



УДК 616-002.2; 616.314.18; 616.314/163; 616.314.165

<http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2019-21-7-32-36>

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ СТРУКТУР ЭНДОПЕРИОДОНТАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА

Гилязеева¹ В.В., Ханова^{1,2} И.А., Никитина¹ Л.И.

¹ФГОУ ВПО «Чувашский Государственный Университет имени И.Н. Ульянова»,
г. Чебоксары, Российская Федерация

²АУ «Республиканская стоматологическая поликлиника»,
г. Чебоксары, Российская Федерация

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF INFLAMMATORY LESIONS OF THE ENDOPERIODONTAL COMPLEX STRUCTURES

Gilyazeva¹ V. V., Khanova^{1,2} I. A., Nikitina¹ L. I.

¹Chuvash State University named after I.N. Ulyanova, Cheboksary, Russian Federation

²Republican Dental Clinic, Cheboksary, Russia.

Аннотация. Изучено содержание ключевого маркера воспалительного процесса-CD-68, играющего роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов, и коллагена 4 типа – основного компонента базальной мембраны эпителиальных клеток, встречающегося в стенке артериальных сосудов и собственном веществе соединительной ткани. Установлено увеличение количества макрофагов и достоверное повышение экспрессии коллагена 4 типа при воспалении пульпы и деструктивных поражениях периодонта у пациентов с хроническим гранулирующим периодонтитом, отягощенным наличием синус-тракта. Несомненно, вовремя выявленный и грамотно интерпретированный патологический процесс, затрагивающий все слои пораженных тканей, возможно купировать, минуя развитие осложнений. Знание морфологии и, таким образом, обоснование патогенеза выявленного патологического процесса в совокупности предоставляет возможность для совершенствования врачебной тактики и повышения эффективности оказываемой помощи таким больным. Цель работы – представить морфологическую характеристику структур эндопериодонтального комплекса при воспалительно-деструктивном поражении. Изучено состояние эндопериодонтального комплекса у пациентов с применением иммуногистохимического анализа.

Ключевые слова: воспалительно-деструктивные изменения периодонта, маркеры воспаления CD-68, коллаген 4 типа, макрофаги, фиброз.

Annotation. The content of the key marker of the inflammatory process-CD-68, which plays a role in the phagocytic activity of tissue macrophages, and collagen type 4 – the main component of the basal membrane of epithelial cells, found in the wall of arterial vessels and the proper substance of connective tissue. An increase in the number of macrophages and a significant increase in the expression of type 4 collagen in inflammation of the pulp and destructive periodontal lesions of patients with chronic granulating periodontitis, burdened by the presence of the sinus tract. Undoubtedly, the timely identified and correctly interpreted pathological process affecting all layers of the affected tissues can be stopped, by passing the development of complications. Knowledge of morphology and, thus, justification of pathogenesis of the revealed pathological process in total provides opportunities for improvement of medical tactics and increase of efficiency of the rendered help to such patients. The aim of this work is presenting morphological characteristic of structures andoperational complex in inflammatory and destructive lesions. The state andoperational complex patients with use of immunohistochemical analysis.

Key words: inflammatory-destructive periodontal changes, markers of CD-68 inflammation, type 4 collagen, macrophages, fibrosis.



БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- [1] Al-Fouzan K.S. A new classification of endodontic-periodontal lesions // *Int J Dent*. 2014; Epub 2014. Apr. 2014.
- [2] Pathogenetic aspects of dental pulp pathology / E. V. Shchetinin, S. V. Sirak, A. B. Khodzhayan [et al.] // *Medical News of the North Caucasus*. 2015. Vol. 10, № 2. P. 187–191.
- [3] Диагностика и планирование лечения эндодонтических поражений / А.В. Силин, Н.Е. Абрамова, Е.В. Леонова, С.А. Туманова, А.С. Пастухова // *Пародонтология*. 2015. Т. 20. № 3(76). С. 74-80.
- [4] Дифференциальная диагностика эндодонтических поражений, определяющая объем лечебных мероприятий / Е.В. Леонова, С.А. Туманова, И.А. Киброцашвили, А.С. Пастухова // *Институт стоматологии*. 2015. № 3(68). С. 59-61.
- [5] Мороз П.В. Эндодонтический синдром: анатомические предпосылки развития, этиология, классификация и тактика лечения // *Институт стоматологии*. 2014. № 2(63). С. 91-94.
- [6] Самсонова И.В., Клопова В.А., Шевченко И.С. Экспрессия коллагенов IV и VI типов при хроническом панкреатите // *Общая и частная хирургия*. 2015. Т. 23. № 5. С. 500-505.
- [7] Зорян А.В., Зорян Е.В., Даурова Ф.Ю. К выбору противовоспалительной терапии в эндодонтии // *Эндодонтия Today*. 2016. № 1. С. 42-46.
- [8] Иммуные нарушения на системном и локальном уровнях при хроническом периодонтите, взаимосвязь с оксидантными изменениями / Д.Д. Голдобин, А.Л. Локтионов, Н.А. Быстрова, А.В. Караулов // *Иммунология*. 2017. №1. Т.38. С. 35 – 39.
- [9] Рикуччи Д., Сикейра Ж. Эндодонтология: Клинико-биологические аспекты. Часть 2. М.: Азбука, 2015. 428 с. ISBN: 5914430334.

