

УДК 611.314.013.395:616.314.003.725
ББК 56.6973

А.В. МОСКОВСКИЙ, Ю.Н. УРУКОВ, В.Н. ВИКТОРОВ, О.И. МОСКОВСКАЯ,
А.П. ПЕТРОВ, Т.В. СЕМИЛЕТОВА, С.В. ГОЛУБЕВА

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНОГО СТАТУСА ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ ВОСПАЛЕНИИ ПУЛЬПЫ ЗУБА

Ключевые слова: кариес, пульпит, пародонтит, тучные клетки, пульпа зуба.

Целью настоящей работы явилось изучение биоаминсодержащих структур пульпы зуба взрослого человека в норме, при кариесе и его осложнениях в сочетании с пародонтитом. Гистохимические методы применялись для контроля состояния и выявления зрелого гепарина в тканях и тучных клетках. При кариесе и остром пульпите возрастает число тучных клеток, среди них преобладают β -метахроматичные дегранулирующие формы, «реализующие свою программу». Они имеют сафранинофильную цитоплазму и альцианофильное ядро. При хроническом пульпите нами выявлено сокращение общей численности тучных клеток. Среди них преобладают «заканчивающие программу» и «абортивно гибнущие» формы клеток. Тучные клетки проявляют альцианофилию гранул, часто выглядят опустошёнными, дают слабую реакцию на липиды и отличаются тусклым свечением под люминесцентным микроскопом. Наличие данных форм тучных клеток при хронизации воспаления свидетельствует о «старении» популяции тучных клеток, что вносит определённый вклад в истощение нейромедиаторной системы пульпы зуба.

A. MOSCOVSKIY, Yu. URUKOV, V. VIKTOROV, O. MOSCOVSKAYA,
A. PETROV, T. SEMILETOVA, S. GOLUBEVA

STUDYING NEUROTRANSMITTER STATUS OF MAST CELLS IN TOOTH PULP INFLAMMATION

Key words: caries, pulpitis, periodontitis, mast cells, dental pulp.

The aim of this work was to study bioamine-containing structures of the tooth pulp in a healthy adult, in dental caries and its complications in conjunction with periodontitis. Histochemical methods were used to monitor the condition and to identify mature heparin in tissues and mast cells. In dental caries, acute pulpitis the number of MCs increases, with prevalence of β -metachromatic degranulating forms that "implement their programme". They have a safraninophilic cytoplasm and an alcianophilic nucleus. In chronic pulpitis, a reduction in the total number of MCs was revealed. Among them, the "ending to implement the program" and "abortively dying" forms of cells predominate. MCs show alcianophilia of granules, they often look exhausted, they give a weak reaction for lipids and are characterized by glimmering under the fluorescent microscope. The presence of these forms of MCs in chronic inflammation indicates "aging" of MCs population, which contributes to the depletion of the neurotransmitter system in the tooth pulp.

Разработка методов лечения и их внедрение в практику эндодонтической стоматологии – одна из актуальных проблем современной медицины, что требует поиска новой информации о структурах зуба – возрастает интерес к строению пульпы, ее реакции на повреждение [8]. Обмен веществ в пульпе зуба осуществляется посредством диффузии в экстрацеллюлярный матрикс, который служит своего рода промежуточной средой при транспортировке питательных веществ и метаболитов из кровеносных сосудов в клетки [11].

В современной литературе значительное место занимает изучение клеточных элементов пульпы в норме и при патологии, между тем роль тканевых базофилов еще не полностью идентифицирована, а это необходимо для полного представления о возможностях репаративной реакции пульпы в процессе воспаления [10].

В настоящее время достаточно подробно изучено распределение биоаминов в процессе дифференцировки и созревания клеток развивающейся пульпы зуба и пародонта [3]. Пульпа зуба имеет сложные механизмы иммунного ответа при кариесе, которые включают макрофаги, лимфоциты, тучные клетки и их цитокины и хемокины [9].

В пульпе зуба обнаружены Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки [1, 2, 7]. Зрелые дендритные клетки обнаружены в пульпе зуба непосредственно под зоной глубокого кариеса [4].

Доказано, что дегрануляция тканевых базофилов возрастает при периодонтите [6]. При остром воспалении в клеточном компоненте основного вещества пульпы, в отличие от нормы, преобладают эозинофилы и тучные клетки в стадии функционального перенапряжения и дегрануляции, что указывает на развитие реакции гиперсенсibilизации. Хронический пульпит морфологически проявляется в феномене неангиогенеза, интенсивной рекрутизации плазмоцитов и лимфоцитов, деструкции и разрушении типичной анатомической структуры пульпы. При воспалении в пульпе увеличивается число макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, тучных клеток, кровеносных сосудов [5].

