

© Коллектив авторов, 2006

УДК 616-073:616.155.394.5:616-071:616-002.3:616-06:616.001.5:616.71.64

КОМПЬЮТЕРНАЯ МОРФОМЕТРИЯ НЕЙТРОФИЛОВ В ДИАГНОСТИКЕ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Э.М. Осипян¹, И.В. Иванюта¹, К.С. Гандылян¹, И.А. Василенко²,
Н.В. Малыченко², И.А. Унанова¹

¹Ставропольская государственная медицинская академия

²ГУ институт ревматологии РАМН, Москва

Наиболее существенным моментом ведения хирургических больных в посттравматическом периоде является предупреждение инфекционных осложнений и прогрессирования синдрома эндогенной интоксикации [2, 4, 7, 8]. При травмах костей лицевого скелета развитие различных форм раневой инфекции и выраженную воспалительную реакцию обуславливают патологические изменения местного гомеостаза, нарушение микроциркуляции, наличие некротических тканей и неизбежное бактериальное загрязнение раны [1, 3, 5].

Установлено, что гнойно-воспалительные процессы после переломов нижней челюсти – следствие неадекватных приспособительных реакций организма, направленных на восстановление нарушенных функций и структуры. Наоборот, итогом сбалансированности сопряжения гомеостатических механизмов у больных с травмами нижней челюсти является адекватная послеоперационная динамика гнойной раны.

Поскольку факторы неспецифической резистентности, в том числе нейтрофильные гранулоциты (НГ), обеспечивают базальный уровень гомеостаза, а их дефекты играют одну из основополагающих ролей в патогенезе гнойно-воспалительных осложнений, мы предприняли попытку оценить особенности течения раннего посттравматического периода у больных с переломами нижней челюсти, используя показатели морфофункционального состояния нейтрофильных гранулоцитов, полученных экспресс-методом витальной компьютерной морфометрии.

Материал и методы. Проанализированы дан-

ные обследования 44 пациентов с переломами нижней челюсти различной локализации. Все больные были мужского пола, их возраст колебался от 19 до 61 года (средний возраст $39,1 \pm 2,3$ лет).

Программа обследования пациентов была стандартизирована и включала в себя оценку и анализ динамики клинических проявлений, а также комплекс инструментально-лабораторных исследований.

В стационаре больным при наличии подвижности отломков проводили под местным обезболиванием их репозицию и иммобилизацию нижней челюсти назубными проволочными шинами с зацепными крючками и межчелюстной резиновой тягой, восстанавливали прикус. При наличии зуба в щели перелома он удалялся, лунку ушивали кетгутом, по показаниям проводили санацию полости рта. Под эндотрахеальным наркозом осуществляли остеосинтез.

В послеоперационном периоде все пациенты получали традиционное комплексное лечение, включавшее антибактериальные, противовоспалительные, антигистаминные препараты, анальгетики, препараты кальция, витамины. Снятие швов производили на 5–7 сутки.

Для определения показателей нормы нами были обследованы 20 практически здоровых лиц – доноров мужского пола, добровольцев. Доноры с существенными отклонениями в общеклинических и биохимических анализах крови из исследования исключались. Средний возраст в группе здоровых лиц составил $39,2 \pm 1,8$ лет.

Прижизненную оценку морфофункциональ-

ного состояния НГ проводили при поступлении больных в стационар и на 7–8 сутки послеоперационного периода с помощью метода компьютерной фазовой морфометрии на базе компьютерного лазерного фазово-интерференционного микроскопа (КФМ) “Цитоскан” (МГИРЭА, Москва).

Забор крови в объеме 3,0 мл осуществляли из локтевой вены. НГ выделяли стандартным методом на двойном градиенте плотности (1,077 и 1,093). Клетки отмывали центрифугированием в растворе Хенкса. Надосадок сливали, нейтрофилы разводили раствором Хенкса до концентрации $2 \times 10^6/\text{мл}$.

Взвесью клеток заполняли камеру Горяева, рабочая поверхность которой имеет зеркальное напыление. После 3–5 минутного интервала, необходимого для оседания клеток, производили съемку изучаемых цитообъектов. Оптимальный объем выборки составлял 50–100 клеток. Для проведения исследований использовали штатный 30-кратный микрообъектив с числовой апертурой 0,65. Увеличение в канале регистрации составляет 500х.

