

© Коллектив авторов, 2006  
УДК 616.716.4:616-001.5

## СОСТОЯНИЕ ФАКТОРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Э.М. Осипян<sup>1</sup>, И.В. Иванюта<sup>1</sup>, И.А. Василенко<sup>2</sup>,  
Н.В. Малыченко<sup>2</sup>, И.А. Унанова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ставропольская государственная медицинская академия

<sup>2</sup>ГУ институт ревматологии РАМН, Москва

**П**ереломы нижней челюсти (ПНЧ) и их лечение являются одной из актуальных проблем челюстно-лицевой хирургии. Среди всех травм костей лицевого скелета такие переломы составляют, по данным разных авторов, от 45 до 90%, при этом частота их встречаемости в настоящее время имеет устойчивую тенденцию к увеличению [2, 3, 4, 7, 8].

Оперативные вмешательства на костях лицевого скелета во многих случаях осуществляются в области предварительно инфицированного патологического очага [1, 6, 5]. Поэтому, несмотря на определенные успехи в совершенствовании методов лечения ПНЧ, важнейшей задачей челюстно-лицевой хирургии остается своевременная диагностика инфекционно-воспалительных процессов, основной причиной которых являются одонтогенные очаги, расположенные в плоскости перелома, а также другие эндо- и экзогенные факторы.

Способность организма противостоять микробной инфекции зависит от особенностей функционально-метаболического статуса нейтрофильных гранулоцитов (НГ). Известно, что нейтрофилы реагируют на малейшие изменения постоянства внутренней среды, что позволяет рассматривать эти клетки в качестве своеобразного «зеркала гомеостаза».

В последнее время предложены разнообразные автоматизированные методы для оценки морфофункционального статуса НГ, позволяющие анализировать изменения поверхностной архитектоники, рецепторно-мембранного аппарата, размерных параметров, функциональной активности и ряда других показателей. Однако в подавляющем большинстве случаев исследуются фиксированные и окрашенные цитообъекты.

Использованный в данной работе метод компьютерной фазово-интерференционной морфометрии по-

зволил осуществить экспресс-диагностику степени изменения витального морфофункционального состояния нейтрофилов периферической крови у больных с переломами нижней челюсти.

В задачи исследования входила сравнительная оценка морфофункционального статуса клеточных элементов неспецифического иммунитета соматически здоровых лиц и пациентов с переломами нижней челюсти на основе рутинных клинико-лабораторных тестов, методов хемилюминесцентного анализа и компьютерной фазовой морфометрии живых нейтрофильных гранулоцитов периферической крови.

**Материал и методы.** Обследованы 84 пациента с переломами нижней челюсти различной локализации. Все больные были мужского пола, их возраст составлял от 19 до 61 года (средний возраст  $38,9 \pm 1,8$  лет). Критериями включения в исследование служили: наличие у пациента клинически установленного и рентгенологически подтвержденного перелома нижней челюсти, а также согласие пациента.

Для определения показателей нормы нами были обследованы 20 практически здоровых лиц (доноров) — добровольцев мужского пола. 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.

Были изучены морфологические и некоторые функциональные показатели нейтрофильных гранулоцитов периферической крови.

При поступлении больных в стационар осуществляли забор крови из локтевой вены в объеме 3,0 мл. НГ выделяли на двойном градиенте плотности (1,077 и 1,093). Клетки отмывали центрифугированием в растворе Хенкса. Надосадок сливали, нейтрофилы разво-

дили раствором Хенкса до концентрации  $2 \times 10^6$ /мл.

Прижизненную оценку морфофункционального состояния клеток проводили с помощью метода компьютерной фазовой морфометрии на базе компьютерного лазерного фазово-интерференционного микроскопа (КФМ) “Цитоскан” (МГИРЭА, Москва) (Тычинский В.П.). 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.

Для оценки особенностей кислородного метаболизма полинуклеарных фагоцитов использовали метод люминолзависимой хемилюминесценции. В работе использовали хемилюминометр – ХЛМ-3, совмещенный со средой MacLab-Macintosh. При проведении хемилюминесцентного исследования регистрировали исходную спонтанную (ХЛсп) и активированную зимозаном (ХЛакт) хемилюминесценцию клеток, рассчитывали хемилюминесцентный индекс – Ихл по формуле