Однако в литературе отсутствуют сведения о состоянии биоаминового статуса тучных клеток (ТК) пульпы при кариесе, его осложнениях в сочетании с пародонтитом, причинах тенденции воспаления в пульпе к хронизации и роли биоаминов (БА) в этом процессе.

Цель исследования – проследить в популяции тучных клеток пульпы зуба состояние гепарина, а также степень дегрануляции в норме, при кариесе и его осложнениях.

Материалы и методы исследования. В ходе работы исследована пульпа зубов 294 человек обоего пола в возрасте от 23 до 49 лет, полученная при терапевтическом и ортопедическом лечении. При отборе пациентов мы включали в работу случаи, в которых был выставлен диагноз кариеса, пульпита и пародонтита.

Из пульпы зуба готовились криостатные и парафиновые срезы. Окраска полихромным толудиновым синим по Унна применялась для контроля состояния гепарина в ТК.

По степени дегрануляции ТК и были разделены на четыре группы:

- Т-0 – клетки, плотно заполненные гранулами;
- Т-1 – клетки с различимыми гранулами и не полностью замаскированным ядром;
- Т-2 – клетки с различимыми гранулами как внутри, так и вокруг клетки и отчётливым ядром;
- Т-3 – опустошённые клетки с единичными гранулами внутри и множественными гранулами вокруг клетки.

Гистохимическая окраска по Спайсеру использовалась для выявления зрелого гепарина и других кислых гликозамингликанов альциановым синим с одновременным выявлением протеинов сафранином.

При этой методике ТК классифицировали на четыре группы:

- «развивающиеся» клетки небольших размеров с розовым или белым ядром, с ровными контурами, без дегрануляции;
- «реализующие программу» клетки с замаскированным наложившимися сафранинофильными гранулами ядром, неровными краями мембраны, нередко в них наблюдается дегрануляция;

- «заканчивающие программу» клетки больших размеров с альцианофильным ядром и рыхлыми краями;
- «абортивно гибнущие» клетки небольших размеров, проявляющие альцианофилию гранул.

Данные о количественном распределении форм ТК в популяции получали методом их подсчёта в 10 полях зрения микроскопа при увеличении об. 40, ок. 10 с последующим вычислением для каждого случая среднего арифметического значения.

Оценку статистической значимости полученных данных проводили по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. По степени дегрануляции максимальное количество Т0-форм ТК обнаруживается в контрольной группе, которые составляют 94,7±7,6%. В контрольной группе также встречаются Т1-формы ТК в количестве 5,3±0,9% с отдельно различимыми гранулами в цитоплазме.

Окраска срезов пульпы зуба по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба контрольной группы «развивающихся» форм ТК. Наибольшее количество «развивающихся» ТК обнаруживается в контрольной группе (86,2±6,8%). Кроме того, в центральном слое пульпы зуба нами обнаружено небольшое количество ТК, «реализующих программу», численность которых составила 13,8±1,2%.

По степени дегрануляции преобладают Т0-формы ТК с понижением их числа с 94,7±7,6% до 63,5±5,4%, а также встречаются Т1-формы ТК с увеличением их численности с 5,3±0,9% до 36,5±3,1% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе.

Окраска срезов пульпы зуба по Спайсеру показала при поверхностном кариесе преобладание в центральном слое пульпы зуба «развивающихся» ТК. Общее количество ТК, выявленных этим методом, повысилось с 1,8±0,2 до 2,1±0,1 в п.з. по сравнению с аналогом в контрольной группе. Среди ТК данной группы количество «развивающихся» форм снизилось с 86,2±6,8% до 73,1±5,4%. Численность «реализующих программу» ТК возросла с 13,8±1,2% до 26,9±2,3% ($p < 0,05$).

По степени дегрануляции среди них преобладают Т0-формы ТК, однако количество их по сравнению с контролем понизилось с 94,7±7,6% до 58,4±4,9% ($p < 0,01$), количество Т1-форм ТК увеличилось с 5,3±0,9% до 41,6±2,7% ($p < 0,01$).

Окраска срезов пульпы по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при среднем кариесе «развивающихся» ТК. Общее количество «развивающихся» ТК, выявленных этим методом, повысилось с 1,8±0,2 до 2,6±0,3 в п.з. по сравнению с аналогом в контрольной группе. Среди ТК данной группы количество «развивающихся» снизилось с 86,2±6,8% до 65,4±4,6%. Численность «реализующих» программу ТК возросла с 13,8±1,2% до 34,6±2,9% ($p < 0,01$).