Комплексный алгоритм морфометрии обеспечивал автоматическое определение заданных размерных параметров отдельных НГ (диаметр, периметр, высота, площадь, объем), статистическую обработку данных на популяционном уровне и документирование результатов в виде цитограмм.

Статистический анализ экспериментальных и клинических данных проводили с помощью алгоритмов среды MatLab и математического пакета “Statistica 6”. Стандартная обработка выборок включала подсчет значений средних арифметических величин, ошибок средних, а также величины дисперсии, среднего квадратичного отклонения и анализа асимметричности распределения. Различия между сравниваемыми группами рассчитывали по критериям Вилкоксона-Манна-Уитни, Колмагорова-Смирнова или Стьюдента.

Уровень значимости устанавливался равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Используя возможности компьютерного анализа, мы определяли динамику морфометрических параметров нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с переломами нижней челюсти в течение раннего послеоперационного периода. Оценивали морфологический состав популяции НГ (процент неактивных, активных и дегенеративных клеток) и размерные параметры нейтрофилов.

На рисунке представлены результаты анализа морфологических типов циркулирующего пула нейтрофилов у

больных с переломами нижней челюсти на 7–8 сутки лечения.

Следует отметить, что значимых положительных сдвигов в составе клеток, по сравнению с исходными данными, обнаружено не было. Так, содержание неактивных клеток составляло $16,3 \pm 4,2\%$ (против 16,8% до начала лечения, $p > 0,05$), число функционально-активных зрелых нейтрофилов – $62,6 \pm 3,9\%$ (против исходных 64,1%, $p > 0,05$), а количество дегенеративно-измененных клеток, исчерпавших свой функциональный резерв, увеличилось до $21,1 \pm 3,4\%$ ($p > 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о сохранении состояния интенсивного функционального напряжения клеточных факторов неспецифического иммунитета у больных с переломами нижней челюсти на данном этапе (7–8 сутки) лечебного процесса.

В ходе дальнейшего наблюдения было выявлено, что в более поздние сроки такие осложнения проявились у 9 пациентов (20,4%). Мы объединили этих больных в так называемую группу риска и изучили особенности морфометрических показателей их нейтрофилов на 7–8 сутки лечения.

Ретроспективный сравнительный анализ результатов компьютерной морфометрии нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных с переломами нижней челюсти и данных клинического течения посттравматического периода позволили выявить и оценить изменения морфофункционального статуса клеток, характерные для больных с воспалительными осложнениями.

Очевидно, что для данной группы пациентов характерно состояние интенсивного функционального напряжения неспецифического имму-

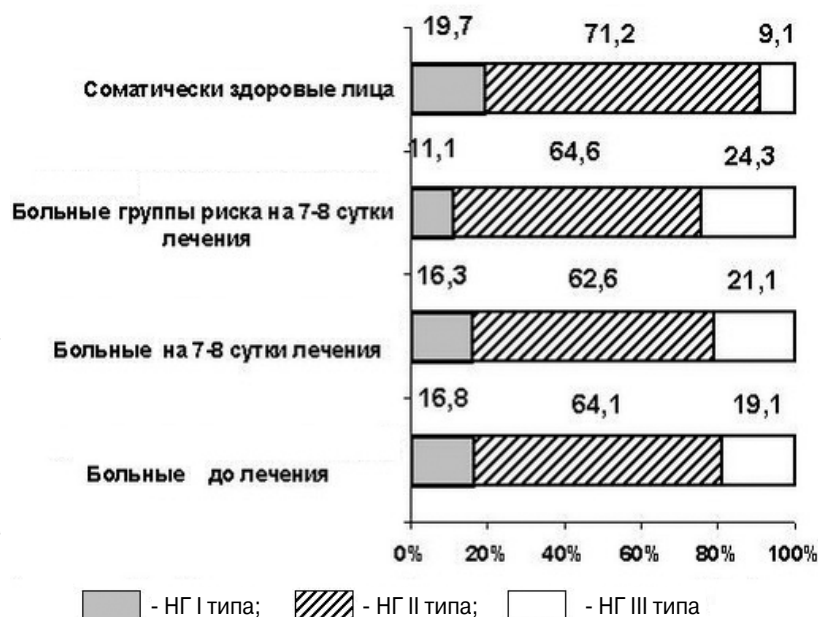


Рис. Соотношение морфологических типов нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных с переломами нижней челюсти до лечения и на 7–8 сутки послеоперационного периода (%).

