

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА**КЛЕТЪЧНИ И ХУМОРАЛНИ ФАКТОРИ
НА ЕСТЕСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ ПРИ ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ
НА КОСТНИ ДЕФЕКТИ НА МАНДИБУЛАТА ПРИ КУЧЕТА
ЧРЕЗ НАПРАВЛЯВАНА КОСТНА РЕГЕНЕРАЦИЯ
И ТИТАНОВИ ЗЪБНИ ИМПЛАНТАТИ**

МАРИЯ АНДОНОВА, ИВАН БОРИСОВ, МИХАИЛ ПАСКАЛЕВ,
НИКОЛАЙ УЗУНОВ*

Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора,

*Медицински университет, Стоматологичен факултет - Пловдив

При животните и човека често възникват дефекти на зъбните редици и челюстните кости, дължащи се на усложнения от възпалителни процеси, пародонтопатии, екстракция на зъби, системни заболявания, травми, резекция на тумори, вродени аномалии (Nyman et al., 1988). Те рефлектират върху функциите на устната кухина, повлияват неблагоприятно и други органи и системи като дихателна, храносмилателна (Ericsson et al., 1992; Worthington, 1992).

За реконструиране на костните дефекти се използват различни техники - пресни автогенни костни трансплантати (Adell et al., 1990; Keller et al., 1992); автолизиращи антиген-екстрахиращи алогенни костни имплантати, прилагани при плъхове, зайци (Janovec and Dvorak, 1988), прасета (Rosenquist et al., 1982) и кучета (Oklund et al., 1986). През последните години серия изследвания с животни (гризачи, мини прасета, кучета и примати) документираща възможността за използване на метода за направляване на тъканната регенерация, при който се прилага костен матрикс, *dura mater* и зъбни имплантати. Те могат да бъдат изготвени от различни видове метал - алуминий, желязо, никел, титан. Hanawa and Ota, (1991), Ohtsu et al., (1997) при своите изследвания посочват титана като много подходящ материал. Той е устойчив на корозия и на-

пълно се инкорпорира в костта. При контакт с плазмени течности спонтанно формира комплекси - титан:фосфат, както и калций съдържащи хидроксилни групи. Persson et al. (2001) посочват, че титановите имплантати не губят своята стабилност. Остеоинтеграцията е от съществено значение за здравината на импланта. Това важи за всички биологични видове, но е особено важно за кучетата, тъй като употребяваната от тях храна е с доминиращо твърда консистенция.

Въпреки използването на титана в имплатологията (Hanawa and Ota, 1991; Clokie and Warshawsky, 1995; Ohtsu et al., 1997), твърде оскъдни се оказват изследванията относно влиянието на този метал върху имунологичните процеси в организма. Stejskal (1997) обсъжда връзката между пациентите с метални имплантати и нарастващия брой на алергичните и автоимунни заболявания при тях. Schierano et al. (2003) разглеждат участието на цитокините, като фактор, контролиращ имунния баланс в организма на такива пациенти. В следоперативния период имунната реакция на реципиента е решаваща и до голяма степен определя крайния резултат и ефективността на използваната възстановителна техника (Batchelor 1991; Roitt 1994). В механизма на формиране на имунната реакция важна роля играят клетъчните и хуморалните

фактори на естествения имунитет (Krause 2000). Неутрофилите, в качеството си на мобилни фагоцити участват както в аферентната част на имунния отговор, мобилизирайки клетъчния и хуморалния имунитет чрез синтезиране и отделяне на имунорегулаторни цитокини (Dorge et al., 1994), така и в еферентната част, като ефекторни клетки, способни да осъществят антигенна деструкция и да отделят ензими и цитотоксични компоненти (Celada et al., 1994). Фагоцитите са важен елемент на естествена защита на организма, като от значение е не само количеството им, но и ефективността на антимикробните им системи, включващи неоксидативни и оксидативни механизми (Krause 2000). Изследванията на Sartorelli et al. (1999) показват съществуването на регулаторни взаимоотношения между метаболизма и активността на елементите на вродения имунитет.

