

ДИНАМИКА ЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЯДРА И ЦИТОПЛАЗМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ФЛЕГМОНАМИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ ПРИ ТРАДИЦИОННОМ ЛЕЧЕНИИ И ПРОВЕДЕНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ

Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Кубанского государственного медицинского университета (зав. кафедрой проф. Н. А. Неделько)

Весьма актуальной проблемой челюстно-лицевой хирургии была и остается проблема лечения гнойно-воспалительных заболеваний. Это обусловлено топографическими, гемодинамическими и репаративными особенностями проведения операций в этой области в условиях гнойно-воспалительного процесса [2, 3, 11]. Развивающееся под действием любых повреждающих факторов (воспаление, операции и др.) состояние, получившее в специальной литературе название «окислительный стресс», характеризуется сдвигом тканевого баланса антиоксидантов и прооксидантов в пользу последних. Следствием этого являются срыв функционирования защитных систем, структурная перестройка мембран, изменение метаболизма и даже гибель клеток. Активность протекания свободнорадикальных реакций и выраженность патологических процессов взаимосвязаны. Для инактивации негативного воздействия этих продуктов в организме существует антиоксидантная система (АО), одним из ключевых элементов которой является супероксиддисмутаза (СОД) [10, 12]. Это и побудило использовать препарат рексод при лечении больных с флегмонами челюстно-лицевой области (ФЧЛО), основным действующим веществом которого является СОД.

Система нейтрофильных гранулоцитов (НГ) периферической крови является важным компонентом всей антимикробной системы организма. НГ осуществляют «киллинг» бактерий, их фагоцитоз, а также принимают участие в регуляции процессов общей неспецифической антимикробной защиты организма. Критериями активности НГ могут быть избраны цитохимические показатели ядра и цитоплазмы этих клеток [7].

Цель исследования – изучение динамики цитохимических показателей ядра и цитоплазмы НГ периферической крови у больных с ФЧЛО в условиях применения традиционного лечения, сочетающегося с использованием антиоксидантного препарата рексод.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 41 больной с ФЧЛО в возрасте от 18 до 50 лет и 10 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу, составивших контрольную группу. Группу сравнения составили 20 больных, которым проводилось традиционное лечение. Основную группу составил 21 больной, при лечении которых была использована комплексная терапия с включением антиоксиданта рексод. В обе клинические группы вошли пациенты без соматической патологии, в компенсированном клиническом состоянии, со среднетяжелым течением и прогнозируемым благоприятным исходом ФЧЛО одонтогенного происхождения, локализующихся в 1–2–3-клетчаточных про-

странствах, сопоставимых по анатомо-топографической локализации с объемом и характером оперативных вмешательств. Традиционное лечение включало в себя радикальное вскрытие и адекватное дренирование заинтересованных клетчаточных пространств под общим обезболиванием, по показаниям удаление «причинного» зуба, проведение антибактериальной, детоксикационной, десенсибилизирующей, общеукрепляющей терапии.

У больных основной группы в дополнение к традиционной терапии назначали антиоксидант рексод по схеме: 16 мг в сутки на 200 мл физиологического раствора внутривенно капельно в первые часы после вскрытия, на 1-е, 3-и, 5-е сутки послеоперационного периода.

В качестве контроля была использована периферическая кровь здоровых лиц в возрасте от 18 до 50 лет. Мазки периферической крови наносили на обезжиренные предметные стекла и фиксировали ацетон-этанолом (соотношение 1:1) и парами 40%-ного формалина по 15 и 5 минут соответственно. Мазки, фиксированные ацетон-этаноловой смесью, подвергали гидролизу в 5 N HCL при 37°С в течение 8 минут [5], а затем окрашивали в стандартизованных условиях реактивом Шиффа по Фельгену на ДНК. Окрашенные таким образом мазки после промывки в двух сменах сернистых вод и сушки подвергали абсорбционной фотометрии на установке ФЭМЛ-1а методом двух площадей по Гарсия [4] при длине волны 530 нм. Мазки, фиксированные парами формалина, окрашивали на катионный белок (КБ) прочным зеленым FCF при pH-8,2 по В. Е. Пигаревскому [9]. Миелопероксидазу (МПО) выявляли методом Sato и Sekla [16], а гликоген (ГЛ) – по Mac Manus в модификации А. Пирса [15]. Учет результатов осуществляли полуколичественным методом Ас-тальди и Верга [14]. Результаты обработаны методами вариационной статистики на ПЭВМ с использованием программы Micro Stat производства фирмы «Borland Corporations».

