

И.Н. Усманова¹,
д.м.н., профессор кафедры
терапевтической стоматологии с курсом
ИДПО

Л.П. Герасимова¹,
д.м.н., профессор кафедры
терапевтической стоматологии с курсом
ИДПО

М.Ф. Кабирова¹,
д.м.н., профессор кафедры
терапевтической стоматологии с курсом
ИДПО

И.Р. Усманов¹,
к.м.н., доцент кафедры ортопедической
стоматологии и ЧЛХ с курсами ИДПО

М.А.М. Аль-Кофиш¹,
аспирант кафедры терапевтической
стоматологии с курсом ИДПО

А.И. Лебедева²,
д.б.н., старший научный сотрудник отдела
морфологии

Р.Ф. Хуснарязанова¹,
к.б.н., доцент кафедры микробиологии
и вирусологии

¹ БГМУ, Уфа

² Всероссийский центр глазной
и пластической хирургии, Уфа

Взаимосвязь клинических и морфологических изменений с факторами риска развития воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста

Резюме. Для оценки взаимосвязи клинических особенностей и морфологических признаков с факторами риска развития воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста проведено комплексное клиническое обследование, изучение с использованием ПЦР-диагностики обсемененности различных биотопов полости рта облигатно-анаэробными микроорганизмами и морфологическое исследование биоптатов слизистой десны. Используя качественный метод тест-системы ПЦР в исследуемых биотопах полости рта, чаще всего выявлялись специфические облигатно-анаэробные микроорганизмы – *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, являющиеся маркерами развития воспалительного процесса и способствующие деструкции соединительной ткани пародонта. Коллагеновые и эластичные волокна в собственном слое слизистой оболочки десен с клинически интактным пародонтом, хроническим генерализованным катаральным гингивитом, хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести подвергались разволокнению, фрагментации и набуханию. Методами статистического анализа выявлена положительная корреляция между индексом кровоточивости десен и обсемененностью различных биотопов полости рта специфическими облигатно-анаэробными микроорганизмами. Определение взаимосвязи клинических, микробиологических и морфологических изменений в тканях пародонта позволяет своевременно оценить риск возникновения хронического воспаления, спрогнозировать лечебно-профилактические мероприятия и оценить их эффективность.

Ключевые слова: хронический гингивит, пародонтит, пародонтопатогены, коллагеновые и эластичные волокна пародонта

Summary. To assess the relationship of clinical characteristics and morphological traits with risk factors for the development of inflammatory periodontal diseases at young age a comprehensive clinical examination, a study using PCR-diagnostics of contamination of different biotopes of oral cavity obligate anaerobic microorganisms and morphological study of biopsy specimens of the mucosa of the gums. Using a qualitative method of PCR test-system in the studied biotopes of oral cavity most often identified specific obligate anaerobic microorganisms – *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* which are markers of the development of the inflammatory process and contribute to connective tissue destruction of the periodontium in young adults. Collagen and elastic fibers in the lamina propria own layer of the mucous membrane of the gums with a clinically intact periodontium has been assessed, HGPRT were subjected to dissociation, fragmentation and swelling. Methods of statistical analysis revealed a positive correlation between the index of gingival bleeding and microbial contamination of different biotopes of oral cavity specific obligate anaerobic microorganisms. Determining the relationship of clinical, microbiological and morphological changes in the periodontal tissues of young individuals allow to assess the risk of chronic inflammation, to predict the therapeutic and prophylactic measures and to evaluate their effectiveness. Key words: chronic gingivitis, periodontitis, periodontopathogenic microorganisms, collagen and elastic fibers of the periodontium

Key words: chronic gingivitis, periodontitis, periodontopathogenic microorganisms, collagen and elastic fibers of the periodontium

Данные ВОЗ (2010), основанные на стоматологическом обследовании населения 53 стран мира, свидетельствуют о том, что наивысший уровень распространенности заболеваний пародонта от 55 до 89% наблюдается в возрасте 18–30 лет, в России общая распространенность воспалительных заболеваний пародонта у молодежи трудоспособного возраста достигает в среднем 98,5% случаев [1, 5–7].

