

Особенности морфологических изменений тканей пародонта у больных большой β -талассемией

ШАДЛИНСКАЯ Р. В.*, к.м.н., доцент
ГАСЫМОВ Э. К.***, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
РЗАЕВ Ф. Г.***, к.б.н., ст. научный сотрудник
*Кафедра стоматологии
**Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии
***Электронно-микроскопическая лаборатория НИЦ
Азербайджанский медицинский университет
(ректор – д.м.н., профессор ГЕРАЙБЕЙЛИ Г. Ч.)

Резюме

Актуальность темы исследования. Большая β -талассемия является наследственным заболеванием крови, функциональным проявлением которой является отсутствие синтеза β цепочки гемоглобина, приводящее к возникновению резкой гипохромной анемии в первые два года постнатального развития. Лечение заболевания являются повторные гемотрансфузии, которые приводят к накоплению избыточного железа в организме. Развитие гемосидероза способствует хронизации воспалительных процессов и клеточной модификации органов и тканей, в том числе в полости рта. Выраженное нарушение минерального обмена в организме больных β -талассемией препятствует полноценному функциональному участию в метаболических процессах в пародонте макро- и микроэлементов, необходимых для синтеза окончательной модификации коллагена. **Цель** – выявление особенностей морфологических изменений слизистой оболочки десны у больных большой β -талассемией с генерализованным гингивитом в стадии ремиссии для определения потенциальных точек приложения действия дополнительной корректирующей терапии. **Материалы и методы.** В исследование включены 12 пациентов с большой формой β -талассемии (средний возраст обследуемых составлял $15,0 \pm 0,1$ лет). Стоматологическое обследование осуществлялось в соответствии с рекомендациями ВОЗ, 1990. Из Аралдит-Эпоновых блоков биоптатов слизистой оболочки десны получены полу- (1-2 мкм) и ультратонкие (35-70 нм) срезы с помощью ультрамикротомы Leica EM UC7 (Германия). Полутонкие срезы окрашивались с помощью трихромного окрашивания по F. D'Amico (2005). Просмотр окрашенных и неокрашенных ультратонких срезов производился на электронном микроскопе JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 80-120 кв. **Результаты.** Модификация тканей пародонта в стадии ремиссии катарально-склерозирующего гингивита данных пациентов морфологически отличается выраженной дезорганизацией соединительной ткани с разрушением коллагенового каркаса и дефицитом наличия иммунокомпетентных клеток в его матриксе. Элементы плотной соединительной ткани распространяются с сосочковой части собственной пластинки десны, где обычно располагаются элементы рыхлой соединительной ткани. В составе соединительнотканых и в просвете сосудистых элементов (как кровеносных, так и лимфатических) собственной пластинки десны увеличение количества или скопление иммунокомпетентных клеток не обнаруживаются. **Выводы.** Воспалительные заболевания тканей пародонта у больных большой β -талассемией отличаются выраженной дезорганизацией соединительной ткани, что требует терапии, направленной на коррекцию минерального обмена, и активизации механизмов противоинфекционной и антиоксидантной защиты околозубных тканей.

Ключевые слова: β -талассемия, заболевания пародонта, собственная пластинка, хронический гингивит, коллагеновые волокна, электронная микроскопия.

Основные положения

1. При генерализованном гингивите в стадии ремиссии у больных большой β -талассемией имеются серьезные функциональные нарушения клеток соединительной ткани, в первую очередь фибробластов, синтезирующих коллаген.
2. При лечении воспалительных заболеваний пародонта при большой β -талассемии следует повышать функцию клеток соединительной ткани для обеспечения синтеза полноценного коллагена.

Features of morphological changes of peridont tissues in patients with β -thalassemia major

SHADLINSKAYA R. V.*, PhD, associate professor
QASIMOV E. K.**, DMS, professor, head of the department
RZAYEV F. Q.***, Ph.D.

*Department of Dentistry

**Department of Histology, Embryology and Cytology

***Electron-microscopic laboratory of SIC

Azerbaijan Medical University Ministry of Health of Azerbaijan Republic
(rector – Doctor of Medicine GARAYBAYLI G.Ch.)

