

ХАНОВА ИРИНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ОЦЕНКА ИММУНОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ДЕСТРУКЦИИ
ЭНДОПЕРИОДОНТАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА**

3.1.7 – стоматология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова» Министерства науки и образования Российской Федерации

Научный руководитель:

Гилязева Виктория Викторовна, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Романенко Инесса Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», институт «Медицинская академия С.И. Георгиевского», кафедра стоматологии факультета подготовки медицинских кадров высшей квалификации и дополнительного медицинского образования, заведующая кафедрой

Адамчик Анатолий Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации г. Санкт-Петербург.

Защита состоится «25» марта 2022 года в 10.00 на заседании объединенного диссертационного совета 99.2.074.02 на базе ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России по адресу: 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10 и на сайте <http://vrngmu.ru/>.

Автореферат разослан «___» _____ 202_ года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Лещева Елена Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Актуальной проблемой современной стоматологии на сегодняшний день является эффективное оказание медицинской помощи пациентам с заболеваниями периапикальных тканей. Ученые и клиницисты обращают внимание на общемедицинскую и бытовую значимость рассматриваемой проблемы (Кукушкин В. Л. и соавт., 2014; Куратов И. А., Нагаева М. О., 2016; Шашмурина В. Р. и соавт., 2018).

Хронические поражения тканей периодонта, в том числе деструктивные, приводят к таким значимым последствиям, как боль, нарушение функции, формирование одонтогенных очагов инфекции, потеря зубов. Это, в свою очередь, становится причиной нарушения трудоспособности пациента, а следовательно, и уровня его жизни (Герасимова Л. П. и соавт., 2014; Тригонос Н. Н. и соавт., 2015; Шайымбетова А. Р., 2017; Шашмурина В. Р. и соавт., 2018).

Причиной половины обращений в стоматологические клиники пациентов в возрасте от 34 до 47 лет становится хроническая форма апикального периодонтита, у людей 50 лет и старше в 50% случаев он приводит к потере зуба (Кукушкин В. Л. и соавт., 2014; Куратов И. А., Нагаева М. О., 2016; Шашмурина В. Р. и соавт., 2018).

Очаговая одонтогенная инфекция как следствие длительного воспалительного процесса в тканях периодонта способствует осложнениям в челюстно-лицевой области воспалительного характера (Герасимова Л. П. и соавт., 2014; Тригонос Н. Н. и соавт., 2015; Шайымбетова А. Р., 2017; Шашмурина В. Р. и соавт., 2018), стремясь как минимум к 20% при хронизации процесса в апикальном периодонте (Akinyamolu A. O. et al., 2014; Yang Y. et al., 2013).

В научных трудах апикальный периодонтит описывается как воспалительный очаг околоворхушечных тканей травматической, инфекционной или медикаментозной этиологии в тесной связи с внешними и внутренними факторами, сопровождающийся последовательной периапикальной деструкцией (Тригонос Н. Н. и соавт., 2015).

Пусковым механизмом развития периапикальных изменений чаще всего служит выход инфицированного и токсического содержимого корневых каналов в ткани периодонта, и, как следствие, происходит возникновение клеточных, микроциркуляторных и иммунных реакций, приводящих к сенсibilизации организма и последующей деструкции костной ткани в очаге воспаления (Павлович О. А. и соавт., 2017).

Ряд авторов указывает на развитие общей сенсibilизации организма, формирование вторичных иммунодефицитных реакций, снижение местного иммунитета, что значительно влияет как на течение воспалительного процесса, так и на результативность проводимой терапии, а также на предсказуемость отдаленных результатов и возможности рецидивов (Голдобин Д. Д. и соавт., 2017; Yang Y. et al., 2013).

Несмотря на многочисленные исследования, проблема эффективной, точной диагностики и высокорезультативного лечения деструктивных форм хронического апикального периодонтита является по-прежнему актуальной. Это объясняется и широкой распространенностью заболевания, и частыми обострениями с прогрессированием патологического процесса, и развитием осложнений по типу классической иммунной реакции (Герасимова Л. П. и соавт., 2014; Курманалина М. А. и соавт., 2017; Шайымбетова А. Р., 2017). Результаты данного исследования предоставляют морфофункциональные данные экспрессии иммуногистохимических маркеров, что позволит сформировать компетентное представление о локальном иммунологическом статусе эндопериодонтального комплекса и будет способствовать совершенствованию врачебной тактики.

