

В.В. Короткова

ЭКСПРЕССИЯ CD68 ПРИ ПАТОЛОГИИ ПЕРИОДОНТА

Научные руководители: канд. мед. наук, доц. Л.А. Казеко,

канд. мед. наук, доц. Т.А. Летковская

Кафедра консервативной стоматологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

V.V. Karatkova

CD68 EXPRESSION IN PERIODONTAL PATHOLOGY

Tutors: associate professor L.A. Kazeko,

associate professor T.A. Letkovskaya

Department of Conservative Dentistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Проанализирован биопсийный материал десен 46 пациентов: группы сравнения (хронический простой маргинальный гингивит, n=6), быстро прогрессирующего (n=20), хронического простого (n=5) и хронического сложного (n=15) периодонтитов. Исследование проводилось на серийных парафиновых срезах с использованием моноклональных антител CD68. Для морфометрического анализа использовали AperioImageScope v12.4.0.5043.

Ключевые слова: периодонтит, CD68, иммуногистохимия.

Resume. Biopsy material of gums of 46 patients was analyzed: comparison groups (chronic simple marginal gingivitis, n=6), rapidly progressive (n=20), chronic simple (n=5) and chronic complex (n=15) periodontitis. Immunohistochemical study was carried out on serial paraffin sections using monoclonal antibodies CD68. AperioImageScope v12.4.0.5043 was used for morphometric analysis.

Keywords: periodontitis, CD68, immunohistochemistry.

Актуальность. CD68 (кластер дифференцировки 68, макросиалин) представляет собой гликопротеин из семейства LAMP (лизоцим ассоциированный мембранный протеин), который относится к интегральным трансмембранным белкам, содержит 333 аминокислоты, экспрессируется на поверхности моноцитов и макрофагов [1, 2]. CD68 играет роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов как во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, так и во внеклеточных взаимодействиях клетка-клетка и клетка-патоген. Связывается с лектинами и селектинами, что позволяет макрофагу заякориваться в определенном участке ткани. CD68 способен быстро рециркулировать между эндосомами и лизосомами, благодаря чему макрофаг передвигается по селектин-содержащей субстратной поверхности или по поверхности других клеток [3].

Своевременная диагностика заболеваний периодонта на ранних этапах их развития является актуальной задачей. Клинические проявления заболевания не всегда отражают состояние тканей периодонта. В этой связи, поиск новых биологических маркёров представляет собой не только фундаментальный интерес, но и практико-ориентированную задачу, которая позволит исследовать аспекты патогенеза патологии, особенностей прогнозирования и дифференциальной диагностики различных форм периодонтита.

Цель: установить характер экспрессии CD68 в биоптатах десны пациентов с патологией периодонта.

Задачи:

1. Определить коэффициент экспрессии CD68 в биоптатах десны у пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта.
2. Определить интенсивность экспрессии CD68 в биоптатах десны у пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта.
3. Проанализировать результаты экспрессии CD68 в биоптатах десны при патологии периодонта, используя методы непараметрической статистики.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базах кафедры консервативной стоматологии (ГУ «Университетская стоматологическая поликлиника») и кафедры патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». В исследование были включены 46 пациентов (19 мужчин и 27 женщин, средний возраст – 43 года). Всем пациентам была проведена профессиональная гигиена полости рта, а также закрытый кюретаж, при выполнении которого был произведён забор биоптатов десны с последующим морфологическим исследованием.

Были сформированы следующие группы пациентов: 1 группа – биопсийный материал пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом (БПП, n=20); 2 группа – с хроническим простым периодонтитом (ХПП, n=5); 3 группа – с хроническим сложным периодонтитом (ХСП, n=15); 4 (группа сравнения) - хронический простой маргинальный гингивит (ХПМГ, n =6).

С целью анализа характера экспрессии CD68 выполнено иммуногистохимическое исследование на серийных парафиновых срезах с использованием моноклональных антител CD68. В качестве визуализирующей системы использовали комплекс вторичных антител EnVision фирмы «ДАКО», в качестве хромогена – диаминобензидин (ДАБ). В качестве позитивного контроля были использованы ткани и органы, рекомендованные производителем, негативный контроль осуществлялся путем исключения первичного антитела. Для морфометрического анализа выполняли сканирование препаратов с применением цифрового слайд-сканера MoticEasyScan с последующим программным анализом экспрессии маркера в материале ткани десны с использованием AperioImageScore v12.4.0.5043. Интенсивность коричневой окраски (продуктов реакции ДАБ-хромогена) измерялась AperioImage Score автоматически и разделялась на выраженный, умеренный и слабый уровни интенсивности и негативную реакцию.

Для оценки характера экспрессии CD68 у пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта рассчитывали следующие параметры (объектив 20):

- коэффициент экспрессии (отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$),
- индекс интенсивности экспрессии (отношение суммы интенсивностей пикселей с высокой, средней, низкой интенсивностью к числу позитивных пикселей).

