

***В.В. Короткова***

**ОЦЕНКА КОЭФФИЦИЕНТА ЭКСПРЕССИИ CD68  
ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ 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***

**ASSESSMENT OF THE EXPRESSION COEFFICIENT  
FOR INFLAMMATORY PERIODONTAL LESIONS**

***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:** иммуногистохимия, CD68, эффективность экспрессии, морфология, периодонтит.

**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:** immunohistochemistry, CD68, expression coefficient, morphology, periodontitis.

**Актуальность.** Болезни периодонта являются одной из наиболее важных проблем современной стоматологии, так как ведут к снижению функциональных возможностей зубочелюстной системы, для них характерен длительный период реабилитации и постоянное наблюдение у специалиста, что значительно ухудшает качество жизни пациентов [1]. Развитие и течение болезней периодонта зависит от большого количества факторов, среди которых особое место занимают микроорганизмы зубного налёта [3]. Нарушение равновесия между бактериальными патогенами и макроорганизмом приводит к прогрессированию поражения тканей периодонта. В свою очередь, течение местной воспалительной реакции во многом определяется иммунологическими свойствами организма.

CD68 (кластер дифференцировки 68, макросалин) 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. [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.

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 маркеров 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 коэффициент экспрессии CD68 у пациентов с патологией периодонта путем морфометрической ее оценки в биопсийном материале.

**Задачи:**

1. Определить коэффициент экспрессии CD68 в биоптатах десны у пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта.

2. Проанализировать результаты коэффициента экспрессии CD68 в биоптатах десны у пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта с использованием методов 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 AperioImageScope 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.

Коэффициент экспрессии CD68 считали как отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей  $\times 100\%$ .

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. Парное 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.

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

Коэффициент экспрессии в группе хронического сложного периодонтита имел более низкие значения по сравнению с быстро прогрессирующим, но более высокие по сравнению с хроническим простым периодонтитом, с максимальным значением 1,8%.

Самые низкие показатели коэффициента экспрессии CD68 отмечались в группе пациентов с хроническим простым маргинальным гингивитом, для данной группы максимальный коэффициент экспрессии составил 0,33%.

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

	Группа сравнения	Эпителий		
		БПП	ХПП	ХСП
<b>Me (Q1-Q3)</b>	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		0,162	0,83	0,97
БПП			0,173	0,136
ХПП				0,794

*Продолжение таблицы 1*

Строма				
<b>Me (Q1-Q3)</b>	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		0,005*	0,15	0,36
БПП			0,099	0,0066*
ХПП				0,988
Эпителий+строма				
<b>Me (Q1-Q3)</b>	0,0054 (0,003-0,254)	0,0628 (0,043-0,3905)	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

### **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. Коэффициент экспрессии CD68 можно использовать с целью дифференциальной диагностики быстро прогрессирующего периодонтита с хроническим сложным.

### **Литература**

1. Amaliya, A. Java project on periodontal diseases: periodontal bone loss in relation to environmental and systemic conditions /A. Amaliya [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2015. – №42. – P. 325–332.
2. Gottfried, E. Expression of CD68 in non-myeloid cell types / E. Gottfried [et al.] // Scand. J. Immunol. – 2008. – Vol. 67. – P. 453–463.
3. Perez-Chaparro, P. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review / P. Perez-Chaparro [et al.] // J. Dent. Res. – 2014. – Vol 93. – P. 846–858.