- Journal of Dental Research. – 2013. – Vol. 92, № 9. – P. 765–772. doi: 10.1177/0022034513495874
4. Grimm, W. D. Clinical, radiographic, and histological analyses after transplantation of crest-related palatal-derived ectomesenchymal stem cells (paldscs) for improving vertical alveolar bone augmentation in critical size alveolar defects / W. D. Grimm, W. A. Arnold, S. W. Sirak [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2015. – Vol. 42, № S17. – P. 366b–366.
 5. Kim, S. G. Biological Molecules for the Regeneration of the Pulp-Dentin Complex / S. G. Kim // Dental Clinics of North America. – 2017. – Vol. 61, № 1. – P. 127–141. doi: 10.1016/j.cden.2016.08.005
 6. Shchetinin, E. V. Pathogenetic aspects of dental pulp pathology / E. V. Shchetinin, S. V. Sirak, A. B. Khodzhayan [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2015. – Vol. 10, № 2. – P. 187–191. doi: 10.14300/mnnc.2015.10044
 7. Sirak, S. W. Low-level laser irradiation (810 nm) with toluidinblue photosensitizer promotes proliferation and differentiation of human oral fibroblasts evaluated in vitro / S. W. Sirak, F. Entschladen, E. W. Shchetinin, W. D. Grimm // Journal of Clinical Periodontology. – 2015. – Vol. 42, № S17. – P. 328a–328.
 8. Smith, A. J. Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics / A. J. Smith, H. F. Duncan, A. Diogenes [et al.] // Journal of Endodontics. – 2016. – Vol. 42, № 1. – P. 47–56. doi: 10.1016/j.joen.2015.10.019
 9. Tawfik, H. Regenerative potential following revascularization of immature permanent teeth with necrotic pulps / H. Tawfik, A. M. Abu-Seida, A. A. Hashem, M. M. Nagy // International Endodontic Journal. – 2013. – Vol. 46, № 10. – P. 910–922. doi: 10.1111/iej.12079
 10. Yadlapati, M. Characterization of a Vascular Endothelial Growth Factor-loaded Bioresorbable Delivery System for Pulp Regeneration / M. Yadlapati, C. Bigueti, F. Cavalla [et al.] // Journal of Endodontics. – 2017. – Vol. 43, № 1. – P. 77–83. doi: 10.1016/j.joen.2016.09.022
 11. Yoshida, K. Histological observations in amputated dental pulp capped with a-tricalcium phosphate containing calcium hydroxide / K. Yoshida, N. Yoshida, M. Iwaku // Endod. Dent. Traumatol. – 2010. – Vol. 10. – P. 113–120.
 7. Sirak S. W., Entschladen F., Shchetinin E. W., Grimm W. D. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42(S17):328a–328.
 8. Smith A. J., Duncan H. F., Diogenes A., Simon S., Cooper P. R. *Journal of Endodontics*. 2016;42(1):47–56. doi: 10.1016/j.joen.2015.10.019
 9. Tawfik H., Abu-Seida A. M., Hashem A. A., Nagy M. M. *International Endodontic Journal*. 2013;46(10):910–922. doi: 10.1111/iej.12079
 10. Yadlapati M., Bigueti C., Cavalla F., Nieves F., Bessey C., Bohluli P., Garlet G. P., Letra A., Fakhouri W. D., Silva R. M. *Journal of Endodontics*. 2017;43(1):77–83. doi: 10.1016/j.joen.2016.09.022
 11. Yoshida K., Yoshida N., Iwaku M. *Endod. Dent. Traumatol*. 2010;10:113–120.

References

Сведения об авторах:

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии;
тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Вафияди Марина Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии;
тел.: (8652)352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Неминушая Елена Григорьевна, аспирант кафедры гистологии; тел.: (8652)353440; e-mail: gistologi@stgmu.ru

Копылова Ирина Анатольевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии;
тел.: (8652)350551; e-mail: chijgay@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.21.004

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13027>

ISSN – 2073-8137

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ПАРОДОНТА В ДИНАМИКЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

А. Г. Сирак¹, Е. В. Щетинин¹, Н. И. Быкова², Г. Г. Петросян¹, С. В. Сирак¹, Р. Г. Романенко¹