$$И_{хл} = \frac{ХЛ_{акт} - ХЛ_{сп}}{ХЛ_{сп}}, \text{ где}$$

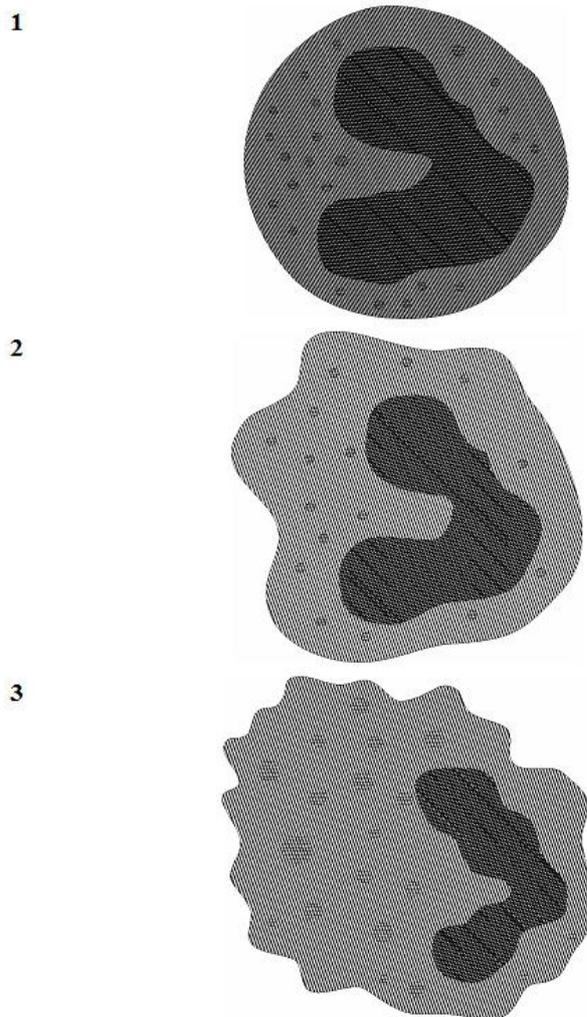
ХЛсп – максимальный показатель спонтанного теста, ХЛакт – максимальный показатель стимулированного теста хемилюминесценции.

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.** Были изучены особенности морфологической структуры нефиксированных и неокрашенных живых, функционирующих нейтрофильных гранулоцитов. Анализ литературы и полученная база данных фазово-интерференционных изображений клеток позволили выделить и идентифицировать различные морфологические типы нейтрофилов, характеризующие ту или иную степень активности. Основой для дискриминации структурно измененных клеток служили различные варианты формы, характера рельефа поверхности, наличие псевдоподий, гранул, вакуолей и т.п.

Выделено 3 основных морфологических типа нейтрофилов (рис. 1):

1 – клетки округлой формы с четко выраженными границами. Поверхность неровная, бугристая. Цитоплазма плотная, компактная, утолщенная по периферии. Ядра несегментированные бобовидные или



**Рис. 1. Различные морфологические типы живых функционирующих нейтрофильных гранулоцитов периферической крови. 1 – I тип, 2 – II тип, 3 – III тип.**

(реже) сегментированные, расположены в центре или по периферии цитоплазмы;

2 – клетки разнообразной формы и размера с неровной, бугристой поверхностью. Границы достаточно четкие, сложной формы, извилистые. Цитоплазма более плотная в центре, менее – на периферии. В цитоплазме отдельных клеток определяется зернистость. Отмечаются хорошо сформированные и четко очерченные псевдоподии (2–3 и более). Ядро, преимущественно сегментированное, расположено слегка асимметрично;

3 – клетки разнообразной формы и размера с четкими размытыми границами. Цитоплазма просветленная, рыхлая, с нарушенной структурой и опущенными гранулами, сильно вакуолизированная. Ядро сегментированное, расположено асимметрично, на периферии клетки.

Установлено, что в пуле циркулирующих нейтрофилов соматически здоровых лиц содержание неактивных клеток 1 типа составляет  $19,7 \pm 3,1\%$ , число функционально-активных зрелых нейтрофилов (2 морфологический тип) –  $71,2 \pm 4,3\%$ , а дегенеративно-измененных, исчерпавших свой функциональный ре-

зерв (3 морфологический тип) –  $9,1 \pm 2,8\%$ .

У больных с переломами нижней челюсти было отмечено изменение морфофункционального состояния НГ, которое сопровождалось появлением среди них клеток с модифицированными цитоморфологическими характеристиками. Циркулирующие нейтрофилы были представлены преимущественно гиперсегментированными зрелыми формами, при этом большой процент клеток имел деструктивные изменения в виде фрагментации ядер, повышенной вакуолизации, дегрануляции и разрывов мембран.

Так, у обследованных пациентов число функционально-полноценных зрелых нейтрофилов (2 морфологический тип) уменьшилось на 7% по сравнению с донорской группой, на 3% было снижено содержание НГ с низкой активностью (1 морфологический тип) и практически в 2 раза увеличено количество старых клеток, исчерпавших свой функциональный резерв (3 морфологический тип) (рис. 2).

