

*by inflammatory processes are presented in the article. It is found an increase of indices of endogenous intoxication is accompanied by inhibition of non-specific defense of the body.*

УДК 616.716.8:616.314-089.844-02

**УЛЬТРАСТРУКТУРА ТКАНИН ПАРОДОНТА ВЕРХНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ТА  
ЗМІНИ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ЗАГАЛЬНОЇ ТА МІСЦЕВОЇ  
НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ПАЦІЄНТІВ ЧЕРЕЗ 6 МІСЯЦІВ  
ПІСЛЯ ПРОВЕДЕННЯ СІНУС-ЛІФТИНГУ**

**М.І. Кінчур**

*Центральна стоматологічна поліклініка МО України*

**Резюме.** *Стаття присвячена дослідженню особливостей ультраструктури тканин пародонта верхньої щелепи, а також загальної та місцевої неспецифічної резистентності у пацієнтів з атрофією альвеолярного відростка через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу. Показано, що через півроку після проведення кістково-пластичної операції із застосуванням біоматеріалу BioOss у таких пацієнтів процеси репаративної регенерації не можуть вважатися повністю завершеними. Рівень активності лужної фосфатази та її кісткової ізоформи не вказує на ефективне ремоделювання кістки, а остання за своєю структурою відрізняється від такої у здорових осіб. Спостерігається також зниження місцевої та загальної неспецифічної резистентності у пацієнтів через 6 міс. після оперативного втручання.*

**Ключові слова:** *синус-ліфтинг, нейтрофільні лейкоцити, лужна фосфатаза, остаза, тканини пародонта, неспецифічна резистентність.*

**Вступ.** На теперішній час розповсюдженими методами заміщення кісткового дефекту є синус-ліфтинг. Найчастіше вона є необхідною для якісного встановлення зубних імплантатів у бічні відділи верхньої щелепи в умовах недостатнього об'єму кістки. Процеси остеорегенерації у пацієнтів з атрофією альвеолярного відростка верхньої щелепи, яким було проведено синус-ліфтинг, з огляду на особливості і щільності будови кістки та інтенсивність кровопостачання кісткової тканини активно відбуваються протягом 6 місяців [1,3]. Вважають, що саме в цей період після остеозаміщення остеопластичним матеріалом практично завершується формування нової кістки, проростання капілярів та відновлення більшості гомеостатичних параметрів ротової

порожнини [23]. Однак, говорити про те, що механізми, які відповідають за перебіг відновлюваних процесів, розкриті повністю на теперішній час є передчасним [18].

Протягом тривалого часу в клінічній практиці в якості кістково-пластичних матеріалів застосовувалися три види кісткових трансплантатів: аутогенні, алогенні й ксеногенні, котрі здатні забезпечувати направлену кісткову регенерацію [22]. У стоматологічній практиці часто застосовують натуральний остеозамінюючий матеріал Bio-Oss, який складається з мінеральних компонентів бичачої кістки. Дослідники та клініцисти вважають, що біоматеріали природного походження можуть справляти позитивний вплив на адгезію клітин, загоєння ран та регенерацію тканин, а також слугувати матрицею для нової тканини, що формується [20,23]. Проте на сьогоднішній день можна стверджувати, що ще не існує “ідеального матеріалу”, який би відповідав усім вимогам й повною мірою забезпечував неускладнений перебіг формування кістки.

**Метою** роботи було дослідження структури та функції тканин пародонта, місцевої неспецифічної резистентності в ротовій порожнині та активності лужної фосфатази у пацієнтів з атрофією альвеолярного відростка верхньої щелепи через 6 місяців після проведення сінус-ліфтингу.

**Матеріали та методи дослідження.** З метою формування репрезентативної групи пацієнтів для виконання роботи проведено комплексне обстеження 127 осіб обох статей віком 35-55 років без пародонтиту або з пародонтитом I-го ступеня з атрофією альвеолярного відростка верхньої щелепи, викликаною екстракцією зубів. На ортопантомограмі виявляли часткову адентію без вогнищ хронічного періодонтиту але з вираженою деструкцією альвеолярного відростка верхньої щелепи в ділянці молярів (висота альвеолярного відростка становила здебільшого 2 - 4 мм).

