

УДК [616.314.96616.314.19]053.3/4

О.В. Шешукова

ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННИХ КЛІТИН ПРИКОРЕНЕВОЇ ГРАНУЛЯЦІЙНОЇ ТКАНИНИ ПРИ ПЕРІОДОНТИТАХ ТИМЧАСОВИХ ЗУБІВ У ДІТЕЙ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Робота є фрагментом теми «Імунні взаємодії в слизовій оболонці порожнини рота і їх роль в патогенезі стоматологічних захворювань», № ДР 01000U000389.

Вступ. Наші попередні дослідження дозволили з'ясувати, що характер мікробної інвазії безпосередньо впливає на стан періапикальної грануляційної тканини, яка формується у відповідь на дію певного спектру мікроорганізмів [4]. Вивчивши спектр мікробної флори, яка є етіологічним чинником досліджуваного захворювання, важливо визначити особливості будови та локалізації імунних клітин прикореневої грануляційної тканини при загостренні хронічного періодонтиту тимчасових молярів та провести їх кількісну та якісну оцінку, визначити особливості співвідношення характеристик імуніцитів з гістологічними особливостями тканини. Результати наших гістологічних досліджень при хронічному періодонтиті тимчасових молярів показали наявність круглоклітинної інфільтрації прикореневої грануляційної тканини [5]. При аналогічних складах етіологічних пародонтопатогенних мікроорганізмів для пародонтиту і періодонтиту тимчасових зубів, при пародонтиті доведений переважно лімфоїдний склад інфільтратів в яснах [2, 6]. Отже, ці дані обґрунтовували необхідність вивчення субпопуляційного складу клітин, які інфільтрують грануляційну тканину.

Метою дослідження стало визначення особливостей будови та локалізації імунних клітин прикореневої грануляційної тканини при загостренні хронічного періодонтиту тимчасових молярів, їх кількісна і якісна оцінка та співвідношення характеристик імуніцитів з гістологічними особливостями тканини для визначення основних ланок патогенезу захворювання.

Об'єкт і методи дослідження. Для вирішення поставленої мети і задач проведено клінічні, рентгенологічні та гістологічні дослідження.

Обстежено 40 дітей віком від 2 до 10 років із захворюваннями періодонту тимчасових зубів, які зверталися за допомогою у дитячу стоматологічну поліклініку м. Полтави. Діагноз визначали за міжнародною класифікацією стоматологічних хвороб на основі МКХ-10, залучаючи класифікацію

періодонтитів у дітей за Т.Ф. Виноградовою (1968). Встановлення діагнозу здійснювали на підставі з'ясування скарг, анамнезу, результатів об'єктивного обстеження, а також рентгенографії.

За наявності показань проводили видалення тимчасового зуба, під час якого методом інцизійної біопсії отримували біоптати міжкореневої та/або періапикальної грануляційної тканини, які локалізувалися в ділянці деструкції та видалялися разом із причинним зубом.

Для гістологічного дослідження біопсійний матеріал поміщали в стерильні пластикові пробірки із охолодженням до 2-4°C стерильним фізіологічним розчином і протягом 1 години (у термосі з кригою) транспортували до лабораторії, де проводили дослідження на тканинних кріостатних зрізах, товщиною 5-7 мкм, виготовлених із біоптатів грануляційної тканини. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою [3]. Оцінювали ряд морфологічних особливостей, таких як будову грануляційної тканини (виразність, напрямок волокон, стан судин), наявність дистрофії чи некрозу, наявність та виразність набряку, характер інфільтрації. Результати гістологічного дослідження аналізували під мікроскопом («ЛЮМАМ-Р11», Росія), а також за мікрофотокартками, отриманими з мікроскопа за допомогою мікрофотонасадки МФН-10 («ЛМО», Росія) на фотоплівку «Konica VX 400».

Імуногістологічні дослідження основних імуніцитів здійснювали на тканинних кріостатних зрізах товщиною 5-7 мкм за допомогою моноклональних антитіл (мкАТ) проти HLA-DR-, CD3-, CD4-, CD8-, CD20-антигенів імуніцитів («Сорбент», Росія) для визначення антигенпрезентуючих дендритних клітин (HLA-DR⁺ ДК), загальної Т-клітинної популяції (CD3⁺), Т-лімфліцитів хелперів (CD4⁺), цитотоксичних лімфоцитів (CD8⁺) і В-клітин (CD20⁺). Відповідно оцінювали основні клітини-представники індуктивної та ефektorної ланок імунітету [1]. Імуногістохімічним методом були досліджені прикореневі грануляції (38 біоптатів, а з кожними мкАТ1 - анти-HLA-DR, CD3, CD4, CD8, CD20 всього було досліджено більше 190 препаратів).