Целта на настоящото изследване бе чрез прилагане на бързи и леснодостъпни тестове да се оцени състоянието на някои клетъчни и хуморални елементи на естествена защита при кучета, у които експериментално предизвиканите костни дефекти на мандибулата са възстановени чрез прилагане на метода на направлявана костна регенерация и титанови зъбни импланти. Разглежда се възможността селективно включените в изследването показатели да бъдат използвани като неспецифични индикатори при проследяване развитието на ранния следоперативен период.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитни животни. Бяха използвани 6 клинично здрави, половозрели, безпородни кучета, от двата пола, на възраст 2 - 6 години, с телесна маса 10 - 18 kg. Те бяха отглеждани във вивариума на ВМФ - Стара Загора, при свободен достъп до вода. Животните бяха хранени с Canil Social Guomarс H- Brasilia, с изключение на едноседмичния следоперативен период, когато получаваша мека храна Pleasure - BG.

Един месец преди включването им в експе-

римент, кучетата бяха обезпаразитени срещу наличието на хелминти с препарата Prazimes Д (Биовет, Пещера, България), а срещу ектопаразити - с препарата Tapilan - B (Dorvet, Israel).

Материали. Бяха използвани:

* **Dura Implant**TM - ензимно-обработена и лиофилизирана dura mater.

* **Demineralized Bone Tissue**TM - частично деминерализиран костен матрикс, в качеството му на костнозаместващ материал.

Тези материали бяха изготвени по авторски технологии на **Tsvetkov, T., Mechkarski,** (1988) в лабораторията за биопрепарати за медицинската практика на Института по хранителни технологии и лиофилизация, София.

* 12 стандартни **титанови зъбни импланти, тип Tapper-Lok** (Paragon Sulser Dental - USA).

Хирургични процедури. На всяко опитно животно бе поставен semi-permanent catheter във *v. cephalica antebrachii*. То бе въведено в обща анестезия по следната схема:

/премедикация - ATROPIN - 0.02 mg/kg.m., s.c.; ACEPROMASIN - 0.05 mg/kg.m., i.m.; въвеждане в анестезия - след 15 минути с THIOPENTAL NATRII - 2.5 %, 6 mg/kg.m., i.v.; оротрахеална интубация и поддържане на хирургичния стадий на анестезията с 2.5% vol. % халотан/

Извършени бяха следните оперативни интервенции:

а) оформяне и отслювяне на трапецовидно ламбо в цяла дебелина на мандибулата;

б) внимателна атравматична екстракция на МП_{M2} и М_{M1} на двете половини на мандибулата;

в) подготовка на реципиентната ложа за трансплантация и имплантация;

г) поставяне на титанов зъбен имплантат в една постекстракционна коренова алвеола;

д) реконструкция на дефекта с лиофилизирана костна тъкан и покриване с dura mater;

е) репозиция и адаптация на муко-периосталното ламбо;

ж) херметично зашиване на меко тъканната

рана с вертикални матрацовидни шевове, sling шевове и непрекъснати шевове.

Материал за изследване. Кръв беше получавана непосредствено преди оперативните процедури (baseline = hour 0) и на 24-ия, 48-ия, 72-ия час, както и на 1-вия месец след това от *v. cephalica antebrachii*. Серум беше получаван след престой на кръвта при стайна температура - 30 min, последвано от 15 - минутно съхранение в хладилник, а след това и от центрофугиране 10 min при 3000 об/min. Беше използвана плазма при определяне на фибриногена.

Изследвани бяха следните показатели:

- Фагоцитна активност на неутрофилите в цяла кръв чрез имунофлуоресцентен метод (Samnalliev et al., 1995). При този метод са използвани fluorescein-isothiocyanate (FITC) conjugated staphylococci, както и автоложен серум.

- Nitroblue tetrazolium chloride test (NBT) (Park et al., 1968) - за доказване на водороден пероксид / H_2O_2 / - продукт от активирането на оксидативните килинг механизми у неутрофилите;

- Левкоцити - камерно изброяване (камерата на Burker);

- Диференциална кръвна картина

(използвана е, за да се изчисли абсолютният брой на всеки клетъчен вид, участващ в имунната защита - неутрофили, еозинофили, лимфоцити, моноцити);

- Общ белтък - биуретов метод (Human GmbH, Germany);

- Белтъчни фракции - (albumin, α , β , and γ globulins) - чрез агар-гел електрофореза;

- Фибриноген - Nemo Stat Fibrinogen Test Set (Human GmbH, Germany).