Всім пацієнтам перед операцією сінус-ліфтингу, проводилася оцінка функціонального стану організму із застосуванням загальноприйнятих методів передопераційної підготовки. Рентгенологічне обстеження включало вивчення прицільних знімків щелепних сегментів, у тому числі оклюзійних ортопантомограм, які проводили за допомогою цифрового ортопантомографа Planmeca ProOne (Фінляндія).

Реконструкцію альвеолярного відростка та тіла верхньої щелепи виконували доступом через дистально-латеральну стінку з підняттям дна верхньощелепної пазухи [13]. В якості кістково-пластичного матеріалу застосовували натуральний остеозамінюючий біоматеріал BioOss (Geistlich Biomaterials, Швейцарія), який складається з мінеральних компонентів бичачої кістки і являє собою надійний каркас для проростання кровоносних судин та міграції остеобластів з кісткових стінок, котрі оточують кістковий дефект, що полегшує формування та проростання нової кістки [20,23].

У морфологічних і морфометричних дослідженнях використовували зразки прикріплених ясен та кістки верхньої щелепи. Препарати для електронномікроскопічних досліджень виготовляли за загальноприйнятою методикою з попередньою декальцинацією зразків кістки альвеолярного відростка [7]. Фіксацію біологічного матеріалу проводили за допомогою забуференого 2,5% розчину глютарового альдегіду та реактиву Колфілда (на основі 2% OsO<sub>4</sub>, рН – 7,3) з наступною заливкою в епон (реактиви фірми Sigma, США). Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували 1% розчином ураніл ацетату та розчином цитрату свинцю за методикою Рейнольдса (реактиви фірми Sigma, США) [15] і досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К (Україна).

Морфометричну оцінку гістогематичного бар'єра (ГГБ) у тканині прикріплених ясен виконували на електронних мікрофотографіях згідно з підходами Вейбеля [4], визначаючи середню арифметичну товщину бар'єру (ф). Загальну кількість функціонуючих капілярів визначали згідно з методикою Норрелер Н. та ін. [19] на екрані електронного мікроскопа при малому збільшенні (x 1800-2000). Загальну кількість мітохондрій (пМХ) визначали за допомогою комп'ютерної програми Image Tool Version 3 (США) на 130-150 полях для кожної серії досліджень.

Дослідження кількості нейтрофільних лейкоцитів (НЛ), котрі емігрували в ротову порожнину через слизову оболонку щоки, виконували у соскобах, відібраних згідно з методикою, запропонованою В.Д.Дишловим [5]. Соскоби (мазки) фіксували у метиловому спирті, фарбували розчином (1 мл готового фарбника + 2 мл основного буферного розчину + 47 мл дистильованої води) протягом 40 хв. Ядра нейтрофілів були пофарбовані у кольори від інтенсивно пурпурного до фіолетового, цитоплазма – у синьо-голубий колір [14,16]. Підраховували кількість нейтрофілів на 100 клітин за допомогою світлового мікроскопа (імерсія, x90) (Karl Zeiss, Германія).

Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ) нейтрофільних лейкоцитів проводили методом азотсполучення із заміщенням нафтолом за Акерманом [5,11]. Для оцінки цитохімічної реакції застосовували метод Karlow L.S. [26].

Визначення активності лужної фосфатази плазми крові визначали фотоколориметричним методом за допомогою фотоелектроколориметра (ФЕК - АЕ-30F, Росія) [11].

Кількісне визначення кісткового ізофермента ЛФ – остази (ОС) для оцінки активності остеобластів, виконували у зразках плазми крові методом імуноферментного аналізу за допомогою наборів METRA® ВАР (Quidel corporation, США). Вимірювання виконували планшетним фотометром для імуноферментного аналізу УНИПЛАН (ПІКОН, Росія).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакета прикладних програм (пакет аналізу Microsoft Office Excel (2003)). При  $p < 0,05$  зміни вважали достовірними.

**Результати дослідження та їх обговорення.** При аналізі ортопантомограм через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу в ділянках, у яких спостерігалася атрофія альвеолярного відростка верхньої щелепи, котра усувалася за допомогою біоматеріалу BioOss візуально визначалося ремодельовання кістки (Рис. 1б), тобто, через півроку після операції синус-ліфтингу відбувалося відновлення альвеолярного відростка верхньої щелепи. Однак, структура регенованої кістки не може вважатися повністю ідентичною кістці здорових осіб (Рис. 2).

