

УДК: 616.314+089;843.5

Показатели цитохимического спектра нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки дентальных имплантатов на фоне никотиновой интоксикации

С.И. Жадько, Ф.И. Герасименко, П.Н. Колбасин

*Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь***Ключевые слова:** нейтрофилы, имплантаты, цитохимия, никотиновая интоксикация.

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 [4]. 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 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 вопросы, 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 хронической никотиновой интоксикацией [6,7].

В стоматологии курение ухудшает заживление после проведения операций на слизистых и десне. Заживление тканей после кюретажа и лоскутных манипуляций у курильщиков протекает значительно хуже, чем у некурящих. У курящих отмечают повышенное скопление зубного налета, более

высокую вероятность развития гингивита и пародонтита, потери зубов, а также, более выраженную резорбцию альвеолярного отростка. Курение вызывает вазоконстрикцию артериол, что снижает кровоснабжение. Токсичные побочные продукты курения табака, например, никотин, монооксид углерода и цианид водорода, являются факторами, подавляющими заживление.

Данные, полученные при изучении лечения ортопедических больных с никотиновой зависимостью методом дентальной имплантации, могут быть основой для возможности снижения вероятности развития осложнений до уровня некурящих при отказе от курения.

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования явилось проведение цитохимического мониторинга нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки внутрикостных имплантатов на фоне никотиновой интоксикации.

Материал и методы

Материалом нашего исследования служила периферическая кровь пациентов, которым была проведена дентальная имплантация. Для проведения исследования было обследовано 98 пациентов (17 женщин и 81 мужчина) 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 никотиновой интоксикации — 25 пациентов; во 2 группу - ортопедические больные с никотиновой интоксикацией — 32 пациентов; 3 группу составили 35 пациентов, требующих ортопедическую помощь и с никотиновой интоксикацией, которым в течение первых 30 суток после имплантации через день в/м вводился иммуномодулятор «Эрбисол» по 1 мл. Кроме того, обследовано 16 практически здоровых лиц (норма), не страдающих дентальной патологией и не курящая - 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, месяцах после установки имплантатов.

Несомненный интерес представляло изучение активности дегидрогеназ-ферментов цикла Кребса и гликолиза: сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), значение 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 цитоллизе клетки и в анаэробных условиях катализирует реакцию восстановления пировиноградной кислоты (пировуват) 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 те-

тразолия: 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 течение 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 течение 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, никотина-мидадениндинуклеотида (НАД). Последний готовили непосредственно перед применением. Отложение гранул формазана наблюдалось в местах локализации ЛДГ. Интенсивность окраски варьировала от дымчато-серого до интенсивного синего цвета.

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

Табл. 1

Цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных после установки имплантатов на фоне никотиновой интоксикации (усл. ед.).

Группы наблюдений	Показатель	Сроки наблюдений (месяцы)		
		1	3	6
1 группа - Ортопедические больные без никотиновой интоксикации, n=25	СДГ	1,53±0,05	1,59±0,07	1,81±0,04
	Р	<0,05	>0,05	>0,05
	ЛДГ	2,65±0,14	2,61±0,17	2,34±0,10
	Р	<0,05	>0,05	>0,05
2 группа - Ортопедические больные с никотиновой интоксикацией, n=32	СДГ	1,50±0,03	1,34±0,05	1,42±0,04
	Р	<0,05	<0,01	<0,05
	ЛДГ	2,67±0,11	2,87±0,15	2,75±0,17
	Р	<0,05	<0,01	<0,05
3 группа - Ортопедические больные с никотиновой интоксикацией с применением «Эрбисола» n=25	СДГ	1,51±0,07	1,58±0,05	1,80±0,06
	Р	<0,05	>0,05	>0,05
	ЛДГ	2,66±0,16	2,60±0,13	2,42±0,14
	Р	<0,05	>0,05	>0,05
Контроль (здоровые) n=16	СДГ	1,85±0,06		
	ЛДГ	2,28±0,15		

Примечание: р- достоверность по отношению к контролю.

нью 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 никотиновой интоксикации) и 3 группы (ортопедические больные с никотиновой интоксикацией и применением иммуномодулятора «Эрбисола» наблюдалась нормализация цитохимической активности нейтрофи-

лов, 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.

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 никотиновой интоксикации 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 патологии (никотиновая интоксикация) 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. Борисова М.А., Овчаренко Н.П., Шпак С.П. и др. Суправитальные способы цитохимического определения активности -глицерофосфатдегидро-геназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в лейкоцитах периферической крови. *Лабораторное дело*. 1983. №9. С 8-10
2. Борисова М.А., Овчаренко Н.П., Спахов А.С. Новые Суправитальные способы цитохимического определения

- сукцинатдегідрогеназы и лактатдегідрогеназы в клетках крови. Лабораторное дело. 1975. III. С. 723-725.
3. Бухманн Р. (Vichmann R.) Факторы риска в пародонтологии. Комплексная терапия заболеваний пародонта у пациентов, входящих в группу риска / Р. Бухманн // Новое в стоматологии. 2002. - №8 (108). - С. 10-13.
4. Гветадзе Р.Ш., Матвеева А.И. Диагностика и прогнозирование функционального состояния тканей протезного ложа в денальной имплантологии // Проблемы стоматологии и нейростоматологии.- М., 1999.-№2-С.38-40.
5. Гилева О. С. Влияние табака на ткани полости рта и биомеханические показатели / О.С. Гилева, Ю.А. Петрович // Стоматология. -1987. -№4.-С. 79-82.
6. Данилевский Н.Ф. Влияние табачного дыма на активность ферментов протеолиза и их ингибиторов ротовой жидкости человека / Н.Ф. Данилевский, Л.В. Пущенко // Стоматология. 1990. - №2. - С. 29-30.
7. Матвеева А.И., Кулаков А.А. Некоторые аспекты осложнений при использовании зубных имплантатов // Сборник научных трудов.- Самара, 1992.-С. 114-116.
8. Перов М.А. Разнообразие последствий табакокурения на слизистой оболочке рта и: красной кайме губ / М.А. Перов, О.В. Бородава; Центр пародонтологии и денальной имплантации и клиника «ОлдДент».- М., 2005. -21с.
9. Рыбаков А.И., Банченко Г.В. Заболевания слизистой оболочки полости рта.- Москва: Медицина, ~1978.-232с.

Цитохімічний моніторинг нейтрофілів периферійної крові у ортопедичних хворих після установки імплантів на тлі нікотинової інтоксикації

С.І. Жадько, П.І. Герасименко, П.М. Колбасін

Цитохімічні дослідження нейтрофілів периферичної крові у ортопедичних хворих після встановлення імплантів дозволило прийти до висновку, що наявність у ортопедичних хворих з нікотиновою інтоксикацією проявляється більш-менш маніфестними змінами цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові і значно знижує процеси репарації. Застосування імуномодулятора "ЕРБІСОЛ" посилює процеси репарації після установки імплантів.

Cytochemical monitoring of peripheral blood neutrophils in orthopedic patient after installation of implants in the presence of nicotine intoxication

S.I. Zhadko, P.I. Gerasymenko, P. N. Kolbasin

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 (nicotine intoxication) 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.