

ДИНАМИКА ЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЯДРА И ЦИТОПЛАЗМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ РАНЕВОГО ЭКССУДАТА 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

Проблема лечения острых гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области (ГВЗ ЧЛО) не только не теряет своей актуальности, но и приобретает все большее значение, выдвигаясь на одно из первых мест в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Это обусловлено, с одной стороны, сохранением высокого процента острых воспалительных процессов в общей структуре стоматологических заболеваний. По данным ряда авторов, в последние годы количество таких больных имеет тенденцию к увеличению [1, 2, 4]. С другой стороны, возрастает количество случаев «атипичного» воспалительного процесса со склонностью к вялому, затяжному развитию и течению, сопровождающемуся возникновением местных и общих осложнений. На этом фоне многие методы и средства терапии воспалительных процессов, с успехом применявшиеся в последние годы, становятся малоэффективными или неэффективными [6, 9, 13]. Особый интерес в последнее время представляют препараты группы антиоксидантов. Нарушение антиоксидантной защиты (АОЗ) приводит к усилению свободнорадикальных реакций, накоплению свободных радикалов, оказывающих выраженное повреждающее действие на клетки [7, 14].

В настоящее время имеется определенный положительный опыт клинического применения антиоксидантного препарата рексод в комплексном лечении больных с ФЧЛО. Клинические испытания показали его высокую эффективность в отношении метаболических нарушений, вызванных сбоем в антиоксидантной системе [3]. Рексод представляет собой рекомбинантную супероксиддисмутазу человека, полученную путем генноинженерной технологии.

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются важным элементом раневого экссудата. Они осуществляют в ране «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 [10].

Цель исследования – изучение динамики цитохимических показателей ядра и цитоплазмы НГ раневого экссудата у больных с флегмонами челюстно-лицевой области (ФЧЛО) в условиях применения традиционного лечения, сочетающегося с использованием антиоксидантного препарата рексод.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили 41 больной с ФЧЛО в возрасте от 18–50 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, локализуемой в 1–2–3-клетчаточных пространствах, 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 удаления «причинного» зуба, проведение антибактериальной дезинтоксикационной, десенсибилизирующей, общеукрепляющей терапии.

У больных ОС 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. Отпечатки раневого экссудата 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° C в течение 8 минут [8], а затем окрашивали в стандартизированных условиях реактивом Шиффа по Фелгену на ДНК. Окрашенные таким образом отпечатки после промывки в двух сменах сернистых вод и сушки подвергали абсорбционной фотометрии на установке ФЭМЛ-1а методом двух площадей по Гарсия [5] при длине волны 530 нм. Отпечатки, фиксированные парами формалина, окрашивали на катионный белок (КБ) прочным зеленым FCF при pH-8,2 по В. У. Пигаревскому [12]. Миелопероксидазу (МП) выявляли методом Sato и Selkia [16], а гликоген (Гл) – по Mac Manus в модификации А. Пирса [17]. Учет результатов осуществляли полуколичественным методом Астальди и Верга [18]. Результаты обработаны методами вариационной статистики на ПЭВМ с использованием программы Micro Stat производства фирмы «Borland Corporations».

Результаты исследования

При использовании препарата рексод был получен достаточно высокий клинический эффект, заключающийся в явном улучшении качества жизни пациентов, сокращении сроков заживления раны. На следующие сутки после операции больные были более активны, могли самостоятельно передвигаться по отделению и принимать пищу, для них был характерен ста-

