

УДК 616.314.17-008.1-002-036

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ХАРАКТЕРА ТЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНОГО ПРОЦЕССА В ТКАНЯХ ПЕРИОДОНТА

Казеко Л. А.¹, Захарова В. А.², Бенеш Ю. Д.^{1,3}

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

¹1-я кафедра терапевтической стоматологии,

²кафедра патологической анатомии;

³УЗ «11-я городская клиническая стоматологическая поликлиника»,

г. Минск, Республика Беларусь

Введение. В настоящей работе представлен метод прогнозирования характера течения воспалительного процесса в тканях периодонта на основе морфометрического анализа экспрессии тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ в биопсийном материале десен.

Цель работы – разработать метод прогнозирования характера течения воспалительно-деструктивного процесса в тканях периодонта на основании оценки результатов иммуногистохимического окрашивания биоптатов десны пациентов.

Объекты и методы. Объектом исследования был биопсийный материал десен 67 пациентов с различным характером течения периодонтита: быстропрогрессирующим (БПП, n=19), хроническим простым (ХПП, n=10) и хроническим сложным (ХСП, n=38). Выполнен забор биопсийного материала, изготовлены патогистологические препараты, проведено иммуногистохимическое исследование, определена экспрессия TIMP1 и TIMP2, проанализированы результаты ИГХ-окрашивания, проведен морфометрический анализ окрашенных микропрепаратов.

Результаты. Разработан метод прогнозирования характера течения воспалительно-деструктивного процесса в тканях периодонта, определены морфометрические показатели экспрессии TIMP1 и TIMP2, характерные для быстропрогрессирующего и хронического характера течения патологии.

Заключение. Метод может быть использован для выявления пациентов с риском агрессивного течения на доклинической стадии заболевания, позволяет прогнозировать характер течения заболевания на ранних клинических стадиях, способствует своевременному выбору правильной тактики лечения пациентов с воспалительно-деструктивными процессами в тканях периодонта.

Ключевые слова: биопсия; периодонтит; воспаление; тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ.

PREDICTION OF THE COURSE OF THE INFLAMMATORY-DESTRUCTIVE PROCESS IN PERIODONTAL TISSUES

Kazeko L. A.¹, Zakharava V. A.², Benesh J. D.^{1,3}

Belarusian State Medical University, ¹1th Department of Therapeutic Dentistry, ²Department of Pathological Anatomy; ³11th City Clinical Dental Polyclinic, Minsk, Republic of Belarus

Introduction. This study presents a method for predicting the course of the inflammatory process in periodontal tissues based on a morphometric analysis of the expression of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in the gingival biopsy material.

The aim of the study is to develop a method for predicting the course of the inflammatory-destructive process in periodontal tissues based on the assessment of the result of immunohistochemical staining of patients' gingival biopsy specimens.

Objects and methods. The object of the study was the gingival biopsy material of 67 patients with different types of periodontitis: aggressive (AgP, n=19), chronic simplex (CSP, n=10) and chronic complex (CCP, n=38). Biopsy material was taken, histological preparations were made, the expression of TIMP1 and TIMP2 was determined, the results of IHC staining were analyzed, and a morphometric analysis of stained preparations was carried out.

Results. A method for predicting the course of the inflammatory-destructive process in periodontal tissues has been developed, values of morphometric parameters for the aggressive and chronic course of the pathology have been identified.

Conclusion. The method can be used to identify patients at risk of aggressive course at the preclinical stage of the disease, allows predicting the nature of the course of the disease in the early clinical stages, contributes to the timely selection of the correct tactics for the treatment of patients with inflammatory and destructive processes in periodontal tissues.

Keywords: biopsy; periodontitis; inflammation; tissue inhibitors of matrix metalloproteinases.

Введение. В костной ткани постоянно протекают процессы ремоделирования, обусловленные широким спектром ферментов, способных разрушать органический компонент костного матрикса, к которым относится семейство матриксных металлопротеиназ (MMPs).

В физиологических условиях матриксные металлопротеиназы секретируются из клетки в незначительном количестве. Экспрессия MMPs в тканях регулируется скоростью их синтеза и содержанием их главных эндогенных ингибиторов — тканевых ингибиторов металлопротеиназы (TIMPs).

Увеличение содержания MMPs и снижение уровней TIMPs инициируют деградацию коллагена из соединительной ткани и альвеолярной кости. Следовательно, избыточное количество продуктов распада коллагена в десневой жидкости и ротовой жидкости может быть использовано для прогнозирования потери альвеолярной кости при периодонтите [2].

Согласно данным специальной литературы, количество MMPs и TIMPs в десневой жидкости изменяется при периодонтите, однако в ротовой жидкости уровни TIMP1 и MMP1 не повышаются [1]. Разрушение периодонтальной связки и альвеолярной кости при периодонтите сопровождается относительной сверхэкспрессией MMPs по отношению к TIMPs. Предполагается, что скорость резорбции костной ткани может быть уменьшена при восстановлении баланса MMPs и их ингибиторов [3].