Результаты исследования

Исследование содержания катионного белка (КБ) в цитоплазме НГ периферической крови здоровых лиц показало, что оно колеблется от 2,04 до 2,4 усл. ед., составляя в среднем $2,22 \pm 0,18$ усл. ед. (таблица, рисунок).

Содержание КБ в НГ периферической крови больных с ФЧЛО на момент оперативного вмешательства было несколько снижено по сравнению с аналогичными данными, характерными для здоровых лиц. Оно составило в группе сравнения $1,87 \pm 0,13$ усл. ед. и $1,78 \pm 0,14$ усл. ед. у больных основной группы. Следует отметить, что эти показатели не имели статистически

**Динамика цитохимических показателей НГ периферической крови
больных с ФЧЛО в условиях традиционного лечения
и с применением препарата рексод**

Группы больных Показатели	До операции	Первые сутки после операции	Третьи сутки после операции	Пятые сутки после операции
Контрольная группа (МП)	2,03±0,13	2,03±0,13	2,03±0,13	2,03±0,13
Группа сравнения (МП)	2,45±0,19 P1>0,05	1,68±0,11 P1<0,05 P2<0,001	1,98±0,09 P1>0,05 P2<0,05	2,21±0,19 P1>0,05 P2>0,05
Основная группа (МП)	2,22±0,15 P1>0,05	1,54±0,09 P1<0,01 P2<0,001	1,78±0,14 P1>0,05 P2>0,05	1,99±0,12 P1>0,05 P2>0,05
Контрольная группа (КБ)	2,22±0,18	2,22±0,18	2,22±0,18	2,22±0,18
Группа сравнения (КБ)	1,87±0,13 P1>0,05	1,57±0,17 P1<0,01 P2>0,05	1,79±0,16 P1>0,05 P2>0,05	2,31±0,22 P1>0,05 P2>0,05
Основная группа (КБ)	1,78±0,14 P1>0,05	1,29±0,11 P1<0,001 P2<0,01	1,56±0,14 P1<0,01 P2>0,05	1,98±0,19 P1>0,05 P2>0,05
Контрольная группа (ГЛ)	2,7±0,31	2,7±0,31	2,7±0,31	2,7±0,31
Группа сравнения (ГЛ)	2,4±0,11 P1>0,05	1,7±0,09 P1<0,01 P2<0,001	2,1±0,22 P1>0,05 P2>0,05	2,6±0,35 P1>0,05 P2>0,05
Основная группа (ГЛ)	2,3±0,12 P1>0,05	1,3±0,13 P1<0,001 P2<0,001	2,0±0,14 P1<0,05 P2<0,001	2,4±0,21 P1>0,05 P2>0,05
Контрольная группа (ОП)	0,35±0,002	0,35±0,002	0,35±0,002	0,35±0,002
Группа сравнения (ОП)	0,45±0,001 P1<0,001	0,66±0,002 P1<0,001 P2<0,001	0,51±0,003 P1<0,001 P2<0,001	0,32±0,002 P1<0,001 P2<0,001
Основная группа (ОП)	0,41±0,001 P1<0,001	0,78±0,001 P1<0,001 P2<0,001	0,67±0,002 P1<0,001 P2<0,001	0,51±0,001 P1<0,001 P2<0,001