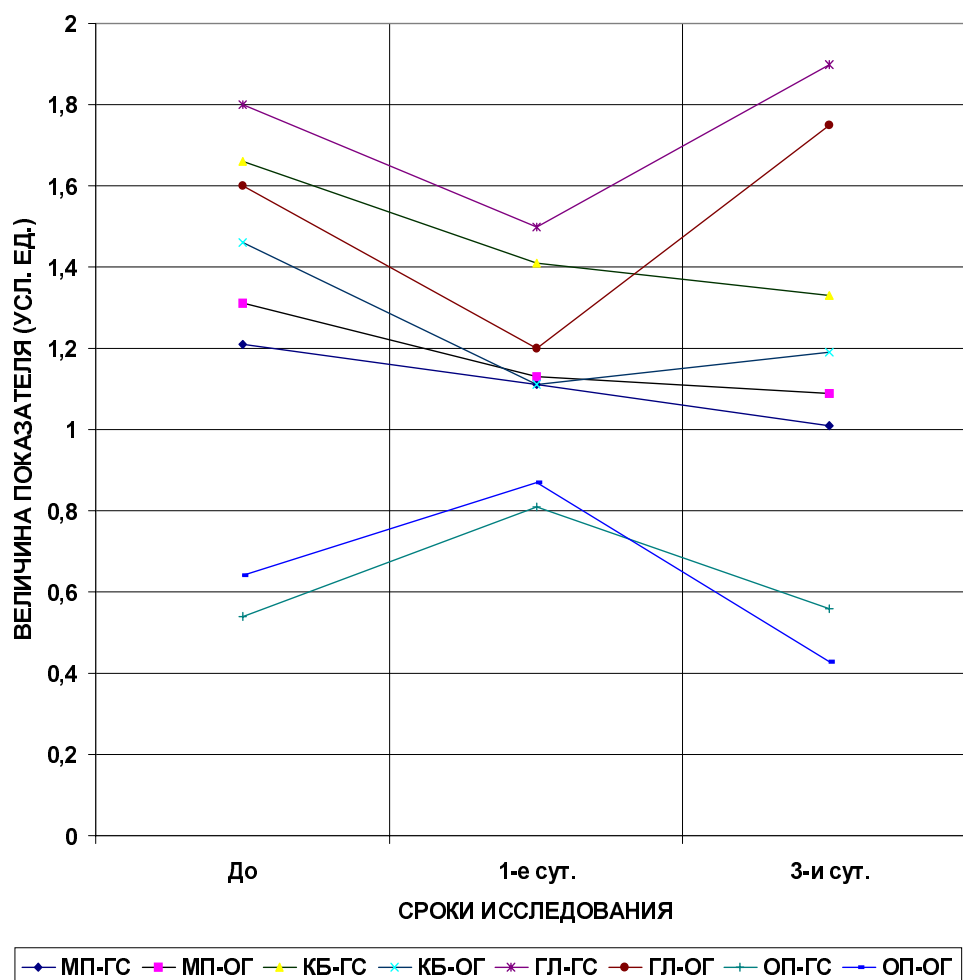
бильный гемодинамический профиль. Сроки сохранения инфильтрации, экссудации и время появления молодых грануляций в ране были значительно короче.

Выявленная динамика цитохимических показателей НГ раневого экссудата представлена в таблице и на рисунке. У больных основной группы и группы сравнения изучаемые показатели на момент оперативного вмешательства не имели статистически значимого различия между собой (исключением является уровень

Динамика цитохимических показателей НГ раневого экссудата больных с ФЧЛО в условиях традиционного лечения и лечения с применением препарата рексод

Показатели	Сроки исследования			
	До оперативного вмешательства	Первые сутки после оперативного вмешательства	Третьи сутки после оперативного вмешательства	Пятые сутки после оперативного вмешательства
Группа сравнения (МП)	1,21±0,08	1,11±0,09	1,01±0,06	Клеток недостаточно для статобработки
Основная группа (МП)	1,31±0,07 P1>0,05	1,13±0,07 P1>0,05	1,09±0,05 P1>0,05	Клеток недостаточно для статобработки
Группа сравнения (КБ)	1,66±0,14	1,41±0,14	1,33±0,13	Клеток недостаточно для статобработки
Основная группа (КБ)	1,46±0,12 P1>0,05	1,11±0,07 P1<0,05	1,19±0,09 P1>0,05	Клеток недостаточно для статобработки
Группа сравнения (ГЛ)	1,8±0,08	1,50±0,07	1,9±0,09	Клеток недостаточно для статобработки
Основная группа (ГЛ)	1,6±0,07 P1>0,05	1,2±0,08 P1<0,01	1,7±0,08 P1>0,05	Клеток недостаточно для статобработки
Группа сравнения (ОП)	0,54±0,002	0,81±0,003	0,56±0,001	Клеток недостаточно для статобработки
Основная группа (ОП)	0,64±0,001 P1<0,001	0,87±0,02 P1<0,01	0,43±0,002 P1<0,001	Клеток недостаточно для статобработки

Примечание: P1 – различие между показателями НГ раневого экссудата при традиционном лечении и лечении с использованием рексода (в пределах одного срока исследования).