Цель работы — разработать метод прогнозирования характера течения воспалительно-деструктивного процесса в тканях периодонта на основании оценки результата иммуногистохимического окрашивания биоптатов десны.

Объекты и методы. Объектом исследования явился биопсийный материал десен 67 пациентов на базах: 1-й кафедры терапевтической стоматологии (ГУ «Республиканская клиническая стоматологическая поликлиника») и кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет» с различным характером течения периодонтита: быстропрогрессирующим (БПП, n=19), хроническим простым (ХПП, n=10) и хроническим сложным (ХСП, n=38). Критериями включения в исследование явились: клинкорентгенологические признаки деструкции периодонта и возраст пациентов для быстропрогрессирующего периодонтита от 18 до 35 лет, для хронического (простого и сложного) периодонтита — 36–60 лет. Проведено клинко-инструментальное обследование и лечение пациентов с патологией периодонта, включенных в исследование, с получением у каждого из них информированного согласия.

У пациентов, проходивших лечение, выполняли инцизионную биопсию десны; были изготовлены патогистологические препараты

и выполнено иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание с антителами к TIMP1, TIMP2.

Экспрессия TIMP1 выявляется в биопсийном материале десны в виде гомогенного цитоплазматического и мембранного окрашивания эпителия десны, фибробластов, лейкоцитов/гистиоцитов в коричневый цвет различной интенсивности (от светло- до темно-коричневого цвета).

Экспрессия TIMP2 выявляется в биопсийном материале десны в виде гомогенного цитоплазматического и мембранного окрашивания эпителия десны, фибробластов, лейкоцитов/гистиоцитов и эндотелиоцитов в коричневый цвет различной интенсивности (от светло- до темно-коричневого цвета).

Для морфометрического анализа выполняется сканирование микропрепаратов с применением цифрового слайд-сканера или фотографирование микропрепаратов при помощи микроскопа с цифровой камерой с последующим программным анализом изображений с использованием Aperio Image Score или аналога. В рамках программного анализа изображений проводится выделение 6 случайных непересекающихся полей зрения (цифровое увеличение $\times 20$), с анализом ИГХ окрашивания в поле зрения в целом (которое включает эпителиальный и стромальный компонент в равных пропорциях – 3 поля зрения), а также отдельно в эпителиальном (3 поля зрения) и стромальном компоненте десны (3 поля зрения).

В процессе программного анализа экспрессии TIMP1, TIMP2 в биопсийном материале десны интенсивность коричневой окраски (продуктов реакции ДАБ-хромогена) измеряется Aperio Image Score или аналогом автоматически и разделяется на 3 уровня интенсивности и негативную реакцию с подсчетом числа, и интенсивности пикселей различной интенсивности. Результат программной оценки параметров позитивности и доли пикселей с высокой и умеренной интенсивностью имеет прямую взаимосвязь, а интенсивности экспрессии – обратную взаимосвязь с данными визуальной оценки. Полученные данные позволяют рассчитать следующие параметры для каждого маркера (объектив 40):

– позитивность (Positivity – отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$);

– долю пикселей с высокой и умеренной интенсивностью (N_{sr+p} – отношение числа позитивных пикселей с высокой и умеренной интенсивностью к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$);

– индекс интенсивности ИГХ реакции в иммунопозитивных участках (index – отношение суммы интенсивностей позитивных пикселей к общему числу позитивных пикселей);

– общий индекс интенсивности ИГХ реакции (INDEX – отношение суммы интенсивностей негативных и позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей).

Результаты. Быстро прогрессирующее (агрессивное) течение периодонтита прогнозируется при совокупности следующих морфометрических показателей:

– показатели общей и эпителиальной экспрессии TIMP1: позитивность <5% и <60%, общая доля пикселей с высокой и умеренной интенсивностью общей экспрессии <3,38%. Общий индекс интенсивности и индекс интенсивности ИГХ реакции в иммунопозитивных участках >190;

– показатели общей и эпителиальной экспрессии TIMP2: позитивность >73% и >87%, общая доля пикселей с высокой и умеренной интенсивностью общей экспрессии >60,4%.

Во всех остальных ситуациях прогнозируется хронический характер течения воспалительно-дистрофического процесса в тканях периодонта.

Заключение. Предложенный метод может быть использован для выявления пациентов с риском агрессивного течения на доклинической стадии заболевания, позволяет прогнозировать характер течения заболевания на ранних клинических этапах, выбрать своевременную тактику лечения пациентов с воспалительно-деструктивными процессами в тканях периодонта.

Литература.

1. Characterization of matrix metalloproteinase (MMP-8 and -9) activities in the saliva and in gingival crevicular fluid of children with Down's syndrome / S. Halinen [et al.] // J. Periodontol. – 1996. – Vol. 67. – P. 748–754. doi: 10.1902/jop.1996.67.8.748

2. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4 / J. Greene [et al.] // J. Biol. Chem. – 1996. – Vol. 271, N 48. – P. 30375–30380. doi: 10.1074/jbc.271.48.30375

3. Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures / Y. C. Chang [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2002. – Vol. 37. – P. 196–203. doi: 10.1034/j.1600-0765.2002.00663.x