

средственной основой делеции участков хромосом. Учитывая возможные осложнения, ассоциированные с амальгамами и наличие альтернативных стоматологических препаратов, необходимо в схеме хирургического протокола пользоваться последними как императивом.

Список литературы

1. Боровский Е.В. Терапевтическая стоматология. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 408 с.

2. Трахтенберг И.М., Иванова Л.А. Тяжелые металлы и клеточные мембраны // Медицина труда и пром. экология. – 1999. – № 11. – С. 28-31.

3. Chiorazzi N., Rai K. R., Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia // N Engl. J. Med. – 2005. – V.8, №352. – С. 804-815.

4. Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E. Cancer statistics 2010 // CA Cancer J. Clin. – 2010. – V.5, № 60. – С. 277-300.

5. Gaidano G., Foà R., Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia // J. Clin. Invest. – 2012. – V.10, № 122. – С. 3432-3438.

УДК 616.716.1+617.52]-002.36:616.155.34

ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В ПРОГНОЗЕ ЧЕЛЮСТНОЙ АУГМЕНТАЦИИ

Цымбалов О.В., Евглевский А.А.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, e-mail: tsimbal_OV@mail.ru

Проведено клиническое и цитохимическое исследование нейтрофильных гранулоцитов (НГ) раневого экссудата у больных с флегмонами челюстно-лицевой области (ФЧЛО) благоприятного и пролонгированного постоперационного течения и у пациентов на этапах интраоральной аутогенной остеотрансплантации. У больных изучаемых групп с ФЧЛО выявлена принципиально различная динамика цитохимических показателей цитоплазмы и активности хроматина НГ. Разработан новый тканевый индекс НГ, позволяющий получить прогностический показатель постоперационного течения. Подтверждена и доказана целесообразность применения разработанного предиктора при оценке прогноза интраоральной аутогенной остеотрансплантации.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, флегмоны челюстно-лицевой области, остеотрансплантация, прогностические показатели

CYTOCHEMICAL ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PROGNOSIS OF AUTOGENIC OSTEOTRANSPLANTATION

Tsymbalov O.V., Evglevskij A.A.

Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: tsimbal_OV@mail.ru

Clinical and cytochemical research of neutrophilic granulocytes (NG) in the wound exudate is made in patients with maxillofacial phlegmons favorably and prolonged treated and in patients at the stage of intraoral autogenic osteotransplantation. In the group of patients with maxillofacial phlegmons a fundamentally different dynamics of cytochemical data in cytoplasm and NG chromatin activity is identified. A new tissue NG index is developed, allowing to get prognostic data of postoperative treatment. Advisability of the predictor is confirmed and proved in evaluation of prognosis of intraoral autogenic osteotransplantation.

Keywords: neutrophilic granulocytes, maxillofacial phlegmons, osteotransplantation, prognostic data

Современные технологии позволяют использовать различные конструктивные методы лечения с целью реконструкции скомпromетированного зубо-челюстного аппарата, как в части вторичной адентии, так и де-

фицита кости. Идеальным стандартом для ремоделирования челюстной кости, утраченной вследствие инволютивной атрофии, травмы или пародонтита, является комбинация аутогенной и аллогенной транспланта-

ции [1]. При небольших объемах ремоделирования наиболее часто в качестве донорской зоны используется подбородочный симфиз как наиболее оптимальная зона в гистологическом, анатомо - структурном и организационном отношении. Однако конечный результат остеорегенерации может быть не достигнут вследствие развития неадекватного воспалительного ответа. Одним из маркеров, отражающих потенциал неспецифической иммунологической защиты, является состояние нейтрофильных гранулоцитов (НГ) [3,5,6]. НГ первыми из иммунокомпетентных клеток мигрируют в очаг повреждения, независимо от его асептической или инфекционной природы, с предназначением распознавания, связывания и элиминации чужеродного антигена [4,8,9,10]. НГ являются не только клетками – "камикадзе". Они обладают полноценными иммунорегуляторными свойствами, способны к экспрессии генов и синтезу цитокинов с запуском при необходимости всего иммунологического механизма [4,9,10]. Интегральным показателем микробицидного и цитотоксического потенциала НГ может быть состояние ядерного хроматина НГ и уровень цитоплазматических полимеров. Снижение уровня оптической плотности ядерного хроматина свидетельствует о явлениях его деспирализации (реструктуризации), сопровождающихся ослаблением химических связей комплекса ДНК-гистон в ядрах клеток [7;8]. Подобные явления указывают на биологическую активацию хроматина, матричной активности ДНК, последующего белкового синтеза и в целом функциональной активности НГ. Однако, несмотря на ряд проведенных исследований [4;5], данная концепция в целом и применительно к челюстному остеогенезу *de novo* нуждается в дополнительных клинических фактах ее подтверждения.