Степень разработанности темы исследования. В результате анализа научных изысканий по исследуемой тематике получены результаты о скудности сведений по использованию метода иммуногистологической диагностики при инициальном поражении структур эндопериодонтального комплекса.

В последние годы разработаны и внедрены в практику различные методы диагностики хронического апикального периодонтита. Однако уровень диагностических мероприятий и интерпретации результатов на основе

формирования детального представления о происходящих патологических процессах практикующими врачами остается невысоким. Недостаточно изучено влияние иммунологического статуса пациента, локального иммунологического ответа на течение и исход воспалительного процесса в тканях эндопериодонта. Вероятно, это связано с невысоким процентом исследований, имеющих доказательную базу, и сложностью их реализации.

Обоснованность решения вышеуказанных проблем в условиях современных реалий объясняет актуальность настоящей исследовательской работы для практического здравоохранения и дает начало накоплению пула данных о локальном иммунном реагировании пульпы, ее взаимоотношениях в комплексе тканей эндопериодонта и результатах этих взаимоотношений, опосредованного влияния на состояние заинтересованных перирадикулярных структур.

Цель исследования

Повышение эффективности обследования пациентов с воспалительной деструкцией эндопериодонтального комплекса посредством уточненной диагностической оценки иммуногистологических маркеров.

Задачи исследования

1. Изучить показатели иммуногистологических маркеров при хроническом воспалении структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы.
2. Установить связь иммуногистологических и клинических маркеров при хроническом воспалении структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы.
3. Описать клинико-морфологическую характеристику хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы.

4. Выявить иммуногистологические признаки развития хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы.

Научная новизна

1. Изучены показатели иммуногистологических маркеров при хроническом воспалении структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы - объективно показана картина поэтапного развития хронического воспаления эндопериодонтального комплекса на примере маркеров CD-31, CD-57, CD-68, CD-138, VEGF, коллаген IV типа, специфичных в отношении воспалительных процессов. Полученные данные являются дополнительным критерием уточненной диагностики при данной патологии.

2. Установлена связь иммуногистологических и клинических маркеров при хроническом воспалении структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы в динамике развития воспалительного процесса.

3. Описана клинико-морфологическая характеристика хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы с обоснованием их состояния при длительном течении воспалительного процесса.

4. Выявлены иммуногистологические признаки развития хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса, которые возможно применять в качестве иммуногистологического теста для дополнительной диагностики иммунных изменений выявленной патологии.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Заключается в определении иммунного реагирования пульпы на воспалительный процесс на основе морфологических данных, ее взаимоотношений в системе эндодонта, перирадикулярных и периапикальных тканей. Состоит в выявлении иммуногистологических признаков развития хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология исследования построена на структурном анализе данных литературы, включающем особенности клинического течения апикального периодонтита зубов, местном влиянии патологического очага, а также методах диагностики пациентов с периапикальными очагами. Был выработан и осуществлен алгоритм этапов выполнения диссертационной работы: определены объекты исследования и проведен комплекс современных и эффективных методов диагностики. Объектом исследования являлись пациенты, обратившиеся с целью планового эндодонтического лечения. Забор материала (экстирпация пульпы зуба из корневых каналов), который в дальнейшем использовался для иммуногистологического исследования, проводился строго по медицинским показаниям при стоматологических вмешательствах. Применяли стандартные и принятые в практическом здравоохранении основные и дополнительные методы исследования: сбор анамнеза, объективное обследование, в рамках которого изучался стоматологический статус (интенсивность кариеса зубов, пародонтальный статус), проводились лучевые методы диагностики, для уточненной визуализации использовали стоматологический операционный микроскоп Leica M 320. Статистический анализ осуществлен на персональном компьютере при использовании специальных программ на базе Excel 97.0 и Statistica for Windows 6.0 (программный продукт компании StatSoft, США).

Научные положения, выносимые на защиту

1. Кластеры дифференцировки CD-31, CD-57, CD-68, CD-138, а также VEGF и коллаген IV типа представляют иммуногистологическую маркерную характеристику хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса.
2. Характеристика иммуногистологических маркеров CD-31, CD-57, CD-68, CD-138, VEGF, коллаген IV типа при воспалении эндопериодонтального

комплекса с первичным поражением пульпы предоставляет данные о развитии, течении заболевания и его прогнозе.