З одного боку, ангиогенез, активований в місцях атрофії, супроводжувався утворенням судин без ознак ендотеліальної дисфункції (Рис. 2а). З іншого - за наявності клітинних елементів з нативною ультраструктурою спостерігалися значні ділянки кістки, котрі мали ознаки сполучної тканини, яка складалася переважно з колагенових волокон, або хряща навіть з ознаками хондроптоза, залишкові включення сполучної тканини виявляли ознаки активності (Рис. 2б).

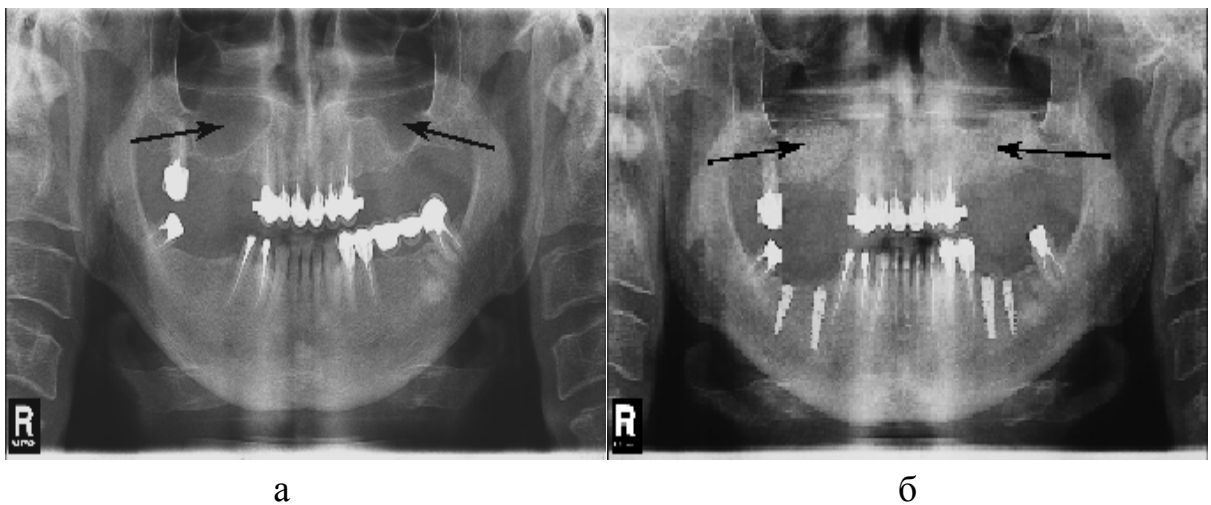


Рис. 1. Стан альвеолярного відростка верхньої щелепи через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу (б); а – виражена двостороння атрофія альвеолярного відростка верхньої щелепи, викликана частковою адонтією, до кістково-пластичної операції. Стрілками позначені ділянки атрофії або відновлення кісткової тканини

В досліджуваних зразках виявлялися фібробласти, що відіграють провідну роль у синтезі компонентів міжклітинної речовини: проколагену та протеогліканів, які підвищують міцність сполучної тканини, а також фібронектину, еластину, глікозаміногліканів [2,10]. Фібробласти виявляли високу активність, про що можна було судити за добре вираженою зернистістю гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, що займав близько

35-40% об'єму клітини (Рис. 3). Виявлений феномен може вказувати на продовження процесу ремоделювання кістки.

