

УДК 616-091:616.516:616.311

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ОДОНТОПРЕПАРИРОВАНИИ И ТАБАКОКУРЕНИИ

Щеглов А.В., Загородняя Е.Б., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Оскольский Г.И.

*НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Проведено иммуноморфологическое исследование слизистой оболочки десны в динамике одонтопрепарирования у курящих и некурящих пациентов. Показано, что табакокурение обуславливает более выраженную структурную реорганизацию слизистой оболочки десны, ее атрофические изменения, нарушения процессов внутриклеточной регенерации. Одонтопрепарирование усиливает деструктивные процессы в слизистой оболочке десны, особенно в базальном и шиповатом слоях эпителия, что способствует активации местного иммунитета (усиление синтеза иммуноглобулинов). Выявлены существенные различия гуморального звена местного иммунитета (дисиммуноглобулинемия субклассов IgG) и цитокинового спектра у некурящих и курящих пациентов. Субкомпенсированный уровень иммунной резистентности у курящих людей позволяет выделить их в группу повышенного риска развития хронических патологических процессов полости рта.

Ключевые слова: хроническое воспаление, слизистая оболочка полости рта, одонтопрепарирование, табакокурение, морфология, местный иммунитет

IMMUNOMORPHOLOGICAL ANALYSIS OF ORAL MUCOSA WHEN ODONTOPREPARATION AND TOBACCO SMOKING

Scheglov A.V., Zagorodnaya E.B., Lushnikova E.L.,
Nepomnyashchikh L.M., Oskolsky G.I.

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,
Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru*

Immunomorphological study of oral mucosa in course of odontopreparation in tobacco-smoking and non-smoking patients was carried out. It is shown that tobacco smoking caused a more pronounced structural reorganization of oral mucosa, its atrophic changes and inhibition of the processes of intracellular regeneration. Odontopreparation stimulates destructive processes in the gingival mucosa, especially in basal and tubercular layers, promoting activation of local immunity (stimulation of immunoglobulin synthesis). Significant differences in the local humoral immunity (IgG dysimmunoglobulinemia) and cytokine spectrum in non-smoking and tobacco-smoking patients were detected. Subcompensated level of immune resistance in tobacco smokers prompts referring them to a group at a high risk of chronic pathological processes of the oral cavity.

Keywords: chronic inflammation, oral mucosa, odontopreparation, tobacco smoking, morphology, local immunity

Распространенность заболеваний пародонта достигает 98% [3], что обуславливает увеличение объема стоматологической помощи населению, в том числе ортопедической. Осуществление неизбежного в таких случаях одонтопрепарирования сопряжено с развитием воспалительных процессов в полости рта [1], интенсивность которых зависит как от воздействия ряда экзо- и эндоэкологических факторов (табакокурение, особенности питания, микробная флора и т.п.), возраста, так и от адекватности местных и системных иммунологических реакций [2, 10].

Роль местного иммунитета помимо продукции иммуноглобулинов, направленной на элиминацию чужеродных антигенов, заключается также в регуляции тканевого гомеостаза слизистой оболочки (СО) полости рта за счет продукции иммунокомпетентными клетками широкого спектра цитокинов. Некоторые из этих цитокинов, в частности интерлейкин-1 (Ил-1), рассматривают в качестве патогенетических маркеров тяжелых форм хронического пародонтита [8, 9]. В то

же время для совершенствования критериев прогноза тяжести течения патологического процесса в полости рта и эффективности проводимого лечения необходима динамичная оценка широкого спектра цитокинов (и их соотношений) и сопоставление их изменений с характером деструктивных и регенераторных процессов. Важное значение имеет также анализ влияния наиболее распространенных неблагоприятных экзогенных факторов, к которым относится, в частности, табакокурение, на структурно-функциональную реорганизацию СО полости рта.

Цель работы – провести морфологический анализ биоптатов десны и изучить показатели местного иммунитета ротовой полости при проведении препаровки зубов у курящих и некурящих пациентов.