нитета с признаками декомпенсации: количество инертных «покоящихся» нейтрофилов составляет всего 11,1%, активных клеток – 64,6%, а деградирующих – практически четверть от всей популяции – 24,3%.

По-видимому, система неспецифического иммунитета в этом случае имеет сниженный функциональный запас, вследствие чего необходимые для полноценной защиты организма функциональные требования превышают ее потенциальные возможности.

Следовательно, морфометрическими критериями угрозы развития воспалительных осложнений у больных с переломами нижней челюсти являются признаки высокой степени активации нейтрофилов (увеличение диаметра, периметра и площади) на фоне проводимого лечения, увеличение содержания дегенеративных, функционально неполноценных клеток с выраженными структурными изменениями в виде дегрануляции, повышенной вакуолизации (снижение средних значений высоты и объема). Перечисленные наруше-

Таблица

Размеры нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных с переломами нижней челюсти до и на 7-8 сутки после оперативного лечения ($M \pm \delta$)

Группы обследованных	Диаметр, мкм	Периметр, мкм	Высота, мкм	Площадь, (S), мкм ²	Объем, мкм ³
Здоровые (n=20)	11,5 ± 2,9	35,2 ± 4,1	2,8 ± 0,6	68,4 ± 18,5	86,5 ± 35,6
Больные до лечения (n=44)	12,8 ± 2,2*	39,4 ± 6,9*	2,5 ± 0,6*	91,5 ± 12,4*	83,9 ± 21,2
Больные на 7-8 сутки лечения (n=44)	12,9 ± 2,1*	39,8 ± 5,7*	2,4 ± 0,5*	88,2 ± 11,9*	85,6 ± 22,3
Больные группы риска на 7-8 сутки лечения (n=9)	13,2 ± 2,5*	42,3 ± 6,1*	2,4 ± 0,6*	94,7 ± 13,1*	79,9 ± 23,1*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контроля.

В таблице суммированы средние размерные показатели НГ периферической крови больных с переломами нижней челюсти до лечения, на 7 – 8 сутки после начала лечения, а также результаты, полученные у пациентов группы риска в эти же сроки.

По результатам морфометрии средние значения диаметра, периметра и площади клеток на 7 – 8 сутки после начала лечения превышали показатели соматически здоровых людей на 12, 13 и 29%, соответственно ($p < 0,05$). Фазовая высота нейтрофилов оказалась на 14% ниже значений физиологической нормы ($p < 0,05$), что указывает на сохранение состояния напряжения неспецифической защиты.

У больных с переломами нижней челюсти группы риска для циркулирующей популяции нейтрофилов было характерно наличие клеток с диаметром, периметром и площадью, превышающими значения нормы на 17,4%, 20,2% и 38,4%, соответственно. Фазовая высота и объем клеток были снижены соответственно на 14,3% и 7,7%. То есть, несмотря на проводимые лечебные мероприятия, у этих пациентов не выявлено положительной динамики в плане нормализации и стабилизации морфофункционального состояния НГ.

Составляют структурную основу депрессии защитных свойств неспецифического иммунитета и развития воспалительных осложнений. Проведенные исследования позволяют утверждать, что между клиническими проявлениями воспаления, его морфологическим субстратом и показателями неспецифической реактивности пациента существует тесная взаимосвязь.

Таким образом, необходимость оценки состояния иммунной системы при переломах нижней челюсти совершенно очевидна. В этом плане витальная компьютерная морфометрия в качестве возможного скринингового теста обладает рядом преимуществ: возможностью изучения живых клеток крови, отсутствием необходимости использовать дорогостоящие реактивы или оборудование, быстрым получением объективных данных на основе компьютерной технологии, применением универсальных критериев оценки, характеризующих как морфологические, так и функциональные особенности клеток, потребностью малого (не более 3–5 мл) объема крови для анализа морфофункционального состояния клеток.

Заключение. Морфологическими критериями высокого риска развития воспалительных осложнений у больных с переломами нижней челю-

сти является высокая степень активации НГ на фоне проводимого лечения – увеличение дегенеративных клеток с выраженными структурными изменениями в виде дегрануляции и повышенной вакуолизации, которые составляют структурную основу депрессии неспецифического иммунитета и развития воспаления.