REFERENCES

- [1] Al-Fouzan K. S. A new classification of endodontic-periodic reductions / K. S. Al-Fouzan // *Int J Dent*. 2014; Epub 2014. Apr. 2014.
- [2] Pathogenic aspects of dental pulp pathology / E. V. Shchetinin, S. V. Sirak, A. B. Khodzhayan [et al.] // *Medical News of the North Caucasus*. 2015. Vol. 10, № 2. p. 187-191.
- [3] Diagnosis and treatment planning of endo-periodontal lesions / A.V. Silin, N. E. Abramova, E. V. Leonova, S. A. Tumanova, A. S. Pastukhova // *Periodontology*. 2015. Vol. 20. № 3(76). p. 74-80.
- [4] Differential diagnosis of endo-periodontal lesions, determining the volume of therapeutic measures / E. V. Leonova, S. A. Tumanova, I. A. Kibrotsashvili, A. S. Pastukhova // *Institute of dentistry*. 2015. № 3(68). p. 59-61.
- [5] Moroz P. V. Endo-periodontal syndrome: anatomical preconditions of development, etiology, classification and treatment tactics // *Institute of dentistry*. 2014. № 2(63). p. 91-94.
- [6] Samsonova I. V., Klopova V.A., Shevchenko I.S. Expression of collagen types IV and VI in chronic pancreatitis // *General and private surgery*. 2015. Vol. 23. № 5. p. 500-505.
- [7] Zoryan A.V., Zoryan E.V., Daurova F.Yu. To the choice of anti-inflammatory therapy in endodontics // *Endodontics Today*. 2016. № 1. p. 42-46.
- [8] Immune disorders at the system and local levels in chronic periodontitis, the relationship with oxidant changes / D. D. Goldobin, A. L. Loktionov, N. Ah. Bystrova, A.V. Karaulov // *Immunology*. 2017. Vol. 38 №1. p. 35 – 39.
- [9] Ricucci D., Siqueira, J. Endodontics: Clinical-biological aspects. Part 2. M.: Alfabeta, 2015. 428 p. ISBN: 5914430334.

Введение. Воспалительно-деструктивные изменения эндодонтического комплекса являются одной из актуальных проблем в стоматологии [1]. Ранняя диагностика, основанная на понимании механизмов, которые протекают во всех слоях тканей, вовлеченных в патологический процесс, способствует успешному оказанию стоматологической помощи пациентам с эндодонтическими поражениями [2]. При этом знание морфологии, как основы этиопатогенеза, необходимо для четкого представления о формировании причинно-следственных связей при развитии патологии и построения врачебной тактики [3].

В основе процессов, приводящих к активации этиологических факторов и их реализации лежит один и тот же патогенетический механизм. Если говорить о воспалительной реакции в тканях периодонта, то, как известно, пусковым механизмом является поступление микроорганизмов и их токсинов в околоверхушечные ткани из системы корневых каналов. Общее



состояние организма при этом оказывает значимое влияние на течение воспалительного процесса, равно как и последний – на состояние организма в целом [4]. При снижении уровня системной резистентности, обуславливающего уровень локальной, повышается агрессия микроорганизмов. Это приводит к повышению их патогенных возможностей, в первую очередь – способности к пенетрации, колонизации, локальному иммунологическому конфликту. Так, развитие воспалительного процесса сопровождается участием альтерации и флорогенного фактора [5]. Взаимосвязь эндодонта и пародонта осуществляется васкулярным и тубулярным путем. В процессе формирования зуба образующиеся анатомические связи между этими тканями остаются в течение всей его жизни. Связь между эндо- и периодонтом сохраняется в виде дополнительных и латеральных каналов. При развитии воспаления в мягких тканях эндодонта возникает локальный отек и, как результат, увеличение интрапульпарного давления и гибель клеток. Процесс, кроме того, сопровождается локальным коллапсом сосудов с последующей тканевой гипоксией, приводящей к локальному некрозу. Освободившиеся медиаторы вызывают усиление отека, создавая порочный круг, ведущий к прогрессированию процесса. Вследствие увеличения внутрипульпарного давления, токсические вещества могут поступать через существующие открытые каналы, такие как апикальное отверстие, латеральные и дополнительные каналы и дентинные трубочки, что может служить началом развития воспаления комплекса тканей пародонта. Токсины корневого канала, вызывающие клинически определяемое воспаление в периодонте, образуются из инфицированной некробиотической ткани пульпы или ее распада, из не обтурированных пространств при неудачном завершении эндодонтических процедур [6]. Важная роль в прогрессировании воспаления принадлежит маркерам – коллаген 4 типа и CD-68. Умение использовать результаты иммуногистохимических исследований экспрессии маркеров воспаления позволят улучшить раннюю диагностику и методы лечения [7].