3. Выявленные иммуногистологические признаки отражают реакцию иммунного реагирования эндопериодонтального комплекса на воспаление, в том числе с деструктивным компонентом и дают понимание взаимосвязи клинического и морфологического компонентов.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность результатов проведенной исследовательской работы обоснована применением достаточного объема актуальных методов исследований и методик доказательной медицины. Членами комиссии, занимающейся проверкой достоверности материалов первичной документации, было вынесено решение о том, что весь предоставленный материал исследовательской диссертационной работы получен лично автором и является достоверным.

Основные положения диссертационной работы обсуждены и доложены на научно-практических конференциях:

- «Актуальные вопросы клинической медицины», Региональная научно-практическая конференция к 65-летию БУ ЧР «Вторая городская больница» (г. Чебоксары, 2017);

- XXI Международный научно-исследовательский конкурс «Лучшая научная статья-2018», диплом I степени (г. Пенза, 2018);

- «Актуальные вопросы стоматологии детского возраста», 2-ая Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 90-летию со дня рождения профессора Сайфуллиной Халимы Мухлисовны (г. Казань, 2019);

- «Морфологические науки и клиническая медицина», Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РСФСР и ЧАССР, доктора медицинских наук, профессора Валентины Васильевны Амосовой (г. Чебоксары, 2019);

- XXI и XXII Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке» (г. Москва, 2019, 2020);

- Международная научно-практическая конференция «Медицинские науки: вопросы теории и практики», 1-е место в секции «Стоматология» (г. Пенза, 2020).

Работа апробирована на расширенном заседании кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, протокол № 8 от 7 апреля 2021 года.

Внедрение результатов исследования

Диссертационная работа выполнена по плану научных исследований ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», в лечебную деятельность АУ «Республиканская стоматологическая поликлиника» Минздрава Чувашии, стоматологических клиник «Президент» и «Мастер-Дантист» в г. Чебоксары.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 5 статей – в научных журналах и изданиях, включенных в перечень, рекомендованный Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций, 1 статья – в зарубежном издании.

Личный вклад автора в исследование

Автором принято непосредственное личное участие на каждом из этапов выполнения данной исследовательской работы. Автор принял личное непосредственное участие в проведении клинической и морфологической частей работы, анализа, интерпретации и научного обобщения полученных результатов,

а также в формулировке выводов и практических рекомендаций, статистической обработки результатов исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 144 страницах текста компьютерной верстки, иллюстрирована 61 рисунком, содержит 6 таблиц, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, глав с изложением материалов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиографический указатель включает 304 источника, из них 168 отечественных и 136 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

С целью повышения эффективности диагностических мероприятий при воспалительной деструкции эндопериодонтального комплекса было проведено иммуногистохимическое исследование образцов пульпы зуба, извлеченных при плановом стоматологическом вмешательстве. В научном исследовании используются следующие иммуногистохимические маркеры: CD-31, CD-57, CD-68, CD-138, VEGF, коллаген IV типа. Выбор этой группы ИГХ-маркеров для проведения настоящего исследования обусловлен их антигенной специфичностью в отношении процесса воспаления, в том числе с элементами деструкции. Интерес представляло выявление позитивных клеток, вовлекаемых в иммунный процесс при развитии воспаления, а также уровень их экспрессии. Дифференцирование иммунных клеток основывалось на использовании моноклональных антител. Было проведено обследование 90 пациентов (43 мужчин и 47 женщин в возрасте 18–59 лет), обратившихся в АУ «Республиканская стоматологическая поликлиника» Минздрава Чувашии с целью лечения в плановом порядке и поделенных на 3 группы после получения их информированного согласия: 1-я группа – интактная, включает пациентов, которым проводилась экстирпация пульпы зубов по протетическим показаниям, то есть при обращении пациентов данной группы на плановое эндодонтическое вмешательство для подготовки необходимых зубов к дальнейшему рациональному протезированию, и которые