Статистически анализ. Бяха използвани standard F-and t-tests (StatMost, version 2.5, DataMost Corporation). Данните са представени като mean \pm SEM. Стойности при $P < 0.05$ бяха смятани за статистически значими.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Количеството на левкоцитите при опитните животни е повишено статистически достоверно ($P < 0.001$) на 24-ия час ($9.19 \pm 0.73 \cdot 10^9/l$)

и на 48-ия ($9.48 \pm 0.43 \cdot 10^9/l$) (табл. 1). Тези стойности обаче не надвишават горната граница на физиологичната норма за разглеждания биологичен вид.

Абсолютните стойности на левкограмата по отношение на сегментоядрените неутрофили показват статистически достоверно нарастване на 24-ия и 48-ия час, когато са съответно $5.95 \pm 1.05 \cdot 10^9/l$ и $5.99 \pm 0.28 \cdot 10^9/l$ при изходни $3.01 \pm 0.41 \cdot 10^9/l$ ($P < 0.01$). С изключение на моноцитите, при които е регистрирано увеличение на 24-ия час ($P < 0.05$) другите клетъчни елементи на защита - лимфоцити, еозинофили през целия изследван период не показват значими промени (табл. 1).

Показателите, характеризиращи функционалната активност на неутрофилите - % на фагоцитоза; фагоцитно число и NBT test са представени в табл. 2. Данните показват, че % на фагоцитоза само на 24-ия час нараства до $43.83 \pm 1.62\%$ при изходно ниво $35.17 \pm 1.80\%$ ($P < 0.05$). В следващите етапи от проучването - на 48-ия; 72-ия час и на 1-вия месец наблюдаваното вариране при стойностите на този показател на фагоцитозата е незначително. За разлика от това, NBT test, характеризиращ оксидативните килинг механизми на неутрофилите, показва статистически достоверното отклонение на 24-ия час - $28.67 \pm 4.67\%$, ($P < 0.05$); на 48-ия час - $33.83 \pm 4.98\%$ ($P < 0.01$) и на 72-ия час - $27.83 \pm 4.36\%$ ($P < 0.05$) спрямо изходното - $13.50 \pm 2.09\%$.

Серумните белтъци, в качеството си на хуморални елементи на естествена резистентност на организма, са представени в табл. 3. Общият белтък и белтъчните фракции не търпят статистически значими промени през целия период на наблюдение. За разлика от това стойностите на фибриногена (табл. 3) се повишават статистически достоверно още на 24-ия час ($3.70 \pm 0.30 \text{ g/l}$, $P < 0.01$), остават високи на 48-ия час ($4.54 \pm 0.37 \text{ g/l}$, $P < 0.001$) и на 72-ия час ($4.30 \pm 0.25 \text{ g/l}$, $P < 0.001$). На първия месец от оперативната интервенция стойностите на фибриногена се връщат към изходното си ниво (табл. 3).

Таблица 1. Динамика на промените в количеството на левкоцитите и абсолютния брой на неутрофили, еозинофили, лимфоцити и моноцити при възстановяване на костни дефекти на мандибулата при кучета чрез комбинирана методика за направлявана костна регенерация и титанови зъбни импланти ($n=6$) (Mean \pm SEM)

Table 1. Changes in total and differential white blood cell (WBC) counts following reconstruction of mandibular bone defects in dogs with titanium dental implants and a combined technique of guided bone regeneration ($n=6$) (Mean \pm SEM)

Динамика Dynamics	0 час 0 h	24 –ти час 24 h	48 –ми час 48 h	72 –ри час 48 h	1 месец 1 month
Левкоцити ($10^9/l$) Leukocytes ($10^9/l$)	5.56 \pm 0.37	9.19 \pm 0.73***	9.48 \pm 0.43***	6.62 \pm 0.55	6.35 \pm 0.95
<i>Неутрофили / Neutrophils:</i>					
Пръчкаядр. ($10^9/l$) Band ($10^9/l$)	0.35 \pm 0.01	0.69 \pm 0.24	0.47 \pm 0.04	0.40 \pm 0.08	0.33 \pm 0.07
<i>Сегментоядр. ($10^9/l$) / Segmented ($10^9/l$)</i>					
Еозинофили ($10^9/l$) Eosinophils ($10^9/l$)	0.27 \pm 0.06	0.36 \pm 0.13	0.42 \pm 0.11	0.55 \pm 0.12	0.51 \pm 0.10
Лимфоцити ($10^9/l$) Lymphocytes ($10^9/l$)	1.54 \pm 0.19	2.22 \pm 0.19	2.08 \pm 0.15	2.22 \pm 0.40	1.51 \pm 0.30
Моноцити ($10^9/l$) Monocytes ($10^9/l$)	0.39 \pm 0.04	0.90 \pm 0.32*	0.54 \pm 0.03	0.32 \pm 0.05	0.26 \pm 0.08

Статистическа достоверност при: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ спрямо (0- час).