Развитие начальных форм воспалительного процесса в тканях пародонта обусловлено различными факторами риска, в частности, первичное поражение тканей могут вызывать представители условно патогенных микроорганизмов, которые в процессе своей жизнедеятельности изменяют окислительно-восстановительный потенциал зубной бляшки и тем самым создают благоприятные условия для строгих анаэробов [1–4, 6, 8–11]. Хронический гингивит является начальным этапом деструктивного процесса, а пародонтит рассматривается как хроническое деструктивное иммуновоспалительное заболевание, что определяет социальную значимость данной проблемы [1, 4–6]. К факторам, индуцирующим длительное хроническое воспаление и разрушение тканей пародонта, относятся пародонтопатогенные виды бактерий, которые активно производят в процессе своей жизнедеятельности протеазы, токсины и продукты метаболизма, в результате чего происходит патологическое изменение эластичных и коллагеновых волокон периодонта и в дальнейшем резорбция костной ткани от 0,05 до 0,5 мм в год [1, 2, 4, 6].

Цель исследования: изучение взаимосвязи морфологических и клинических признаков с факторами риска развития воспалительных заболеваний у лиц молодого трудоспособного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено комплексное стоматологическое обследование 105 человек в возрасте от 20 до 35 лет, которых разделили на 3 группы по 35 человек:

- I – 15 мужчин и 20 женщин с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ);
- II – 20 мужчин и 15 женщин с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (ХГПЛСТ);
- III – 15 мужчин и 20 женщин с клинически интактным пародонтом (КИП) – контроль.

В диагностике воспалительных заболеваний пародонта, оценке их тяжести и распространенности использовали STEPS-подход (рекомендации ВОЗ, 2013), включающий клинические исследования факторов риска и самооценку состояния полости рта и поддержку ее здоровья, оценку вредных привычек, качество жизни, социальную позицию с помощью анкетирования. Фиксировали данные опроса, осмотра, результаты дополнительных методов исследования и индексную оценку состояния тканей пародонта:

папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА), упрощенный гигиенический индекс (ОHI-S), пародонтальный индекс (PI) и индекс кровоточивости (SBI).

Для определения пародонтопатогенной микрофлоры полости рта проводилась ПЦР-диагностика с использованием коммерческих наборов ДНК-экспресс (НПФ «Литех», Россия) с использованием теста качественного анализа, согласно инструкции. Амплификацию видоспецифических фрагментов ДНК микроорганизмов – *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia* – осуществляли ПЦР-методом с использованием готовых специфических праймеров в многоканальном амплификаторе Терцик МС-2 («ДНК-Технология», Россия).

Морфологическая часть исследований выполнена на базе отдела морфологии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии.

Для гистологического исследования на основании информированного согласия пациента использовали 63 биоптата мягких тканей десны, полученных при удалении зубов по ортодонтическим показаниям. Из них 18 было взято у пациентов с клинически интактным пародонтом (КИП), 20 – у пациентов с хроническим генерализованным гингивитом, 25 – у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Биопсийный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, и после обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону, резорцин-фуксином. Исследование и визуализацию препаратов проводили под световым микроскопом AxioImager Z1 с фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений Axiovision (Carl Zeiss, Германия).

Для проведения электронно-микроскопических исследований из исследуемой ткани вырезали кусочки по 1–2 мм³ и фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, приготовленного на какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) с дофиксацией в 1% растворе OsO₄ на том же буфере. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. Предварительно готовили тонкие срезы на ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия) и окрашивали их раствором толудинового синего на 2,5% растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

При статистической обработке полученных данных применяли *t*-критерий Стьюдента, а для непараметрических данных – программный пакет Biostat, включая критерий χ^2 . Уровень значимости принимали за 95% (или $p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате комплексного клинического обследования в тканях пародонта пациентов диагностированы отек,