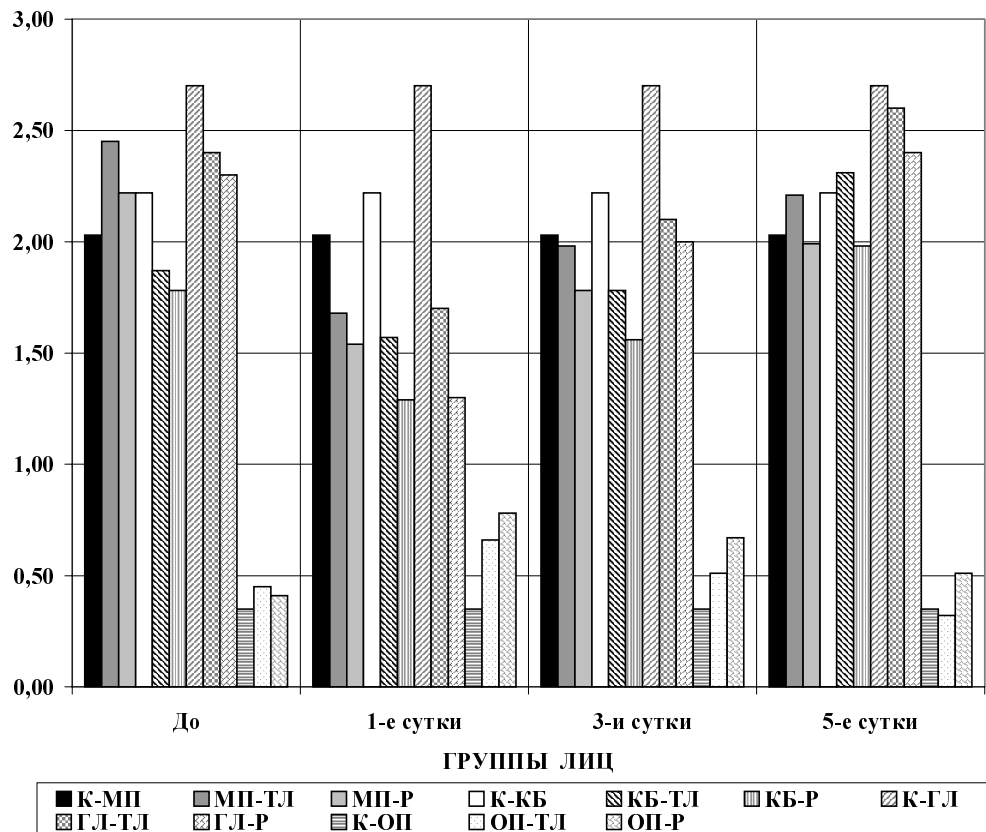
Примечание: P1 – различие между показателями НГ крови здоровых лиц и больных с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области; P2 – различие показателей НГ крови и экссудата от аналогичных показателей, полученных в предыдущий срок исследования.

значимых отличий как между собой, так и по сравнению с НГ здоровых лиц (P>0,05).

Через одни сутки после оперативного вмешательства содержание катионного белка у больных группы сравнения составило 87% от исходного уровня и 71% от уровня контроля, при этом отличие от контроля являлось статистически значимым (P<0,01). В основной группе больных снижение содержания катионного

белка было более существенным. Так, по сравнению с контролем его содержание составило 42% (P<0,001), а по сравнению с исходным уровнем его количество снизилось до 72% (P<0,01).

На третьи сутки послеоперационного периода в группе сравнения содержание катионного белка НГ периферической крови практически вернулось к исходному уровню и составило 1,79±0,16 усл. ед. В основной



Некоторые цитохимические показатели НГ периферической крови больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей челюстно-лицевой области в условиях традиционного лечения и лечения с применением препарата рексод

группе содержание катионного белка нейтрофилов продолжало оставаться пониженным как относительно контроля, так и относительно исходного уровня, хотя и несколько возросло относительно предыдущего срока исследования.

На пятые сутки послеоперационного периода наблюдалось продолжение роста содержания катионного белка НГ периферической крови, которое в группе сравнения практически достигло уровня контроля, а в основной группе оставалось лишь незначительно сниженным.

Анализ уровня активности МП НГ здоровых лиц контрольной группы показал, что она колеблется от 1,9 до 2,26 усл. ед., составляя в среднем $2,03 \pm 0,13$ усл. ед. В цитоплазме НГ больных с ФЧЛО группы сравнения на момент оперативного вмешательства средняя активность МП составляла $2,45 \pm 0,19$ усл. ед., что на 21% превышало аналогичные значения, характерные для здоровых лиц. Следует отметить, что данное увеличение не являлось статистически значимым ($P > 0,05$). В основной группе уровень активности МП НГ на момент оперативного вмешательства практически не отличался от зарегистрированного для больных группы сравнения и равнялся в среднем $2,22 \pm 0,15$ усл. ед. ($P > 0,05$).

Через сутки после оперативного вмешательства в группе сравнения активность МП снизилась на 18% по отношению к уровню активности данного фермента, характерного для здоровых лиц, и на 31% по отношению к исходному уровню. В обоих случаях данное снижение являлось статистически значимым ($P < 0,05$ и

$P < 0,001$ соответственно). Больные основной группы продемонстрировали аналогичную динамику активности МП НГ. Ее уровень снизился на 24% по отношению к контролю и на 31% по отношению к исходному уровню ($P < 0,01$ и $P < 0,001$ соответственно). В дальнейшем в обеих группах обследованных больных наблюдался постепенный рост активности МП НГ, который к пятым суткам послеоперационного периода достиг значений, практически не отличающихся от значений, характерных для здоровых лиц.