Statistically significant vs baseline: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ vs baseline(hour 0).

Таблица 2. Промени във функционалната активност на неутрофилите от цяла кръв при възстановяване на костни дефекти на мандибулата при кучета чрез комбинирана методика за направлявана костна регенерация и титанови зъбни импланти ($n=6$) (Mean \pm SEM)

Table 2. Changes in phagocytic activity of neutrophils following reconstruction of mandibular bone defects in dogs with titanium dental implants and a combined technique of guided bone regeneration ($n=6$) (Mean \pm SEM)

Динамика Dynamics	0 – час 0 h	24– ти час 24 h	48- ми час 48 h	72-ри час 72 h	1 месец 1 month
Фагоцитоза Phagocytosis (%)	35.17 \pm 1.80	43.83 \pm 1.62*	34.33 \pm 1.52	36.17 \pm 3.26	38.83 \pm 4.17
Фагоцитно число Phagocytic number	3.42 \pm 0.33	3.88 \pm 0.15	3.12 \pm 0.10	3.19 \pm 0.32	3.60 \pm 0.63
NBT- test	13.50 \pm 2.09	28.67 \pm 4.67*	33.83 \pm 4.98**	27.83 \pm 4.36*	18.83 \pm 3.09

NBT- nitroblue tetrazolium chloride test

Статистическа достоверност при: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ спрямо изходното ниво (0- час).

Statistically significant vs baseline: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ vs baseline (hour 0).

Титановите зъбни имплантати, поставени веднага след получаването на постекст-рационния дефект на мандибулата при кучета не нарушават остеогенезата и се интегрират

Таблица 3. Динамика на промените при някои хуморални фактори на естествена резистентност /общ белтък, белтъчни фракции, фибриноген/ при възстановяване на костни дефекти на мандибулата при кучета чрез комбинирана методика за направлявана костна регенерация и титанови зъбни импланти ($n=6$) (Mean \pm SEM).

Table 3. Changes in some humoral factors of innate immunity following reconstruction of mandibular bone defects in dogs with titanium dental implants and a combined technique of guided bone regeneration ($n=6$)

Динамика Dynamics	0 час 0 h	24- ти час 24 h	48- ми час 48 h	72- ри час 72 h	1 месец 1 month
Фибриноген(g/l) Fibrinogen(g/l)	2.61 \pm 0.17	3.70 \pm 0.30**	4.54 \pm 0.37***	4.30 \pm 0.25***	2.45 \pm 0.15
Общ белтък (g/l) Total protein (g/l)	60 \pm 3.41	59 \pm 3.58	53 \pm 1.74	56 \pm 3.00	58 \pm 4.75
Албумин (g/l) Albumin (g/l)	20 \pm 1.83	20 \pm 1.11	18 \pm 0.95	16 \pm 1.11	17 \pm 1.62
α_1 глобулини (g/l) α_1 globulins (g/l)	2.42 \pm 0.44	3.57 \pm 0.43	2.09 \pm 0.07	2.85 \pm 0.45	2.25 \pm 0.42
α_2 глобулини (g/l) α_2 globulins (g/l)	4.45 \pm 1.09	4.24 \pm 1.00	3.22 \pm 1.06	4.33 \pm 0.89	2.50 \pm 0.18
α_3 глобулини (g/l) α_3 globulins (g/l)	4.89 \pm 0.49	5.33 \pm 1.20	5.21 \pm 1.31	4.98 \pm 0.96	5.94 \pm 0.51
β_1 глобулини (g/l) β_1 globulins (g/l)	4.26 \pm 0.98	4.56 \pm 0.83	4.41 \pm 0.23	4.22 \pm 0.77	3.74 \pm 0.45
β_2 глобулини (g/l) β_2 globulins (g/l)	8.54 \pm 0.95	9.03 \pm 0.83	7.96 \pm 0.63	8.76 \pm 0.78	8.47 \pm 0.56
γ глобулини (g/l) γ globulins (g/l)	16 \pm 2.17	14 \pm 2.70	11 \pm 2.32	14 \pm 2.72	15 \pm 3.33

Статистическа достоверност при: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ спрямо изходното ниво (0- час).
Statistically significant vs baseline: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ vs baseline (hour 0).