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

² Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

EXPERIMENTAL ESTIMATION OF THE STRUCTURE OF ENDOTHELY OF PARODONT VESSELS IN THE DYNAMICS OF THE INFLAMMATORY PROCESS

Sirak A. G.¹, Shchetinin E. V.¹, Bykova N. I.², Petrosyan G. G.¹, Sirak S. V.¹, Romanenko R. G.¹

¹ Stavropol State Medical University, Russia

² Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Представлены результаты оценки структуры эндотелия сосудов пародонта верхней и нижней челюстей крыс в норме и при моделировании пародонтита. Изменения цитоструктуры клеток с первых суток затрагивают длину, толщину эндотелиоцитов и перицитов, количество митохондрий, комплекс Гольджи, ретикулум

эндотелия, количество гетерохроматина в ядре. Комплексные структурные изменения запускают реакции микроциркуляторного русла тканей пародонта с нарушением реологических свойств крови, образованием экссудата и воспалительного клеточного инфильтрата. Начиная с 14-го дня ярко проявляются пролиферативные изменения, более выраженные в сосудах верхней челюсти, которые обеспечивают к 30-м суткам моделирования пародонтита сохранение регуляции тонуса кровеносных сосудов, эмиграцию форменных элементов крови и активизацию местных процессов пролиферации.

Ключевые слова: эндотелий, пародонт

The results of the evaluation of the endothelium structure of the periodontal vessels of the upper and lower jaw of rats in norm and in the modeling of periodontitis were presented. From the first day, changes in the cytostructure of cells affect the length, thickness of endotheliocytes and pericytes, the number of mitochondria, the Golgi complex, the reticulum of the endothelium, and the amount of heterochromatin in the nucleus. Complex structural changes trigger the reactions of the microcirculatory bed of periodontal tissues with a violation of the rheological properties of the blood, the formation of exudate and an inflammatory cellular infiltrate. Beginning from the 14th day, proliferative changes appear more pronounced in the vessels of the upper jaw, which ensure, by the 30th day of parodontitis modeling, the preservation of the regulation of the tone of blood vessels, the emigration of blood cells and the activation of local proliferation processes.

Keywords: endothelium, periodontium

Эндотелий остается объектом внимания как орган, синтезирующий биологически активные вещества, играющий важнейшую роль в процессах в норме и при патологии [1, 7, 8]. Функциональная активность эндотелия в физиологических условиях обеспечивает трофику органов, играет защитную функцию, поскольку любые изменения микроциркуляции влияют на энергетическую и пластическую функции клеток [2, 5, 6]. В результате повреждения эндотелия запускаются механизмы, ведущие к изменениям микроциркуляции с последующим формированием атрибутов воспалительного процесса, включая экссудацию, эмиграцию и пролиферацию [4, 9, 11].

Эндотелиальная дисфункция и нарушения кровообращения челюстно-лицевой области могут лежать в основе патологии пародонта. Учитывая высокую распространенность и широкий возрастной охват воспалением пародонта населения начиная с 25-летнего возраста [3, 5], заболевание приобретает медицинскую и социальную значимость. В этой связи поиск факторов, запускающих патологические процессы, определяющие начальное звено патогенеза, приобретает общемедицинское значение.

Цель исследования – динамическая оценка структуры эндотелия сосудов в деснах верхней и нижней челюстей в норме и при экспериментальном воспалении пародонта.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 8 трехгодовалых баранах. В контрольную группу отобрано 4 животных с неизменным пародонтом, основную группу составили 4 барана с явными признаками заболевания. Экспериментальный пародонтит в основной группе моделировали внутримышечным введением фторурацила (60 мг/кг² раза в сутки в течение 4 недель). Исследованию подвергались зубоальвеолярные сегменты (блоки), которые удаляли под общим наркозом в сроки 2, 14 и 30 суток после начала исследования. Выделенные блоки фиксировали в течение 7 суток в 10 % нейтральном забуференном формалине, фиксаторе «Боуэн», предназначенном для трихромных окрасок, и фиксаторе «Иммунофикс» (БиоВитрум, Россия) для иммуногистохимических исследований. После фиксации в течение 5 суток декальцинировали блоки в 5 % растворе трихлоруксусной кислоты с ежедневной сменной раствора. После декальцинации блоки проводили через спирты возрастающей концентрации

(50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилол, с последующей заливкой в гистологическую среду «Гистомикс» (БиоВитрум, Россия). Использовали гистологический процессор замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr и станцию парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония). Готовили гистологические срезы толщиной до 5 мкм при помощи санного микротом и стола для подготовки гистологических срезов (Bio-Optica, Италия), срезы окрашивали красителями (Bio-Optica, Италия, и БиоВитрум, Россия) на автоматическом мультистейнере Prisma™ (Sakura, Япония). Окрашенные срезы заключали в монтирующую среду БиоМаунт (БиоВитрум, Россия).