Цель исследования: разработать предиктор раннего постоперационного течения остеотрансплантации путем изучения цитохимических особенностей НГ раневого экссудата у больных с благоприятным и пролон-

гированным течением флегмон челюстно-лицевой области и у пациентов, нуждающихся в костной трансплантации.

Материалы и методы исследования

Материалом служили мазки-отпечатки раневого экссудата у больных с флегмонами челюстно-лицевой области (1гр. – 60 пациентов) и крови из реципиентской зоны трансплантации (2гр. – 25 человек). Флегмоны челюстно-лицевой области (ФЧЛО), захватывающие 2-3 клетчаточных пространства, одонтогенной природы характеризовались среднетяжелым типичным неосложненным течением. Больные получали стандартное общее и местное противовоспалительное лечение, вскрытие гнойного очага осуществлялось традиционным подходом. Больные 1гр. дифференцировались на 2 подгруппы. Критерием разделения - благоприятное и пролонгированное течение - служил срок наложения вторичных швов (НВШ). 1.а.гр. составили 30 пациентов, НВШ которым проводили до 7 суток. 1.б.гр. (30 человек) - пациенты, НВШ у которых проводили в срок, превышающий 7 суток. Пациенты 2.гр. были соматически здоровы, без отягчающего анамнеза. Атрофия челюстной кости была обусловлена резорбцией альвеолярной кости. Локальный стоматологический статус предполагал санированную полость рта, отсутствие воспалительных явлений. Донорской зоной служил подбородочный симфиз. Из донорского трансплантата готовился расщепленный блок, который фиксировался титановыми винтами к реципиентной зоне. Отсутствие объемной конгруэнтности компенсировалось микстом из измельченной оставшейся губчатой кости и синтетического остеопластического материала "Osteon II" с величиной гранул 0,25 – 0,5 мкм. Операционная рана укрывалась биодеградируемой мембраной "Collagen membrane", которая адаптировалась к поверхности и иммобилизовалась. Костный дефект донорской зоны также возмещался "Osteon II" и закрывался резорбируемой мембраной "Collagen membrane". Для предотвращения натяжения слизисто-надкостничного лоскута последний мобилизовался путем рассечения надкостницы. Операционная рана реципиентной зоны ушивалась фторполимерной нитью – "Гортекс", донорская зона - ПГА. Забор цитологического материала у больных 1гр. проводили трижды – в момент вскрытия ФЧЛО, на третьи сутки от начала лечения и во время НВШ, а также в момент выкраивания слизисто-надкостничного лоскута в области реципиентной зоны. Клиническое наблюдение больных 2гр. в рамках проведения данного исследования проводилось ежедневно до снятия операционных швов и дискретно на всех этапах неоостеогенеза (рис. 1,2).