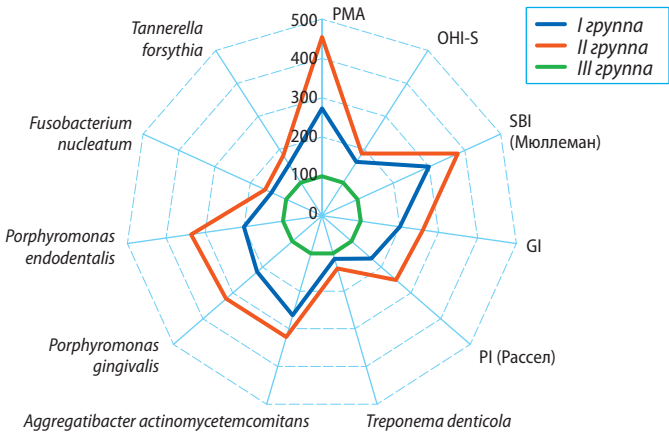


Рис. 1. Взаимосвязь показателей индексной оценки состояния тканей пародонта от клиники и выявленных представителей пародонтопатогенной микрофлоры (доля в % от контроля)

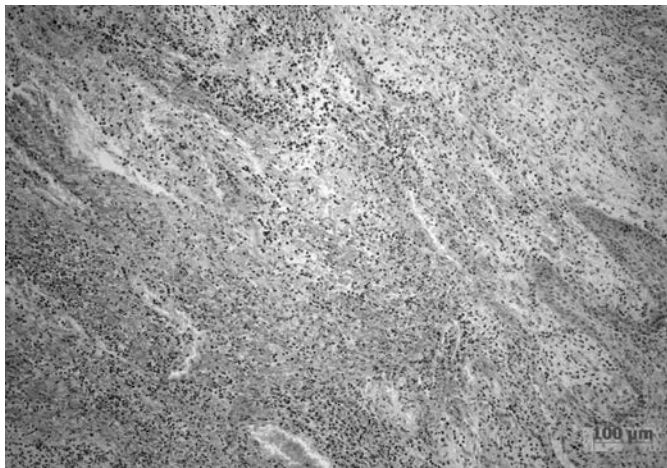


Рис. 2. Хронический катаральный гингивит. Разрежение и разволокнение коллагеновых волокон, отек тканей, воспалительная инфильтрация. Окраска по Ван-Гизону

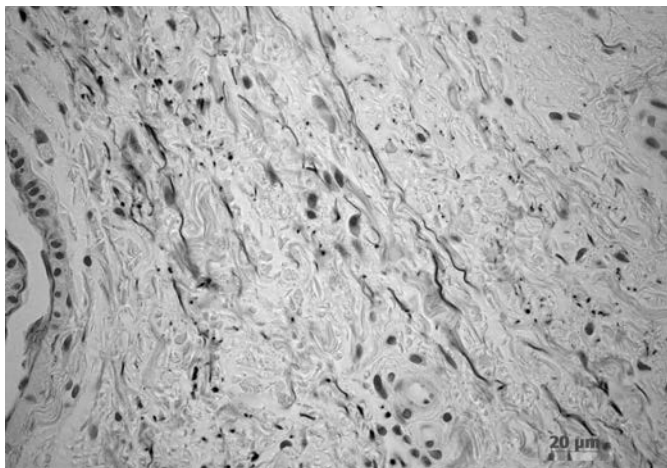


Рис. 3. Хронический генерализованный катаральный гингивит. Разрушение эластических волокон в сосочковом слое собственной пластинки десны. Окраска резорцин-фуксином

гиперемия слизистой оболочки десны, спонтанная кровоточивость, наличие над- и поддесневых зубных отложений. Глубина пародонтальных карманов в среднем составила $3,7 \pm 0,6$ мм во II группе.

При микробиологическом анализе проб исследуемых биотопов (зубного налета, десневой и ротовой жидкости и содержимого пародонтального кармана) выявлены положительные образцы специфических фрагментов ДНК исследуемых пародонтопатогенных видов бактерий вне зависимости от клинического состояния тканей пародонта. В среднем вне зависимости от исследуемого биотопа частота их обнаружения составила 19% случаев в III группе, 32,85% – в I группе и 42,85% – во II группе.