Динамика цитохимических показателей цитоплазмы НГ раневого экссудата больных с ФЧЛО группы сравнения и основной группы:

ГС – группа сравнения, ОГ – основная группа, МП-ГС – динамика миелопероксидазы группы сравнения, МП-ОГ – динамика миелопероксидазы основной группы, КБ-ГС – динамика катионного белка группы сравнения, КБ-ОГ – динамика катионного белка основной группы, ГЛ-ГС – динамика содержания гликогена группы сравнения, ГЛ-ОГ – динамика содержания гликогена основной группы, ОП-ГС – динамика оптической плотности ядер НГ, окрашенных по Фельгену, группы сравнения, ОП-ОГ – динамика оптической плотности ядер НГ, окрашенных по Фельгену, основной группы

оптической плотности ядер НГ, окрашенных по Фельгену на ДНК, который в основной группе был на 18% выше, чем в группе сравнения) [15].

Содержание КБ и ГЛ, а также активность МП в цитоплазме НГ у больных обеих обследованных групп на этапах исследования постепенно снижалось, а уровень оптической плотности после определенного роста на первые сутки вновь снизился к третьим суткам.

Хроматин ядер НГ включает в себя весь наследственный материал этих клеток, 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 важными показателями общей биологической активности НГ. Неферментные КБ и особенно их фракция дифенины являются важнейшим элементом неокислородной антимикробной системы НГ. МП, которая является железосодержащим КБ, активируясь пероксидом

водорода, выделяется в фаголизосому и окисляет микробные белки. Миелопероксидазная система НГ способна инактивировать грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибы, микоплазмы. Гликоген в цитоплазме НГ определяет энергетический резерв этих клеток. 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, способность ДНК окрашиваться реактивом Шиффа увеличивается. При исследовании хроматина НГ раневого экссудата у больных группы сравнения нами было обнаружено увеличение окрашиваемости

ДНК ядер эти 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 в целом. Следует отметить, что в основной группе зарегистрированный уровень активации ядер НГ был достоверно выше, чем в группе сравнения.

По нашему мнению, это связано с модуляцией проокислительных свойств активных компонентов цитоплазмы НГ антиоксидантной составляющей препарата рексод.

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 [11]. Амплификация ядерной активности НГ, индуцированная (прямо или косвенно) препаратом рексод, по всей видимости, приводит к синтезу лишь регуляторных транскриптов, повышающих общую биологическую активность клетки и заставляющих 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 снижении биологической активности ядер НГ в условиях превалирования репаративных процессов над процессами альтерации. При этом у больных основной группы снижение биологической активности ядер НГ было более выражено по отношению к ГС, что, по нашему мнению, является функционально-оправданным и свидетельствует о резком снижении концентрации активных компонентов раневого отделяемого, стимулирующих тканевый пул НГ. Данное предположение находит подтверждение в данных о содержании биополимеров в цитоплазме НГ. Принято считать, что по мере заживления раны потребности в КБ и других активных компонентах цитоплазмы НГ снижается и их количество в цитоплазме НГ увеличивается. Однако в нашем исследовании наблюдалась несколько иная динамика этих цитохимических показателей. Она характеризовалась постепенным снижением содержания КБ ГЛ и активности МП в цитоплазме НГ. При этом в основной группе больных данное явление было более выраженным. По нашему мнению, с учетом благоприятного клинического течения раневого процесса и существенного очищения раны, снижения объема раневого отделяемого данное явление связано с обеднением тканевого пула НГ клетками, мигрирующими из периферической крови, и преобладанием в нем НГ, уже израсходовавших свой антимикробный потенциал, что является функционально оправданным. Провести репрезентативное исследование НГ раневого экссудата на пятые сутки после оперативного вмешательства не представилось возможным ввиду незначительного количества клеточных форм в его составе.

