної активності у всіх групах спостережень, особливо виражені в 1А групі. Так, активність СДГ в 1групі А підгрупі складала  $1,12 \pm 0,03$  ум.од. ( $p < 0,01$ ), що на 32,1% менше норми; а активність ЛДГ в цій підгрупі складала  $2,77 \pm 0,11$  ум.од., що на 29,4% вище за контроль, таблиця 1.

До 4 місяця після протезування в 1 групі показники ферментативної активності як і раніше значно відрізнялися від контролю. В той же час показники в 2 групі, як А так і Б, набули статистично незначного характеру

( $p > 0,05$ ).

У подальші 5-6 місяців спостережень цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові в групах спостережень наближалися до показників норми.

Проведене дослідження цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові у ортопедичних хворих з різними видами незнімних протезів з опорою на імплантати показало, що після фіксації незнімних протезів, незалежно від їх виду, спостерігається зниження аеробного окислення і зростання анаеробного гліколізу. Найбільш швидке відновлення показників ферментативної активності спостерігалося в 2 групі, де використовувалися безметалеві керамічні протези, до 3-4 місяця спостережень. Вживання препарату Ербісол дозволило значно скоротити терміни адаптації після проведеного протезування у всіх досліджуваних групах.

## Висновки

1.Проведення ортопедичного лікування незнімними протезами з опорою на титанові імплантати приводить до зміни цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові: зниженню активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) і зростанню активності лактатдегідрогенази (ЛДГ).

2.Терміни адаптації після проведеного протезування різні в групах, які були досліджені: мінімальні - при використанні безметалевих керамічних протезів (3-4 місяць), при вико-

ристанні металокерамічних протезів - 5-6 місяців.

3. Вживання імуномодулятора Ербісол значно скорочує терміни адаптації організму після протезування.

## Література

1. В.Н. Олегова, М.Р. Филонов и др. Особенности поведения стоматологических сплавов при протезировании на титановых имплантатах. «Стоматология» 2007 № 6 С 48-51.
2. Малик М.В., Урусов К.Х. Сравнительная оценка разности электрохимических потенциалов у пациентов с конструкциями из однородных и разнородных сплавов. «Dentist Kazakhstan» 2007. № 1(5) С 129-130.
3. К.А. Лебедев, Ю.М. Максимовский и др. Принципы определения гальванических токов в полости рта и их клиническое обоснование. «Стоматология» 2007. № 3 С 36-39.
4. Козин В.Н., Леонтьев В.К. Использование стоматологических сплавов с минимальным риском возникновения непереносимости. В сб.: Тезисы и доклады 11 международной конференции. М. ИМЕДИС 2006
5. Перова М.А. Клиническое и теоретическое обоснование комплексной программы повышения эффективности дентальной имплантологии. Дис. д-ра мед. наук МПТ 1999- 400С.
6. Astaldi G., Verga L. The glycogen content of the cells of lymphatic leukemia. Acta haematol. 1987. V 17. № 3 P 129-136.
7. Борисова М.А., Овчаренко Н.П., Шпак С.П. и др. Суправитальные способы цитохимического определения активности а-глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозо-6- фосфатдегидрогеназы в лейкоцитах периферической крови. Лабораторное дело. 1983. № 9. С 8-10.
8. Борисова М.А., Овчаренко Н.П., Спаськов А.С. Новые суправитальные способы цитохимического определения сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в клетках крови. Лабораторное дело. 1975. № 12. С 723-725.

## Цитохимические критерии оценки процессов адаптации после фиксации различных видов несъемных протезов с опорой на имплантаты.

О.Л. Ирза

Цитохимическое исследование нейтрофилов в периферической крови ортопедических больных с различными видами несъемных протезов с опорой на имплантаты позволило прийти к выводу, что ферментативный баланс у пациентов с безметалловыми керамическими протезами нормализуется к 3-4 месяцу после протезирования; а у пациентов с металлокерамическими протезами – к 5-6 месяцам. Применение препарата Эрбисол ускоряет процессы адаптации.

## The cytochemical criteria appreciating of adaptation processes after fixing different types dentures set on implants.

O.L. Irza

Cytochemical analysis of neutrophils in the peripheral blood of orthopedic patient with using different types dentures set on implants us to make a conclusion, that the enzyme balance normalization from patient what used ceramic dentures till 3-4 months compare to patients who used metaloceramic dentures - till 5-6 months. «Erbisol» considerably improves the adaptation of organism.