Локалізацію первинних мкАТ виявляли

З друку надано вільно
Вчений секретар

за допомогою стрептовідін-біотин-пероксидазного комплексу (Sigma, USA) з наступною обробкою зрізів аміноетилкарбазоном (Sigma, USA) з червоно-бурим забарвленням, забезпечуючи візуалізацію реакції.

Наступним етапом ми контрастували тканинні зрізи гематоксиліном або метиленовим синім, заключали в гуммі-сироп під покривне скло і оцінювали імунореактивні клітини під мікроскопом («ЛЮМAM-P11», Росія). Визначали відносну інтенсивність інфільтрації імуніцитами, особливості локалізації, ознаки активності, особливості будови. Для зручності обліку і статистичної обробки кількісних характеристик імунних клітин ми виділили декілька рівнів інфільтрації: у загальних рисах, найменшу інфільтрацію зі всіх виявлених позначали «1», помірний рівень - «2», і різко виражену - «3». Результати дослідження документували фотографуванням на фотоплівку «Konica VX 400» за допомогою мікрофотонасадки МФН-10 («ЛОМО», Росія).

Для статистичної обробки кількісні характеристики помічали рангами (1-3). Кореляційний статистичний аналіз був проведений для оцінки взаємозв'язків між охарактеризованими ознаками імуніцитів і виконаний методом Kendall Tau Correlations програми STATISTICA.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати імуногістохімічних досліджень показали, що в інфільтратах присутні всі досліджувані імуніцити (CD3⁺ загальна Т-клітинна популяція, CD20⁺ В-клітинна популяція, CD8⁺ цитотоксичні Т лімфоцити, CD4⁺ клітини і HLA-DR⁺ дендритні клітини).

HLA-DR⁺ клітини, в основному, помірно інфільтрували грануляційну тканину, утворюючи осередки (рис. 1). Також, спостіргалися зони, вільні від HLA-DR⁺ клітин, чи з помітно меншою щільністю інфільтрату. HLA-DR⁺ клітини були відносно великого розміру і часто мали розгалужені відростки, радіально направлені, що говорить про їх здібність до захоплення антигена. Частина препаратів з ознаками некрозу містила зруйновані клітини і їх фрагменти HLA-DR⁺, при цьому переважала інфільтрація іншими імуніцитами.

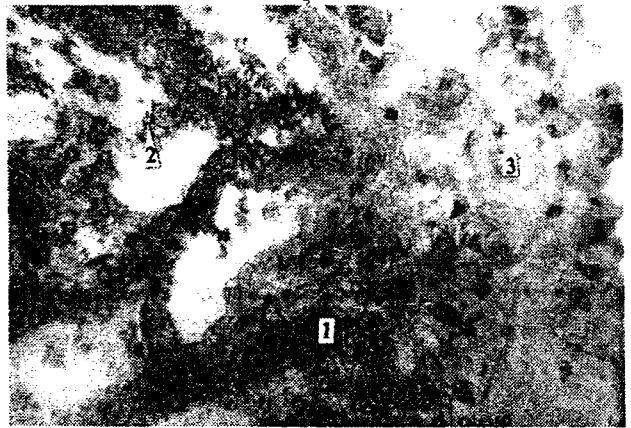


Рис. 1. HLA-DR⁺ клітини у прикореневій грануляційній тканині. мкАТ1 анти- HLA-DR; контрастування метиленовим синім.

1 - зона інфільтрації високої щільності, 2 - імунопозитивна реакція у вигляді зовнішнього контуру клітини, 3 - ділянка із невеликою кількістю HLA-DR⁺ клітин

Примітка. Тут і далі: кріостатний зріз, зб.х60, грануляційна тканина.

CD3⁺ клітини, як правило, були найбільш численними практично на всіх препаратах і формували осередки і фокуси скупчень в точній відповідності із закономірностями розташування круглоклітинного інфільтрату на гістологічних препаратах (рис.2). Зони щільнішого розміщення CD3⁺ кліток чергувалися із зонами, де клітин було менше, останні співпадали з ділянками щільної сполучної тканини, а також із зонами набряку. У фокусах некрозу спостіргалися фрагментовані клітини CD3⁺.