не предъявляли жалоб на боли и дискомфорт в зубах, подлежащих исследованию (n = 30); 2-я группа – контрольная, включает пациентов, которым проводилась экстирпация пульпы зубов с выявленным хроническим пульпитом при их обращении с жалобами либо при выявлении данной патологии на плановом осмотре (K04.03) (n = 30); 3-я группа – сравнения, включает пациентов, которым проводили забор пульпарного биоптата с частично сохраненной пульпой многокорневых зубов с выявленным хроническим апикальным периодонтитом и наличием синус-тракта, обратившихся с впервые возникшими жалобами на данную патологию, ранее не имевших данной патологии исследуемых зубов, направленных от смежных специалистов либо с выявлением ее на плановом осмотре (K04.6) (n = 30). Исследовались лица молодого и среднего возраста от 18 до 59 лет, без сопутствующей фоновой соматической патологии, относящиеся к трудоспособному населению, которым необходимо сохранение режима трудовой деятельности. Градация пациентов по возрасту и включение групп (молодой и средний возраст) связаны с тем, что по классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) это трудоспособное население, нарушение здоровья которого нежелательно. Интерес представляли иммуногистологические маркеры воспалительной деструкции эндопериодонтального комплекса, оценка которых проводилась на основании морфологического исследования и морфометрического анализа состояния ткани пульпы зубов, экстирпированной из корневых каналов зубов клинических групп пациентов. Обследование пациента является одним из основных этапов диагностического процесса. Для своевременной и правильной постановки диагноза необходимо было придерживаться четкой последовательности клинического обследования.

Целью проведения обследования являлось выявление любых отклонений от нормы, постановка правильного диагноза с дальнейшим назначением адекватного лечения. Обследование проводили по стандартной методике, которая включала основные и дополнительные методы обследования – сбор анамнеза, объективное обследование (осмотр, перкуссия, зондирование, пальпация). Использовали методы оценки пародонтального статуса - индекс кровоточивости десны по

Мюллеману – Коуэллу и индекс РМА (папиллярно-маргинально-альвеолярный) в модификации Parma. В качестве дополнительных методов обследования применялась термодиагностика, электроодонтодиагностика и лучевые методы исследования: 2D-система визуализации, фистулография (лучевая диагностика с введенным контрастным веществом, чаще всего гуттаперчевым штифтом, в свищевой ход) при наличии открытого свищевого хода с целью определения точной локализации патологического очага, конусно-лучевая компьютерная томография (КЛКТ), или 3D-визуализация. В последующем морфологическом исследовании использовался биоптат (экстирпат) пульпы из корневых каналов зубов пациентов, из которого делались срезы с дальнейшим окрашиванием гистологическими красителями, в частности гематоксилином и эозином, для дальнейшей подготовки к иммуногистологическому исследованию (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Раскладка и окраска гематоксилин-эозином образцов пульпы

Иммуногистологическое исследование выполнялось в соответствии со стандартными протоколами. В качестве контроля на чувствительность и специфичность реагирования применялась неиммунизированная кроличья сыворотка (Рисунок 2).