Материал и методы исследования

Проведен клинико-морфологический и иммунологический анализ СО полости рта у мужчин, нуждающихся в ортопедическом лечении в возрасте от 26 до 56 лет (средний возраст – $36,5 \pm 1,1$ лет). Обследование проводили непосредственно перед началом

ортопедического лечения и через 14–16 сут после одонтопрепарирования. Всех пациентов разделили на 3 группы: 1-я группа – общая (20 человек), в которую входили курящие и некурящие пациенты; 2-я группа – некурящие (12 человек); 3-я группа – курящие пациенты (8 человек). Одонтопрепарирование витальных зубов (премоляров и моляров с неизменным местоположением в зубном ряду) проводили по общепринятой методике. Все исследования выполнены с информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.).

Для морфологического исследования по медицинским показаниям под проводниковой анестезией брали фрагменты СО десны размером 2 мм³. Биоптаты десны фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, проводили стандартную обработку ткани для заливки образцов в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Романовскому-Гимзе. Образцы ткани, предназначенные для исследования в электронном микроскопе, после фиксации в 4%-м параформальдегиде дофиксировали в 1%-м растворе четырехоксида осмия; после стандартной обработки заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие (1 мкм) срезы окрашивали азуром II. Ультратонкие срезы контрастировали спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM 1010.

Для проведения иммунологического исследования ротовую жидкость собирали утром натощак по методу, рекомендованному Международной ассоциацией стоматологов. С помощью твердофазного иммуноферментного анализа в ротовой жидкости определяли концентрацию секреторных иммуноглобулинов (sIgA, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄), интерлейкинов 2, 4 и 6 (Ил-2, Ил-4, Ил-6), фактора некроза опухолей α (ФНО- α) и интерферона γ (Ифн- γ) (иммуноферментные тест-системы фирмы «Полигност», С.-Петербург, Россия).

При статистическом анализе результатов исследования использовали стандартные методы вариативной статистики [7]. Проверку статистической гипотезы равенства групповых средних проводили по t-критерию Стьюдента. Использовали программное обеспечение Statistica 5.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Структура выявленных изменений СО полости рта и десны в группах курящих и некурящих пациентов свидетельствует об отрицательном влиянии курения на сохранение здоровья. У курящих пациентов индексы гигиены полости рта были достоверно выше, чем у некурящих: РМА-индекс в 3,5 раза, ОНI-S-индекса – в 4,8 раза. У 50% курящих мужчин выявлена легкая степень течения гингивита, у 12,5% – средняя, у 37,5% – тяжелая степень (РМА-индекс не превышал 70%). В группе некурящих у 83,3% выявлена легкая степень гингивита, у 16,7% пациентов – средняя степень. После одонтопрепарирования отмечено более выраженное увеличение РМА индекса у некурящих пациентов (в 3 раза) по сравнению с курящими (в 1,7 раза).

У курящих пациентов чаще регистрировались катаральные изменения СО полости рта, а также симптомы атрофического гингивита. В биоптатах десны при катаральном гингивите в большинстве случаев отмечался акантоз и папилломатозные выросты эпителия, которые относятся к наиболее распространенным общепатологическим реакциям многослойного эпителия на неблагоприятные хронические воздействия [6]. Ведущим морфологическим признаком была выраженная структурно-функциональная гетерогенность эпителиоцитов базального и шиповатого слоев, которая проявлялась в различных тинкториальных свойствах клеток. Значительная часть эпителиоцитов шиповатого и зернистого слоев характеризовались дистрофическими изменениями, наблюдался также некробиоз. В большинстве случаев роговой слой был сохранен и имел несколько рядов ороговевших клеток. На различных участках плотность его варьировалась, в некоторых случаях отмечался дискератоз. При атрофическом гингивите регистрировалась очаговая атрофия эпителиального пласта при сохранении папилломатозных выростов, иногда значительных.

Одним из манифестных и постоянно встречающихся морфофункциональных изменений эпителиального пласта у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями полости рта, нуждающихся в ортопедическом лечении, были выраженные расширения межклеточных пространств в базальном и шиповатом слоях. Наиболее выраженными эти изменения были после одонтопрепарирования у пациентов всех групп. Подобные структурные преобразования СО полости рта описаны при различных патологических процессах и использовании разных пломбирочных материалов [5] и могут быть следствием проникновения трансудата из сосочкового слоя в базальный и шиповатый слои эпидермиса. С нашей точки зрения, значительное расширение межклеточных пространств в эпидермальном пласте может быть обусловлено также угнетением регенераторно-пластических процессов в эпителиоцитах, снижением в них биосинтеза ряда важнейших структурно-функциональных белков, в частности, входящих в состав десмосом.