При исследовании степени дегрануляции ТК пульпы при глубоком кариесе обнаруживается максимальное количество Т1-форм. Среди ТК данной группы преобладают Т1-формы ТК с резким увеличением численности с 5,3±0,9% до 52,4±4,9% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Численность Т0-форм ТК понизилась с 94,7±7,6% до 27,3±2,4% ($p < 0,01$). В центральном слое пульпы также встречаются Т2-формы ТК, а также Т3-формы ТК. Количе-

ство Т2-форм ТК при глубоком кариесе равно $13,8 \pm 1,4\%$, Т3-форм ТК – $6,5 \pm 0,5\%$.

Окраска срезов пульпы зуба альциановым синим и сафранином показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при глубоком кариесе «развивающихся» форм ТК. Общее количество ТК, выявленных этим методом, повысилось с $1,8 \pm 0,2$ до $3,0 \pm 0,5$ в п.з. по сравнению с контролем. Среди ТК данной группы количество «развивающихся» ТК снизилось с $86,2 \pm 6,8\%$ до $51,3 \pm 3,8\%$. Численность «реализующих» программу ТК возросла с $13,8 \pm 1,2\%$ до $48,7 \pm 4,2\%$ ($p < 0,01$).

По степени дегрануляции среди них преобладают Т3-формы ТК в количестве $44,8 \pm 3,7\%$. Численность Т0-форм ТК резко понизилась с $94,7 \pm 7,6\%$ до $5,9 \pm 0,8\%$ ($p < 0,001$). Количество Т1-форм ТК увеличилось с $5,3 \pm 0,9\%$ до $18,7 \pm 1,9\%$ ($p < 0,05$), число Т2-форм ТК равно $30,6 \pm 2,8\%$.

Окраска срезов пульпы зуба альциановым синим и сафранином по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при остром очаговом пульпите «реализующих программу» ТК. Общее количество ТК, выявленных этим методом, резко повысилось с $1,8 \pm 0,2$ до $14,5 \pm 1,2$ в п.з. ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Наибольшее количество ТК пульпы зуба «реализующих программу» обнаруживается именно при остром очаговом пульпите. Среди ТК данной группы численность ТК, «реализующих программу», резко возросла с $13,8 \pm 1,2\%$ до $67,8 \pm 5,6\%$ ($p < 0,001$). Количество «развивающихся» ТК снизилось с $86,2 \pm 6,8\%$ до $12,6 \pm 1,3\%$ ($p < 0,01$). Кроме того, в центральном слое пульпы зуба нами обнаружено небольшое количество ТК, «заканчивающих программу», а также «абортивно гибнущих» ТК. Численность ТК, «заканчивающих программу», в данной группе равно $10,2 \pm 0,9\%$, «абортивно гибнущих» – $9,4 \pm 0,7\%$.

По степени дегрануляции среди ТК преобладают Т3-формы ($52,1 \pm 4,5\%$). Количество Т1-форм ТК повысилось с $5,3 \pm 0,9\%$ до $12,5 \pm 1,2\%$. Количество Т2-форм ТК равно $35,4 \pm 3,3\%$.

Окраска срезов пульпы зуба альциановым синим и сафранином по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при остром диффузном пульпите ТК, «заканчивающих программу», в количестве $43,1 \pm 3,8\%$. Число «абортивно гибнущих» ТК равно $26,2 \pm 2,3\%$. Наибольшее количество ТК пульпы зуба, «заканчивающих программу», обнаруживается именно при остром диффузном пульпите. Общее количество ТК, выявленных этим методом, резко повысилось с $1,8 \pm 0,2$ до $12,9 \pm 3,1$ в п.з. ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Среди ТК данной группы количество «реализующих программу» клеток возросло с $13,8 \pm 1,2$ до $16,9 \pm 1,8\%$, «развивающихся» – снизилось с $86,2 \pm 6,8$ до $9,5 \pm 1,1\%$ ($p < 0,01$).

По степени дегрануляции ТК пульпы зуба максимальное количество Т2-форм ТК обнаруживается именно при хроническом фиброзном пульпите. Среди ТК в данной группе преобладают Т3-формы ТК ($50,3 \pm 2,3\%$). Количество Т1-форм ТК уменьшилось с $5,3 \pm 0,9\%$ до $3,6 \pm 0,7\%$ по сравнению с аналогом в контрольной группе. Количество Т2-форм ТК равно $46,1 \pm 3,8\%$.