Частота выявления облигатных анаэробов *P. gingivalis* составила в среднем от 23 до 71%, *Fusobacterium nucleatum* – 34–53%, факультативного анаэроба *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – 14–46%, *Treponema denticola* – 20–28% случаев ($p \leq 0,05$). Указанные микроорганизмы в ряде случаев встречались в III группе, в достаточно высоком проценте случаев в I группе, а также преобладали во II группе (преимущественно в биотопе ротовой жидкости и в содержимом пародонтального кармана).

Уровень гигиены полости рта вне зависимости от клинического состояния тканей пародонта был также выше показателей нормы, соответственно в III группе в 2,6 раза, в I группе – в 4,3 раза и во II группе – в 4,9 раза (см. таблицу).

Выявленные отклонения в показателях индексной оценки состояния тканей пародонта достоверно ($p \leq 0,05$) коррелируют со степенью обсемененности биотопов полости рта пародонтопатогенными видами бактерий (рис. 1).

Обнаруженные отклонения в индексной оценке состояния тканей пародонта и изменении биотопов полости рта при КИП могут служить маркером прогнозирования развития воспалительных заболеваний пародонта, а при ХГКГ и ХГПЛСТ способствуют проявлению и утяжелению деструктивных процессов в пародонте.

При анализе данных гистологических исследований в собственной пластинке слизистой десен пациентов I и III группы коллагеновые волокна подвергались разволокнению, фрагментации и набуханию соответственно в 14 и 35% случаев (рис. 2).

Наиболее значимые показатели индексной оценки состояния тканей пародонта

Показатель	Группа		
	I	II	III
Индекс РМА	29,8±0,03	49,30±0,08	10,70±0,03
Индекс ОHI-S	2,57±0,05	2,92±0,01	1,57±0,03
SBI (Мюллемана)	1,48±0,05	1,85±0,75	0,45±0,05
Десневой индекс GI (Loe, Silness)	1,99±0,01	2,60±0,01	0,98±0,01
PI (Рассел)	1,02±0,03	1,52±0,05	0,57±0,03

При КИП и ХГКГ в сосочковом слое, наряду с коллагеновыми волокнами, эластичные волокна также подвергались выраженным патологическим изменениям и определялись в виде фрагментов различной длины: точек, крючочков и палочек (рис. 3).

Среди клеток воспалительного ряда встречались полиморфноядерные лейкоциты, в цитоплазме которых обнаруживались фагоцитарные вакуоли. У лимфоцитов наблюдались признаки активации за счет расширенного ободка цитоплазмы и ворсинчатой поверхности (рис. 4).

На ультраструктурном уровне определялись коллагеновые волокна в различной степени деструкции. Наряду с сохранившимися пучками коллагеновых волокон с четкой поперечной исчерченностью, собранными в плотные упорядоченные пучки, выявлялись и разрушенные гомогенизированные образования, представлявшие бесформенную аморфную массу. Помимо клеток воспалительного ряда обнаруживались фибробластические клетки, которые образовывали между собой клеточные кооперации и находились в различной степени активности: от зрелых коллагенобластов II типа с выраженной коллагенпродуцирующей деятельностью до юных коллагенобластов I типа с признаками низкой или умеренной секреции (рис. 5).

Выявлено, что при ХГКГ в собственном слое слизистой оболочки десны происходило частичное разрушение межклеточного вещества: коллагеновых и эластических волокон. Несмотря на протеолитическую активность патогенов и медиаторов воспалительной клетки, вызывающих коллагенолизис, наблюдались адаптивно-компенсаторные процессы коллагеногенеза, обусловленные деятельностью фибробластов.