Таким образом, применение препарата рексод при хирургическом лечении ФЧЛО создает условия для активации неспецифического звена иммунной системы и оказывает благоприятное модулирующее влияние на течение раневого процесса. Цитохимические исследования ядра и цитоплазмы нейтрофильных гранулоцитов позволяют строго количественно оценить биологическую активность нейтрофильных гранулоцитов раневого экссудата и служат основой для разработки

методов диагностики и контроля за течением раневого процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агапов В. С., Ляпунов 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. Воробьева Т. Л., Гайворонская Т. В. Динамика показателей процессов перекисного окисления липидов у больных с флегмонами челюстно-лицевой области при традиционном лечении и проведении антиоксидантной терапии // Современные технологии в стоматологии: Сборник научных трудов. Москва – Краснодар: Совет. Кубань. 2006. С. 24–30.
4. 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.
5. Гарсия А. и Ирио Р. Одноволновой метод двух площадей, применяемый для цитофотометрии мазков и отпечатков тканей // Введение в количественную цитохимию. М.: изд-во «Мир». 1969. 201 с.
6. Гольдберг В. Л. Антиоксидантная терапия гепоксеном в комплексном лечении одонтогенных флегмон // Тезисы VII Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. СПб, 2002. С. 13.
7. Дрегалкина А. А. Микробный состав гнойных очагов при острых воспалительных процессах в челюстно-лицевой области // Уральский стоматологический журнал. 2003. № 3. С. 45–49.
8. Евлевский А. А. Кислотолабильность комплекса ДНК-гистон в ядрах клеток крови здоровых людей и больных лейкозами: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1985. 21 с.
9. Кузнецов В. П., Караулов А. В. Лейкинферон – механизмы терапевтического действия и тактика иммунокоррекции // International Journal on Immunorehabilitation. 1998. № 10. С. 66–73.
10. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1990. 590 с.
11. Маянский А. Н., Галиулин А. Н. Реактивность нейтрофила. Казань: изд-во Казанского университета. 1984. 13 с.
12. Перминов А. Н. Комплексное лечение одонтогенных флегмон с использованием полимерного дренирующего сорбента «Ренекур»: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1990. 18 с.
13. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.: Медицина, 1978. 127 с.
14. Сулай К. Е. Возможности дополнительной антиоксидантной защиты у больных при лапароскопической холецистэктомии: Сб. работ науч.-практ. ежегодн. конф. Ассоциации хирургов Санкт-Петербурга. СПб, 2002. С. 185–186.
15. Эрепрейса Е. А. Организация хроматина в ядре интерфазной клетки. Рига, 1990. 114 с.
16. Sato J. et S. Selkia L. // S. J. Clin. Med. 1928. V. 13. P. 1058.
17. Pearse A. G. E. Histochemistry, theoretical and applied, Ed. II-a, Ed. Little. Brown, Boston, 1961.
18. Astaldi G. Verga L. // Acta haematol. (Basel). 1957. Vol. 173. P. 129.

T. L. VOROBIOVA, T. V. GAJGORONSKAYA

THE DYNAMICS OF CYTOCHEMICAL INDICES OF NUCLEUS AND CYTOPLASMA OF NEUTROPHILE OF WOUND EXUDATION OF PATIENT WITH MAXILLOFACIAL PHLEGMONS IN CASE OF USING REXOD

Clinic – cytochemical research of neutrophile granulocyte (NG) in composition of wound exudation of patients with maxillofacial phlegmons is done.

Patient who receive traditional treatment with inclusion into basis therapy of antioxidant – rexod. The obvious positive clinical effect is obtained, and marked stimulation NG of wound exudation from using of rexod is discovered.