Цель исследования: представить морфологическую характеристику структур эндопериодонтального комплекса при воспалительно-деструктивном поражении.

Материалы и методы исследования: обследовано 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин в возрасте 20-47 лет), обратившихся с целью плановой санации, после получения информированного согласия распределенных в 3 группы: 1 – пациенты с депульпированными зубами по протетическим показаниям, 2 (контрольная) – пациенты с хроническим пульпитом, K04.0; 3 – пациенты с хроническим апикальным периодонтитом, K04.6, отягощенным наличием синус-тракта. Верификация диагноза проводилась стандартно, с использованием основных и дополнительных методов обследования, оценка состояния тканей пародонта проводилась по индексам Muhlemann-Cowell и PMA.

Материалом для морфологического исследования служила экстирпированная при плановом эндодонтическом лечении пульпа, в работе применяли стандартную методику с последующей проводкой на тканевом гистопроцессоре Leica ASP 200. Иммуногистохимические исследования выполнялись в соответствии со стандартными протоколами с использованием иммуногистохимических автостейнеров AUTOSTAINER-3 60 (THERMO, Великобритания) и Leica BOND-MAX (Германия), с применением систем визуализации En-vision (DAKO, Дания) и NovoLinkpolymer (NovoCastra, Великобритания), моноклональных антител к коллагену 4 типа и CD-68. Компьютерная морфометрия проводилась на базе микроскопа Leica DM4000B с использованием цветной фотокамеры Leica DFC 425 и лицензионной программы LeicaApplicationSuite 3.6.0. Микрофотографии для проведения морфометрических измерений получены при увеличениях x200 и x400, линейные и количественные морфометрические измерения выполнены с использованием соответствующих лицензионных программ,

визуальный подсчет клеток – в десяти интересующих полях зрения при увеличении $\times 400$. Статистическая обработка проводилась на компьютере Intel Core 2 Duo с помощью лицензионного пакета Microsoft Office 2003 (Word и Excel), а также программ G-Stat и «Биостатистика».

Результаты и их обсуждение: У всех пациентов с диагностированным хроническим апикальным периодонтитом в области свищевого хода наблюдался симптом вазопареза, в области синус-тракта определялся локальный катар с кровоточивостью десневого сосочка. Показатели значений индекса Muhlemann-Cowell и PMA в группах наблюдения составили: 1 группа – 0-0,1 и 0-10% соответственно; 2 группа – 0,1-1,0 и 11-20%; группа сравнения – 1,1-1,3 и 25% соответственно.

Данные результатов морфологического исследования свидетельствуют о том, что пульпа интактного зуба характеризуется низким содержанием макрофагов. Так, число этих клеток в поле зрения не превышает 1-2 при нормальном выявлении реактивных макрофагов по маркеру CD-68.

Воспалительный процесс в пульпе сопровождается существенным увеличением числа макрофагов в поле зрения, в отдельных полях зрения их количество достигает 6-8. Клетки, преимущественно, располагаются диффузно среди фибробластов стромы, меньшее их количество (2-3 в поле зрения) регистрируется вокруг сосудов и среди клеток лимфоцитарного инфильтрата. CD-68 – тканевый белок, играющий роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов как во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, так и во внеклеточных взаимодействиях «клетка-клетка» и «клетка-патоген»; экспрессирован на поверхности макрофагов и используется в качестве их маркера.

При периодонтите регистрируется уменьшение числа макрофагов до 1-2 в поле зрения, которое совпадает с общим снижением клеточных элементов пульпы и характеризуется ее фиброзированием. CD-68 связывается с лектинами и селектинами, что позволяет макрофагу зафиксироваться в определенном участке ткани. Кроме экспрессии на тканевых макрофагах данный маркер присутствует на лимфоцитах, фибробластах и эндотелиальных клетках (рис. 1).