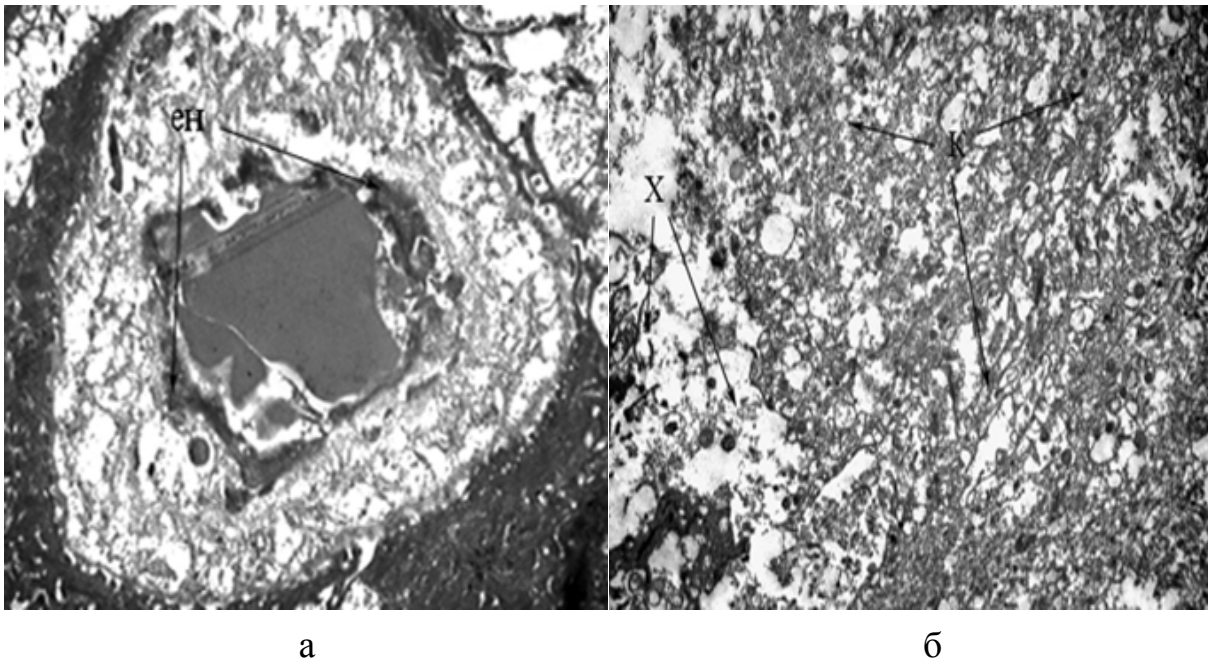


Рис. 2. Ультраструктура кісткової тканини альвеолярного відростка верхньої щелепи через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу: а – відсутність ендотеліальної дисфункції; б – проростання компонентів міжклітинної речовини та прояви хондроптоза. ен – ендотелій, К – колагенові волокна, Х – хондроптоз. х 9600

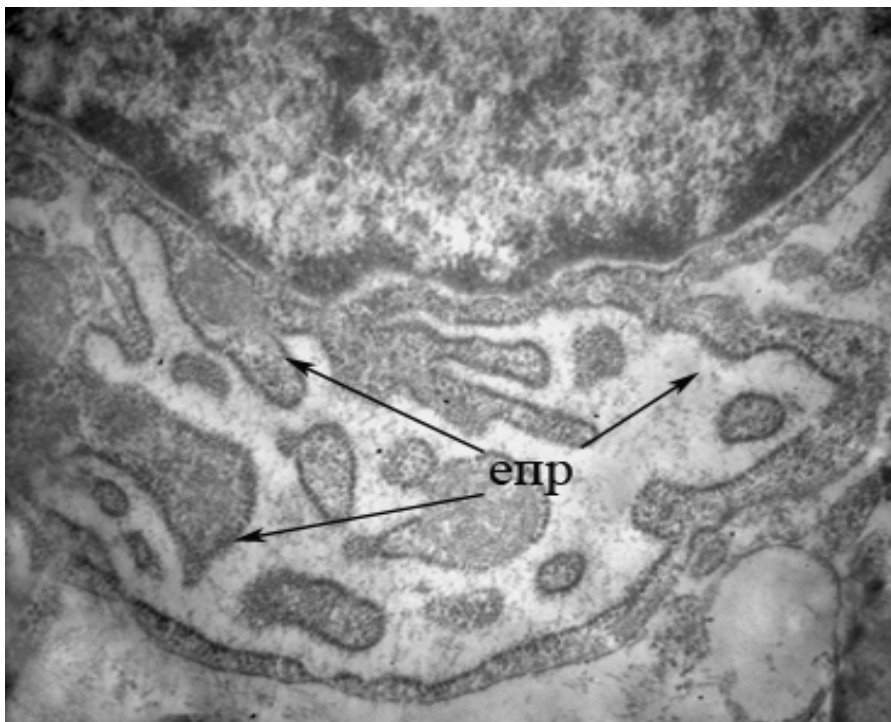


Рис. 3. Ультраструктура фібробласта в ділянці проведення синус-ліфтингу. х16200

Ультраструктура прикріплених ясен візуально набувала нативного вигляду. Однак при проведенні морфометричних досліджень було виявлено відмінності тканини ясен у пацієнтів від здорових осіб: спостерігалася достовірно (на 18,8%) менша кількість функціонуючих капілярів; визначалося достовірно (на 30,5%) потовщення гістогематичного бар'єру (ГГБ) в тканині ясен; зростала (на 34,7%) загальна кількість мітохондрій (МХ) в досліджуваній тканині (табл.).

