

## РОЛЬ Bcl-2, Ki-67 и АПОПТОЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ДЕСНЫ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКОГО КАТАРАЛЬНОГО ГИНГИВИТА

**Осинова Ю.Л.**

*Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, кафедра терапевтической стоматологии, г. Саратов*

В настоящее время важнейшее значение в прогрессировании нарушений клеточного гомеостаза эпителиоцитов слизистой оболочки десны при воспалительных заболеваниях пародонта принадлежит маркеру пролиферации Ki-67, антиапоптозной молекуле Bcl-2 и апоптозу [3,4,5,6]. Однако характер и степень изменений этих показателей в развитии и прогрессировании воспалительных заболеваний пародонта не достаточно изучены [1,2]. В свою очередь, исследование показателей маркеров клеточного обновления десны могут использоваться в диагностике и прогнозе заболеваний пародонта, что позволит оптимизировать тактику ведения данного контингента больных.

Цель исследования - определить значение показателей клеточного обновления эпителиоцитов слизистой оболочки десны в оценке развития хронического катарального гингивита.

Материалы и методы. Контингент обследованных составил - 60 человек с хроническим катаральным гингивитом различной степени тяжести, контрольную группу составили 30 – практически здоровых лиц. Больные и здоровые обследованы в динамике по единой программе, включающей клинический осмотр, определение гигиенического индекса, папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса; пародонтального индекса, оценка ортопантограмм. Морфологические исследования проводили на биопсийном материале из слизистой оболочки десны. Биопсийный материал фиксировался в 10% забуферном нейтральном формалине, по Лили, в течении 24 часов с последующей промывкой в проточной воде в течение суток. После фиксации материал обезвоживался и заливался в парафин. Для обзорного гистологического изучения депарафинированные серийные срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Парафиновые срезы толщиной 4-6 мкм помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma). Для выявления апоптозных ядер исследуемый материал импрегнировали по Мозеру (1995). Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных мышинных антител к маркеру пролиферирующих клеток - Ki-67 (1:100, Novocastra) и к антиапоптозному белку Bcl-2 (1:100, Novocastra). В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий биотинилированные анти-мышинные иммуноглобулины. Визуализацию окрасок проводили с применением комплекса авидина с биотинилированной пероксидазой (ABC-kit), с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (все реагенты от Novocastra). Морфологические изображения, поступающие через оптическую систему микроскопа Nikon Eclipse 400 (увеличение 320: объектив 40, окуляр 10, фильтр 0,8) регистрировались цифровой видеокамерой Nikon DXM 1200, вмонтированной в тубус микроскопа и передавались в компьютер Pentium-4. Количество Ki-67 и Bcl-2 –иммунопозитивных ядер клеток подсчитывалось в 10 рандомизированных полях зрения. При указанном увеличении цифровые данные пересчитывались на  $1\text{мм}^2$  с помощью пакета прикладных морфометрических программ «Видеотест-Морфология 4.0». Гибель клеток в форме апоптоза определяли по индексу апоптоза ( $I_{\text{апт}}$ ) по формуле:  $I_{\text{апт}}(\%) = N$  (число апоптозных ядер, окрашенных по методу Мозера)/N(общее число ядер)  $\times 100$ .

Результаты. В результате проведенного иммуно-гистохимического исследования установлено, что при интактном пародонте эпителиоциты десны проявляют низкий потенциал пролиферативной и антиапоптозной активности. При этом – значения маркера пролиферации  $N_{\text{Ki-67}}$  составляет  $1,3 \pm 0,25$ , а антиапоптозного белка  $N_{\text{Bcl-2}} - 1,1 \pm 0,6$ . Индекс апоптоза эпителиоцитов составляет  $I_{\text{апт}} - 0,34 \pm 0,02$ . При хроническом катаральном гингивите легкой и средней степени тяжести исследуемые показатели не имели достоверных отличий от значений интактного пародонта. При хроническом катаральном гингивите тяжелой степени тяжести выявлено увеличение пролиферативной активности эпителиоцитов десны ( $N_{\text{Ki-67}} 2,4 \pm 0,25$ ;  $N_{\text{Bcl-2}} 1,9 \pm 0,6$  и относительно низкое возрастание  $I_{\text{апт}} 0,40 \pm 0,02$ ).

Выводы. С нарастанием тяжести воспалительного процесса в пародонте обнаруживается снижение цитопротективных свойств и регенеративной функции десны, обусловленное увеличением активности апоптоза при снижении пролиферативной активности эпителиоцитов. Таким образом, создаются условия для дальнейшего прогрессирования воспалительно-дистрофических процессов в пародонте. Определение маркеров клеточного обновления эпителиоцитов десны позволит оптимизировать диагностику различных степеней тяжести хронического катарального гингивита.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бехало В.А., Сысолятина Е.В., Нагурская Е.В. Регуляция врожденного иммунного ответа в очаге хронического воспаления. // Иммунология. - 2009. - №3. - С.184-189.
2. Михалева Л.М., Шаповалов В.Д., Бархина Т.Г. Хронический пародонтит. Клиническая морфология и иммунология. – М. Триада-фарм. 2004. – 126 с.
3. Dong F. Degradation of the proapoptotic proteins Bik, Puma, and Bim with Bcl-2 domain 3 homology in Chlamydia trachomatis-infected cells. // Infect. and Immun. – 2005. – Vol. 73. – P. 1861-1864.

4. *Eskes R., Desagher S., Antonsson B. et al.* Bid induces the oligomerisation and insertion of Bax into the outer mitochondrial membrane.// *Mol. Cell. Biol.* – 2000. – Vol. 20. – P.929-935.
5. *Green D. R., Reed J. C.* Mitochondria and apoptosis.// *Science.* – 1998. – Vol. 282. – P. 1309-1312.
6. *Karin M., Cao Y., Greten F., et al.* NF $\kappa$ B in cancer: from innocent bystander to major culprit.//*Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – Vol. 2. – P. 301-310.
7. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. Т. 11. № 4.
8. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2008. Т. 10. № 4.
9. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2007. Т. 9. № 4.
10. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2006. Т. 8. № 4.
11. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2005. Т. 7. № 4.
12. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2004. Т. 6. № 4.
13. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2003. Т. 5. № 4.
14. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2002. Т. 4. № 1.
15. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2001. Т. 3. № 1.
16. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2000. Т. 2. № 1.
17. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. Т. 11. № 12.
18. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2008. Т. 10. № 12.
19. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2007. Т. 9. № 12.
20. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2006. Т. 8. № 12.
21. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2005. Т. 7. № 12.
22. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2004. Т. 6. № 12.
23. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2003. Т. 5. № 12.
24. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2002. Т. 4. № 1.
25. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2001. Т. 3. № 1.
26. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2000. Т. 2. № 1.