В таблице представлены средние по популяции размерные параметры нейтрофильных лейкоцитов периферической крови больных с переломами нижней челюсти. Является очевидным, что значения диаметра, периметра и площади НГ крови у обследованных пациентов достоверно превышают соответствующие показатели соматически здоровых людей на 11,3, 11,9 и 33,7%, соответственно. Величины фазовой высоты и объема клеток у больных снижены практически на 10,7% ( $p < 0,05$ ) и 3,0% ( $p > 0,05$ ), соответственно.

Не исключено, что повышение величин диамет-

ра, периметра и площади НГ объясняется увеличением количества псевдоподий и некоторым выравниванием мельчайших, не обнаруживающихся светооптическими методами микроскопирования, складок клеточной мембраны. Снижение высоты и объема, по-видимому, связано с активными процессами дегрануляции и вакуолизации нейтрофилов.

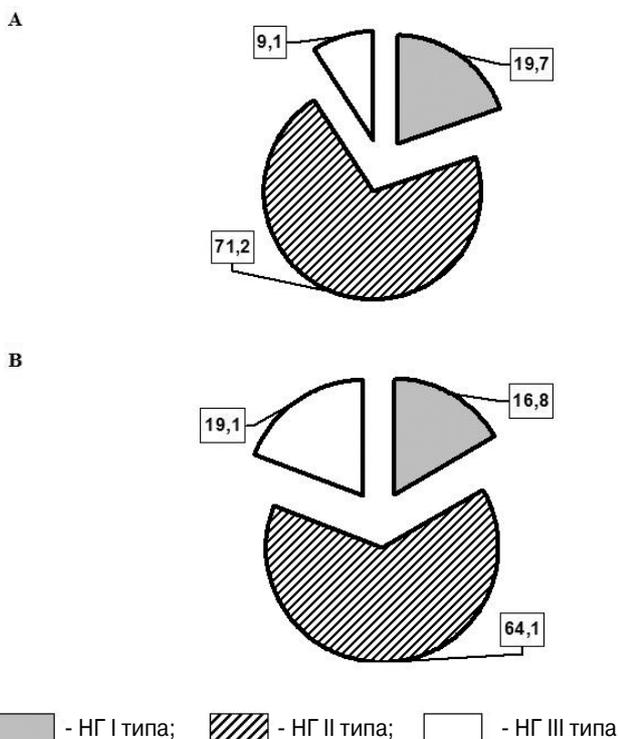
Было установлено, что у больных с переломами нижней челюсти в первые сутки после травмы отмечается повышение спонтанной ХЛ до  $0,3 \pm 0,04$  mV (против  $0,1$  mV у соматически здоровых лиц,  $p < 0,05$ ). В то же время практически на четверть снижается величина активированной ХЛ –  $0,81 \pm 0,11$  mV (против  $0,98$  mV,  $p < 0,05$ ). Хемилюминесцентный индекс составил  $1,7 \pm 0,3$  у.е. (против  $8,8 \pm 1,4$  у.е.,  $p < 0,05$ ).

Высокие показатели спонтанной реакции объясняются повышенной активацией нейтрофилов микробными клетками и их дериватами в результате провокации одонтогенных очагов ротовой полости, а также последствий травматической стресс-реакции. Уменьшение активированной ХЛ и, соответственно, хемилюминесцентного индекса может быть связано со снижением резервных возможностей фагоцитирующих клеток. По-видимому, при этом играют определенную роль как увеличение в циркуляции молодых, функционально недостаточно зрелых нейтрофильных гранулоцитов, так и клеток, исчерпавших свой потенциал. Дальнейшее снижение функциональной активности НГ может иметь нежелательные последствия в виде развития и прогрессирования посттравматических воспалительных осложнений.

Проанализированные параллельно традиционные лабораторные гематологические показатели не выявили значимых изменений со стороны лейкоцитарного звена. Можно отметить только некоторое увеличение общего количества лейкоцитов по сравнению со здоровыми лицами, однако колебания этого параметра оставались в пределах допустимой нормы. Повышение содержания сегментоядерных нейтрофилов также носило умеренный характер, не выходя за пределы нормальных значений.

Представленные результаты морфометрического анализа клеточного звена неспецифического иммунитета у больных с переломами нижней челюсти являются интегральными для всей группы пострадавших и позволяют судить об общих закономерностях перестройки морфофункционального состояния нейтрофилов периферической крови в первые сутки после травмы. Происходящие на клеточном уровне процессы характеризуют состояние умеренного функционального напряжения, когда регуляторные механизмы работают с более высокой нагрузкой, чем это должно быть в условиях нормы.

Приведенные данные цитометрического анализа подтверждают взаимосвязь изменений структуры и функции клеток. Компьютерная фазовая морфометрия живых функционирующих нейтрофилов дает возможность количественно оценить их морфологические особенности: форму и величину клеток, форму и раз-



**Рис. 2.** Соотношение морфологических типов нейтрофильных гранулоцитов периферической крови соматически здоровых лиц (А) и больных с переломами нижней челюсти (В) (%).