Відмічені особливості характеризують як неповну завершеність процесів відновлення тканин пародонта через 6 місяців після синус-ліфтингу [3,18], так і вказують на відмінності структури тканин пародонта у пацієнтів, альвеолярний відросток котрих піддавався атрофії.

*Таблиця*

**Деякі морфометричні характеристики тканини прикріплених ясен у пацієнтів через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу (M±m, n=15 в кожній групі)**

| Групи обстежених   | Кількість функціонуючих капілярів, Од/мм <sup>2</sup> | Товщина гістогематичного бар'єра, нм | Загальна кількість мітохондрій, Од/мкм <sup>2</sup> |
|--|---|--------------------------------------|---|
| Контрольна   | 45,3±2,3  | 203±10                               | 9,8±0,7   |
| Пацієнти через 6 міс. після синус-ліфтингу (до проведення імплантації) | 36,8±1,9*   | 265±12*                              | 13,2±0,7*   |

**Примітка:** \* - різниця достовірна відносно контрольних величин (p<0,05)

Період регенерації альвеолярного відростка верхньої щелепи супроводжувався змінами місцевої неспецифічної резистентності у пацієнтів, що через півроку після проведення синус-ліфтингу відображалося у зростанні кількості нейтрофілів, які емігрували через слизову оболонку щоки і активності лужної фосфатази в них (Рис. 4).

Патологічні процеси, які розвиваються в організмі, особливо ті, що пов'язані з патологією обмінного характеру, часто супроводжуються змінами у морфофункціональному стані слизової оболонки ротової порожнини, котрі обумовлюються пошкодженнями судинної стінки [3,8], на що, зокрема, вказує виявлена нами гіпергідратація ГГБ (більш, ніж 30% його потовщення). Саме зростання проникності судинної стінки призводить до виходу клітин із судинного русла зокрема на поверхню щоки, що і відображається визначеним збільшенням кількості НЛ (див. рис. 4).

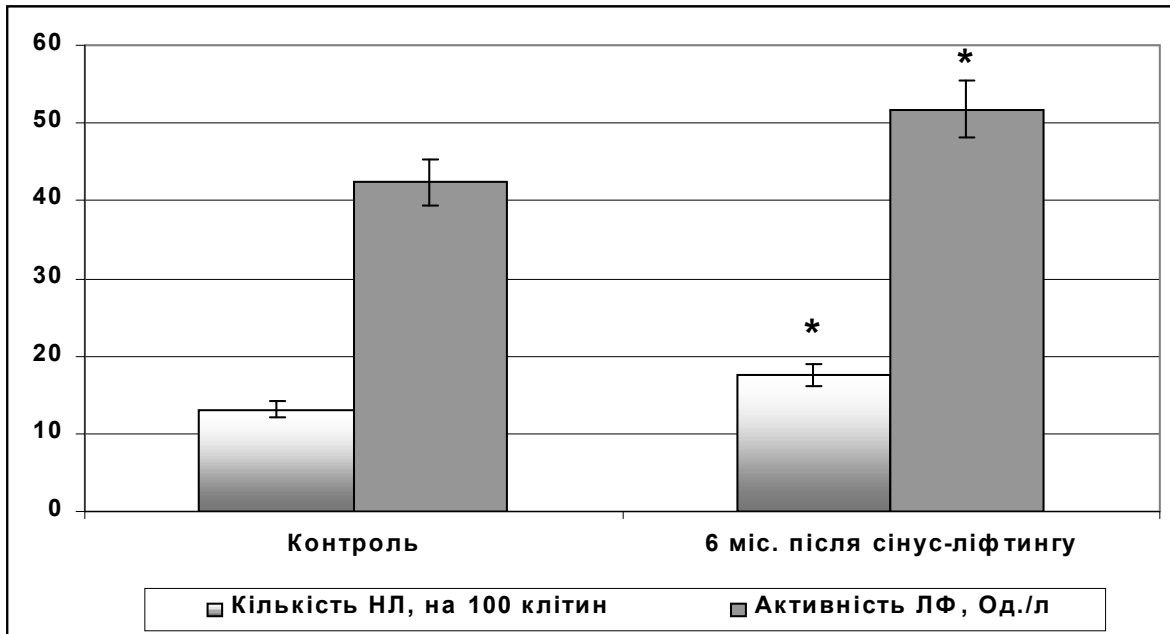


Рис. 4. Показники місцевої неспецифічної резистентності. \* - різниця достовірна відносно контрольних значень ( $p < 0,05$ ).