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения Statistica 10.0. Описание выборки производили путём вычисления медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ] и 95% доверительного интервалов (ДИ), максимального и минимального значения. Попарное сравнение независимых выборок по количественным признакам проводилось с использованием U-критерия Манна–Уитни. Различия считали

статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Экспрессия CD68 имела место в 93% случаев в виде окрашивания клеток инфильтрата как в группе пациентов с гингивитом, так и в группах быстро прогрессирующего и хронических форм периодонтитов.

Положительная иммуногистохимическая реакция обнаруживалась преимущественно в строме биоптата десны, а также на границе эпителиального и стромального компонентов, минимальная экспрессия наблюдалась в эпителиальном компартменте, где встречались лишь единичные интраэпителиальные макрофаги.

Наибольшая вариабельность с максимальным коэффициентом экспрессии до 11,16% обнаруживалась в строме биоптата десны пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом; наибольшая интенсивность экспрессии с максимальным значением 218,5 также была характерна для данной группы.

Самая низкая вариабельность, а также показатели экспрессии CD68 были характерны для пациентов с хроническим простым периодонтитом, с максимальным показателем коэффициента экспрессии 1,56%, индекса экспрессии – 188,55.

Коэффициент и индекс экспрессии в группе хронического сложного периодонтита имели более низкие значения по сравнению с быстро прогрессирующим, но более высокие по сравнению с хроническим простым периодонтитом. Максимальные значения коэффициента экспрессии – 1,8%, индекса экспрессии – 218%.

Самые низкие показатели индекса и интенсивности экспрессии CD68 отмечались в группе пациентов с хроническим простым маргинальным гингивитом, для данной группы максимальный коэффициент экспрессии составил 0,33%; индекс экспрессии – 167.

Табл. 1. Результаты статистического анализа коэффициента экспрессии CD68 при патологии периодонта

Группа сравнения	БПП	ХПП	ХСП	
Эпителий				
Me (Q1-Q3)	0,001 (0,00-0,008465)	0,0049 (0,00-0,0386)	0,00 (0,00-0,0098)	0,00024 (0,00-0,0085)
Группа сравнения БПП	0,162	0,83	0,97	
ХПП		0,173	0,136	
			0,794	
Строма				
Me (Q1-Q3)	0,019 (0,00-0,0929)	0,1622 (0,0212-0,4251)	0,0225 (0,0019-0,2345)	0,0547 (0,004-0,1846)
Группа сравнения БПП	0,005*	0,15	0,36	
ХПП		0,099	0,0066*	0,988

Продолжение таблицы 1

Эпителий+строма				
Me (Q1-Q3)	0,0054 (0,003-0,254)	0,0628 (00,43-0,3905)	0,013 (0,002-0,3213)	0,0356 (0,0062-0,0253)
Группа сравнения		0,0058*	0,58	0,029*
БПП			0,19	0,14
ХПП				0,45

Табл. 2. Результаты статистического анализа интенсивности экспрессии CD68 при патологии периодонта

Группа сравнения	БПП	ХПП	ХСП	
Эпителий				
Me (Q1-Q3)	34,00 (0,00-114,00)	91,57 (0,00-142,28)	0,00 (0,00-141,16)	64,21 (0-171,31)
Группа сравнения	0,15	0,542	0,14	
БПП		0,67	0,47	
ХПП			0,35	
Строма				
Me (Q1-Q3)	106,38 (99,28-136,47)	149,55 (129,72-174,73)	139,91 (125,91-162,1)	145,87 (121,26-166,85)
Группа сравнения	0,00001*	0,011*	0,009*	
БПП		0,25	0,41	
ХПП			0,68	
Эпителий+строма				
Me (Q1-Q3)	115,88 (116,99-130,65)	140,73 (122,64-166,39)	136,23 (113,85-151,82)	143,65 (120,2-159,04)
Группа сравнения	0,0057*	0,14	0,019*	
БПП		0,25	0,66	
ХПП			0,47	

Выводы:

1. Анализ экспрессии макрофагального маркера CD68 в биопсийном материале десны показал достоверно более низкие значения коэффициента экспрессии CD68 в группе пациентов с хроническим простым маргинальным гингивитом по сравнению с быстро прогрессирующим и хроническим сложным периодонтитом.

2. Значения показателей интенсивности экспрессии в строме биоптатов десны пациентов группы периодонтитов имели достоверно более высокие значения по сравнению с простым маргинальным гингивитом

3. Полученные результаты подтверждают перспективность разработки и внедрения технологий, основанных на свойствах и функциях макрофагов, в клиническую практику.

Литература

1. Regh, J.E. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats / J.E. Regh, D. Bush, J.M. Ward // *Toxicolopathol.* – 2012. – Vol. 40. – P. 345–374.

2. Expression of CD68 in non-myeloid cell types / E. Gottfried [et al.] // *Scand. J. Immunol.* – 2008. – Vol. 67. – P. 453–463.

3. Identification of CD68(+) neutrophil granulocytes in in vitro model of acute inflammation and inflammatory bowel disease / A. Amanzada [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – Vol. 6. – P. 561–570.