Размерные параметры нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных с переломами нижней челюсти ( $M \pm \delta$ )

Группы обследованных	Диаметр, мкм	Периметр, мкм	Высота, мкм	Площадь, мкм <sup>2</sup>	Объем, мкм <sup>3</sup>
Здоровые (n=20)	11,5 ± 2,9	35,2 ± 4,1	2,8 ± 0,6	68,4 ± 18,5	86,5 ± 35,6
Больные (n=84)	12,8 ± 2,2*	39,4 ± 6,9*	2,5 ± 0,6*	91,5 ± 12,4*	83,9 ± 21,2

Примечание: \* –  $P < 0,05$  относительно контроля.

меры ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение, характер мембранных границ, наличие или отсутствие гранул, вакуолей и т.п. Важно, что полученные результаты позволяют одновременно исследовать и функциональные показатели нейтрофилов – уровень их активности, готовность к мобилизационным (подготовительным) и эффекторным реакциям. Анализ совокупности витальных оптико-геометрических показателей фазовых образов представляет собой комплексную морфофункциональную характеристику нейтрофильных лейкоцитов, и, следовательно, обобщающую оценку противомикробной защиты, состояния неспецифического иммунитета.

**Заключение.** Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что у больных с переломами нижней челюсти в первые сутки после травмы наблюдается перестройка клеточного звена неспецифического иммунитета. Выявленные нами особенности морфофункционального статуса НГ характерны для состояния умеренного напряжения: рост числа циркулирующих лейкоцитов, изменение структурно-функциональных параметров фагоцитирующих клеток. Полученные результаты позволяют предполагать существенную диагностическую и прогностическую значимость подобной морфометрической оценки неспецифического иммуни-

тета больных с переломами нижней челюсти для характеристики течения посттравматического периода, адекватности лечебных мероприятий и ранней диагностики воспалительных осложнений.

#### Литература

1. Использование остеопластических материалов при лечении нагноившейся костной раны нижней челюсти в эксперименте / А.С. Панкратов [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2000. – №5. – С. 4-6.
2. Карасенков, Я.Н. Лечение больных с открытыми переломами нижней челюсти: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Я.Н. Карасенков - Москва, 2004. – 46 с.
3. Панкратов, А.С. Анализ современной эпидемиологической картины переломов нижней челюсти / А.С. Панкратов // Российский стоматологический журнал. – 2001. – №4. – С. 26-30.
4. Филиппов, С.В. Сравнительная клинико-иммунологическая характеристика течения переломов нижней челюсти у больных Якутска и Москвы / С.В. Филиппов, Ю.И. Черештгов, К.А. Лебедев // Стоматология. – 1998. – №1. – С. 36-38.
5. Enteric bacteria mandibular osteomyelitis / P.Scolozzi, T. Lombardi, T. Edney, B. Jaques // Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod. – 2005. – Vol.99. – №6. – P. 42-46.
6. Furr, A.M. Factors associated with long-term complications after repair of mandibular fractures / A.M. Furr, J.M. Schweinfurth, W.L. May // Laryngoscope. – 2006. – Vol.116. – №3. – P. 427-430.
7. Interesting case: an unusual fracture of the angle of the mandible / N.Mackenzie, S. Grosse, J.D. Barnard, P.A. Brennan // Br. J. Oral. Maxillofac. Surg. 2006 – Vol. 44. – №1. – P. 48.
8. Stacey, D. H. Management of mandible fractures. / D.H. Stacey, J.F. Doyle, D.L. Mounie // Plast. Reconstr. Surg. – 2006. – Vol. 117. – №3. – P. 48-60.

#### СОСТОЯНИЕ ФАКТОРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Э.М. ОСИПЯН, И.В. ИВАНИЮТА, И.А. ВАСИЛЕНКО, Н.В. МАЛЫЧЕНКО, И.А. УНАНОВА

Результаты морфометрического анализа клеточного звена неспецифического иммунитета у больных с переломами нижней челюсти являются интегральными для всей группы пострадавших и позволяют судить об общих закономерностях перестройки морфофункционального состояния нейтрофилов периферической крови в первые сутки после травмы. Данные цитометрического анализа подтверждают взаимосвязь изменений структуры и функции клеток. Анализ совокупности витальных оптико-геометрических показателей фазовых образов представляет собой комплексную морфофункциональную характеристику нейтрофильных лейкоцитов и, следовательно, обобщенную оценку противомикробной защиты, состояния неспецифического иммунитета. Доказано, что у больных с переломами нижней челюсти в первые сутки после травмы наблюдается перестройка клеточного звена неспецифического иммунитета.

**Ключевые слова:** переломы нижней челюсти, нейтрофильные гранулоциты, морфометрия, неспецифический иммунитет, цитометрический анализ

#### 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. VASILENKO, 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