



ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕФЕКТА ЧЕЛЮСТНОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЗУБОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ

М. В. Столяров*, **Л. А. Любовцева,**
А. В. Московский, Н. В. Кандейкина
ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И. Н. Ульянова» (г. Чебоксары, Россия)
**mctolarov@gmail.com*

Введение. Одной из важнейших проблем хирургической стоматологии является оптимизация процессов регенерации костной ткани. Высокая распространенность и трудности лечения деструктивных форм хронического периодонтита обуславливают актуальность поиска новых и усовершенствования существующих методов лечения. В статье описан процесс новообразования костной ткани в течение 1 года после зубосохраняющих операций с применением остеотропных материалов различного происхождения: аутогенного, аллогенного и ксеногенного.

Цель исследования – изучить клеточный состав послеоперационного дефекта челюсти для выбора оптимального остеопластического наполнителя для применения при зубосохраняющих операциях.

Материалы и методы. В рамках исследования было проведено 32 зубосохраняющие операции. Материал здоровой челюстной костной ткани был получен во время удаления зубов по ортодонтическим показателям. Исследование проводилось с помощью иммуногистохимических методов через 3, 7, 30, 90, 120, 150, 180 и 360 дней после операции.

Результаты исследования. В послеоперационном периоде происходит уменьшение числа CD68-позитивных клеток и количества клеток, экспрессирующих маркер пролиферации Ki-67.

Обсуждение и заключения. На ранних сроках исследования клеточные популяции в дефекте костной ткани находятся в состоянии активной пролиферации. Со временем интенсивность пролиферативной активности в группах исследования снижается.

Ключевые слова: зубосохраняющая операция, дефект костной ткани, остеотропный материал, иммуногистохимия, «Аллоплант», «Остеоматрикс»

Для цитирования: Иммуногистохимическое исследование дефекта челюстной костной ткани после проведения зубосохраняющих операций / М. В. Столяров [и др.] // Вестник Мордовского университета. 2016. Т. 26, № 4. С. 533–547. DOI: 10.15507/0236-2910.026.201604.533-547

Благодарности: Авторы выражают благодарность заведующему патологоанатомического отделения БУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздравсоцразвития Чувашской Республики Москвичеву Е. В. за помощь в окрашивании материала для исследования.

IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPLORATION OF JAW BONE TISSUE DEFECT AFTER TOOTH PROTECTING OPERATIONS

M. V. Stolyarov*, L. A. Lyubovtseva,
A. V. Moskovskiy, N. V. Kandeykina

Ulyanov Chuvash State University (Cheboksary, Russia)

*mctolarov@gmail.com

Introduction. The article deals with the process of new bone formation within one year after toothprotecting operations. Various bone-seeking materials of autogenic, allogenic and xenogeneic origin are used in the process. The authors studied the cellular composition of the jaw postoperative defect for selecting the optimal osteoplastic filler in toothprotecting operations.

Materials and Methods. 32 toothprotecting operations were carried out during the study period. The healthy jaw bone tissue was obtained during intake of teeth according to orthodontic indicators. The research was conducted using immunohistochemical methods in 3, 7, 30, 90, 120, 150, 180 and 360 days after operation.

Results. Reduction of the number of CD68-positive cells is marker of proliferation of Ki-67 in the postoperation period.

Discussion and Conclusions. The cell populations in the bone tissue defect are found in the state of active proliferation. The intensity of proliferative activity in groups of research decreases in the period after operation.

Keywords: toothprotecting operation, bone tissue defect, osteotropic material, immunohistochemistry, Alloplant, Osteomatrix

For citation: Stolyarov MV, Lyubovtseva LA, Moskovskiy AV, Kandeykina NV. Immunohistochemical exploration of jaw bone tissue defect after toothprotecting operations. *Vestnik Mordovskogo universiteta* = Mordovia University Bulletin. 2016; 4(26):533-547. DOI: 10.15507/0236-2910.026.201604.533-547

Acknowledgements: The authors express their gratitude to head of mortuaries of Chuvash Republic Clinical Oncologic Dispensary Ye. Moskvichev for help in the study.