много добре в костния регенерат - при нито едно от изследваните животни не е регистрирано разхлабването или отхвърлянето им. Използваната комбинирана методика за направлявана костна регенерация и приложените титанови зъбни импланти не предизвикват остри реакции от страна на организма.

Наблюдаваното при нашите изследвания увеличаване на левкоцитите в ранния след-оперативен период (24-тия; 48-мия час) не е свързано със свръхостра реакция на отхвърляне на импланта. Известно е, че при кучетата разглежданият показател варира в твърде широки граници (6-12.10⁹/l). Затова високочначими в диагностично отношение са главно резките промени в количеството на левкоцитите, излизаци извън пределите на статис-

тическата норма. Освен това при изследваните животни не са регистрирани съществени промени в абсолютния брой нито на лимфоцитите - основни клетъчни елементи на имунната система, нито на еозинофилите. Според Jager et al. (1988) левкоцитозата, съпътствана с високо съдържание на еозинофили и лимфоцити, може да се разглежда като индикатор за криза при отхвърляне на импланти от организма. Реализирането на имунната реакция срещу импланта се осъществява предимно с участието на лимфоцитите и то главно на Т лимфоцитни субпопулации, освобождаващи разтворими медиатори - цитокини, чрез които активират цитотоксичните Т-лимфоцити, NK- клетките (Krensky 1990). За разлика от Sawyer et al. (1989); Graham and

Brown (1991); Celada and Nathan (1994); Strober et al. (2001), които фокусират вниманието си върху ролята на полиморфонуклеарните гранулоцити, моноцитите, коагулационните и васкуларни процеси след поставяне на импланти, **Dinarelo (2000); Stroler et al. (2001); Schierano et al. (2003)** коментират ролята на провъзпалителните и антивъзпалителни цитокини в механизма на имунната реакция на организма.

Като имахме предвид обстоятелството, че неутрофилите са не само най-активно участващите във фагоцитозата клетки, но и представляват универсална интегралмодулираща клетъчна система на организма (активират други клетъчни елементи, системата на компонента, на кръвосъсирването и фибринолизата) ние фокусирахме вниманието си върху тях. Нашите изследвания показват, че фагоцитната активност на тези клетъчни елементи нараства незначително още на 24-ия час (табл. 2), което се разглежда като закономерна неспецифична защитна реакция на организма спрямо извършените хирургични интервенции. Друг протективен механизъм, увеличаващ тъканната защита и инициращ възстановяване от приложеното оперативно въздействие, е и активирането на коагулационната система. В потвърждение на това са нарастналите концентрации на фибриногена - прекурсор на фибриновия съсирек ($P < 0.001$) между 48-ия и 72-ия час (табл. 3). Получените в хода на изследването данни, свързани с хистохимичния метод - NBT test (табл. 2) показват пряка зависимост между фагоцитната активност на неутрофилите и ефективността на оксидативните им килинг механизми - процентът на неутрофилите, произвеждащи водороден пероксид нараства в периода между 24-72-ия час от изследването. Активацията на окислително-възстановителните процеси в неутрофилите без наличие на бактериална инфекция вероятно е свързана с факта, че тези клетъчни елементи са не само професионални фагоцити, но и клетки, поддържащи тъканната хомеостаза - елиминират продуктите от хирур-

гичните манипулации.

В подкрепа на заключението, че разглежданите по-горе промени в клетъчните елементи са по-скоро закономерна реакция спрямо хирургическата намеса, а не резултат от остра реакция за отхвърляне на имплантите са данните от протеинограмата (табл. 3). Те показват, че при използваната комбинирана методика за направлявана костна регенерация и приложените титанови зъбни имплантати няма статистически значима промяна в албумина и глобулиновите фракции. Както е известно, острите възпалителни процеси се съпътстват от понижаване на албумините и нарастване на α_2 и β глобулините.