Abstract

Relevance of the research topic. B-thalassemia major is a hereditary blood disease, the functional manifestation of which is the deficiency of synthesis of the β hemoglobin chain, leading to the occurrence of severe hypochromic anemia in the first two years of postnatal development. Treatment of the disease requires a lifelong transfusion, which leads to the iron overload disorder. The development of hemosiderosis contributes to the chronization of inflammatory processes and cellular modification of organs and tissues, including the oral cavity. Inevitable metabolic disorders that occur during β -thalassemia prevents the full functional participation of macro- and microelements in metabolic processes in the periodontium, which is necessary for collagen modification.

Purpose. The aim of the study is to identify the features of morphological changes in the gingival mucous membrane in patients with β -thalassemia major with generalized gingivitis in remission stage in order to determine potential points of application of additional corrective therapy. **Materials and methods.** The study included 12 patients with β -thalassemia major (the average age of the subjects was 15 ± 0.1 years). Dental examination was carried out in accordance with the recommendations of the WHO, 1990. Araldite-Epon blocks were formed according to the generally accepted method. The production of semi- (1-2 microns) and ultrathin (35-70 nm) sections were obtained using a Leica EM UC7 ultramicrotome (Germany). Semi-thin sections (1-2 μ m) were stained by trichrome staining according to F. D'Amico (2005). Viewing of stained and unstained ultrathin sections was performed on an JEM-1400 electron microscope (Japan) at an accelerating voltage of 80-120 kV. **Results.** Periodontal modification in the remission stage of catarrhal-sclerosing gingivitis in patients with β – thalassemia major is morphologically marked by disorganization of the connective tissue with destruction of the collagen structures and deficiency of the presence of immunocompetent cells in its matrix. Elements of dense connective tissue spread from the papillary part of the lamina propria, where elements of loose connective tissue are usually located. The accumulation of immunocompetent cells in the composition of the connective tissue and in the vascular elements's lumen (both blood and lymphatic) of the lamina propria is not detected. **Summary.** An inflammatory periodontal disease in patients with β -thalassemia major is characterized by marked disorganization of the connective tissue, which requires therapy aimed to develop a correction of mineral metabolism, antioxidant protection and activate the mechanisms of anti-infective protection of the periodontal tissues.

Key words: β -thalassemia, periodontal disease, lamina propria, chronic gingivitis, collagen fibers, electron microscopy.

Highlights

1. In generalized gingivitis at remission stage, patients with β -thalassemia major have serious functional disorders of connective tissue cells, primarily fibroblasts that synthesize collagen.
2. In the treatment of inflammatory periodontal diseases during β -thalassemia major, the function of connective tissue cells should be increased in order to provide the synthesis of complete collagen.

ВВЕДЕНИЕ

Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) остаются одной из недостаточно изученных проблем в современной стоматологии. Развиваясь как генерализованный воспалительный процесс в околозубных тканях, генерализованный гингивит, безусловно, этиологически связан с инфекционным фактором, но в отличие от обычного инфекционного воспаления сопровождается дегенеративными изменениями в тканях пародонта [1]. Изучение патогенетических аспектов ВЗП показало большое значение

трофических и метаболических нарушений в развитии и прогрессировании заболевания. Это объясняет нарастающую с возрастом заболеваемость ВЗП и почти тотальную ассоциированность этого поражения околозубных тканей с такими системными заболеваниями, как сахарный диабет, атеросклероз и связанная с ним сердечно-сосудистая патология [2-4].

β -талассемия, генетически обусловленная гемоглобинопатия, характеризуется тяжелыми многофакторными гомеостатическими сдвигами в организме: малокровием,

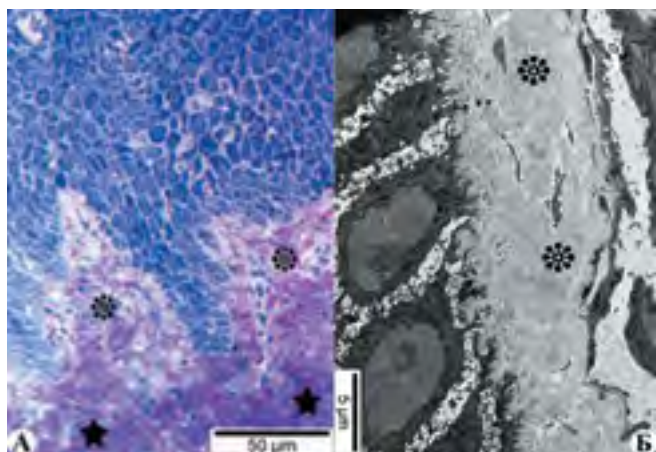


Рис. 1. Особенности светооптического (А) и ультраструктурного (Б) строения соединительнотканых элементов десны в стадии ремиссии хронического катарально-склерозирующего гингивита у больных с β -талассемией. Объяснение дано в тексте. А – полутонкие срезы, полихромное окрашивание (метиленовым синим, азур II-фуксином). Б – ультратонкий срез, электронограмма, окрашивание 2%-м уранилацетатом и 0,2%-м чистым цитратом свинца