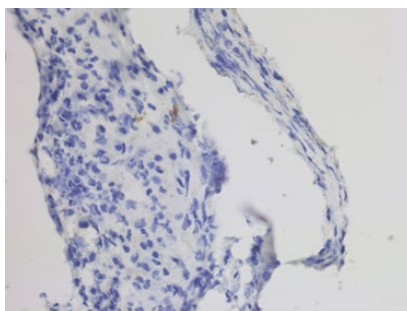


Рис. 1. CD-68 позитивные макрофаги. Микроскоп Leica DM4000B. Увеличение $\times 200$.

Распределение коллагена 4 типа в интактной пульпе характеризуется его преимущественной локализацией в базальных мембранах кровеносных сосудов. Накопление в клетках стромы либо внеклеточное накопление коллагена 4 типа не характерно.

При пульпите реакция с коллагеном 4 типа более интенсивна по сравнению с таковой в интактной пульпе. Характерна преимущественная локализация белка в стенке кровеносных и лимфатических сосудов, однако интенсивность реакции более высокая за счет утолщения стенки сосудов. Обращает на себя внимание реакция в многочисленных микрососудах капиллярного типа, количество которых достоверно выше, чем в интактной пульпе. На участках выраженной воспалительной инфильтрации отмечается размытие контура базальной мембраны сосудов и значительное утолщение их стенок, вероятно, за счет отека стромы.

Распределение коллагена при периодонтите характеризуется его накоплением в мембранах свободно лежащих клеток стромы. Эти явления регистрируются на фоне снижения общего клеточного рисунка пульпы и увеличения числа сосудов микроциркуляторного русла. Накопление коллагена в клетках стромы свидетельствует о фиброзировании пульпы [8]. Микроскопически определяется иммуногистохимическая коллаген 4-позитивная реакция, и, кроме того, достоверное увеличение количества макрофагов при воспалении пульпы (рис. 2, 3).

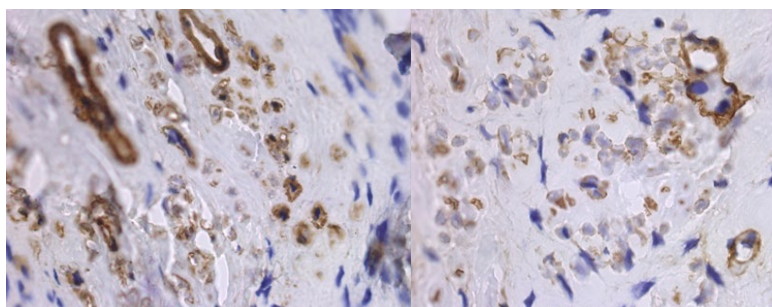


Рисунок 2.

Рисунок 3.

Рис. 2,3. Коллаген 4 типа, накопление в базальной мембране кровеносных сосудов. Фиброзирование пульпы, снижение клеточного рисунка. Микроскоп Leica DM4000B. Увеличение x 200.

Долгое время основной функцией макрофагов считалось разрушение поврежденных компонентов клеток и межклеточного вещества. Однако макрофаги способны индуцировать процессы клеточной пролиферации и синтезировать практически все известные коллагены [9]. При прогрессировании воспалительного процесса изменение капиллярных стенок сопровождается повышением их проницаемости, следствием чего является выраженный отек и утолщение сосудистой стенки. При пульпите происходит явное утолщение стенок капилляров в 2,5 раза, при периодонтите – увеличение количества капилляров, стенки при этом становятся тоньше. Толщина стенок микроциркуляторного русла в норме составляет $37,5 \pm 0,56^* \text{ мкм}$, при пульпите это значение $81,6 \pm 0,16^* \text{ мкм}$, а при периодонтите $25,4 \pm 0,37^*$ (*- $P < 0,01$).

Заключение. На основании результатов проведенного исследования выявлено:

1. хроническое воспаление пульпы сопровождается достоверным повышением экспрессии коллагена 4 типа;
2. увеличение фиброзирования пульпы и снижение клеточного рисунка при начальном развитии периодонтита сопровождается достоверным снижением макрофагов и увеличением числа сосудов микроциркуляторного русла со значительным утолщением стенок капилляров;
3. отмечается четкая взаимосвязь между расширением стенок капилляров морфологически и повышением индекса кровоточивости клинически;
4. при пульпите отмечается размытие контура базальной мембраны сосудов, увеличение общего количества капилляров с существенным увеличением числа макрофагов.