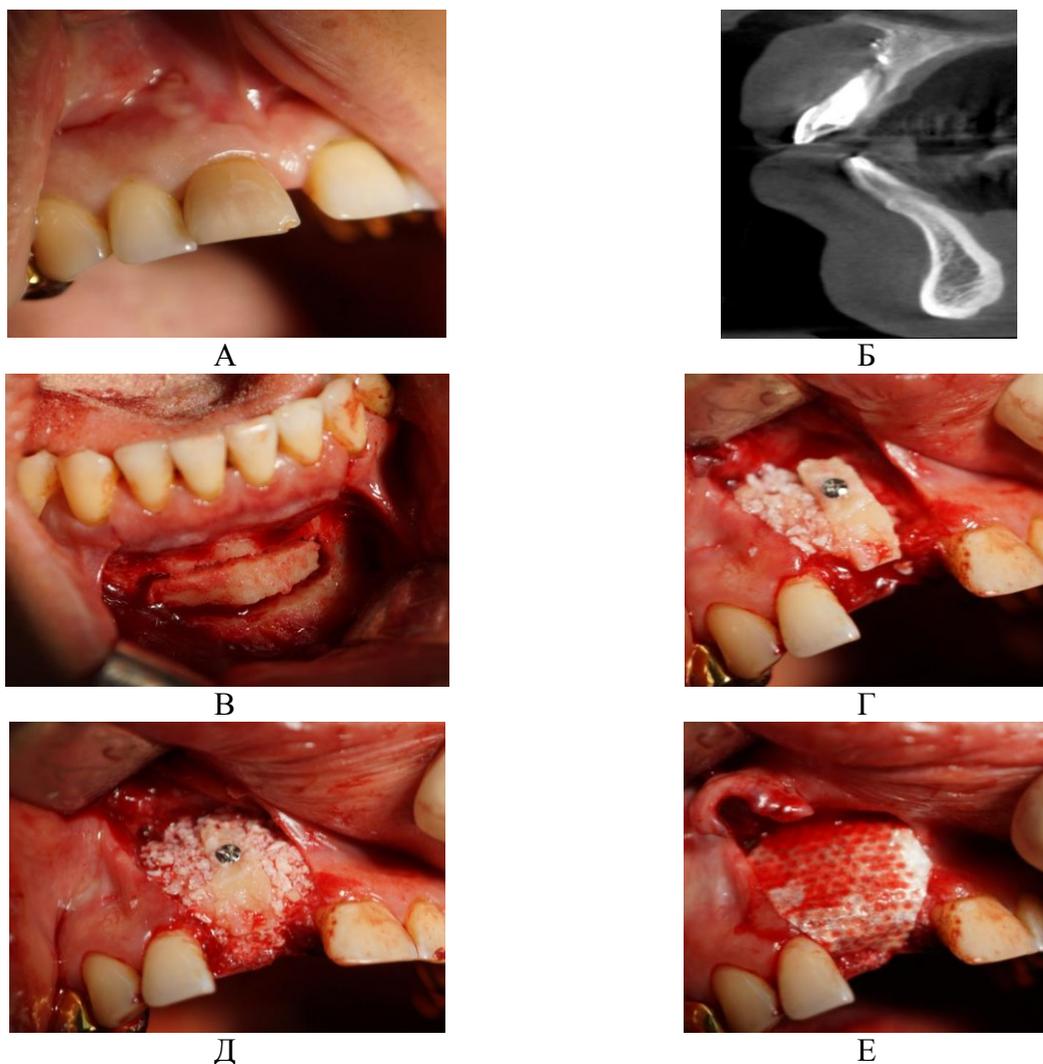


Рис. 1. Этапы ремоделирования кости в области 11 зуба с целью дентальной имплантации (А – 11 зуб неоднократно лечен, подвижность 2-3 степени, перкуссия безболезненна, в проекции верхушки корня зуба пародонтальный абсцесс со свищевым ходом; Б – на КЛКТ – деструкция кости в области корня 11 зуба, перфорация корня, остатки пломбировочного материала; В – скелетирована области симфиза, по протоколу подготовлен для забора костный донорский материал; Г – произведено расщепление костного блока, кортикальная часть которого фиксирована винтом к реципиентному месту; Д – микстом из аллогенной и аутогенной кости ремоделирована кость в области одномоментно удаленного 11 зуба; Е – использована техника направленной регенерации кости – ремоделированная область закрыта резорбируемой мембраной)