ИЗВОДИ

Информация за реакциите на организма срещу даден имплант може да бъде получавана чрез проследяване динамиката на промените в количеството на левкоцитите, на абсолютния брой на неутрофили, еозинофили, лимфоцити и моноцити.

Имунофлуоресцентният метод (за доказване фагоцитната активност на неутрофилите в цяла кръв) в комбинация с NBT-test са леснодостъпни, чувствителни и достоверни тестове, характеризиращи състоянието на основните клетъчни елементи на естествена резистентност включително и при въздействие върху организма на фактори от неинфекциозен характер, каквито са имплантите.

Приложеният метод за възстановяване на липсващи зъби с титанови зъбни импланти и комбинирана методика за направлявана костна регенерация не предизвиква остри реакции от страна на организма - липсват промени в албумина и глобулиновите фракции. Това го прави перспективен и ефективен метод за приложение във ветеринарната стоматология.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Adell, R., Lekholm U., Grondahl K., Branemark P., Lindstrom J., Jacobsson, M.,**

1990. Reconstruction of severely resorbed maxillae using osseointegrated fixtures in immediate autogenous bone grafts. *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.*, 5: 233-238.
2. **Batchelor, J.**, 1991. Transplantation. In: Brostoff, J., Scadding, J., Male, D., Roitt, I., Eds. *Clinical Immunology*. Gower Medical Publishing, 3.1-3.9.
 3. **Celada, A., and Nathan, C.**, 1994. Macrophage activation reversed. *Immunol. Today*, 15: 100-102.
 4. **Clokic, C. and Warshawsky, H.**, 1995. Morphologic and radioautographic studies of bone formation in relation to titanium implants using the rat tibia as a model. *J. Oral Maxillofac. Impl.*, 10: 155-165.
 5. **Dinarello, C. A.**, 2000. Proinflammatory cytokines. *Chest.*, 118: 503-508.
 6. **Dorge, S.**, 1994. Plasma levels of tumor necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in kidney transplant recipients. *Transplant.*, 58: 1000-1008.
 7. **Ericsson, I., Branemark, P., Glantz, P.**, 1992. Partial edentulism. In: Worthington, P., Branemark, P., Eds. *Advanced Osseointegration surgery. Applications in the maxillofacial region*. Quintessence Publishing Co, Inc., Chicago, 194-210.
 8. **Graham, I. and Brown, E.**, 1991. Extracellular calcium results in a conformational changes in Mac 1 (CD11b/CD18) on neutrophils. Differentiation of adhesion and phagocytosis function of Mac 1. *J. Immunol.*, 146: 685-691.
 9. **Hanawa, T. and Ota, M.**, 1991. Calcium phosphate naturally formed on titanium in electrolyte solution. *Biomater.*, 12: 767-74.
 10. **Jager, L., Ambrosius, H., Von Baehr, R., Fiebig, H., Frei, P., Fuchs, E., Konig, W., Pasternak, G., Schneider, W., Schonfelder, W., Sonnichsen, N., Zchiesche, W.**, 1988. *Klinische Immunologie and Allergologie*. Veb Gustav Fischer Verlag, Jena.
 11. **Janovec, M. and Dvorak, K.**, 1988. Autolyzed antigen extracted allogeneic bone for bridging segmental diaphyseal bone defects in rabbits. *Clin. Orthop.*, 229: 249-256.
 12. **Keller, E., Tolman, D., Branemark, P.**, 1992. Surgical reconstruction of advanced maxillary resorption with composite grafts. In: Worthington, P., Branemark P., Eds. *Advanced Osseointegration surgery: Applications in the maxillofacial region*. Quintessence Publishing Co, Inc., Chicago; 146-161.
 13. **Krause, K.**, 2000. Professional phagocytes: predators and prey of microorganisms. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 130: 97-100.
 14. **Krensky, A. M.**, 1990. T-lymphocyte antigen interactions in transplant rejection. *N. Engl. J. Med.*, 322: 510-517.
 15. **Nyman, S., Lindhe, J., Reattachment, T.**, 1988. New Attachment. In: Lindhe J., Ed. *Textbook of Clinical Periodontology*. Copenhagen, Munksgaard., 409-429.
 16. **Ohtsu, A., Kusakari, H., Maeda, M., Takano, Y. A.**, 1997. Histological Investigation on Tissue Responses to Titanium Implants in Cortical Bone of the Rat Femur. *J. Periodontol.*, 68: 270-283.
 17. **Oklund, S., Prolo, D., Gutierrez, R., King, S.**, 1986. Quantitative comparisons of healing in cranial fresh autografts, frozen autografts and processed autografts and allografts in canine skull defects. *Clin. Orthop.*, 205: 269-291.
 18. **Park, B., Fikrig, S., Smithmik, E.**, 1968. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic aid. *Lancet*, 2: 532-534.
 19. **Persson, L. G., Ericsson, I., Berglundh, T., Lindhe, J.**, 2001. Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. A experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.*, 3: 258-263.
 20. **Roitt, I.M.**, 1994. *Essential Immunology*. 6th ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 337-362.
 21. **Rosenquist, J., Rosenquist, K., Sund, G.**, 1982. Effects of bone grafting on maxillary bone healing in the growing pig. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 40: 566-569
 22. **Samnaliev, M., Mladenov, K., Draskova, T., Samnalieva, T., Padevsky, P., Radinov, A.**, 1995. Development and clinical assessment of some nonspecific factors of immunity. *Proc. First Nat. Cong. Immunol.*, 31: 135-137.

