

УДК 577.15:612.313.1

# Цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови ортопедических больных при использовании направленной остеогенной стимуляции

В.А. Ткаченко, П.Н. Колбасин, О.В. Ткаченко, С.А. Бобкова, К.Г. Кушнир, С.К. Северинова

*Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь*

**Ключевые слова:** цитохимия, Коллапан-Л, ортопедия.

**Ш**ирокому внедрению в стоматологическую практику имплантантов препятствует ряд факторов, среди которых сложность проводимых операций, и, пожалуй, самое главное, биологическая несовместимость, которая определяет, в большей степени, риск возникновения осложнений. В последние годы появились работы [1, 3, 5, 6] в которых предлагается воздействовать не на имплантационный материал, а на реактивность организма, в частности, на способность тканей, окружающих имплантант, реагировать на него, как на родственный элемент. Такой подход, по мнению специалистов, рассматривается, как наиболее перспективный [8].

В качестве средств воздействия на окружающие ткани больше всего внимания уделяется остеотропным общепринятым препаратам (солям кальция, фосфора,

витаминам и др.) [7]. Однако эффективность этих препаратов не очень высока [4]. Поэтому продолжается поиск новых более эффективных лечебно-профилактических остеотропных средств.

Целью данной работы явилось изучение комплексного действия остеотропного препарата «Коллапан-Л» и иммуномодулятора «Эрбисола» у

пациентов с периимплантитами по данным мониторинга цитохимической активности периферической крови.

## Материал и методы исследований

Материалом исследования явилась периферическая кровь 22 больных с явлениями периимплантита, а также со сниженными процессами репарации, которым мы применяли комплексную остеогенную терапию, включаю-

щую внесение «Коллапана-Л» и парентеральное введение иммуномодулятора «Эрбисол» в дозе 1,0 1 раз в сутки в течение 10 дней.

«Коллапан-Л» (интермедиапатит, производства России) - биоактивный материал, представляющий собой однородную композицию особо чистого

гидроксипапатита и коллагена специальной обработки насыщенным антибиотиком линкомицином. «Коллапаном-Л» заполнялась полость, имеющая не менее трех стенок, порошок смачивался кровью в дефекте кости и закрывался мембраной.

Забор периферической крови производился на момент обращения, а также на 1, 3, 6 и 12 месяцы после использования остеогенных препаратов.

Несомненный интерес представляло изучение активности де- гидрогеназ, участвующих в окислительных процессах лактатде-

гидрогеназы (ЛДГ) и сукцинадегидрогеназы (СДГ).

ЛДГ является одним из основных ферментов гликолиза, катализирующих обратимую реакцию превращения пировиноградной кислоты в молочную, а СДГ является одним из ферментов цикла трикарбоновых кислот Кребса и участвует в реакции дегидрирования янтарной кислоты в фумаровую.

Дегидрогеназы - ферменты, которые отщепляют водород от соответствующего субстрата и переносят его на акцептор. Этот механизм действия используется в цитохимических методах, при кото-

рых 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. Единственный фермент СДГ из определяемых гистохимически не требует кофермента, так как образующийся продукт (фумарат) не тормозит реакцию, и, следовательно, не нужно вводить какой-либо агент, связывающий его. В указанных выше работах по определению активности дегидрогеназ использовались

минут при температуре 37° С. Ядра клеток докрашивали раствором метилового зеленого. Высушенные мазки микроскопировали с иммерсионным объективом на микроскопе МБИ-15.

Для оценки активности ферментов в клетках крови применялся морфометрический метод, с выведением среднего цитохимического показателя (СЦП) по следующей формуле:

$$\text{СЦП} = \frac{(X_1 \cdot 1) + (X_2 \cdot 2) + (X_3 \cdot 3) + (X_4 \cdot 4)}{100}$$

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 (4 ст. - нейтрофил полностью покрыт гранулами формазана; 3 ст. - 3/4 активности; 2 ст. - 1/2 активности и 1 ст. - 1/4 активности).

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

Табл. 1

**Цитохимические показатели нейтрофилов периферической крови ортопедических больных при использовании остеогенных препаратов (усл. ед.), n=22**

Показатель	На момент обращения	Сроки наблюдений (месяцы)			
		1	3	6	12
СДГ	1,42±0,05 p1<0,05	1,55±0,08 p1<0,05 p2>0,05	1,72±0,06 p1>0,05 p2<0,05	1,84±0,07 7 p1<0,05 p2>0,01	1,86±0,07 p1<0,05 p2>0,01
ЛДГ	2,80±0,10 p1<0,05	2,69±0,11 p1<0,05 p2>0,05	2,47±0,09 p1>0,05 p2>0,05	2,33±0,09 9 p1<0,05 p2>0,05	2,27±0,13 p1<0,05 p2>0,05
Контроль СДГ, ЛДГ n=18	1,88±0,010 2,26±0,14				

P<sub>1</sub>- достоверность по отношению к контролю.

P<sub>2</sub>- достоверность по отношению к показателю на момент обращения.