Фотометрическое изучение оптической плотности ядер (ОП) НГ крови здоровых людей показало, что она составляет в среднем $0,35 \pm 0,002$ усл. ед. Аналогичный показатель, зарегистрированный для ядер НГ больных группы сравнения, на момент оперативного вмешательства равнялся $0,45 \pm 0,001$ усл. ед., что составляло 128% от уровня, характерного для здоровых лиц. В основной группе данный показатель имел сходные параметры и составлял $0,41 \pm 0,001$ усл. ед. В обоих случаях выявленное повышение уровня ОП НГ было статистически значимо $P < 0,001$.

Через сутки после оперативного вмешательства у больных группы сравнения ОП ядер НГ крови увеличилась на 47% ($P < 0,001$). В основной группе уровень ОП был еще значительно выше и достигал 90%.

На третьи сутки послеоперационного периода в обеих группах больных с ФЧЛО было зарегистрировано определенное снижение уровня оптической плотности ядер НГ, которое, однако, не достигло исходного уровня.

На пятые сутки послеоперационного периода

продолжалось снижение уровня ОП ядер НГ. При этом в условиях традиционного лечения ОП была ниже исходного уровня и практически достигала уровня, характерного для здоровых лиц. В основной группе ОП ядер НГ периферической крови также достоверно снизилась относительно предыдущего срока исследования, однако оставалась повышенной как относительно уровня, характерного для здоровых лиц, так и относительно исходного уровня.

Снижение ОП свидетельствует о постепенном уменьшении активности ядерного аппарата НГ в условиях нарастания репаративных процессов, развивающихся к 5-м суткам. При этом в основной группе данный процесс идет медленнее, что, видимо, связано с инерцией стимулирующего действия препарата рексод на систему НГ.

Изучение содержания гликогена (ГЛ) в цитоплазме НГ здоровых лиц контрольной группы показало, что оно колеблется от 3,1 до 2,39 усл. ед., составляя в среднем $2,7 \pm 0,31$ усл. ед. Аналогичные результаты, полученные в группе сравнения до оперативного вмешательства, составили в среднем $2,4 \pm 0,11$ усл. ед. В основной группе данный показатель составил $2,3 \pm 0,12$ усл. ед. В обоих случаях статистически значимое отличие от аналогичных показателей крови здоровых лиц отсутствовало ($P > 0,05$).

Через сутки после оперативного вмешательства в НГ крови больных было зарегистрировано существенное снижение содержания ГЛ, которое у больных группы сравнения достигло уровня $1,7 \pm 0,09$ усл. ед., а в основной группе – $1,3 \pm 0,13$ усл. ед. В обоих случаях данное снижение было статистически значимо ($P < 0,001$). Начиная с третьих суток послеоперационного периода в цитоплазме НГ больных был зарегистрирован постепенный рост содержания гликогена, который практически достиг уровня здорового контроля к пятым суткам послеоперационного периода.

Обсуждение результатов

Неферментные КБ и особенно их фракция дифензины являются важнейшим элементом неокислородной антимикробной системы НГ. МП, являющаяся железосодержащим КБ, активируемая пероксидом водорода, выделяется в фаголизосому и окисляет микробные белки. МП система НГ способна инактивировать грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибы, микоплазмы. Гликоген в цитоплазме НГ определяет энергетический резерв этих клеток.

Хроматин ядер НГ включает в себя весь их наследственный материал, обеспечивает синтез управляющих транскриптов, позволяющих клетке адекватно реагировать на изменяющиеся условия внешней среды и эффективно бороться с раневой микрофлорой. Таким образом, активность и определяющие ее физико-химические свойства хроматина являются важным показателем общей биологической активности НГ.