В 46% случаев среди пациентов II группы при морфологическом исследовании биоптатов выявлено, что в собственном слое слизистой оболочки присутствуют

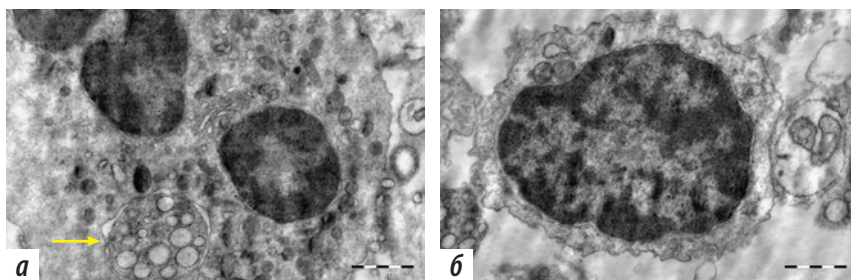


Рис. 4. Хронический катаральный гингивит. Клетки воспалительного ряда: а — нейтрофил с фагоцитарной вакуолью (указан стрелкой), б — активированный В-лимфоцит. Электронограмма

клетки воспалительного ряда: лимфоциты, макрофаги, полиморфноядерные лейкоциты (рис. 6).

Межклеточное вещество соединительной ткани характеризовалось наличием признаков воспалительно-деструктивных изменений. Выявлялось разволокнение, фрагментация, истончение и набухание коллагеновых волокон. Они имели неупорядоченный вид с хаотичным расположением фибрилл и с расширенными межволоконными промежутками (рис. 7).

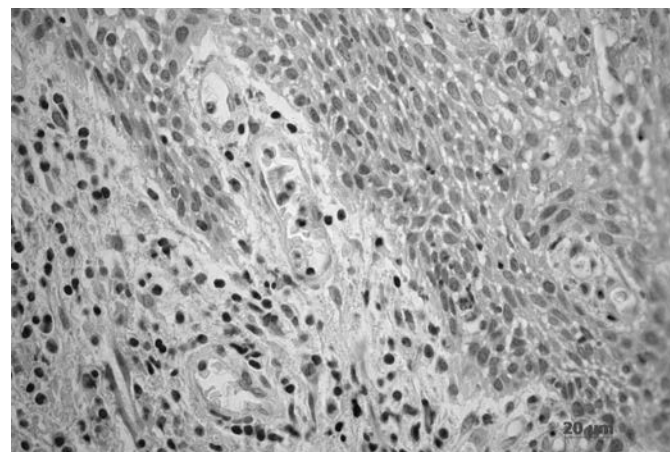


Рис. 6. Хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести. Умеренная воспалительная инфильтрация слизистой оболочки десны. Окраска гематоксилином и эозином

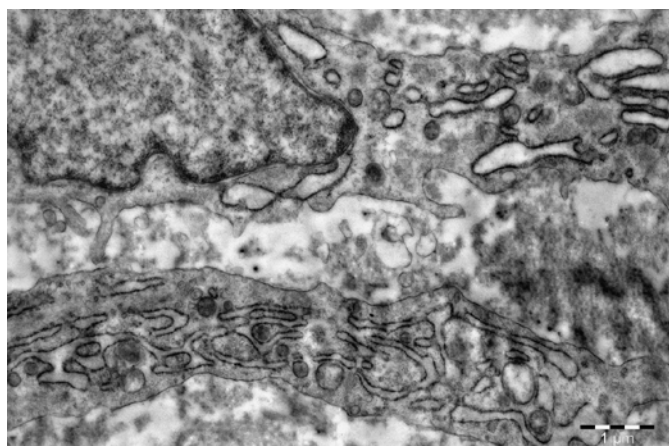


Рис. 5. Хронический катаральный гингивит: коллагеновые волокна в различной степени деструкции, фибробласт-фибробластический контакт. Электронограмма

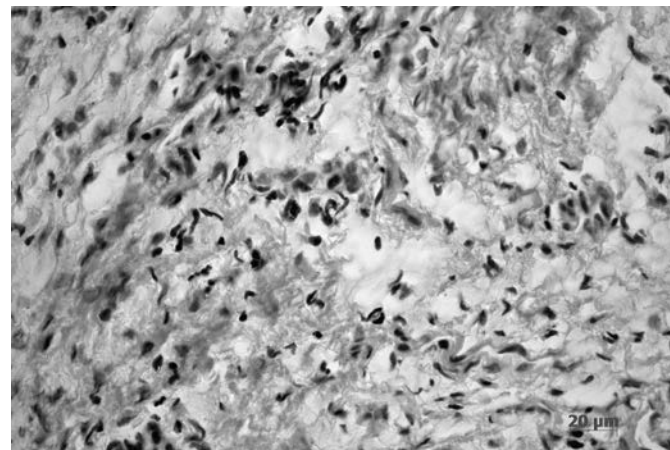


Рис. 7. Хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести. Разволокнение, фрагментация, набухание коллагеновых волокон, отек стромы. Окраска по Ван-Гизону