рых в систему вводится индикатор, принимающий на себя водород. Индикатор при этом должен менять окраску и выпадать в осадок, для этих целей наиболее часто применяют водорастворимые соли тетразолия-неотразолий хлорид (НТ), синий тетразолий (СТ), нитротетразолий синий (НСТ) и другие которые под действием восстанавливающих веществ превращаются в водорастворимый окрашенный формазан, позволяющий устанавливать внутриклеточную локализацию дегидрогеназ под световым микроскопом. Сущность цитохимического метода изучения дегидрогеназ в клет-

ках 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. Единственный фермент СДГ из определяемых гистохимически не требует кофермента, так как образующийся продукт (фумарат) не тормозит реакцию, и, следовательно, не нужно вводить какой-либо агент, связывающий его. В указанных выше работах по определению активности дегидрогеназ использовались

разные индикаторы с соответствующей окраской клеток крови и методы фиксации (высушивание на воздухе, выдерживание в 60% ацетоне и другие). В наших исследованиях в качестве индикатора ферментного процесса использован нитротетразолий синий (НСТ), образующий при восстановлении в клетке мелкие гранулы формазана и окрашивающий цитоплазму от серо-дымчатого до интенсивно-синего цвета. В работе использовали тонкие нативные мазки крови, высушенные на воздухе, которые после соответствующей обработки инкубировали в течение 45

## Результаты и обсуждение

Анализ цитохимических показателей нейтрофилов периферической крови у ортопедических больных с явлениями непереносимости к несъемным мостовидным протезам и периимплантита показал, что на момент обращения за стоматологической помощью отмечалось значительное снижение аэробного окисления, так, активность сукцинатдегидрогеназы составлял 1,42±0,05 усл. ед, что было на 24,5% (p1<0,05) ниже контроля и рост активности лактавдегидрогеназы, которая была выше контроля на 23,9% (p1<0,05). (Таблица 1).

После применения остеогенных препаратов к 1 месяцу наблюдений отмечался рост аэробного

окисления и снижение анаэробного гликолиза, так, показатели СДГ активности к этому сроку составили  $1,53 \pm 0,08$  усл. ед., а активности ЛДГ  $2,69 \pm 0,11$  усл. ед. К 3-6 месяцу наблюдений после применения остеогенных препаратов цитохимические характеристики в нейтрофилах периферической крови приближались к показателям контроля, приобретая при этом по отношению к данным контроля недостоверный характер ( $p > 0,05$ ), а по отношению к показателям цитохимической активности нейтрофилов периферической крови на момент обращения статистически выраженный характер ( $p < 0,05-0,01$ ).

Таким образом, проведенные исследования цитохимической активности дегидрогеназ в нейтрофилах периферической крови показали, что применение остеогенных препаратов снижает процессы воспаления к 1 месяцу наблюдений, а к 3-6 месяцу цитохимиче-

ская активность дегидрогеназ не отличается от контроля, что может свидетельствовать о закончившихся процессах репарации в ротовой полости.

### Литература

1. Абрамова Ж.П., Оксенденгелер Г.П. Челюск и противоокислительные вещества. — Л: Наука, 1985. -230с.
2. Берченко Г.Н с соавт. Активизация репаративного остеогенеза с помощью биоактивных резорбирующих материалов — кальций-фосфатной биокерамики и комплексного препарата Коллапан. //Ортопедия, травматология и протезирование. - 2000. - № 2. - С.96.
3. Григорьян А.С., Ялдунов В.П. Динамика структурных превращений аутотрансплантатов из теменной кости. //Стоматология, 2000. - № 6. -С.6-9.
4. Лик Р.Р. Використання імплантантів при замещенні дефектів зубних рядів. // Вісник стоматології. — 1997. -№4. — С.716-717.
5. Микроанатомическая организация регионарного лимфатического узла при дентальной имплантологии. //Российский стоматологический журнал.-2000,-№4-С. 11-14
6. Лосев Ф.Ф., Ширин А.Н. Эффективность направленной костной регенерации при си-

нусмертинге и несъемном протезировании. //Российский стоматологический журнал, - 2000. - № 1. - С. 40-41.

7. Мансур А., Левицкий А.П., Деню О.В. Влияние фитоадаптогенов на состояние костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти крыс. //Вісник стоматології. - 2002, - № 4. - С. 4-6.

8. Розуменко А.П. Разработка и обоснование способа профилактики атрофии альвеолярных гребней челюсти при протезировании с опорой на имплантит. /Автор. дис.... канд. мед. наук. - Одесса, 2005. - 22с.

## Цитохімічні показники нейтрофілів периферичної крові ортопедичних хворих при вживанні спрямованої остеогенної стимуляції

V.A. Tkachenko, P.M. Kolbasin, O.V. Tkachenko, S.A. Bobkova, K.G. Kushnir, S.K. Severinova

Вивчено вплив остеогенних препаратів (Коллапана-Л і Ербісола) у хворих на періімплантиту на цитохімічні показники крові. Встановлено позитивний ефект вивчаємих показників при вживанні комплексної остеогенної терапії.

Ключові слова: цитохімія, Коллапан-Л, ортопедія.

## The neutrophil cytochemical indicators in the peripheral blood of the orthopedic patients while using the direct osteogenic stimulation

V.A. Tkachenko, P.N. Kolbasyn, O.V. Tkachenko, S.A. Bobkova, K.G. Kushnir, S.K. Severinova

In the research it is revealed the affection of the osteogenic preparations (the Collapan-L and the Erbisol) of the patients with periimplantitis upon the cytochemical blood indicators. It was discovered the positive effect of the studied indicators while using the complex osteogenic stimulation.

Key words: cytochemistry, Collapan-L, orthopedics.