23. Sartorelli, P., Paltrinieri S., Agnes F., 1999. Non-specific immunity and ketone bodies. I: In vitro studies on chemotaxis and phagocytosis in ovine neutrophils. *Journal of Veterinary Medicine A*, 46: 613-619.
24. Sawyer, D. W., Donowitz G. R., Mandell, G. L., 1989. Polymorphonuclear neutrophils: An effective antimicrobial force. *Rev. Infect. Dis.*, 11: 1532-1544.
25. Schierano, G., Bellone, G., Cassarino, E., Pagano, M., Preti, G., Emanuelli, E., 2003. Transforming growth factor- β and interleukin 10 in oral implant sites in humans. *J. Dent. Res.*, 82: 428-432.
26. Stejskal, V. D., 1997. Human hapten-specific lymphocytes: biomarkers of allergy in man. *Drug Inform. J.*, 31: 1379-1382.
27. Stroler, W., Fuss I., Kitani A., 2001. Regulation of experimental mucosal inflammation. *Acta Odontol. Scand.*, 59: 244-247.
28. Tsvetkov, T., Mechkarski, S., 1988. Tissue transplants. *Zemizdat, Sofia, Bulgaria*.
29. Worthington, P., 1992. Clinical aspects of severe mandibular atrophy. In: *Advanced Osseointegration surgery: Applications in the maxillofacial region*. Worthington, P., Branemark, P., Eds. Chicago, Quintessence Publishing Co, Inc., 119-122.

CELL ELEMENTS AND INNATE DEFENSE MECHANISMS IN DOGS
WITH MANDIBULAR BONE DEFECTS REPAIRED BY GUIDED
BONE REGENERATION AND TITANIUM DENTAL IMPLANTS

M. Andonova, I. Borissov, M. Paskalev*, N. Uzunov**
Thracia University, Faculty of Veterinary Medicine - Stara Zagora
**Medical University, Faculty of Dentistry - Plovdiv*

SUMMARY

The purpose of the study was to investigate the effect that mandibular bone defects in dogs and the procedure of their repair had on the natural systemic mechanisms of defense. Readily available and highly informative cellular and humoral factors of resistance were analyzed (total and differential white blood cell counts, phagocytic activity of neutrophils, metabolic activity of phagocytes - NBT test, total protein and protein fractions, fibrinogen). They were monitored in the post operative period (hours 24, 48, 72 and month 1) in 6 clinically healthy, sexually mature mixed-breed dogs from both genders at the age of 2-6 years weighing 10-18 kg. It was found that the performed operative interventions in the buccal cavity of the dogs did not challenge significantly the systemic innate mechanisms of defense. The most easily available factors of innate resistance were the phagocytic and metabolic activities of neutrophils, and fibrinogen concentrations that exhibited statistically significant changes up to the 72nd hour. The application of titanium dental implants and the combined technique for guided bone regeneration did not induce acute reactions of rejection on the part of the recipient, thus allowing their use in both veterinary and human dentistry.

Key words: *dogs, titanium implants, neutrophils, phagocytosis, NBT-test*

e-mail: andonova_m@yahoo.com