На даний час показано, що ЛФ відноситься до біохімічних маркерів обміну речовин в кістковій тканині [6]. Рівень її активності характеризує диференціацію гранулоцитів і є одним з ранніх показників функціонування остеобластів, приймає участь в процесах мінералізації кістки. Отже збільшення активності цього ферменту (див. рис. 4) може бути одним із свідчень активного перебігу кісткової регенерації. Однак, якщо оцінити співвідношення активності ЛФ до загальної кількості НЛ, котрі емігрували в ротову порожнину, виявляється, що величина ЛФ/НЛ у пацієнтів є зменшеною по відношенню до контрольних осіб: 3,24 в контролі та 2,96 у осіб після синус-ліфтингу. Встановлено, що ЛФ, яка визначається в НЛ, належить до танинонеспецифічних ізомерів ферменту, і її активність зростає в процесі кісткового диференціювання [6,17]. Отже, при регенерації альвеолярного відростка після синус-ліфтингу активність ЛФ в кожному нейтрофілі має зростати. Тобто, можна припустити, що визначений нами рівень співвідношення досліджуваних показників вказує на зниження місцевої неспецифічної резистентності та меншу за необхідну ефективність перебігу процесів регенерації кісткової тканини альвеолярного відростка верхньої щелепи після проведення синус-ліфтингу. Для підтвердження такого припущення можна залучити результати, отримані в дослідженнях відносно співвідношення НЛ та активності катіонних білків в них при незавершеній або ускладненій репаративній регенерації після хірургічного лікування переломів щелеп [12].

Оцінку загальної неспецифічної резистентності організму пацієнтів через 6 міс. після проведення синус-ліфтингу здійснювали на основі дослідження активності ЛФ та її кісткової ізоформи – остазу, в плазмі хворих.

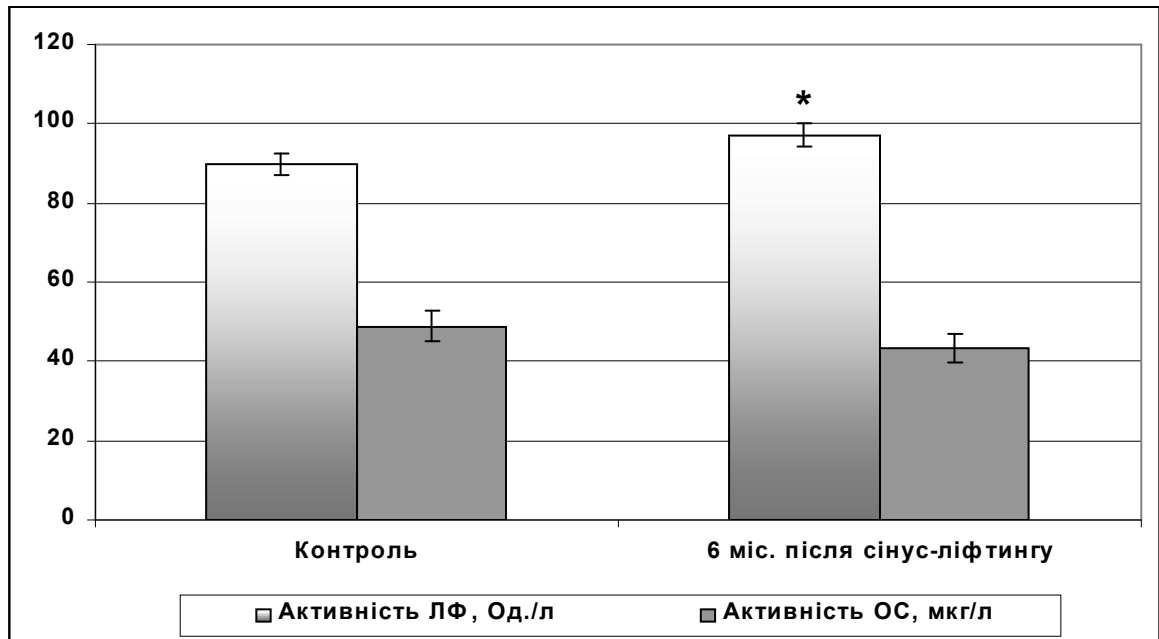


Рис. 5. Показники загальної неспецифічної резистентності. \* - різниця достовірна відносно контрольних значень ( $p < 0,05$ ).