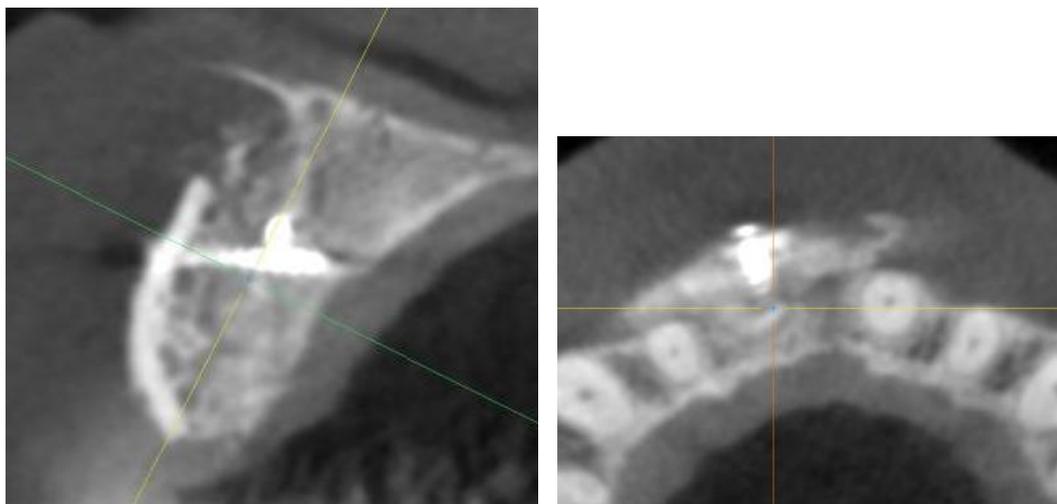


Рис. 2. КЛКТ зоны неоостеогенеза через 6 месяцев

Для определения уровня реструктуризации хроматина НГ мазки-отпечатки раневого экссудата и крови операционной раны наносили на обезжиренные предметные стекла, фиксировали ацетон-этанолом (соотношение 1:1) и параами 40% формалина по 15 и 5 мин соответственно, окрашивали толлуидиновым синим при рН-5,0, а также по Фельгену на ДНК, окрашенные отпечатки, подвергали абсорбционной фотометрии на установке ФЭМЛ-1а (ЛЮМО) методом двух площадей по Гарсиа (1969) [2] при длине волны 530 нм, катионный белок (КБ) выявляли по Пигаревскому В.Е. (1975), миелопероксидазу (МП) по Sato J. и Selkija С. (1928), гликоген (Г) по Pearse A.G.E. (1961). Изучение уровня оптической анизотропии проводили с помощью поляризационного микроскопа МП-8 полуколичественным методом Astaldi G. и Verga L. (1957), модифицированным для исследования клеточного ядра [3]. Полученные результаты цитохимических исследований у больных после проведенных костных трансплантаций хранились в зашифрованной форме до полного окончания периода остеогенеза. После чего общая когорта пациентов 2гр. была дифференцирована на 2 подгруппы. С оптимальным течением ранозаживляющего процесса – 2.а.гр., у которых операционные швы снимали в срок до 8 суток и 2.б.гр., у которых операционные швы снимали соответственно позже. После чего вскрывалась зашифрованность исследования, проводился анализ и обработка полученных данных. Все результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программы “Statistica-6”.

Результаты исследований и их обсуждение

Постоперационный период после вскрытия ФЧЛО был удовлетворительным в обеих группах. На следующие сутки после операции больные были активны, могли самостоятельно передвигаться по отделению и при-

нимать пищу, для них был характерен стабильный гемодинамический профиль. Однако в 1.а.гр. сроки сохранения инфильтрации, экссудации и время появления молодых грануляций в ране были значительно короче. Явные общие и местные клинические признаки стабилизации и купирования гнойного процесса, превалирование пролиферативных процессов в ране над альтеративными позволили уже через $5,84 \pm 0,72$ сут производить НВШ. В 1.б.гр. НВШ осуществлялось в среднем через $10,76 \pm 1,33$ суток ($p < 0,05$). Средняя длительность пребывания в стационаре больных 1.а. группы составила $102,7 \pm 2,42$ сут., 1.б.гр. - $17,6 \pm 1,83$ сут. ($p < 0,05$).

У больных 1.б.гр., у которых наблюдался более пролонгированный период до НВШ, по сравнению с 1.а.гр., было выявлено достоверное перманентное увеличение уровня цитоплазматических биополимеров и снижение активности хроматина ядра к 3 суткам курации и к НВШ. Активность структуризации хроматина НГ соответственно срокам исследования составила $1,31 \pm 0,09$; $1,23 \pm 0,06$ ($P < 0,05$) и $1,28 \pm 0,08$ усл.ед. ($P > 0,05$). При этом содержание КБ соответственно равнялось $1,7 \pm 0,05$; $2,11 \pm 0,03$; $2,98 \pm 0,4$ усл.ед. ($P < 0,01$) соответственно. Содержание Г в описанные сроки составило $1,51 \pm 0,12$; $2,03 \pm 0,07$; $2,82 \pm 0,05$ усл.ед. ($P < 0,01$) соответственно. Активность МП - $0,95 \pm 0,04$; $1,4 \pm 0,04$; $1,9 \pm 0,06$ усл.ед. ($P < 0,01$). Выявляемость ДНК НГ, окрашенных по Фельгену распределилась по срокам следующим обра-

зом: $0,81 \pm 0,001$; $0,67 \pm 0,002$ и $0,48 \pm 0,001$ усл.ед. ($P < 0,01$) соответственно.