Введение

Формирование хронического одонтогенного очага инфекции в организме часто приводит к удалению причинного зуба [1]. Существуют методики хирургических вмешательств, позволяющие сохранять зубы с воспалительно-деструктивными изменениями в периапикальных тканях, которые получили название *зубосохраняющих операций*. Однако во время оперативного вмешательства возникают дефекты костной ткани, которые могут привести к послеоперационным осложнениям. Одной из важнейших проблем хирургической стоматологии является оптимизация процессов регенерации костной ткани [2]. Высокая распространенность и трудности лечения деструктивных форм хронического

периодонтита обуславливают актуальность поиска новых и усовершенствования существующих методов лечения [3].

Для стимуляции остеогенеза большое значение имеют создание в костном дефекте депо из остеотропного материала и стабилизация в нем кровяного сгустка. Костеобразующие материалы тормозят активность остеокластов и, как следствие, уменьшают резорбцию костной ткани [4]. Также они ускоряют процессы новообразования и минерализации костной ткани [5].

Цель исследования – изучить клеточный состав послеоперационного дефекта челюсти для выбора оптимального остеопластического наполнителя для применения при зубосохраняющих операциях.



Материалы и методы

У 36 пациентов было проведено 32 гранулэктомии с резекцией верхушки корня (18 оперативных вмешательств – на верхней челюсти и 14 – на нижней). Во время оперативного вмешательства появлялся дефект ~ 180 мм³, который заполняли остеотропным материалом.

Все пациенты были разделены на 5 групп. 1 группа (8 пациентов) – контрольная; после проведения зубосохраняющей операции в ране организовывался кровяной сгусток. Во 2-й группе (8 пациентов) дефект костной ткани восполнялся аутогенной костной стружкой, полученной с помощью дрель-канюли из угла нижней челюсти во время операции; в 3-й (8 пациентов) – материалом «Аллоплант» (регистрационное удостоверение № 901 от 22.07.1987; производство ФГУ «Всероссийский Центр глазной и пластической хирургии Росздрава», г. Уфа), получаемым из трупной костной ткани человека; в 4-й (8 пациентов) – материалом «Остеоматрикс» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09830; производство ООО «Конектбиофарм», г. Москва). Источником данного биоматериала являются губчатые и кортикальные кости крупного рогатого скота, как правило, быков. В 5-й группе (4 пациента) проводилось исследование здоровой костной ткани. Материал был получен во время удаления ретинированных и дистопированных зубов по ортодонтическим показаниям.

Исследование материала проводилось на 3-й, 7-й, 30-й, 90-й, 120-й, 150-й, 180-й и 360-й день после операции. На 3-й и 7-й день слизистая оболочка на месте разреза еще не зажила и материал из раны получали с помощью кюретажной ложки. Начиная с 30-го дня проводили пункционную биопсию созревающей костной ткани с помощью иглы набора «Ostycut» («Vard», США).

Исследование срезов дефекта костной ткани проводилось с помощью иммуногистохимического метода.

Для выявления CD68⁺-клеток в послеоперационном дефекте костной ткани челюсти использовались иммуногистохимические автостейнеры «Autostainer 360» («Thermo Scientific») и микроскоп «Leica DM4000B» («Leica Microsystems») с увеличением 400; материалом для исследования послужили моноклональные антитела к кластеру дифференцировки 68 типа (CD68⁺), клон ED-1 («Abcam», Великобритания), – маркер макрофагов.

Для выявления клеток, экспрессирующих маркер Ki-67, были использованы моноклональные антитела к маркеру клеточной пролиферации Ki-67, клон MM-1 («NovoCastra», Великобритания) [6–7].