У пацієнтів через 6 міс. після синус-ліфтингу показано достовірне зростання активності ЛФ в плазмі крові (Рис. 5). Така динаміка, зважаючи на роль ферменту в регенерації кістки, могла б розглядатися як позитивний факт щодо перебігу ремоделювання альвеолярного відростка. Однак, при цьому відомо, що існує кореляція між рівнем концентрації кісткова фракція ЛФ – остазу, та швидкістю формування кістки [2,10,17]. Вважають, що у здорових осіб співвідношення загальної ЛФ та остазу становить 43-55%. У обстеженій нами контрольній групі співвідношення ОС/ЛФ становило 54,3%. У пацієнтів після синус-ліфтингу, достовірних змін активності ОС плазми крові не спостерігалось (див. рис. 5), а співвідношення ОС/ЛФ навіть дещо знижувалося - до 44,5% за рахунок підвищення загальної активності ЛФ, що не відображає процесів активної регенерації кісткової тканини. Отримані результати підтверджують наявні в науковій літературі дані, котрі свідчать про те, що через 4-6 міс. після синус-ліфтингу кістково-тканинний регенерат має неоднорідну будову, яка вказує на продовження регенеративних процесів [9].

### Висновки

1. Через 6 місяців після проведення синус-ліфтингу із застосуванням біоматеріалу BioOss пацієнтам з атрофією альвеолярного відростка верхньої щелепи процеси репаративної регенерації не можуть вважатися повністю завершеними.



2. Рівень активності лужної фосфатази та її кісткової ізоформи не вказує на ефективне ремоделювання кістки, а остання за своєю структурою відрізняється від такої у здорових осіб.

3. Спостерігається зниження місцевої та загальної неспецифічної резистентності у пацієнтів після проведення кістково-пластичної операції.

4. Встановлені факти необхідно враховувати при проведенні спрямованих терапевтичних заходів для підвищення ефективності відновлення кісткової тканини і збільшення резерву загальної та місцевої неспецифічної резистентності протягом відновлювального періоду після кістково-пластичних операцій.

### **Література**

1. Базикян Э.А. Восстановление альвеолярного гребня верхней челюсти в дистальных отделах для установки дентальных имплантатов 111 / Э.А. Базикян, Б.С. Смбатян // Клини. стоматол. - 2008. - № 2. - С.4-10.

2. Біохімія кісткової і сполучної тканини. – 2008. - Режим доступу до електронного ресурсу: <http://medbib.in.ua/formirovanie-kosti.html>

3. Болезни пародонта. Патогенез, диагностика, лечение / А.С. Григорьян, А.И. Грудянов, Н.А. Рабухина, О.А. Фролова. – М.: МИА, 2004. – 320 с.

4. Вейбель Э.Р. Морфометрия легких человека / Э.Р.Вейбель [пер. с англ.]. – М.: Медицина, 1970. – 170 с.

5. Дышловой В.Д. Методика исследования эпителиальных клеток слизистой оболочки щеки человека / В.Д. Дышловой // Цитология и генетика : Деп. в ВНИИТИ 29 декабря 1975. - № 3704-75. – 16 с.

6. Житков М.Ю. Влияние ионов кальция и фосфата на скорость адсорбции щелочной фосфатазы и некоторых белков из сыворотки крови на гидроксиапатите / М.Ю. Житков, А.А. Орлов // Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 2014. - № 3. - С.63-66.

7. Карупу В.Я. Электронная микроскопия / В.Я.Карупу. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.

8. Нарушения микроциркуляции пародонта при экспериментальных пародонтитах легкой степени и их коррекция перфтораном / К.М. Расулов, З. Хамад, М.Г. Гаджиев, М.А. Магомедов // Биомед. журн. – 2006. – № 5. – С. 229-230.

9. Оценка репаративной регенерации костной ткани челюсти с помощью микрофокусной рентгенографии в эксперименте / А.Ю. Васильев, И.М. Буланова, Н.Н. Мальгинов [и др.] // Стоматология. - 2009. - № 4. - С. 24-27.

10. Перова М.Д. Ткани пародонта: норма, патология, пути восстановления / М.Д. Перова. - М.: Триада, 2005. - 312 с.