Известно, что количество ДНК в расчете на одно ядро любой клетки нашего организма постоянно, однако ДНК ядер эукариотических клеток находится в комплексе с основными белками гистонами, образуя нуклеопротеидный комплекс. Гистоны обеспечивают конформационную укладку молекулы ДНК и являются неспецифическими репрессорами матричной активности ДНК. При активации хроматина происходит более или менее выраженная диссоциация комплекса ДНК-гистон, что увеличивает доступность ДНК к солянокислому гидролизу, и, следовательно, увеличивается способность ДНК окрашиваться реактивом Шиффа. При исследовании хроматина НГ периферической крови у

больных 1-й группы нами было обнаружено увеличение окрашиваемости ДНК ядер этих клеток реактивом Шиффа на 1-е сутки после оперативного вмешательства, что было характерно для обеих обследованных групп больных. Это указывает на активацию ядер НГ в ранний послеоперационный период. Следует отметить, что в основной группе зарегистрированный уровень активации ядер НГ был достоверно выше, чем у больных группы сравнения. По нашему мнению, это связано с модуляцией проокислительных свойств активных компонентов цитоплазмы НГ антиоксидантной составляющей данного препарата.

Следует отметить, что в настоящее время НГ считаются полностью дифференцированными клетками, у которых все биологически активные компоненты цитоплазмы синтезируются на костно-мозговой стадии развития. Ожидать, что обнаруженное увеличение активности ядер этих клеток приведет к увеличению их синтетической активности, не следует [8]. Амплификация ядерной активности НГ, индуцированная (прямо или косвенно) препаратом рексод, по всей видимости, приводит к синтезу лишь регуляторных транскриптов, повышающих общую биологическую активность клетки, заставляющую ее более активно расходовать антимикробные и энергетические компоненты своей цитоплазмы, что и подтверждается динамикой содержания КБ, МП и ГЛ.

В дальнейшем (на третьи сутки после оперативного вмешательства) было зарегистрировано снижение окрашиваемости ядер НГ на ДНК, которое на фоне постепенного очищения раны свидетельствует о понижении биологической активности ядер НГ в условиях превалирования репаративных процессов над процессами альтерации. При этом у лиц основной группы понижению биологической активности ядер НГ было более выражено по отношению к группе сравнения (таблица). Это предположение находит подтверждение в данных о содержании биополимеров в цитоплазме НГ. Полученные результаты хорошо укладываются в классические представления о динамике содержания активных компонентов цитоплазмы НГ периферической крови при гнойно-воспалительных заболеваниях, так как по мере заживления раны потребность в КБ и других биополимерах цитоплазмы НГ снижается и их количество в цитоплазме НГ увеличивается. Напротив, оптическая плотность ядер НГ, окрашенных по Фельгену на ДНК, постепенно падает, что свидетельствует о компактизации их хроматина и снижении активационного потенциала.

Таким образом, применение препарата рексод при хирургическом лечении ГВЗ ЧЛО создает условия для активации неспецифического звена иммунной системы и оказывает благоприятное модулирующее влияние на течение раневого процесса. Цитохимические исследования ядра и цитоплазмы НГ позволяют строго количественно оценить биологическую активность НГ периферической крови и послужить основой для разработки методов диагностики и контроля за течением раневого процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агапов В. С., Лапунов Н. А., Трухина Г. М. и др. Медикаментозная стимуляция заживления гнойных ран челюстно-лицевой области // Стоматология (спец. выпуск). 1996. С. 41–42.
2. Бажанов Н. Н., Козлов В. А., Робустова Т. Г. и др. Состояние и перспективы профилактики и лечения гнойных воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области // Стоматология. 1997. № 2. С. 17–22.
3. Губин М. А., Харитонов Ю. М., Гирко Е. И., Чевардов Н. И.

Диагностика и лечение осложнений острой одонтогенной инфекции // Стоматология (спец. выпуск). 1996. С. 39–41.

4. Гарсиа А. и Ирио Р. Одноволновой метод двух площадей, применяемый для цитофотометрии мазков и отпечатков тканей // Введение в количественную цитохимию. М.: Мир. 1969. С. 196–201.

5. Евглевский А. А. Кислотолабильность комплекса ДНК-гистон в ядрах клеток крови здоровых людей и больных лейкозами: Автореф. дис. канд. мед. наук. Москва, 1985. 21 с.

6. Кузнецов В. П., Караулов А. В. Лейкинферон – механизмы терапевтического действия и тактика иммунокоррекции // International Journal on Immunorehabilitation. 1998. № 10. С. 66–73.

7. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей. М., 1990.

8. Перминов А. Н. Комплексное лечение одонтогенных флегмон с использованием полимерного дренирующего сорбента «Ренекур»: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1990.