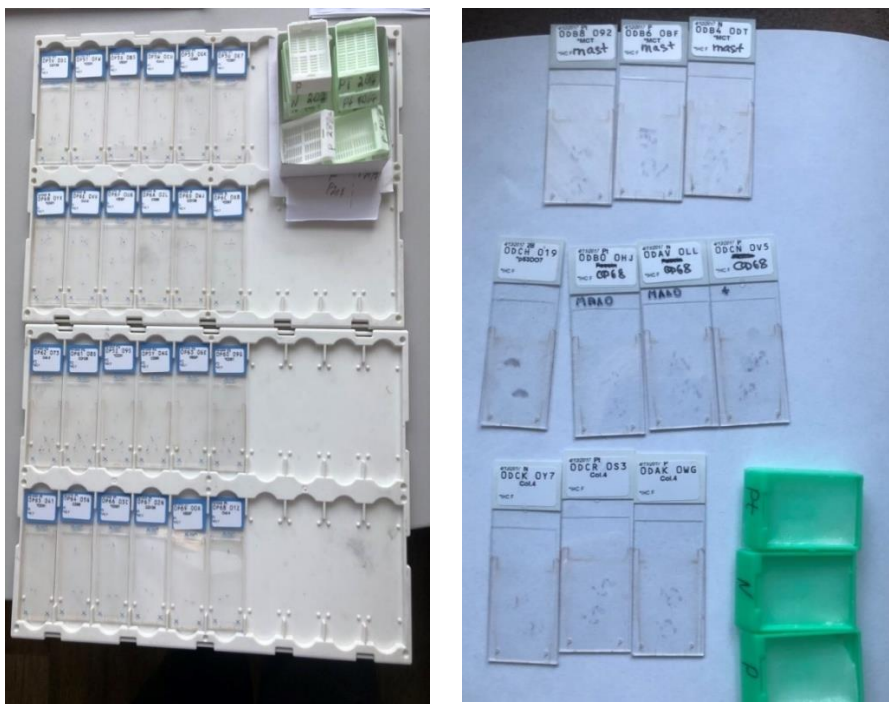


Рисунок 2 – Готовые парафиновые блоки и микропрепараты образцов пульпы с проведенным исследованием на маркеры

У всех пациентов из 3-й группы (группа сравнения) с диагнозом хронический гранулирующий периодонтит был выявлен свищевой ход (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Выявление и зондирование свищевой ход зуба 3.6

Проведение фистулографии осуществлялось для конкретизации локализации деструктивного очага воспаления в периодонте. Данный способ применяли при отказе пациента от проведения КЛКТ-исследования (Рисунок 4).

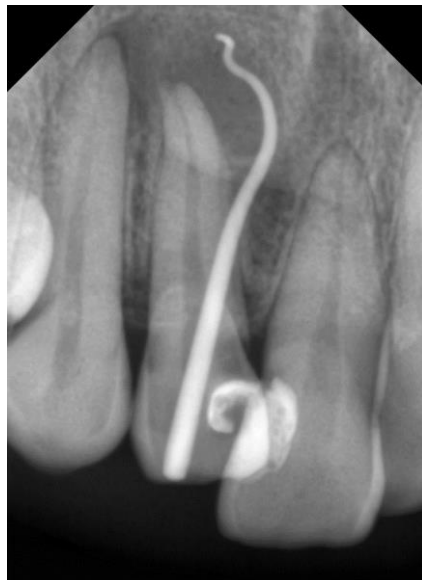


Рисунок 4 – Фистулография зуба 1.2 с помощью гуттаперчевого штифта

Цифровые изображения микропрепаратов пульпы получены с применением системы архивирования на базе микроскопа Leica DM4000B с использованием цветной фотокамеры Leica DFC 425 и лицензионной программы Leica Application Suite 3.6.0. Микрофотографии для проведения морфометрических измерений были получены при увеличениях $\times 200$ и $\times 400$ с обязательным обозначением градуировочной шкалы на каждом снимке (Рисунок 5).

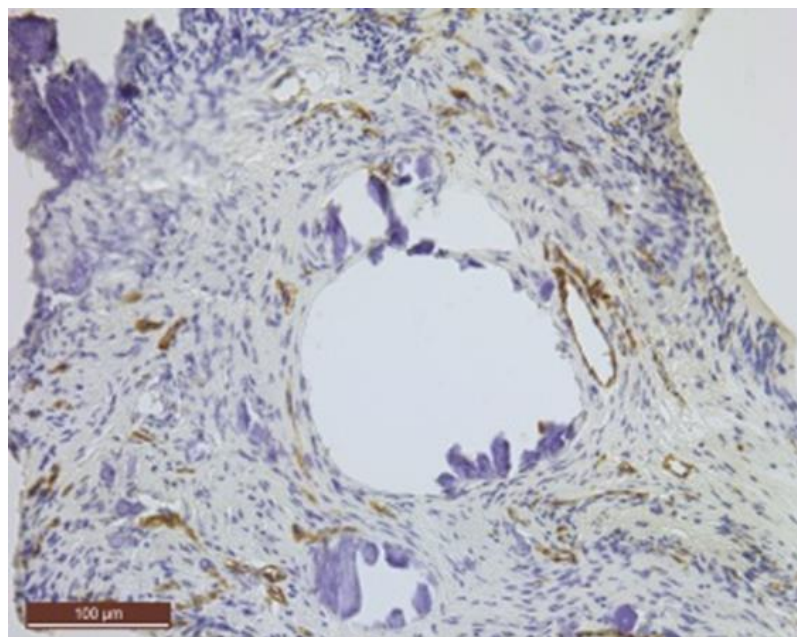


Рисунок 5 – Иммуногистохимический метод выявления маркера CD-31.