11. Полотнянко Л.И. Клиническая химия / Л.И. Полотнянко. – М.: ВЛАДОС-ПРЕСС, 2008. – 343 с.

12. Прогностические возможности показателя повреждения нейтрофилов и уровня напряжения кислорода в мягких тканях пародонта на разных этапах имплантации у больных с частичными дефектами зубного ряда / О.М. Притула, Ю.Р. Кирилук, Е.В. Горобец, Е.В. Розова // Зб. наук. праць Ін-ту стоматології НМАПО ім. П.Л.Шупика. – 2008. – Вип. 3. – С. 147-151.

13. Робустова Т.Г. Осложнения при зубной имплантации / Т.Г. Робустова // Стоматология. - 2012. - № 1. - С. 19-24.

14. Соснин Д.Ю. Автоматизация и стандартизация окраски мазков крови в практической деятельности клинико-диагностических лабораторий / Д.Ю. Соснин, О.Ю. Ненашева, О.Г. Кубарев // Справочник заведующего КДЛ. – 2013. - № 11. – С. 37–44.

15. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – М.: Мир, 1975. – 326 с.

16. Фрадкин В.А. Диагностика аллергии реакциями нейтрофилов крови / В.А. Фрадкин. – М.: Медицина. – 1985. – 175 с.

17. Шубич М.Г. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии / М.Г. Шубич, Б.С. Нагоев. – Москва, «Медицина». – 1980. – 224 с.

18. Davies J.E. Mechanisms of endosseous integration / J.E. Davies // Internat. J. Prosthodontics. - 1998. - V. 11., N 2. - P. 391-401.

19. Hoppeler H. Muscle tissue adaptation to hypoxia / H. Hoppeler, M. Vogt // J. Exp. Boil. – 2001. – V. 204, N 18. – P. 3133-3139.

20. Intolerance of osteosynthesis material: evidence of dichromate contact allergy with concomitant oligoclonal T-cell infiltrate and TH1-type cytokine expression in the peri-implantar tissue / P. Thomas, B. Summer, C.A. [et al.] // Allergy. — 2000. — V. 55, N 8. — P. 969–972.

21. Kaplow L.S. Histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity marrow / L. S. Kaplow // Blood. – 1955. – V. 10, N 10. – P. 1023 – 1029.

22. Moy P. Maxillary sinus augmentation histomorphometric analysis of graft materials for maxillary sinus floor augmentation / P. Moy, S. Lundgren, R.E. Holmes R.E. // Intern. J. oral Maxillofac. Surg. - 2012 – V. 52, N 1. – P. 51- 54.

23. Richardson C. Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans / C. Richardson // J. Clin. Periodontol. – 1999. – V. 26, N 7. – P. 421-428.

**Резюме.** *Статья посвящена изучению особенностей ультраструктуры тканей пародонта верхней челюсти, а также общей и местной неспецифической резистентности у пациентов с атрофией альвеолярного отростка через 6 мес. после проведения синус-лифтинга. Показано, что через полгода после проведения костно-пластической*

*операции с использованием биоматериала BioOss у таких пациентов процессы репаративной регенерации не могут считаться полностью завершенными. Уровень активности щелочной фосфатазы и ее костной изоформы не указывает на эффективное remodelирование кости, а последняя по своей структуре отличается от таковой у здоровых лиц. Наблюдается также снижение местной и общей неспецифической резистентности у пациентов через 6 мес. после проведения оперативного вмешательства.*

**Ключевые слова:** *синус-лифтинг, нейтрофильные лейкоциты, щелочная фосфатаза, остаз, ткани пародонта, неспецифическая резистентность.*

**Summary.** *The article examines the characteristics of the ultrastructure of periodontal tissues of the upper jaw, as well as general and local nonspecific resistance in patients with atrophy of alveolar bone since 6 months after the sinus-lifting. It was shown that since half-year after the bone-plastic operation using the biomaterial BioOss in such patients reparative regeneration processes can not be considered fully completed. The level of alkaline phosphatase activity and its bone isoforms not indicate the effective bone remodeling, and the last by its structure differs from that of healthy individuals. It is also observed a decrease in local and general non-specific resistance in patients after 6 months after surgery.*

**Keywords:** *sinus lift, neutrophil leukocytes, alkaline phosphatase, ostaza, periodontal tissues, nonspecific resistance.*