Литература

1. Абидов, М.Т. Иммунотропная активность тамерита / М.Т. Абидов // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. - 2000. - Прил. № 3. - С. 11-14.
2. Астафьева, Р.Ф. Микробиологический мониторинг при контроле гнойно-септических процессов в хирургии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук - / Р.Ф. Астафьева. - М., 2003. - 22 с.
3. Современные проблемы и концепции диагностики и лечения острых воспалительных процессов челюстно-лицевой области и их осложнений / А.А. Никитин, М.Ю. Герасименко, М.Н. Косяков, В.П. Лапшин // Проблемы нейростоматологии и стоматологии. - 1998. - № 4. - С. 17-20.
4. Супиев, Т.К. Гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области / Т.К. Супиев // - М.: «МЕДпресс», 2001. - 160 с.
5. Biasotto, M. Odontogenic infections and descending necrotising mediastinitis: case report and review of the literature / M. Biasotto, T. Pellis, M. Cadenaro // Int. Dent. J. - 2004. - Vol. 54. - № 2. - P. 97-102.
6. Complications of mandibular fractures in an urban teaching center / J. Lamphier, V. Ziccardi, A. Ruvo, M. Janel // J. Oral Maxillofac. Surg. - 2003. - Vol. 61. - № 7. - P. 745-749.
7. Jayamanne, D.G. Orbital cellulites--an unusual presentation and late complication of severe facial trauma / D.G. Jayamanne, R.W. Bell, E.D. Allen // Br. J. Oral. Maxillofac. Surg. - 1994. - Vol. 32. - № 3. - P. 187-189.
8. Osteopetrosis: a review of the literature and report of a case complicated by osteomyelitis of the mandible / R.J. Bakeman, R.A. Abdelsayed, S.H. Sutley, R.F. Newhouse // J. Oral. Maxillofac. Surg. - 1998. - Vol. 56. - № 10. - P. 1209-1213.

КОМПЬЮТЕРНАЯ МОРФОМЕТРИЯ НЕЙТРОФИЛОВ В ДИАГНОСТИКЕ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Э.М. ОСИПЯН, И. В. ИВАНЮТА, К. С. ГАНДЫЛЯН,
И. А. ВАСИЛЕНКО, Н. В. МАЛЫЧЕНКО, И. А. УНАНОВА

Проведена оценка особенностей течения раннего посттравматического периода у 44 больных с переломами нижней челюсти, путем использования показателей морфофункционального состояния нейтрофильных гранулоцитов, полученных экспресс-методом витальной компьютерной морфометрии при поступлении больных в стационар и на 7-8 сутки послеоперационного периода. Установлено, что морфометрическими критериями угрозы развития воспалительных осложнений у больных с переломами нижней челюсти являются признаки высокой степени активации нейтрофилов на фоне проводимого лечения, увеличение содержания дегенеративных, функционально неполноценных клеток с выраженными структурными изменениями в виде дегрануляции, повышенной вакуолизации. Перечисленные нарушения составляют структурную основу депрессии защитных свойств неспецифического иммунитета и развития воспаления.

Ключевые слова: переломы нижней челюсти, морфометрия, нейтрофилы, гнойно-воспалительные осложнения

COMPUTER NEUTROPHILS MORPHOMETRY IN THE DIAGNOSTICS OF PYOINFLAMMATORY COMPLICATIONS AT PATIENTS WITH LOWER JAW FRACTURE

E.M. OSIPYAN, I.V. IVANYUTA, K.S. GANDYLYAN, I.A. VASILLENKO, N.V. MALYCHENKO, I.A. UNANOVA

Analysis of clinical course of early posttraumatic period in 44 patients with lower jaw fracture was performed using indices of neutrophils morphofunctional state measured by express-method of vital computer morphometry on the 7th – 8th day of postsurgical period. The following morphometric risk criteria for inflammatory complications in patients with lower jaw fracture were determined: neutrophils high activation during the treatment, increase amount of degenerative cells with defective function and hard structural damage such as degranulation and increased vacuolization. The above alterations form structural base for the depression of nonspecific immunity and inflammation development.

Key words: lower jaw fracture, computer morphometry of neutrophils, nonspecific immunity, reposition of lower jaw