Проводили окраску гематоксилином и эозином, коллагеновые волокна окрашивали по Акимченко и Массону. Для выявления антигенов в клетках тканей пародонта проводили серию иммуногистохимических реакций с использованием антител: моноклональных мышинных антител к виментину (V9), к α-гладкомышечному актину – α-SMA (1A4), к эпителиальному мембранному антигену (Анти-EMA, E29) (Spring Bio Science, США). Проведение иммуногистохимических реакций производили на парафиновых срезах с применением высокочувствительной системы визуализации Revealbiotin-freepolyvalent DAB (Spring Bio Science, США). Интенсивность иммуногистохимической реакции в каждом препарате контролировали микроскопически.

Результаты прошли статистическую обработку с применением однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений Ньюмена – Кейсла в программе «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$. Наименования гистологических структурных частей и образований зубоальвеолярного комплекса даны по международной номенклатуре Terminologia Histologica (2009).

Результаты исследования. В контрольной группе эндотелиальные клетки имеют полигональную форму, тесно примыкают друг к другу. Ядра клеток продолговатой формы, в них преобладает гетерохроматин. Выявлено наличие в этих клетках гликогена в большом количестве. На поверхности эндотелия кровеносных сосудов расположены микроворсинки, количество которых незначительное, большинство из них – длинные и широкие. Микроструктура эндотелия неоднородная, включает клетки различной длины. Длинные клетки в основном обнаружены в деснах верхней че-

люсти, их длина составляла от $18,4 \pm 3,15$ до $130,7 \pm 9,45$ мкм. В деснах нижней челюсти длина эндотелиальных клеток – $70,2 \pm 2,15$ – $100,9 \pm 6,75$ мкм. Эндотелиальные клетки в десне верхней челюсти имели толщину $66 \pm 4,65$ – $105,5 \pm 10,8$ мкм, в десне нижней челюсти – $34,6 \pm 1,25$ – $54 \pm 5,35$ мкм. Площадь кровеносных сосудов эндотелия также имела существенные различия (табл.). Поверхность клеток эндотелия покрыта параплазмами (гликопротеидами). Количество органелл и пиноцитозных пузырьков в цитоплазме минимально. Пиноцитозные пузырьки в основном размещены на поверхности эндотелия. Их количество заметно преобладает в десне верхней челюсти.

Таблица
Площадь кровеносных сосудов эндотелия в норме и при пародонтите, мкм²

Сутки	Артериолы		Венулы	
	Верхняя челюсть	Нижняя челюсть	Верхняя челюсть	Нижняя челюсть
Контроль	$45,90 \pm 3,15$	$45,90 \pm 3,15$	$51,63 \pm 5,55$	$51,63 \pm 5,55$
2-е сутки	$29,10 \pm 2,80^*$	$25,44 \pm 1,71^*$	$41,93 \pm 4,70^{* \&}$	$30,13 \pm 2,59^*$
14-е сутки	$33,13 \pm 3,17^*$	$30,46 \pm 2,75^*$	$31,50 \pm 2,05^*$	$33,17 \pm 1,79^*$
60-е сутки	$35,49 \pm 1,45^*$	$33,16 \pm 1,27^*$	$34,25 \pm 2,44^*$	$32,25 \pm 2,35^*$

Примечание: * – $p \leq 0,05$ с контролем; & – $p \leq 0,05$ между верхней и нижней челюстями.