Окраска срезов пульпы зуба альциановым синим и сафранином по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при хроническом фиброзном пульпите «абортивно гибнущих» ТК в количестве $41,6 \pm 3,7\%$. Численность ТК, заканчивающих программу, равно $34,8 \pm 3,5\%$. Общее коли-

чество ТК, выявленных этим методом, резко повысилось с $1,8 \pm 0,2$ до $4,8 \pm 0,6$ в п.з. ($p < 0,05$) по сравнению с аналогом в контрольной группе. Среди ТК в данной группе количество «реализующих программу» возросло с $13,8 \pm 1,2\%$ до $16,9 \pm 1,8\%$, «развивающихся» – резко снизилось с $86,2 \pm 6,8\%$ до $6,7 \pm 0,5\%$ ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

По степени дегрануляции максимальное количество Т3-форм ТК обнаруживается именно при хроническом гангренозном пульпите. Среди ТК в данной группе преобладают Т3-формы ТК числом $78,6 \pm 3,7\%$. Количество Т2-форм ТК равно $21,4 \pm 1,9\%$.

Окраска срезов пульпы зуба альциановым синим и сафранином по Спайсеру показала преобладание в центральном слое пульпы зуба при хроническом гангренозном пульпите «абортивно гибнущих» ТК в количестве $81,9 \pm 7,5\%$. Наибольшее количество «абортивно гибнущих» ТК пульпы зуба обнаруживается именно при хроническом гангренозном пульпите. Число ТК, «заканчивающих программу», равно $12,3 \pm 1,2\%$. Общее количество ТК, выявленных этим методом, резко снизилось с $1,8 \pm 0,2$ до $1,3 \pm 0,1$ в п.з. по сравнению с аналогом в контрольной группе. Среди ТК данной группы количество «реализующих программу» понизилось с $13,8 \pm 1,2\%$ до $5,8 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Выводы. В интактной пульпе зуба обнаружены единичные молодые тучные клетки, расположенные по ходу кровеносных сосудов, обладающие ортохромазией и сафранинофилией, без признаков дегрануляции. При кариесе и остром пульпите возрастает число β -метахроматичных, дегранулированных тучных клеток, «реализующих свою программу». При хроническом пульпите в популяции тучных клеток преобладают «заканчивающие программу» и «абортивно гибнущие» формы.

Литература

1. Гемонов В.В., Лаврова Э.Н., Фалин Л.И. Развитие органов полости рта и зубов. М.: Медицина, 2002. 185 с.
2. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. СПб.: «Специальная Литература», 1998. 248 с.
3. Московский А.В. Характеристика развития зуба человека в антенатальном периоде (люминесцентно-гистохимическое исследование) // Морфология. 2005. № 6. С. 45-49.
4. Bhingare A.C., Ohno T., Tomura M., Zhang C., Aramaki O., Otsuki M., Tagami J., Azuma M. Dental pulp dendritic cells migrate to regional lymph nodes. *J. Dent Res.*, 2014, vol. 93, no. 3, pp. 288–293.
5. Bruno K.F., Silva J.A., Silva T.A., Batista A.C., Alencar A.H., Estrela C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in human dental pulpitis. *J. Endod.*, 2010, vol. 43, no. 11, pp. 1013–1021.
6. Durutürk L., Sarı S., Sengül A. Immunocompetent cell level as a diagnostic reference for pulpal pathosis of primary teeth. *Arch Oral Biol.*, 2013, vol. 58, no. 10, pp. 1517–1522.
7. Gaudin A., Renard E., Hill M., Bouchet-Delbos L., Bienvenu-Louvet G., Farges J.C., Cuturi M.C., Alliot-Licht B. Phenotypic analysis of immunocompetent cells in healthy human dental pulp. *J. Endod.*, 2015, vol. 41, no. 5, pp. 621–627.
8. Guven G., Altun C., Gunhan O., Guurbuz T., Basak F., Akbulut E., Cehreli Z.C. Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study. *J. Endod.*, 2007, vol. 35, no. 4, pp. 2071–2084.
9. Hahn C.L., Liewehr F.R. Update on the adaptive immune responses of the dental pulp. *J. Endod.*, 2007, vol. 33, no. 7, pp. 773–781.
10. Rhodus N.L. Oral Healthy and systemic health. *Min. Med.*, 2005, vol. 88, no. 10, pp. 30–34.
11. Rodd H.D., Boissonade F.M. Vascular status in human primary and permanent teeth in health and disease. *Eur. J. Oral Sci.*, 2005, vol. 113, no. 2, pp. 128–134.