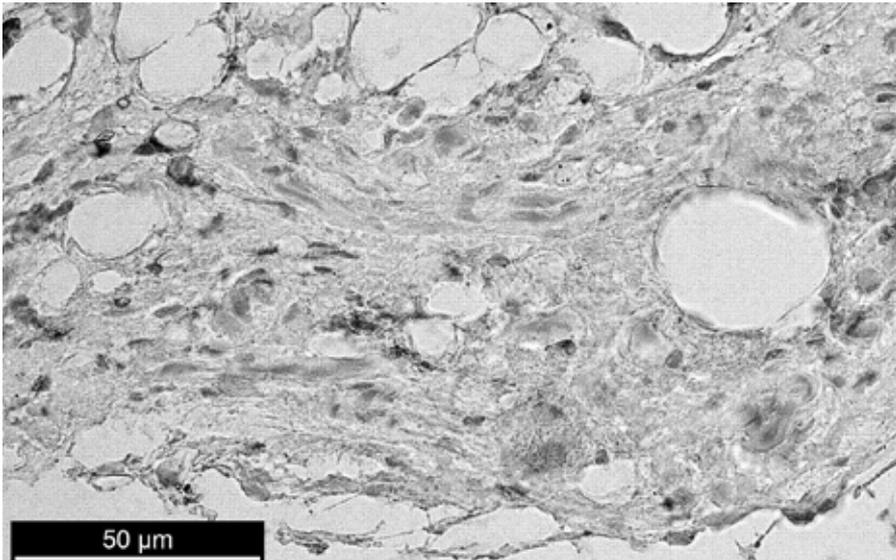
Для определения направленности и выраженности статистических изменений применялся T-критерий Вилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Научное исследование проводилось в соответствии со стандартами этического комитета ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И. Н. Ульянова» и пересмотренного варианта Хельсинкской декларации этических принципов (2008 г.).

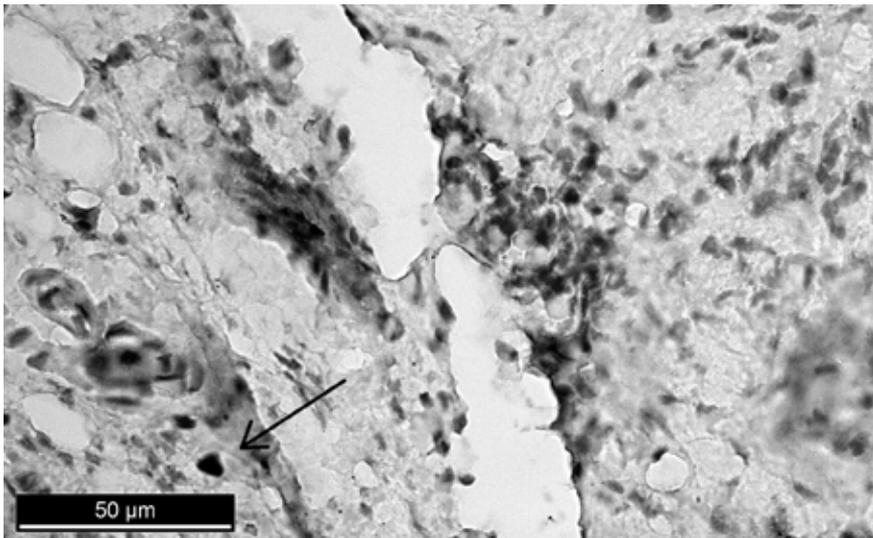
Результаты исследования

В здоровой костной ткани челюсти при иммуногистохимическом окрашивании на CD68⁺-клетки было обнаружено очень низкий уровень концентрации макрофагов – 1 клетка на 2–3 поля зрения (рис. 1).

С помощью маркера Ki-67 была определена выраженность процессов пролиферации в здоровой челюстной костной ткани (рис. 2) и в дефекте костной ткани с применением различных остеотропных материалов. Результаты иммуногистохимической реакции Ki-67 отличались в группах исследования на различных сроках. Полученные данные были подтверждены результатами вычисления митотического индекса. Известно, что чем выше данный показатель, тем интенсивнее протекает новообразование костной ткани.