В основной группе животных с пародонтитом на 2-е сутки наблюдения капилляры фенестрированы, базальная мембрана эндотелиоцитов имеет мелкофибрилярную структуру. Толщина мембраны в десне нижней челюсти в среднем составляет $28,2 \pm 4,45$ – $30,9 \pm 3,85$ мкм, в десне верхней челюсти – $32,9 \pm 6,15$ – $35,6 \pm 7,25$ мкм. Внешняя сторона базальной мембраны покрыта перицитами, которые расположены неравномерно и наибольшее их количество выявлено в десне верхней челюсти. На перицитах обнаружены нервные окончания. Внешняя сторона капилляров покрыта сравнительно хорошо дифференцированными адвентициальными клетками. К 14-м суткам эксперимента клетки мезенхимного происхождения встречались в эндотелии повсеместно, чаще других – малоспециализированные и дифференцированные фибробласты, фиброциты и миофибробласты, которые рассматриваются в качестве предшественников эндотелиоцитов [10]. Экспрессия маркера в миофибробластах (α -SMA⁺клетках) мелко- и крупно-гранулярная цитоплазматическая (рис. а). Иммунореактивный материал локализован в виде гранул, рассеянных в цитоплазме клеток. Интенсивность экспрессии антигена в клетках интенсивная, α -SMA⁺ клетки веретенообразной формы с центрально расположенным ядром. Экспрессируют антиген гладкомышечные клетки, составляющие интима-медиа кровеносных сосудов (рис. в). Установлено, что такое состояние базальной мембраны к 30-м суткам эксперимента распространяется на всю капиллярную сеть.

Согласно полученным данным, к 30-м суткам наблюдения диффузия в базальной

мембране более интенсивная в десне нижней челюсти, поскольку мембрана здесь более тонкая. Количество митохондрий увеличено в десне верхней челюсти, эндоплазматическая (агранулярная) сеть представлена сравнительно хорошо (рис. г). В десне нижней челюсти указанных структурных образований сравнительно меньше. Примечательно, что волокна коллагена расположены между капиллярами, где дополнительно выявлялись единичные лимфоциты. Слой эндотелиальных клеток в норме может «пропустить» лишь малое количество форменных элементов. То есть эндотелий сосудов тканей пародонта к 30-м суткам эксперимента не регулирует трансэндотелиальную эмиграцию.

Заключение. При пародонтите в сосудах десен существенно меняется структура эндотелия. Динамика изменений цитоструктуры затрагивает длину, толщину клеток, количество митохондрий, комплекс Гольджи, ретикулум эндотелия, взаимосвязь ядра и цитоплазмы, количество гетерохроматина в ядре. Изменения отмечены и в перицитах, что в комплексе определяет запуск реакции микроциркуляторного русла тканей пародонта с нарушением реологических свойств крови, образованием экссудата и воспалительного клеточного инфильтрата. Начиная с 14-го дня ярко проявляются пролиферативные изменения, более выраженные в сосудах верхней челюсти. Важно, что показатели эндотелия верхней и нижней челюстей различаются не только по структуре самих клеток эндотелия, но и по состоянию базальных мембран, их толщине, площади и параплазмалеммы.

Данные указывают на гетерогенность эндотелия капилляров десен нижней и верхней челюстей при пародонтите, который структурными изменениями реагирует в ранние сроки воздействия флогогенного фактора, запуская череду функциональных нарушений до появления клинической картины патологии пародонта.

Рис. Микропрепараты зубоальвеолярных сегментов нижней (а, б) и верхней челюсти (в, г) в норме (б) и при пародонтите (а, в, г): а – α -SMA⁺клетки в интима-медиа артериолы (отмечены стрелками). ИГХ реакция на α -гладкомышечный актин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100; б – экспрессия виментина. ИГХ реакция на виментин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100; в – экспрессия эпителиального мембранного антигена. ИГХ реакция на ЕМА. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100; г – экспрессия синаптофизина в нервных отростках нейронов в нейросекреторных везикулах. ИГХ реакция на синаптофизин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100

Литература

1. Арушанян, Э. Б. Эндотелиальная дисфункция и мелатонин / Э. Б. Арушанян, Е. В. Щетинин // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 196–206. doi: 10.14300/mnnc.2015.10046
2. Гайнуллина, Д. К. Оксид азота в эндотелии сосудов: регуляция продукции и механизмы действия / Д. К. Гайнуллина, О. О. Кирихина, О. С. Тарасова // Успехи физиологических наук. – 2013. – Т. 44, № 4. – С. 88–102.
3. Гуревич, К. Г. Пародонтит. XXI век / К. Г. Гуревич, Л. А. Дмитриева, Л. М. Тебloeва [и др.] ; под ред. О. О. Янушевича, Л. А. Дмитриевой, З. Э. Ревазовой. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016.
4. Дегтярь, Н. И. Эндотелий и системное воспаление: роль ядерных транскрипционных факторов и терапевтические возможности (обзор литературы) / Н. И. Дегтярь, Н. Д. Герасименко, М. С. Расин // Артериальная гипертензия. – 2016. – № 4. – С. 21–25. doi: 10.22141/2224-1485.4.48.2016.76991
5. Сирак, С. В. Особенности васкуляризации пульпы зуба у больных пародонтитом / С. В. Сирак, Т. Л. Кобылкина, А. Г. Сирак [и др.] // Пародонтология. – 2017. – Т. 22, № 2. – С. 27–30.
6. Щетинин, Е. В. Репаративная регенерация тканей пародонта – результаты экспериментального исследования / Е. В. Щетинин, С. В. Сирак, Л. А. Григорьянц