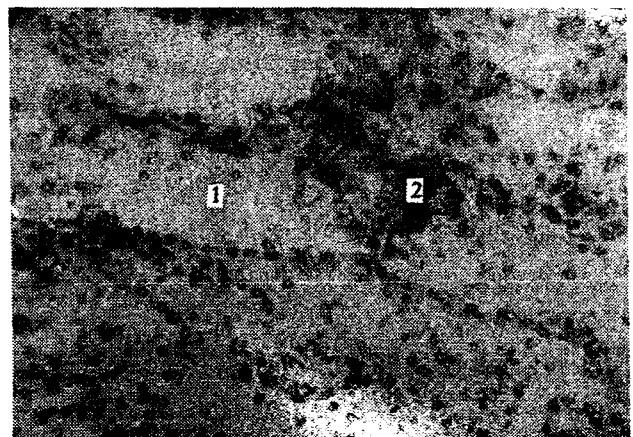


Рис. 2. CD3⁺ клітини.

мкАТ1 CD3; контрастування метиленовим синім.

1 - набряк, 2 - скупчення CD3⁺ клітин.

CD8⁺ ЦТЛ були добре представлені серед клітин інфільтратів. Відносно не-

велика кількість цих клітин знаходилося в щільних волокнистих зонах грануляційної тканини і в полі набряку (рис.3). Таким чином, ми відзначили закономірне розташування CD3⁺ і CD8⁺ клітин у складі інфільтратів у вигляді чергування зон різної інтенсивності інфільтрації.

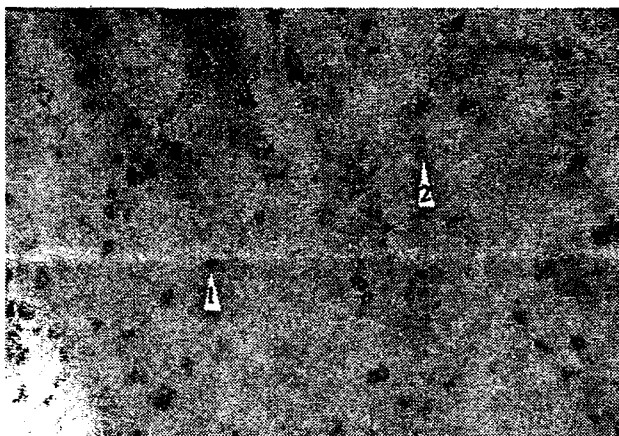


Рис. 3. Розташування CD8⁺ клітин.
мкАТ1 CD8; контрастування метиленовим синім.
1 - CD8⁺ клітини,
2 - клітини, забарвлені метиленовим синім.

CD4⁺ клітини частіше (82% препаратів) були представлені помірно, їх осередки оточували вогнища некрозу і, можливо, залежали від поширеності останнього. На рис.4:2 продемонстрована зона інфільтраційного валу, що утворений CD4⁺ клітками навколо некротично зміненої ділянки. З іншого боку інфільтрація граничить з ділянкою, де кількість CD4⁺ кліток порівняно мало (рис.4: 1).



Рис. 4. CD4⁺ клітинна інфільтрація.
мкАТ1 CD4; контрастування гематоксиліном.
1 - ділянка з невеликою кількістю CD4⁺ клітин,
2 - інфільтрація CD4⁺ клітиннами.

CD20⁺ часто локалізувалися спільно з CD4⁺ клітинами, що може говорити про їх кооперацію, були відносно найменшою за чисель-

ністю популяцією серед досліджених.

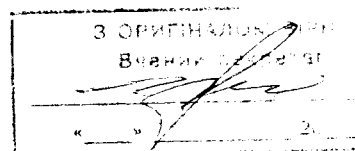
Результати кореляційного аналізу також припускають можливість локальної трьохклітинної кооперації імуніцитів, подібно до подій в периферичних лімфоїдних тканинах: HLA-DR⁺ і CD3⁺ (Kendall Tau=0,375754; p=0,001064), CD3⁺, CD4⁺ і CD20⁺ (Kendall Tau=0,371542; p=0,001211; Kendall Tau=0,665184; p=0,000000).

Кореляції CD3⁺ і CD8⁺ (Kendall Tau=0,508873; p=0,000009); CD3⁺ і CD4⁺ (Kendall Tau=0,335899; p=0,003435) є доброяжують приналежність CD8⁺, CD4⁺ до загальної CD3⁺ популяції кліток, що підтверджує достовірність використаного методу досліджень.