Р и с. 1. Здоровая костная ткань челюсти. Иммуногистохимическая реакция к CD68⁺
F i g. 1. Healthy bone tissue of the jaw. Immunohistochemical reaction for CD68⁺



Р и с. 2. Здоровая костная ткань челюсти. Иммуногистохимическая реакция к Ki-67. Заметны единичные клетки, экспрессирующие белок Ki-67
F i g. 2. Healthy bone tissue of the jaw. Immunohistochemical reaction to Ki-67. Single cells expressing protein Ki-67 are visible



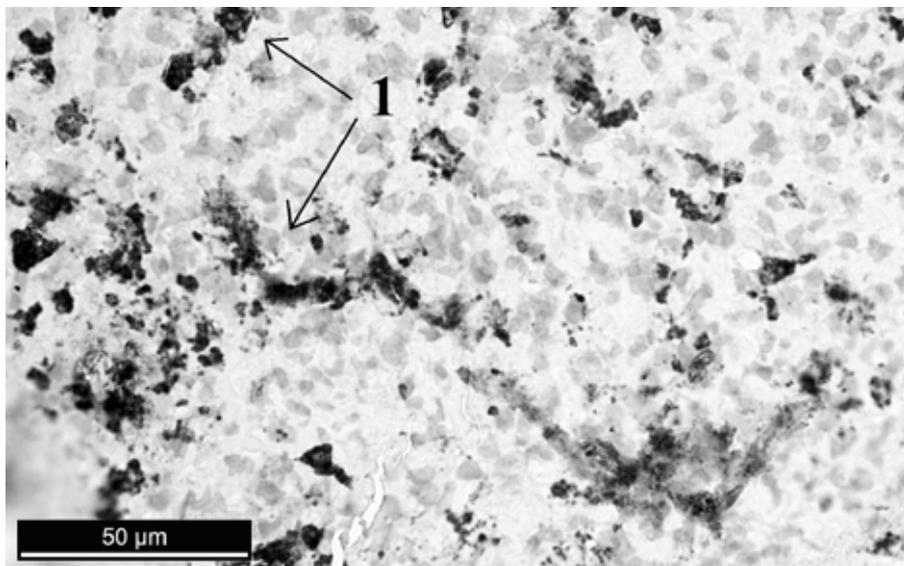
На ранних сроках исследования материала дефекта челюсти с организацией в ране кровяного сгустка было обнаружено большое количество CD68⁺-клеток – 11–12 макрофагов на 1 поле зрения (рис. 3; табл. 1), а также клеток, экспрессирующих белок Ki-67, ~ 70 % от общего количества (табл. 2). Морфологически они характеризуются овальной формой с разной степенью окраски ядер.

На 30-й день количество CD68⁺-клеток уменьшилось и составило в среднем 10 макрофагов на 1 поле зрения; количество клеток, экспрессирующих Ki-67, незначительно снизилось и составило 60,5 ± 2 % (рис. 9).

На 90-й день после операции количество CD68⁺-клеток составило ~7 клеток на 1 поле зрения (табл. 1); количество клеток, экспрессирующих Ki-67, – в среднем 47,1 ± 0,9 % (табл. 2).

На 120-й день количество CD68⁺-клеток составило 4–5 клеток на 1 поле зрения; количество клеток, экспрессирующих Ki-67, – 37 ± 1 % (Там же).

С 180-го дня количество CD68⁺-клеток стало схожим с количеством макрофагов в здоровой челюстной кости – не более 1 клетки на 2 поля зрения (табл. 1); также произошло снижение экспрессии белка Ki-67, и его значение приблизилось к аналогичному показателю в здоровой челюстной кости (табл. 2).



Р и с. 3. Иммуногистохимическая реакция к CD68⁺ (1). 7-й день после операции с организацией в ране кровяного сгустка

F i g. 3. Immunohistochemical reaction for CD68⁺ (1). 7th day after operation with the organization in the wound blood clot