требующим гемотрансфузионного восполнения; вторичным гемосидерозом органов и с их функциональной недостаточностью; множественными эндокринными дисфункциями; последствиями ятрогенных токсических влияний хелатирующей терапии и многими другими нарушениями.

В проведенных в последние годы исследованиях было установлено значительное превышение средней частоты ВЗП у больных β -талассемией в детском, подростковом и юношеском возрасте [5-7]. Перегрузка пародонта отложениями железа создает условия особой трофической поддержки бактериальной микрофлоры, что при установленных признаках локального иммунодефицита, безусловно, способствует расширению ее колонизации и прогрессированию микробного воспаления в околозубных тканях [8]. При ВЗП у больных β -талассемией грубые эндокринные дисфункции, особенно щитовидной и паращитовидных желез, характерные для этого заболевания, сопровождаются нарушением минерального обмена, препятствующим полноценному функциональному участию в метаболических процессах в тканях пародонта ионизированного кальция, фосфора, магния, меди, цинка и других макро- и микроэлементов, необходимых для синтеза окончательной модификации коллагена и ферментного обеспечения этого процесса [9].

В этом аспекте особо интересным является изучение структурной реорганизации слизистой оболочки десны на различных стадиях заболеваний пародонта у больных β -талассемией.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление особенностей морфологических изменений слизистой оболочки десны у больных большой β -талассемией с генерализованным гингивитом (ГП) в

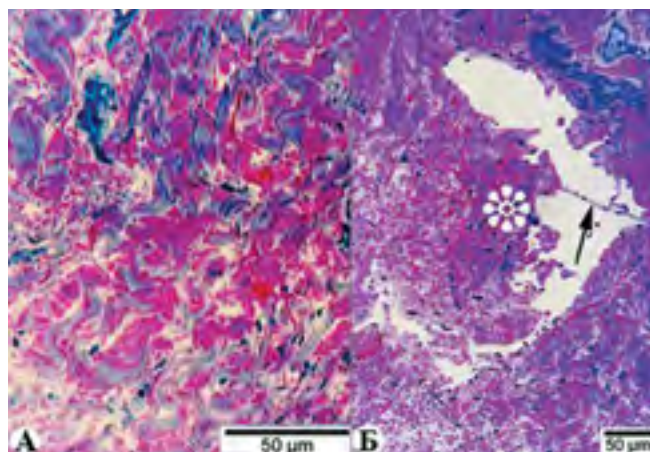


Рис. 2. Особенности строения соединительнотканых элементов десны в стадии ремиссии хронического катарально-склерозирующего гингивита у больных β -талассемией. Объяснение дано в тексте. А и Б – полутонкие срезы, полихромное окрашивание (метиленовым синим, азур II-фуксином)