Кореляційний взаємозв'язок морфологічних особливостей, у загальних рисах найчастіше виявлявся з інфільтрацією CD3⁺ клітинами грануляційної тканини: будова у вигляді тяжів і CD3⁺ (Kendall Tau=0,325080, p=0,004631), мукоїдне набухання, коагуляційний некроз і CD3⁺ (Kendall Tau=0,305650, p=0,007759; Kendall Tau=0,239662, p=0,036836). З коагуляційним некрозом позитивно корелювала інфільтрація CD20⁺ клітинами (Kendall Tau=0,283946, p=0,013387). Найбільш часта локальна інфільтрація при дослідженій патології CD3⁺ клітинами відображає характерну реакцію, опосередковану CD3⁺ Т-лімфоцитами, і вплив на морфологію грануляційної тканини.

Висновки. На основі проведених досліджень продемонстровано інфільтрацію прикореневої грануляційної тканини при загостренні хронічного періодонтиту тимчасових зубів основними субпопуляціями лімфоцитів та ДК. Встановлена кореляція між загальною Т-клітинною та В-клітинною популяцією з переважанням CD3⁺ інфільтрації у осередку запалення періодонту тимчасових зубів.

Перспективи подальшого дослідження. Вивчивши особливості співвідношення характеристик імуніцитів з гістологічними особливостями прикореневої грануляційної тканини при загостренні хронічного періодонтиту тимчасових молярів важливо зіставити їх зі спектром пародонтопатогенів, які слугують етіологічним чинником досліджуваного захворювання, і викликають певну відповідь з боку тканин періодонту. Для визначення основних ланок патогенезу захворювання необхідно виявити тип локальної імунної відповіді на основні пародонтопатогени при періодонтитах тимчасових зубів.



СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Кайдашев І.П. Деклараційний пат. України 58163 А, МПК 7 А61С17/00. Спосіб оцінки імунологічного стану слизової оболонки порожнини рота: Пат. 58163, А, МПК 7 А61С17/00 / Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. (Україна). - №2002108169; Заявл. 15.10.2002; Опубл. 15.08.2003, Бюл. №8. - 2с
 Кайдашев І.П. Характеристика імунних клітин слизової оболонки ясен при хронічному генералізованому пародонти ті відповідно ступенів тяжкості / Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. // Імунологія та алергологія. - 2004. - №4. - С.15-19.
 Кайдашева І. П. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. проф. Кай-

дашева І. П. // - Полтава, 2003. - 319с.
 4. Шешукова О.В. Зв'язок між наявністю пародонтопатогенної інфекції у кореневих каналах і гістологічними особливостями грануляційної тканини при хронічному періодонтиті тимчасових зубів / Шешукова О.В., Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. // Вісник проблем біології і медицини. - 2006. - №2. - С.413-416.
 5. Шешукова О.В. Гістологічні особливості прикореневої грануляційної тканини тимчасових молярів при загостренні хронічного періодонтиту / Шешукова О.В., Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. // Вісник проблем біології і медицини. - 2005. - №4. - С.176-182].
 6. Teng Y.-T.A. The Role of Acquired Immunity and Periodontal Disease Progression // Crit. Rev. Oral. Biol. Med. - 2003. - Vol.14, № 4. - P.237-252.

УДК [616.314.96616.314.19]-053.3/.4

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННЫХ КЛЕТОК ОКОЛОКОРНЕВОЙ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ ПРИ ПЕРИОДОНТИТАХ ВРЕМЕННЫХ ЗУБОВ У ДЕТЕЙ

Шешукова О.В.

Резюме. На основании проведенных исследований продемонстрирована инфильтрация колокорневой грануляционной ткани при хроническом периодонтите временных зубов основными субпопуляциями лимфоцитов и дендритными клетками. Установлена корреляция между общей Т-клеточной и В-клеточной популяцией с преобладанием CD3⁺ инфильтрации в очаге воспаления при периодонтите временных зубов.

Ключевые слова: временные зубы, хронический периодонтит.

UDC [616.314.96616.314.19]-053.3/.4

THE CHARACTER OF IMMUNE CELLS OF PERIAPICAL GRANULAR TISSUE UNDER PERIODONTITIS OF TEMPORARY TEETH IN CHILDREN

Sheshukova O.V.

Summary. On the base of carrying out investigation, the infiltration of periapical granular tissue under chronic periodontitis of temporary teeth by major subpopulation of lymphocytes and dendritic cells is demonstrated. The correlation between the general T-cells and B-cells population with prevalence of CD3⁺ infiltration in the field of inflammation under temporary teeth periodontitis

Key words: temporary teeth, chronic periodontitis, lymphocytes subpopulation.

Стаття надійшла 2.06.2009 р.