При электронно-микроскопическом исследовании в эпителиоцитах шиповатого слоя отмечалось появление вакуолеобразных расширений в околоядерной области, «опустошение» околоядерной зоны (парциальный некроз цитоплазмы), уменьшение количества гранул кератогиалина и плотных межклеточных контактов. Подобные ультраструктурные изменения были наибо-

лее выраженными у лиц, злоупотреблявших табакокурением, и отражали нарушения процессов внутриклеточной регенерации. Расширенные межклеточные пространства содержали, как правило, хлопьевидную субстанцию, мембранозные структуры; отмечался также диapedез лимфоцитов и клеток макрофагального ряда в эпителии СО десны.

В собственной пластинке СО десны до одонтопрепарирования отмечался разной выраженности отек сосочкового слоя; межэпителиальные сосочки имели различную высоту. В большинстве случаев отмечалась периваскулярная преимущественно мононуклеарная инфильтрация. После одонтопрепарирования нарастал отек сосочкового СО десны, происходило усиление и распространение воспалительно-клеточной инфильтрации.

Отмеченные в динамике одонтопрепарирования морфологические изменения сопровождались изменениями показателей местного иммунитета в полости рта. Концентрация секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в ротовой жидкости в общей группе до одонтопрепарирования варьировалась от 40,72 до 58,6 мкг/мл, после одонтопрепарирования она достоверно не изменялась (от 39,08 до 57,44 мкг/мл). Содержание sIgA в ротовой жидкости было снижено у курящих пациентов как до проведения одонтопрепарирования – $46,9 \pm 1,3$ мкг/мл (у некурящих – $53,08 \pm 0,86$ мкг/мл, $p < 0,05$), так и после – $47,1 \pm 1,3$ мкг/мл (у некурящих – $52,7 \pm 0,7$ мкг/мл, $p < 0,05$).

Соотношения уровней sIgA в сыворотке крови и ротовой жидкости ($sIgA_{ск}/sIgA_{рж}$) в общей группе до и после одонтопрепарирования составили соответственно $0,26 \pm 0,03$ и $0,21 \pm 0,03$, у курящих лиц эти показатели (соответственно $0,09 \pm 0,01$ и $0,04 \pm 0,01$) были в 4 раза и более ниже, чем у некурящих мужчин (соответственно $0,36 \pm 0,03$ и $0,31 \pm 0,02$). Снижение соотношений $sIgA_{ск}/sIgA_{рж}$ у курящих лиц свидетельствует об истощении адаптационных резервов организма, напряжении защитных факторов местного иммунитета полости рта. Соотношение субклассов иммуноглобулина G в ротовой жидкости (по уровню их концентрации) было следующим: $G_1 > G_2 > G_4 > G_3$; оно было выявлено во всех обследуемых группах, отличалось от такового в сыворотке крови и не изменялось в ходе проведения ортопедической терапии. Концентрации IgG₁, IgG₂, IgG₄ в ротовой жидкости у курящих пациентов были достоверно снижены по сравнению с таковыми у некурящих. При повторном исследовании найденные различия сохранялись и носили более выраженный характер.

Особенностями формирования местного иммунитета полости рта в отличие от системного иммунитета были высокие концентрации в ротовой жидкости Ил-2, Ил-6, ФНО-α и значительно сниженные уровни Ил-4 и Ифн-γ. При сравнении концентраций Ил-2, Ил-4 и Ил-6 в ротовой жидкости у курящих и некурящих лиц до лечения выявлено их более низкое содержание у некурящих. Концентрации ФНО-α и Ифн-γ в ротовой жидкости пациентов всех исследованных групп существенно не различались.