Пульпа зуба. Пульпит. Микроскоп Leica DM4000B. Увеличение $\times 400$

Линейные морфометрические измерения выполнены с использованием лицензионной программы Leica Application Suite 3.6.0. Количественные показатели интенсивности ядерной ИГХ-реакции получены подсчетом соотношения количества окрашенных ядер к количеству не подвергшихся окраске и переводением выясненных значений в процентное число. Морфометрические показатели интенсивной мембранной и цитоплазматической ИГХ-реакций в количественном соотношении выполнены с применением лицензионной программы «Микро-Анализ», а также демоверсии программы Sigma Scan Pro. Площадь покрытия ИГХ-реакции мембран и цитоплазмы оценивали методиками автоматического выявления и подсчитывания площади цветового спектра (окрашенного DAB), вызывающего исследовательский интерес, в соотношении к площади самого изображения с переводом в процентное число. Каждый срез измеряли не менее чем в трех полях зрения, учитывая малый размер самих образцов. При обнаружении незначительного числа клеточных единиц, дающих цитоплазматическую или мембранную окраску, применяли методику их подсчета в трех интересующих полях зрения с визуализацией при увеличении $\times 400$. Лабораторное исследование проводилось на базе АУ «Республиканский

клинический онкологический диспансер» МЗ ЧР г. Чебоксары под руководством заведующего патологоанатомическим отделением, доктора медицинских наук Москвичева Евгения Васильевича.

Статистическую обработку полученных данных проводили методиками параметрического и непараметрического анализов. Применяли классические показатели, используемые в описательной статистике: число наблюдений (n), среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (σ). Для описания выборки использовали также медиану (Me), 10 и 90 процентиля наблюдения – $Me\{10-90\}$. Статистическую значимость различий в исследовании определяли по критерию Стьюдента (t), малый объем выборки либо неправильное распределение требовали использования непараметрического критерия Манна – Уитни (p_{m-u}). Для оценки различий при применении качественных признаков использовали «критерий χ^2 » и «критерий Фишера» точной достоверности. Вероятную погрешность обозначали символом «р». Статистическая значимость различий между выборками принималась при показателях $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$. Необходимость корреляционного анализа определяли степенью зависимости между исследуемыми показателями и ее направленностью. Для качественного статистического анализа было необходимо применение коэффициента линейной корреляции по Пирсону (r), а при неправильном характере распределения или малом числе наблюдений вычисляли коэффициент непараметрической корреляции по Спирману (r_s). Статистическая значимость этих коэффициентов корреляции принималась как допустимая при $p \leq 0,05$. Согласно шкале Чеддока, связь менее 0,3 считали слабой, 0,3–0,7 – средней силы, более 0,7 – сильной.

Статистическую обработку полученных данных выполняли на персональном компьютере с использованием специализированных программ по статистике в средах Exel 97.0 и Statistica for Windows 6.0, являющихся программным продуктом компании StatSoft, США.

Заключение

В очаге воспаления при наличии хронического процесса отмечается усиление клеточной иммунной реакции, тесная взаимосвязь между воспалением и механизмом иммуногистологической защиты. Воспалительный процесс провоцирует характерную реакцию ткани пульпы на повреждение, далее происходит привлечение специальных клеток при проникновении патогенных факторов в эндодонт, ликвидация патогенов и поврежденных клеток, локализация очага от неповрежденной ткани для минимизации распространения инфекции и дальнейшее восстановление очага деструкции. Нарушение или блокировка любого из этих этапов неизбежно приведет к хронизации воспалительного процесса. Соответственно, логично говорить о том, что иммуногистологические механизмы играют ведущую роль в развитии воспаления. При этом иммуногистологическим критерием развития патологического процесса будет являться показатель четкой взаимосвязи между развитием воспаления в пульпе и изменением локализации NK-клеток, что подтверждает иммунный характер воспалительной реакции.

На основании полученных результатов можно утверждать, что на современном уровне развития морфологических исследований иммуногистологический раздел представляет собой исчерпывающий, логично выстроенный симбиоз морфологической диагностики и характеристики иммунозаинтересованных клеточных популяций и опосредованных ими патологических процессов. Использование результатов ИГХ-маркерной диагностики в стоматологии является перспективным в практической деятельности при лечении воспалительных процессов с первичным поражением пульпы. Для эффективной уточненной диагностики воспалительной деструкции эндопериодонтального комплекса на морфологическом уровне врач-стоматолог должен владеть представлениями об иммуногистологическом разделе этиопатогенеза и методах соответствующего обследования пациентов.