стадии ремиссии для определения потенциальных точек приложения действия дополнительной корректирующей терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические и морфологические исследования были проведены на кафедре стоматологии и лаборатории кафедры гистологии Азербайджанского государственного медицинского университета. 12 пациентов с большой формой β -талассемии обоего пола в возрасте от 14 до 26 лет были сформированы в основную группу. Средний возраст обследуемых составлял $15,0 \pm 0,1$ лет. Стоматологическое обследование осуществлялось в соответствии с рекомендациями ВОЗ, 1990. Для объективной оценки состояния тканей пародонта использовались следующие клинические тесты: упрощенный индекс гигиены Грина – Вермилльона OHI-S (Green J. C., Vermillion J. R., 1960); папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (PMA) (Parma C., 1960); индекс кровоточивости (ИК) (Muhlemann H. R., Cowell I., 1975). У 4 пациентов были взяты фрагменты тканей десны размером 2 мм³ во время плановых удалений зубов, не подлежащих консервативному лечению или во время снятия зубных отложений под инфильтрационной анестезией. Биоптаты были получены после информирования о безопасности процедуры и получения согласия пациентов и их родителей. Материал фиксировался иммерсией в течение 15 минут смесью 2,5% раствора глутаральдегида, 2,5% раствора параформальдегида и 0,1% раствора пикриновой кислоты на фосфатном буфере (pH=7,4). Затем биоптаты на ночь помещали в свежую порцию фиксатора. Последующая постфиксация проводилась в 1% растворе четырехоксида осмия и в 1,5% растворе феррицианида калия на 0,1М фосфатном буфере (pH = 7,4) в течение 2 часов. После процедуры обезвоживания были приготовлены Аралдит-Эпоновые блоки, полу- и ультратонкие срезы которых были получены с помощью ультрамикротом Leica EM UC7 (Германия). Полутонкие срезы (1-2 мкм)

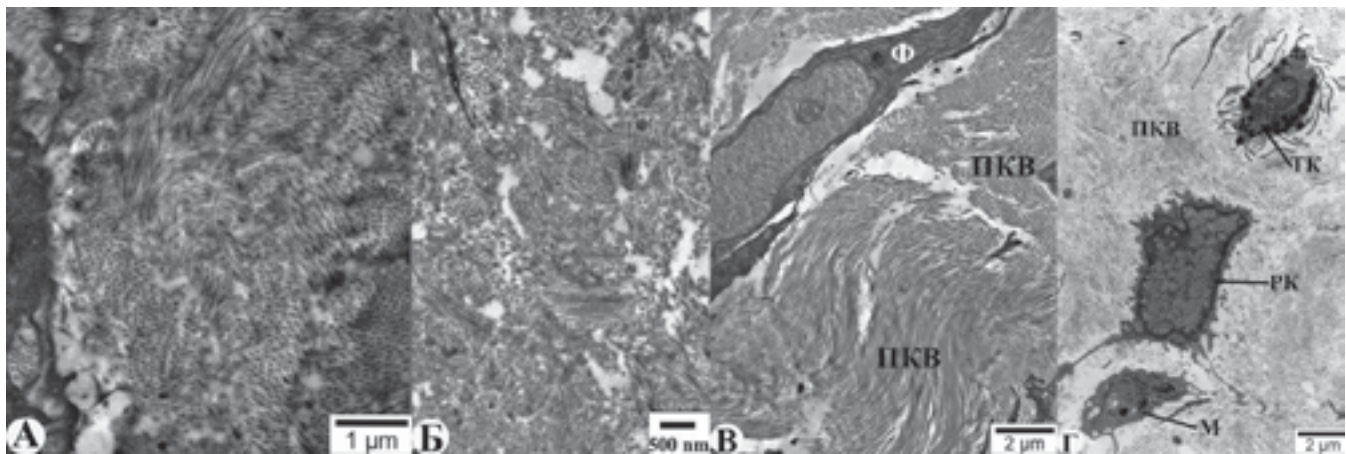


Рис. 3. Ультраструктурные особенности строения соединительнотканых элементов десны в стадии ремиссии хронического катарально-склерозирующего гингивита у больных с β -талассемией. Объяснение дано в тексте. А-Г – ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2%-м уранилацетатом и 0,2%-м чистым цитратом свинца. М – макрофаг; ПКВ – пучки коллагеновых волокон; РК – ретикулярная клетка; ТК – тучная клетка

окрашивались с помощью трихромного окрашивания (метиленовым синим, азур II и фуксином) и изучались под световым микроскопом Primo Star (Zeiss, Германия). Изображения были сфотографированы цифровой фотокамерой Canon (Япония). Ультратонкие срезы (50-70 нм) окрашивались 2% насыщенным водным раствором уранилацетата, затем 0,2% раствором чистого цитрата свинца (Serva) на 0,1М растворе NaOH. Просмотр и фотографирование окрашенных и неокрашенных ультратонких срезов производилось на электронном микроскопе JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 80-120 кв.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение гигиенических индексов и индексов воспаления показало выраженность воспалительного процесса в околозубных тканях и неудовлетворительное состояние гигиены полости рта (табл. 1).