9. Маянский А. Н., Галиулин А. Н. Реактивность нейтрофила. Изд-во Казанского университета. 1984. С. 13.

10. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.: Медицина. 1978. С. 17.

11. Парамонов Б. А., Сидельников В. О., Татаркин С. Н. Опыт лечения раненых и обожженных препаратами супероксиддисмутазы эрисод и рексод // Военная фармация и медицинская техника. 2002. № 8. С. 59–62.

12. Сидорук А. В. Клинико-микробиологические особенности атипично-текущих флегмон лица и шеи: Дис. канд. мед. наук. Волгоград, 2004. С. 11–27.

13. Сулай К. Е. Возможности дополнительной антиоксидантной защиты у больных при лапароскопической холецистэктомии: Сб. работ науч.-практ. ежегодн. конф. Ассоциации хирургов Санкт-Петербурга. СПб.: Б. И. 2002. С. 185–186.

14. Эрепрейса Е. А. Организация хроматина в ядре интерфазной клетки. Рига, 1990. 114 с.

15. Astaldi G. Verga L. // Acta haematol. (Basel). 1957. Vol. 173. P. 129.

16. Pearse A. G. E. Histochemistry, theoretical and applied, Ed. II-a, Ed. Little. Brown, Boston, 1961.

17. Sato J. et S. Selkia L. // S.J. Clin. Med. 1928. V. 13. P. 1058.

T. L. VOROBIOVA, T. V. GAIVORONSKAYA

THE DYNAMICS OF CYTOCHEMICAL INDICES OF NUCLEUS AND CYTOPLASMA OF NEUTROPHILE GRANULOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF PATIENT WITH MAXILLOFACIAL PHLEGMONS IN CASE OF USING REXOD

Clinic – cytochemical research of neutrophile granulocyte (NG) of patients with maxillofacial phlegmons who receive therapy with antioxidant – rexod.

Marked stimulation (NG) is discovered, which is proved by dynamics cytochemical indices of nucleus and cytoplasm. They are: cationic protein, mieloperoxidaza and glyco-gene.

This reduces terms of healing of wound and exerts influence upon clinic course of wound process.

Key Words: maxillofacial phlegmons, antioxidative stress, peripheral blood, glycogene, mieloperoxidaza, cationic protein.

Н. А. НЕДЕЛЬКО, Т. В. ГЕРБОВА, М. И. КУЗЬМИН

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ОДОНТОГЕННОГО ПЕРИОСТИТА У БОЛЬНЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ ГРУППОВОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Кубанского государственного медицинского университета (зав. кафедрой проф. Н. А. Неделько)

Наличие вторичной иммунной недостаточности при острых гнойно-воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области уже не является дискуссионной темой и подтверждается многочисленными литературными данными [1, 2, 3], а возникающие патологические нарушения в системе иммунитета на фоне стресса способствуют затяжному течению основного патологического процесса со склонностью к рецидивам, снижению сопротивляемости организма к инфекции и развитию тяжелых осложнений [2, 4, 5, 6].

Такие вопросы, как эффективность традиционной терапии, иммунного реагирования, целесообразность проведения иммунореабилитационных мероприятий, в частности лейкинфероном (ЛФ), оказывающим влияние на весь комплекс нейроиммунных взаимоотношений, у больных с ООП в условиях групповой изоляции практически не изучены, что и определило цель проведенного исследования.

Цель работы – повышение эффективности комплексного лечения острого одонтогенного периостита у пациентов, находящихся в условиях групповой

изоляции с включением в базовую терапию лейкинферона.

Материалы и методы исследования

Нами проведено комплексное обследование и лечение 47 больных в возрасте от 16 до 55 лет с ООП, находящихся в условиях групповой изоляции, у которых на основании психологических тестов выявлен высокий уровень психоэмоционального напряжения. Больные находились в компенсированном клиническом состоянии, без сопутствующей соматической патологии и были сопоставимы по анатомо-топографической локализации гнойного очага, характеру и объему заболевания.

Клиническое обследование включало изучение жалоб, анамнеза заболевания, выявление общих и местных симптомов ООП, определение уровня психоэмоционального напряжения. Эффективность проводимого лечения оценивали по скорости исчезновения симптомов интоксикации, нормализации температуры тела и срокам репарации раны: прекращение раневого отделяемого, сроков рассасывания воспалительного