После проведения одонтопрепарирования у курящих и некурящих пациентов сохранялись существенные отличия цитокинового статуса местного иммунитета. Для обеих групп было характерно снижение содержания в ротовой жидкости Ил-2, однако в группе курящих мужчин его концентрация оставалась более высокой (в 9 раз по сравнению с показателем группы некурящих лиц). Отмечена разнонаправленная динамика изменений концентраций цитокинов-антагонистов (Ил-4 и Ил-6) после одонтопрепарирования у некурящих и курящих мужчин. В ротовой жидкости некурящих пациентов концентрация провоспалительного Ил-6 существенно не менялась, в то время как концентрация Ил-4 возрастала почти в 6 раз ($p < 0,05$). У лиц, злоупотреблявших табакокурением, концентрации обоих цитокинов снижались. У некурящих лиц концентрация ФНО-α после одонтопрепарирования повышалась в 1,9 раз (до 729,50 пкг/л), в то время как у курящих – в 1,4 раз (до 566,62 пкг/л).

Нарушение баланса Ил-2/Ил-4 может приводить к нарушению внутрииммунных отношений и развитию иммунопатологических процессов [4], поскольку одним из основных биологических эффектов Ил-4 является активация пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, регулирование биологических эффектов Ил-2.

Таким образом, характер ремоделирования СО десны у пациентов, нуждающихся в ортопедическом лечении, определяется выраженностью и продолжительностью воспалительного процесса, неблагоприятным влиянием на клеточные популяции продуктов табакокурения и повреждающим воздействием процесса препаровки зубов. Продолжительное табакокурение обуславливает развитие регенераторно-пластической недостаточности эпителиоцитов и атрофические изменения эпителиального пласта СО десны. Такое ремоделирование СО происходит на фоне развивающейся дисиммуноглобулинемии субклассов IgG, перераспределении синтезируемых в организме антител и активизации биосинтеза

провоспалительных цитокинов в ротовой полости. У некурящих пациентов после одонтопрепарирования более выражена активация местного иммунитета, отмечено усиление синтеза противовоспалительных цитокинов, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию на увеличение антигенной нагрузки. У лиц, злоупотребляющих табакокурением, после стоматологического ортопедического лечения более выражены дисиммуноглобулинемия и перераспределение секреторного IgA в организме. Недостаточность противовоспалительных компонентов (Ил-4) можно рассматривать как субкомпенсированный уровень иммунологической резистентности, что позволяет выделять курящих людей в группу повышенного риска по развитию иммунопатологических состояний.

Список литературы

1. Абакаров С.И. Вопросы ортопедической стоматологии при дентальной имплантации. – М.: РМАПО, 2005. – 167 с.
2. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. – СПб.: Специальная литература, 1999. – 247 с.
3. Грудянов А.И., Дмитриева Л.А., Максимовский Ю.М. Пародонтология. Современное состояние вопроса и направление научных разработок // Стоматология. – 1999. – № 1. – С. 16–21.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. – СПб.: Гиппократ, 1992. – 256 с.
5. Ультраструктурные аспекты клеточных популяций мягких тканей десны при хроническом воспалительном процессе / Л.М. Михалева, Т.Г. Бархина, В.Д. Шаповалов и др. // Арх. патол. – 2001. – Вып. 6. – С. 15–20.
6. Морфологический анализ воздействия рихлокаина на слизистую оболочку десны при обострении хронического пародонтита / В.Л. Попков, Л.А. Фаустов, Н.Л. Сычева и др. // Бюл. exper. биол. – 2005. – Т. 140, № 12. – С. 701–704.
7. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2001. – 256 с.
8. Lopez N.J., Jara L., Valenzuela C.Y. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease // J. Periodontol. – 2005. – Vol. 76. – P. 234–243.
9. McGuire M.K., Nunn M.E. Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival // J. Periodontol. – 1999. – Vol. 70, №1. – P. 49–55.
10. Parkhill J.M., Hennig B.J., Chapple I.L. et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis // J. Clin. Periodontol. – 2000. – Vol. 27, №9. – P. 682–689.

Рецензенты:

Горчаков В.Н., д.м.н., профессор, зав. лабораторией функциональной морфологии Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Селятицкая В.Г., д.б.н., профессор, зав. лабораторией эндокринологии Научного центра клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 23.11.2011.