В структуре заболеваний пародонта доминировал хронический генерализованный катаральный гингивит. У пациентов наблюдалась гиперемия десны, кровоточивость при зондировании, наддесневые и поддесневые зубные отложения, цианотичный цвет слизистой оболочки. Всем пациентам применяли общепринятую схему лечения, что включало механическое и аппаратное устранение

мягких и твердых зубных отложений, аппликации традиционного антисептического средства. Стоматологическое обследование было проведено в динамике: до лечения, через две недели и три месяца. Через три месяца после лечебно-профилактических мероприятий при определении значений индекса РМА и индекса кровоточивости десны наблюдалась положительная динамика. Изучение гигиенических индексов показало относительно удовлетворительное состояние гигиены полости рта. Однако результаты, полученные при гистологическом исследовании тканей пародонта, выявили специфические особенности ВЗП при β -талассемии. Полученные нами данные показывают, что ультраструктурные перестройки структурных элементов десны соответствовали форме катарально-склерозирующего гингивита в стадии ремиссии [10]. Обычно склеротические соединительнотканые структуры характеризуется наличием плотно расположенных и разнонаправленных пучков коллагеновых волокон. У больных β -талассемией признаки склероза обнаруживаются как в сосочковом слое (в рис. 1А и 1Б показаны с цветками), обычно состоящем из рыхлой соединительной ткани, так и в сетчатом слое собственной пластинки слизистой оболочки десны (в рис. 1А показано со звездочками). Плотность вышеописанных структур, наряду с увеличением количества коллагеновых волокон, связана также и с пропитыванием их гранулярными осадками белковой части плазмы крови, что указывает на увеличение проницаемости кровеносных сосудов десны у больных β -талассемией.

Выраженное диффузное фиброзирование, характеризующееся наличием плотно расположенных и имеющих извилистый ход пучков коллагеновых волокон различного диаметра, обнаруживается во всех частях сетчатого слоя

Таблица 1. Результаты клинического обследования тканей пародонта больных с β -талассемией в динамике

Индексы	Группы	До лечения	Через 2 недели	Через 3 месяца
Индекс гигиены ОН-С	Сравнительная группа (n $\pm$ 12)	3,49 $\pm$ 0,24	0,92 $\pm$ 0,07*	1,21 $\pm$ 0,07*
Индекс РМА, %	Сравнительная группа (n $\pm$ 12)	34,6 $\pm$ 2,5	14,1 $\pm$ 0,9*	20,90 $\pm$ 0,9*
Индекс кровоточивости	Сравнительная группа (n $\pm$ 12)	2,55 $\pm$ 0,10	0,60 $\pm$ 0,05*	0,93 $\pm$ 0,09*

*статистически достоверно со значениями (p < 0,001)

собственной пластинки слизистой оболочки десны (рис. 2А). Наряду с этим наблюдаются участки собственной пластинки слизистой оболочки десны, где в составе отдельных пучков обнаруживаются разнонаправленные коллагеновые волокна, особенно в центральном участке правой части (рис. 2Б – показаны звездочкой), придающие им хаотичную форму.

Ориентация отдельных коллагеновых волокон более четко видна на электронограммах (рис. 3А и 3Б), где наряду с разнонаправленностью обнаруживаются и не имеющие поперечной исчерченности коллагеновые фибриллы. Разнонаправленность фибриллярных структур имеется и в составе пучков коллагеновых волокон, которые имеют характерную для них поперечную исчерченность (рис. 3В). Внутри и между пучками коллагеновых волокон собственной пластинки десны подавляющее большинство клеточных элементов представлено широкими ядродержащими частями и тонкими периферическими отростками фиброцитов, характеризующихся незначительной синтетической активностью (рис. 3В). Среди других клеточных элементов соединительной ткани обнаруживаются отдельные тучные клетки, макрофаги и даже ретикулярные клетки (рис. 3Г).