Ультраструктура коллагеновых волокон также была с признаками глубоких патологических изменений: исчезала поперечная исчерченность, наблюдались разволокненность пучков вплоть до фибрилл, набухание, лизис, вакуолизация. Наличие коллагенобластов II типа,

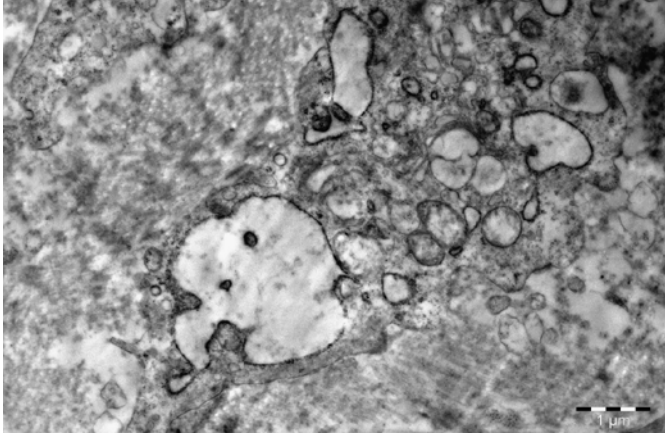


Рис. 8. Хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести. Глубокие разрушения коллагеновых волокон, коллагенобласт II типа. Электронограмма

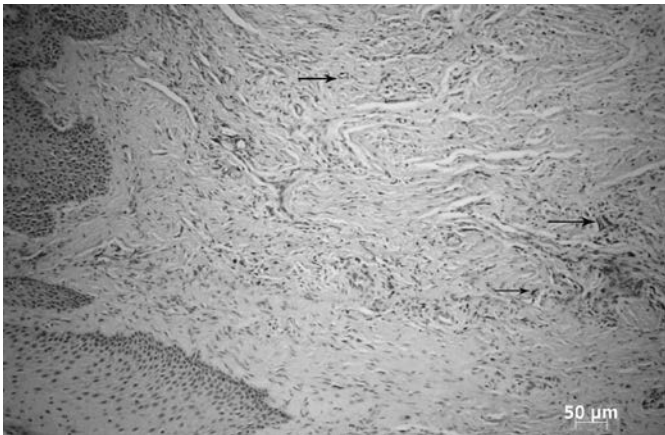


Рис. 9. Хронический генерализованный пародонтит легкой степени. Снижение количества эластических волокон в строме десны (указано стрелкой). Окраска резорцин-фуксином

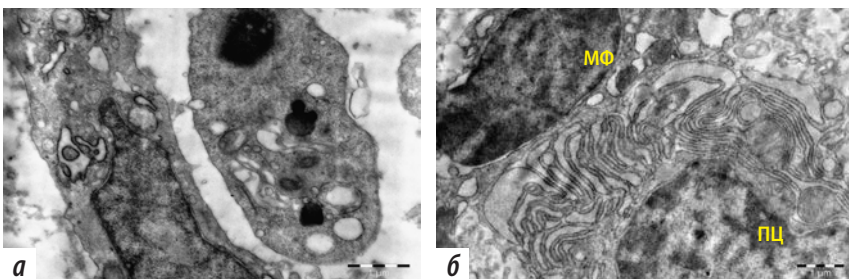


Рис. 10. Хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести: а — макрофагально-макрофагальные взаимодействия; б — плазмоцитарно-макрофагальные взаимодействия (ПЦ — плазмоцит, МФ — макрофаг). Электронограмма

вероятно, не компенсировало утраты межклеточного вещества (рис. 8).