Изучение уровня оптической плотности хроматина ядер НГ раневого экссудата у больных 1.а.гр. показало, что он снижался к 3 суткам наблюдения, вновь увеличивался к НВШ и составил. Содержание КБ - $1,4 \pm 0,11$; $0,87 \pm 0,14$; $1,96 \pm 0,18$ усл.ед. ($P < 0,01$). Содержание Г в описанные сроки равнялось $1,54 \pm 0,12$; $1,43 \pm 0,07$; $1,99 \pm 0,05$ усл.ед. ($P < 0,001$). Активность МП изменялась аналогичным образом и составила $0,91 \pm 0,08$; $0,6 \pm 0,05$; $1,6 \pm 0,06$ усл.ед. ($P < 0,001$). Выявляемость ДНК НГ, окрашенных по Фельгену распределилась по срокам следующим образом: на момент вскрытия она оказалась равной $0,78 \pm 0,01$ усл.ед., через трое суток она равнялась $0,96 \pm 0,002$, на момент НВШ - $0,87 \pm 0,001$ усл.ед. ($P < 0,001$).

Следовательно, у больных с явной тенденцией к быстрому выздоровлению уже на третьей сутки после вскрытия гнойного очага в цитоплазме НГ снижается содержание КБ, МП и Г, что отражает усиление их расхода, и существенная деспирализация хроматина НГ. Ослабление химических связей комплекса ДНК-гистон в ядрах НГ свидетельствует об усилении матричной активности ДНК с целью компенсации повышенного расхода белкового синтеза. Обнаруженные процессы, по-видимому, неразрывно связаны с функциональной активностью НГ и благоприятным исходом заболевания. В дальнейшем по мере снижения экссудативных явлений и очищения раны описанные эффекты становятся менее выраженными, однако, даже в период НВШ, НГ экссудата остаются частично активированными, о чем свидетельствует в большей степени окраска по Фельгену на ДНК. При этом величина содержания КБ, Г, активность МП восстанавливаются и даже превышают уровень, обнаруженный при вскрытии гнойного воспалительного очага. Пролонгированное разрешение гнойного процесса было ассоциировано со сниженной активностью ядерного хроматина, меньшим расходом КБ, МП и Г.

Разнонаправленная, но взаимосвязанная динамика цитохимических показателей ядра и цитоплазмы НГ у больных 1.а. и 1.б. групп, предопределила необходимость получения

представления об интегральной характеристике функциональной активности НГ раневого экссудата при ФЧЛО. С этой целью нами был разработан тканевый индекс нейтрофильных гранулоцитов (ТИНГ). Последний выражается в условных единицах и определен как отношение интенсивности окрашиваемости ДНК к сумме концентраций КБ, Г и активности МП, выявляемых при фотометрии в единицах оптической плотности: $ТИНГ = (ДНК / (КБ + МП + Г)) * 1000$, где 1000 - коэффициент, для удобства преобразующий тысячные доли в целые числа. Правомерность такого подхода к определению интегральной функциональной активности клеток закономерно вытекает из классического правила Гертвига - ядерно-цитоплазматического соотношения [17]. При использовании данного коэффициента интегральная активность НГ раневого экссудата у больных с благоприятным типом течения ФЧЛО, составила при вскрытии флегмоны 202,07 усл. ед.; на 3-и сутки - 331,03 усл. ед.; при НВШ - 156,76 усл. ед. У больных 1.б. группы - соответственно 193,78 усл. ед., 121,60 усл. ед. и 62,34 усл. ед. Следовательно, интегральная величина общей биологической активности тканевого пула НГ, отражающая активацию хроматина НГ и сопровождающаяся усилением расходования микробицидных компонентов их цитоплазмы и повышением расхода энергетических запасов клетки, может служить предиктором благоприятного прогноза постоперационного течения. Данный тезис был подтвержден у пациентов на этапах остеотрансплантации и неоостеогенеза.