Следует особо подчеркнуть, что на стадии ремиссии катарально-склерозирующего гингивита у пациентов с β -талассемией в составе соединительнотканых и в просвете сосудистых элементов (как кровеносных, так и лимфатических) собственной пластинки десны увеличение количества или скопление иммунокомпетентных клеток не обнаруживаются (рис. 1Б и 2Б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе лечебно-профилактических мероприятий через три месяца после завершения комплексной терапии показатели индекса гигиены, величины РМА, клинико-функционального индекса кровоточивости были улучшены. Это объясняется дисциплиной выполнения гигиенических правил самими обученными стоматологом и мотивированными пациентами, а также регулярностью обеспечения

профессиональной гигиеной на стоматологическом приеме. Однако гистологическое исследование позволило установить признаки серьезных функциональных нарушений клеток соединительной ткани, в первую очередь фибробластов, синтезирующих коллаген. Следует учитывать, что воспалительно-дегенеративный процесс в тканях пародонта при β -талассемии протекает в условиях жесточайшего окислительного стресса, индуцированного хронической анемией и гемосидерозом [11, 12]. Окисление белков свободными радикалами приводит к ускоренной деградации белковой структуры коллагена, разрушает «сшивки» коллагеновых волокон, что влечет структурную дезорганизацию соединительной ткани с разрушением ее каркаса. Исходя из полученных данных, очевидно, что для повышения эффективности профилактики и лечения ВЗП при большой β -талассемии следует терапевтически создавать условия коррекции и оптимизации функций клеток соединительной ткани для обеспечения синтеза полноценного коллагена, а также стимулировать противомикробную резистентность пародонта. Это возможно путем восполнения дефицитов необходимых макро- и микроэлементов, а также дополнения лечебных мероприятий назначением антиоксидантов и средств, мобилизующих местную противомикробную защиту.

ВЫВОДЫ

1. Воспалительно-дегенеративная модификация тканей пародонта при ВЗП у больных большой β -талассемией гистологически отличается выраженной дезорганизацией соединительной ткани с разрушением коллагенового каркаса и дефицитом наличия иммунокомпетентных клеток в его матриксе.
2. С целью предупреждения и преодоления тканевой модификации пародонта больные большой β -талассемией с ВЗП нуждаются в дополнительной терапии, направленной на коррекцию минерального обмена, антиоксидантную защиту и активизацию механизмов противомикробной защиты околозубных тканей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Орехова Л. Ю., Горбачева И. А., Мусаева Р. С., Шестакова Л. А., Михайлова О. В. Цитопротективный подход к решению проблемы лечения воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. 2009. №1 (50). С. 23-29.
2. Орехова Л. Ю., Горбачева И. А., Мусаева Р. С., Шестакова Л. А., Михайлова О. В. Цитопротективный подход к решению проблемы лечения воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. 2009. №1 (50). С. 23-29.
3. Горбачева И. А., Шестакова Л. А. Патогенетическая коморбидность заболеваний внутренних органов и полости рта // Пародонтология. 2008. №3. С. 3-5.
4. Горбачева И. А., Шестакова Л. А. Патогенетическая коморбидность заболеваний внутренних органов и полости рта // Пародонтология. 2008. №3. С. 3-5.
5. Кильмухаметова Ю. Х., Батиг В. М., Абрамчук И. И. Заболевания пародонта на фоне соматических патологий // Молодой ученый. 2017. №26. С. 57-62.
6. Кильмухаметова Ю. Х., Батиг В. М., Абрамчук И. И. Заболевания пародонта на фоне соматических патологий // Молодой ученый. 2017. №26. С. 57-62.
7. Ghali R. F. The Potential Link Between Periodontitis and Systemic Diseases – an Overview // J. of Advanced Med. Research (serial online). 2011. P. 24-35.

5. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response // Annual review of nutrition. 2010. №30. P. 105-122. – doi:10.1146/annurev.nutr.012809.104804.
6. Шадлинская Р. В. Стоматологический статус при гомеостатических нарушениях, формирующихся у больных β -талассемией на фоне лечения // Стоматология детского возраста и профилактика. 2016. №4 (59). С. 39-42.
7. Shadlinskaja R. V. Stomatologicheskij status pri gomeostaticheskix narushenijah, formirujushhixsja u bolnyh β -talassemiej na fone lechenija // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2016. №4 (59). S. 39-42.
7. Al-Raheem J. A., Hussein M. A., RaadSalih Al-Ani, Al-Rubayee M. A. H. The impact of thalassemia major on dental integrity and development // M.D.J. 2009. Vol. 6. №4. P. 394-401.

• Полный список литературы находится в редакции.

Поступила 08.11.2018

Координаты для связи с авторами:

Nizami street 63, 50

Az1005 Baku Azerbaijan

E-mail: Ramidas@mail.ru