Выводы

1. При пульпите и периодонтите выявлено достоверное увеличение (в 2 раза, $p \leq 0,001$) количества CD-31+ клеток, что обуславливает выраженные сосудистые изменения – полнокровие, эктазию с количественным увеличением и уменьшением сосудов микроциркуляторного русла соответственно; достоверное повышение (в 2 раза, $p \leq 0,001$) содержания CD57+ клеток при пульпите, максимально выраженное увеличение (в 3 раза, $p \leq 0,001$) при периодонтите с изменением их нормального расположения и скоплением в зоне лимфоцитарных инфильтратов при периодонтите; достоверное увеличение содержания CD-68+ клеток при пульпите (в 5 раз, $p \leq 0,001$) с диффузным расположением среди фибробластов стромы, достоверное уменьшение CD-68+ клеток при периодонтите (в 5 раз, $p \leq 0,001$) с фиброзированием ткани пульпы; появление и значительное увеличение CD-138+ клеток при периодонтите (в 5 раз, $p \leq 0,001$), что обуславливает прогрессирование воспалительного процесса с акцентом на пролиферацию; достоверное повышение (в 3 раза, $p \leq 0,001$) содержания VEGF+ клеток при пульпите и снижение их количества (в 3 раза, $p \leq 0,001$) при периодонтите, что является ранним признаком фиброзирования и структурно-функциональной деградации сосудистого русла; значительное повышение (в 2 раза, $p \leq 0,001$) содержания коллагена IV типа при периодонтите, что является признаком усиления фиброзирования.

2. Установлена прямая сильная корреляционная связь ($r = +0,87$, $p \leq 0,05$) иммуногистологических и клинических маркеров при хроническом воспалении структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы: уровень экспрессии сочетается с характерными показателями индексов РМА и Мюллемана – Коуэлла клинически (1,1–1,3 и 25–28% соответственно).

3. При пульпите морфологически сосуды пульпы синусоидного типа, эктазированы, строма отечная ($p \leq 0,05$); дискретное расположение НК-клеток среди клеток стромы без формирований периваскулярных скоплений ($p \leq 0,05$); увеличение числа макрофагов, характерное диффузное расположение макрофагов среди фибробластов стромы ($p \leq 0,05$); периваскулярное расположение

плазматических клеток ($p \leq 0,05$); позитивная цитоплазматическая реакция клеток стромы к VEGF с их равномерным расположением в виде скоплений в количестве 5–10 ($p \leq 0,05$); размытие контура базальной мембраны сосудов и значительное утолщение их стенок, увеличение общего количества капилляров с существенным увеличением числа макрофагов ($p \leq 0,05$) при выраженной воспалительной инфильтрации. Для периодонтита характерно выраженное полнокровие и эктазия кровеносных сосудов, наличие CD-31-положительных клеток среди фибробластов стромы ($p \leq 0,05$); увеличение количества NK-клеток без периваскулярного расположения ($p \leq 0,05$); уменьшение числа макрофагов и общее снижение клеточных элементов пульпы и ее фиброзирование ($p \leq 0,05$); накопление плазматических клеток в строме ($p \leq 0,05$); снижение количества VEGF-позитивных клеток, уменьшение реакции клеток эндотелия сосудов ($p \leq 0,05$); увеличение фиброирования пульпы, снижение клеточного рисунка, уменьшение количества макрофагов, рост числа и выявление значительного утолщения стенок капилляров ($p \leq 0,05$). Выявлено общее уменьшение клеточной составляющей на фоне возникновения начальных очагов бесструктурного распада, что подтверждает наличие хронического воспалительного процесса.

4. Иммуногистологическими признаками развития хронического воспаления структур эндопериодонтального комплекса с первичным поражением пульпы являются показатели: плазматические клетки пульпы достигают максимального количества с появлением признаков деструкции эндопериодонта; эндотелиальные клетки микрососудов пульпы являются ранним предиктором микроциркуляторных нарушений с достижением максимального количества при пульпите и снижением (в 3 раза) при периодонтите; развитие воспалительного процесса в пульпе характеризуется значительным увеличением (в 2,5 раза) толщины стенок микроциркуляторного русла и дегенерации сосудистой организации (в 3 раза) при развитии признаков деструкции; увеличение числа макрофагов наблюдается при поражении пульпы, снижение до минимума – при вовлечении периодонта; увеличение количества NK-клеток пульпы регистрируется с нарастанием воспалительного процесса, достижение максимума

указывает на появление признаков деструкции; увеличение числа сосудов микроциркуляторного русла пульпы при нарастании воспалительного процесса указывает на компенсаторный механизм реакции сосудов на воспаление, последующее снижение – на возникновение деструктивных процессов и появление признаков фиброза.