References

1. Gemonov V.V., Lavrova E.N., Falin L.I. *Razvitie organov polosti rta i zubov* [Development of organs of oral cavity and teeth]. Moscow, Medicina Publ., 2002, 185 p.
2. Bykov V.L. *Gistologiya i ehmbriologiya organov polosti rta cheloveka* [Histology and embryology of organs of oral cavity of man]. St. Petersburg, Special literature Publ., 1998, 248 p.
3. Moskovskiy A.V. *Kharakteristika razvitiya zuba cheloveka v antenatal'nom periode (lyuminescentno-gistokhimicheskoe issledovanie)* [Characteristic of the development of human teeth in the antenatal period (luminescent-histochemical study)]. *Morfologiya* [Morphology], 2005, no. 6, pp. 45–49.
4. Bhingare A.C., Ohno T., Tomura M., Zhang C., Aramaki O., Otsuki M., Tagami J., Azuma M. Dental pulp dendritic cells migrate to regional lymph nodes. *J. Dent Res.*, 2014, vol. 93, no. 3, pp. 288–293.
5. Bruno K.F., Silva J.A., Silva T.A., Batista A.C., Alencar A.H., Estrela C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in human dental pulpitis. *J. Endod.*, 2010, vol. 43, no. 11, pp. 1013–1021.
6. Durutürk L., Sarı S., Sengül A. Immunocompetent cell level as a diagnostic reference for pulpal pathosis of primary teeth. *Arch Oral Biol.*, 2013, vol. 58, no. 10, pp. 1517–1522.
7. Gaudin A., Renard E., Hill M., Bouchet-Delbos L., Bienvenu-Louvet G., Farges J.C., Cuturi M.C., Alliot-Licht B. Phenotypic analysis of immunocompetent cells in healthy human dental pulp. *J. Endod.*, 2015, vol. 41, no. 5, pp. 621–627.
8. Guven G., Altun C., Gunhan O., Guurbuz T., Basak F., Akbulut E., Cehreli Z.C. Co-expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in inflamed human pulp: an immunohistochemical study. *J. Endod.*, 2007, vol. 35, no. 4, pp. 2071–2084.
9. Hahn C.L., Liewehr F.R. Update on the adaptive immune responses of the dental pulp. *J. Endod.*, 2007, vol. 33, no. 7, pp. 773–781.
10. Rhodus N.L. Oral Health and systemic health. *Min. Med.*, 2005, vol. 88, no. 10, pp. 30–34.
11. Rodd H.D., Boissonade F.M. Vascular status in human primary and permanent teeth in health and disease. *Eur. J. Oral Sci.*, 2005, vol. 113, no. 2, pp. 128–134.

МОСКОВСКИЙ АЛЕКСАНДР ВЛАДИМИРОВИЧ – доктор медицинских наук, профессор кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (moskov_av@mail.ru).

MOSCOVSKIY ALEXANDER – Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Prosthetic Dentistry and Orthodontics, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

УРУКОВ ЮРИЙ НИКОЛАЕВИЧ – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой ортопедической стоматологии и ортодонтии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

URUKOV YURIY – Doctor of Medical Sciences, Head of Department of Prosthetic Dentistry and Orthodontics, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

ВИКТОРОВ ВЛАДИМИР НИКОЛАЕВИЧ – кандидат медицинских наук, доцент кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

VIKTOROV VLADIMIR – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Prosthetic Dentistry and Orthodontics, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

МОСКОВСКАЯ ОЛЕСЯ ИГОРЕВНА – кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

MOSCOVSKAYA OLESYA – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department Medical Biology Department with the Microbiology and Virology Course, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

ПЕТРОВ АЛЕКСАНДР ПОЛИКАРПОВИЧ – заведующий хозрасчетным терапевтическим отделением, Городская стоматологическая поликлиника, Россия, Чебоксары.

PETROV ALEXANDER – Head of Self-Supporting Therapeutic Department, City Dental Clinic, Russia, Cheboksary.

СЕМИЛЕТОВА ТАТЬЯНА ВАЛЕНТИНОВНА – заведующая терапевтическим отделением поликлиники № 3, Городская стоматологическая поликлиника, Россия, Чебоксары.

SEMILETOVA TATYANA – Head of the Therapeutic Department for the Clinic № 3, City Dental Clinic, Russia, Cheboksary.

ГОЛУБЕВА СВЕТЛАНА ВЯЧЕСЛАВОВНА – врач-стоматолог-терапевт поликлиники № 3, Городская стоматологическая поликлиника, Россия, Чебоксары.

GOLUBEVA SVETLANA – Doctor-Dentist-Therapist of the Clinic № 3, City Dental Clinic, Russia, Cheboksary.