Эластические волокна почти не определялись в ткани, что могло способствовать снижению эластических свойств и провоцировать образование пародонтальных карманов (рис. 9).

Среди клеток стромы выявлялись макрофаги, образующие межклеточные кооперации как друг с другом, так и с плазмочитами. В цитоплазме макрофагов содержались фагосомы, небольшое количество лизосом и везикул, плазмалемма была практически сглажена, что указывало на недостаточную фаго-секреторную функциональную активность. Плазматические клетки имели резко расширенные каналы гранулярного эндоплазматического ретикулама, что могло обуславливать усиление антигенности в ткани и хронизацию воспаления (рис. 10).

Так, при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести в слизистой оболочке десен появляется воспалительная инфильтрация макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами, плазмочитами. Происходит необратимое разрушение коллагеновых и эластических волокон, усиливается антигенность в ткани.

ВЫВОДЫ

1. Наличие пародонтопатогенных видов бактерий *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, выявленных в исследуемых биотопах полости рта качественным методом тест-системы ПЦР, может служить маркером прогнозирования развития воспалительных заболеваний пародонта в КИП, а при ХГКГ и ХГПЛСТ являться маркерами развития процесса деструкции тканей периодонта у лиц молодого возраста.
2. В собственной пластинке слизистой десен с КИП и ХГКГ коллагеновые и эластические волокна подвергались частичному разрушению соответственно в 22,7 и 39,5% случаев, при ХГПЛСТ в 50% случаев выявлено снижение эластических волокон и глубокие повреждение коллагеновых волокон периодонта.

Таким образом, вне зависимости от клинического состояния тканей пародонта у лиц молодого возраста, в различных биотопах полости рта выявлено наличие пародонтопатогенных видов бактерий, которые в процессе своей жизнедеятельности, выделяя протеазы, токсины и продукты метаболизма, инициируют развитие процессов хронического воспаления, что способствует разрушению межклеточного матрикса.

Л И Т Е Р А Т У Р А :

1. Булкина Н.В., Моргунова В.М. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита. — *Фундаментальные исследования*. — 2012; 2: 416—20.
2. Григорьянц А.А., Чухловин А.Б., Григорьянц А.П. Роль пародонтопатогенной микрофлоры полости рта и грибов рода *Aspergillus* в развитии редуциции альвеолярной части челюстей. — *Клиническая стоматология*. — 2015; 1 (73): 44—7.
3. Герасимова Л.П., Усманова И.Н. Аль-Кофиш М.А.М., Туйгунов М.М., Усманов И.Р. Анализ микробного состава биотопов полости рта у лиц молодого возраста в зависимости от стоматологического статуса. — *Пародонтология*. — 2017; 3 (84): 73—8.
4. Орехова Л.Ю. Заболевания пародонта. — М.: Поли Медиа Пресс, 2004. — 432 с.
5. Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Чеминава Н.Р., Тачалов В.В., Лобода Е.С. Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы). — *Пародонтология*. — 2014; 2 (71): 3—5.

6. Дмитриева Л.А. (ред.). Пародонтология: национальное руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 712 с.

7. Усманова И.Н. Стоматологический статус лиц молодого возраста. — *Фундаментальные исследования*. — 2013; 12: 546—9.

8. Усманова И.Н. Особенности микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды. — *Клиническая стоматология*. — 2011; 3: 94—96.

9. Усманова И.Н., Лебедева А.И., Герасимова Л.П. и др. Морфогенез ранних стадий воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды. — *Клиническая стоматология*. — 2011; 4: 94—6.

10. Ющук М.В., Балмасова И.П., Николаева Е.Н., Арутюнов С.Д., Царев В.Н. Взаимосвязь ассоциаций пародонтопатогенных бактерий и развития гингивита у студентов медицинского вуза при академическом стрессе. — *Клиническая стоматология*. — 2017; 2 (82): 18—24.

11. Tatakis D.N., Kumar P.S. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. — *Dent Clin North Am*. — 2005; 49 (3): 491—516.