Практические рекомендации

1. Полученная морфологическая иммуногистологическая оценка воспалительного процесса в пульпе будет полезна врачам-стоматологам в качестве теоретического пособия, что даст информацию об углубленном понимании характера, длительности и течения воспалительного процесса.

2. Необходимо осуществлять курацию пациентов с деструктивными изменениями в периапикальной области с обязательным соблюдением отдаленных сроков динамического наблюдения – 48 месяцев. Это срок, необходимый для составления исчерпывающего представления об успешности проведенного эндодонтического лечения с учетом последовательности развития доказанных иммунных клеточных реакций.

3. Опирайтесь при оценке развития и прогноза воспалительного процесса эндопериодонтального комплекса на выявленные иммуногистологические признаки.

4. Использовать результаты исследования для формирования представления об иммунологическом локальном ответе при воспалительном процессе эндопериодонтального комплекса пульпарного происхождения.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные результаты могут способствовать повышению уровня диагностики осложнений кариеса на ранних стадиях с формированием глубокого понимания развития патологических процессов на тонком гистологическом уровне во избежание превращения врачебных манипуляций исключительно в рутинную процедуру. Представляется целесообразным продолжить исследования

в данном направлении по следующим параметрам: изучить процесс воспаления эндопериодонта посредством анализа работы иной группы иммуногистохимических маркеров; провести исследование уже использованных в научном исследовании маркеров непосредственно в тканях периодонта.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Ханова, И. А. Повышение эффективности эндодонтического ведения больных в клинике терапевтической стоматологии / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Сборник статей XXII международного научно-исследовательского конкурса «Лучшая научная статья 2018» / МЦНС «Наука и просвещение». – Пенза, 2018. – С. 269–273.

2. Ханова, И. А. Сравнительная характеристика методов апексификации с применением стоматологического микроскопа / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Актуальные вопросы стоматологии детского возраста: материалы 2-ой Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Сайфуллиной Халимы Мухлисовны. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2019. – С. 194–198.

3. Ханова, И. А. Диагностические особенности эндопериодонтальных поражений / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Морфологические науки и клиническая медицина: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Чебоксары, 2019. – С. 211–213.

4. Ханова, И. А. Клинико-морфологический профиль пульпы при эндодонтических поражениях с признаками воспалительной деструкции / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2019. – Т. 21, № 4. – С. 17–20.

5. Ханова, И. А. Морфологическая характеристика воспалительного поражения структур эндодонтического комплекса / И. А. Ханова, В. В. Гилязева, Л. И. Никитина // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2019. – Т. 21, № 7. – С. 32–36.

6. Ханова, И. А. Характеристика CD-маркерной реакции при хроническом эндопериодонтальном воспалении / И. А. Ханова, В. В. Гилязева, Л. И. Никитина // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2019. – Т. 21, № 9. – С. 79–82.

7. Ханова, И. А. Морфофункциональное состояние тканей эндопериодонтального комплекса в условиях хронического воспаления / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Вестник «Биомедицина и Социология». – 2019. – Т. 4, № 4. – С. 79–82.

8. Ханова, И. А. Эндопериодонтальная клеточная реакция при воспалительно-деструктивном поражении / И. А. Ханова, В. В. Гилязева // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2020. – Т. 22, № 3. – С. 29–33.

9. Gilyazeva, V. V. Endoperiodontal immune response in a chronic lesion / V. V. Gilyazeva, I. A. Khanova, L. I. Nikitina // IAJPS 2020, 07 (02), 280–287.

10. Ханова, И. А. Вопросы диагностики деструктивных поражений эндопериодонтального комплекса / И. А. Ханова // Медицинские науки: вопросы теории и практики: сборник статей Международной научно-практической конференции / МЦНС «Наука и просвещение». – Пенза, 2020. – С. 25–28.