Группа больных (2.б.гр.) со сроком снятия операционных швов более 8 суток составила 7 (28%) человек, что было обусловлено наличием выраженной гиперемией и отеком околораневых тканей. Из-под линии швов определялась серозно-геморрагическая экссудация в умеренном объеме. У 2х больных (8%) характер серозной экссудации сменился на гнойный, что потребовало введение мягких дренажей. Воспалительные явления сопровождалась жалобами пациентов на болезненные ощущения в области реципиентной зоны трансплантации, дискомфорт, повышение температуры. Особенности в те-

чение раневого процесса в области донорской зоны выявлено не было. Всем больным 2.б. группы был назначен курс антибиотикотерапии, нестероидные противовоспалительные препараты, увеличена частота антисептической обработки. Операционные швы у всех больных были состоятельны вплоть до момента их снятия. Местное и общее противовоспалительное лечение позволило купировать ранние воспалительные проявления и обеспечить дальнейший адекватный остеогенез. Величина ТИНГ во 2.а. группе в интраоперационном периоде оказалась равной 224,12 усл. ед., в группе 2.б. – 106,24 усл. ед. Диапазон временного интервала до снятия швов во 2.б. группе составил от 9 до 15 дней и коррелировал с отрицательной корреляционной связью с величиной ТИНГ ($KK=-0,67$).

Заключение

Таким образом, величина ТИНГ, отражающая интегральную биологическую активность тканевого пула НГ, может служить предиктором раннего постоперационного течения, в частности, при планировании общего объема хирургического протокола костнопластических операций.

УДК 616.716.4-002-022.7-078

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ЧЕЛЮСТЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НОВЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗАПОЛНЕНИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ

¹Шенгелия Е.В., ¹Балин Д.В., ²Иорданишвили А.К., ^{2,3}Слугина А.Г.

¹Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова, Москва

²ГБВОУ ВПО "Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова" Минобороны России, Санкт-Петербург, e-mail: mdgrey@bk.ru

³Институт биорегуляции и геронтологии Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург

Проведено доклиническое изучение влияния ряда современных оптимизаторов репаративного остеогенеза "Биоматрикс", "Остеоматрикс" и "Коллост" на течение репаративной регенерации в посттравматическом дефекте костной ткани нижней челюсти собаки. В процессе выполнения экспериментального исследования была проведена оценка сроков заживления стандартной костной полости в нижней челюсти животного (собаки). Установлено, что после введения в послеоперационные костные полости современных оптимизаторов остеогенеза процесс регенерации костной ткани происходит однотипно, но гетерохронно и с различной степенью его выраженности. Все исследованные препараты могут являться хорошим пластическим материалом для заполнения костных полостей.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, оптимизатор остеогенеза, посттравматический дефект челюсти, челюсти, экспериментальные животные

Список литературы

1. Альфаро Ф.Э. Костная пластика в стоматологической имплантологии. – М.: Азбука, 2006. – 235 с.
2. Гарсиа А., Ирио Р. Одноволновой метод двух площадей, применяемый для цитофотометрии мазков и отпечатков тканей // В кн.: Введение в количественную цитохимию. – М.: МИР, 1969. – С.196-201.
3. Евглевский А.А. Способ прогнозирования течения раневого процесса // Патент на изобретение №2146367, М, 2000.
4. Нестерова И.В., Евглевский А.А., Фомичева Е.В. Особенности активационного потенциала ядер нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии // Цитокины и воспаление. – 2004. – №3(2). – С.52-55.
5. Цымбалов О.В., Беляев Д.Л., Евглевский А.А., Демченко В.А. Лейкинферон - индуцированная динамика цитохимических показателей ядра и цитоплазмы нейтрофильных гранулоцитов раневого экссудата у больных с флегмонами челюстно-лицевой области // Стоматология. – 2004. – №4. – С.42-45.
6. Цымбалов О.В., Неделько Н.А., Евглевский А.А., Демченко В.Н. Способ оценки течения и прогноза развития гнойных ран при флегмонах челюстно-лицевой области // Патент РФ на изобретение № 2233449. – Бюл. №21.
7. Эренпрейса Е.А., Сондоре О.Ю., Зирне Р.А. Конформационные изменения хроматина опухолевых клеток и феномен ядерной ахроматии // Эксперим. онкология. – 1988. – № 10. – С.54-57.
8. Borregaard N., Cowland J.B. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte // Blood. – 1997. – Т.15, №89(10). – С. 3503-3521.
9. Cassatella M.A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils // J. immunol. – 1995. – №16(1). – P.21-26.