References

1. Arushanyan E. B., Shchetinin E. V. *Medicinskii vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2015;10(2):196-206. doi: 10.14300/mnnc.2015.10046
2. Gaynullina D. K., Kiryukhina O. O., Tarasova O. S. *Uspeshi fiziologicheskikh nauk*. – *Advances of Physiological Science*. 2013;44(4):88-102.
3. Gurevich K. G., Dmitrieva L. A., Tebloeva L. M., Pochtarevko V. A., Erochin A. I. *Periodontit. XXI. M.*: 2016.
4. Degtyar N. I., Gerasimenko N. D., Rasin M. S. *Arterialnaya gipertenziya*. – *Hypertension*. 2016;4:21-25. doi: 10.22141/2224-1485.4.48.2016.76991
5. Sirak S. V., Kobylkina T. L., Sirak A. G., Vafiadi M. Yu., Bykova N. I. *Parodontologiya*. – *Periodontology*. 2017;22(2):27-30.
6. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Grigoryants L. A., Vafiadi M. Yu., Dilekova O. V. *Medicinskii vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2015;10(4):411-415. doi: 10.14300/mnnc.2015.10100

[и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 10, № 4. – С. 411–415. doi: 10.14300/mnnc.2015.10100

7. Яковлев, В. М. Метаболический синдром и сосудистый эндотелий / В. М. Яковлев, А. В. Ягода. – Ставрополь, 2008.
8. Celermajer, D. S. Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible? / D. S. Celermajer // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1997. – Vol. 30, № 2. – P. 325–333. doi: 10.1016/S0735-1097(97)00189-7
9. Félétou, M. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products / M. Félétou, Y. Huang, P. M. Vanhoutte // *British Journal of Pharmacology*. – 2011. – Vol. 164, № 3. – P. 894–912. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01276.x
10. Liu, X. Human gingival fibroblasts induced and differentiated into vascular endothelial-like cells / X. Liu, J. Wang, F. Dong [et al.] // *Development Growth and Differentiation*. – 2016. – Vol. 58, № 9. – P. 702–713. doi: 10.1111/dgd.12327
11. Sata, M. A mouse model of vascular injury that induces rapid onset of medial cell apoptosis followed by reproducible neointimal hyperplasia / M. Sata, Y. Maejima, F. Adachi [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2000. – Vol. 32, № 11. – P. 2097–2104. doi: 10.1006/jmcc.2000.1238

7. Yakovlev V. M., Yagoda A. V. *Metabolicheskii sindrom i sosudistii endotelii*. Stavropol, 2008.
8. Celermajer D. S. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997;30(2):325-333. doi: 10.1016/S0735-1097(97)00189-7
9. Félétou M., Huang Y., Vanhoutte P. M. *British Journal of Pharmacology*. 2011;164(3):894-912. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01276.x
10. Liu X., Wang J., Dong F., Li H., Hou Y. *Development Growth and Differentiation*. 2016;58(9):702-713. doi: 10.1111/dgd.12327
11. Sata M., Maejima Y., Adachi F., Fukino K., Saiura A. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2000;32(11):2097-2104. doi: 10.1006/jmcc.2000.1238

Сведения об авторах:

Сирак Алла Григорьевна, доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой гистологии;
тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии;
тел.: (8652)352684; e-mail: ev.cliph@rambler.ru

Быкова Наталья Ильинична, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии; тел.: 89181487866; e-mail: bikov_mi@mail.ru

Петросян Григорий Григорьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии;
тел.: (8652)352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии;
тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Романенко Роман Геннадьевич, ассистент;
тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru