

А.В.Самойленко
І.С.Шпонька
А.Є.Горшкова
О.В.Пославська
С.О.Карнаух

ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

Ключові слова: генералі-
зований пародонтит, апоп-
тоз, p53, p21, каспаза-3,
Bcl-2, COX-2.

Надійшла: 26.09.2013
Прийнята: 20.10.2013

УДК: 616.314.19-02.2-08:612.017

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МАРКЕРІВ АПОПТОЗУ ТА ЗАПАЛЕННЯ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТУ ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ

Реферат. Механізми апоптозу мають відігравати важливу роль у елімінації та оновленні клітин пародонту. Але незважаючи на з'ясування сигналізації каскадів апоптозу, їхні зв'язки з клінічними проявами під час запалення пародонту майже повністю невідомі. Мета – визначити імуногістохімічні показники експресії маркерів апоптозу та запалення в тканинах маргінального пародонту у хворих з хронічним та прогресуючим перебігом генералізованого пародонтиту порівняно з контрольною групою здорових випробовуваних. За клініко-морфологічними особливостями перебігу генералізованого пародонтиту всі зразки основної групи були поділені на 2 групи: перша складає пародонтит з хронічним перебігом, а друга група – з прогресуючим. Пацієнти з інтактним пародонтом склали контрольну групу. зразки тканин пародонту досліджували за допомогою гістологічних методів, оцінювали цитоплазматичну реакцію маркеру каспаза-3 і інтрануклеарну реакцію маркерів p21, p53, Bcl-2 та маркеру запалення COX-2. Розрахунки показників проводили на сто відповідних клітин. Дані морфометричних та імуногістохімічних досліджень зазнавали статистичної обробки з використанням непараметричних коефіцієнтів. Перебіг прогресивного генералізованого пародонтиту характеризувався більш вираженою експресією маркеру запалення COX-2 та маркерів апоптозу каспаза-3 і p21 порівняно з контрольною групою, а також з хронічним генералізованим пародонтитом. Між двома групами генералізованого пародонтиту не визначено статистично вірогідної різниці лише для рівнів експресії онкосупресора p53 та антиапоптотичного протеїна Bcl-2. Необхідне проведення подальших досліджень для визначення можливості використання каспази-3, p21 та COX-2 в якості маркерів активності перебігу генералізованого пародонтиту.

Morphologia. – 2013. – Т. VII, № 3. – С. 101-107.

© А.В.Самойленко, І.С.Шпонька, А.Є.Горшкова, О.В.Пославська, С.О.Карнаух, 2013

✉ savdsma@yandex.ua

Samoilenko A.V., Shpon'ka I.S., Gorshkova A.E., Poslavska O.V., Karnaukh S.O. Immunohistochemical investigations of apoptotic and inflammatory markers in parodontal tissues of patients with generalized parodontitis.

ABSTRACT. Background. Apoptosis mechanisms should play an important role in the elimination and renewal of periodontal cells. Despite clarification of signaling cascade of apoptosis, their relationship with clinical manifestations during parodontal inflammation is almost completely unknown. **Objective.** To determine the immunohistochemical expression of apoptotic and inflammatory markers in marginal parodontal tissues in patients with chronic and progressive course of generalized parodontitis compared with a control group. **Methods.** According to clinical and morphological peculiarities of generalized parodontitis all samples were divided into 2 groups: the 1st of them included chronic course of disease, and the 2nd – progressive. Patients with intact parodontum constituted the control group. Parodontal tissues samples were studied using histological methods, cytoplasmic reaction with caspase-3 and intranuclear reaction with p21, p53, Bcl-2 and inflammatory COX-2 markers were examined. Calculations were carried out on one hundred of respective cells. These morphometric and immunohistochemical studies were subjected to statistical analysis using nonparametric indexes. **Results.** The course of progressive generalized periodontitis is characterized by more severe expression of inflammatory markers COX-2 and apoptotic markers caspase-3 and p21 as compared with the control group and chronic generalized periodontitis. As for antiapoptotic protein Bcl-2, a statistically significant difference was revealed only in comparison with the control group. Between two groups no significant difference was detected only in the expression levels of oncosuppressor p53 and antiapoptotic protein Bcl-2. **Conclusion.** Further investigations are needed to indicate the possibility to use caspase-3, p21 and COX-2 as markers of the flow activity of generalized parodontitis.

Key words: generalized parodontitis, apoptosis, p53, p21, caspase-3, Bcl-2, COX-2.

Citation:

Samoilenko AV, Shpon'ka IS, Gorshkova AE, Poslavska OV, Karnaukh SO. [Immunohistochemical study markers of apoptosis and inflammatory in parodontal tissues of patients with generalized parodontitis]. *Morphologia*. 2013; 7(3):101-7. Ukrainian.

Вступ

Висока поширеність запальних захворювань пародонту (до 90%) з тенденцією до щорічного збільшення даного показника у всіх вікових групах населення диктує необхідність активного пошуку і впровадження нових методів діагностики і лікування цих захворювань.

Запальні захворювання пародонту характеризуються місцевою та загальною відповіддю на інфекцію за участю декількох видів грамнегативних анаеробних мікроорганізмів, які тісно пов'язані з деструкцією навколосубних тканин. Патогенність бактерій відносно тканин пародонту підтверджена багатьма дослідженнями. Доказано, що розвиток генералізованого пародонтиту частіше асоціюється з персистенцією в тканинах пародонту наступних представників мікрофлори: *Aggregatibacter* (раніше *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis*, *Campylobacter rectus*. Важливим фактором вірулентності грамнегативних анаеробних мікроорганізмів є ліпосахаридний ендотоксин, який знаходиться на зовнішній мембрані бактерій та стимулює в людських мононуклеарах периферичної крові запрограмовану загибель – апоптоз [1; 2; 3]. Індукція апоптозу в клітинах хазяїна являє собою значну подію у патогенезі захворювань пародонту.

Бурхлива місцева реакція макроорганізму включає в себе нейтрофільну інфільтрацію та подальший викид медіаторів запалення і цитокінів. Маркер запалення циклооксигеназа 2 (COX-2), що приймає участь в синтезі простагландинів через перетворення арахідонової кислоти, є індукційним ферментом, тобто завжди експресується макрофагами, фібробластами, ендотелієм, клітинами гладкої мускулатури тільки після індукції їх цитокінами або факторами росту [4]. Підвищення експресії COX-2 може слугувати надійним маркером активності запалення пародонту, а також бути точкою терапевтичного впливу препаратів, що блокують циклооксигеназний шлях запалення.

Механізми, що відповідають за пошкодження тканин ясен, вивчені ще досить поверхнево [4; 5; 6] і можуть складатися у різних пропорціях, як з імунних місцевих реакцій, так і з прямих цитопатичних ефектів патогенних бактерій. На підставі дослідження прямої дії бактерій в культурах клітин було висловлено припущення, що апоптоз може відігравати важливу роль в патогенезі прогресування пародонтиту. Тим не менш, природа молекулярних механізмів, які беруть участь у цьому процесі, залишається досі невідомою.

Запрограмована загибель клітин або апоптоз є нормальним фізіологічним процесом, який сприяє збереженню тканинного гомеостазу. Його модулюють різні подразники, в тому числі гормони, цитокіни, фактори росту, бактеріальні або

вірусні агенти та імунні реакції [3; 7; 8]. Дослідження зарубіжних авторів [2; 9; 10] показали, що апоптоз по суті опосередкований родиною протеаз, так званих каспаз, які можуть бути розподілені на дві групи – ініціаторні та ефекторні каспази. Ініціаторним каспазам, таким як каспаза-8 або -9, надають роль активаторів підпорядкованих ефекторних каспаз, таких як каспаза-3, -6, -7 [9]. Каспаза-3 вважається ферментом-виконавцем, оскільки вона може бути активована іншими активними каспазами і має відповідну каталітичну специфічність. Надійна ознака індукції апоптозу є виявлення клітин, які експресують активну форму каспази-3 [2; 11].

Серед інших чинників апоптотичної активності можна відокремити продукти трьох генів, які кодують білки p53, p21 та Bcl-2, що відіграють фундаментальну роль в регуляції апоптозу [12]. Bcl-2 є членом родини антиапоптотичних протеїнів, які можуть запобігти або зменшити ризик загибелі клітин, що індукована різними стимулами [9]. Внутрішній шлях смерті ініціюється виходом мітохондріального цитохрому C, і саме цей процес на початку гальмується антиапоптотичним білком Bcl-2. Навпаки p53 – білковий продукт пухлинного гена-супресору, експресія якого індукує апоптоз. Цей білок впливає на динаміку клітинного оновлення через індукцію апоптозу у термінальній стадії диференціювання клітин, в тому числі і клітин запального інфільтрату [10]. p21 – важливий інгібітор клітинного циклу, експресія якого є однією з основних мішеней трансактиваційної дії онкопротеїну p53. p21 блокує комплекси різних циклінів з необхідними кіназами, ключовими ферментами поділу клітин.

Всі ці дані показують, що механізми апоптозу повинні відігравати важливу роль при елімінації та оновленні клітин пародонту. Але незважаючи на з'ясування сигналізації каскадів апоптозу, їхні зв'язки з клінічними проявами під час запалення пародонту майже повністю невідомі.

Метою даного дослідження стало визначення імуногістохімічних показників експресії маркерів апоптозу p53, p21, Bcl-2, каспази-3 та маркеру запалення COX-2 в тканинах маргінального пародонту у хворих з хронічним та прогресуючим перебігом генералізованого пародонтиту порівняно з контрольною групою здорових вивчених.

Матеріали та методи

В дослідженні приймали участь 86 пацієнтів (36 чоловіків та 50 жінок) віком від 27 до 45 років, які проходили лікування в КЗ «Обласна стоматологічна поліклініка» м. Дніпропетровська протягом 2008-2012 рр. 71 пацієнт мав діагноз генералізований пародонтит (ГП), 15 пацієнтів з інтактним пародонтом склали контрольну групу. За клініко-морфологічними особливостями перебігу ГП всі зразки основної групи були поді-

лені на 2 підгрупи – пародонтити з хронічним та прогресуючим перебігом (табл. 1).

Таблиця 1
Характеристика клінічних даних пацієнтів

Характеристика клінічних даних пацієнтів	Кількість випадків (n=86)	Відсотки (%)
Стать		
Чоловіки	36	41,9%
Жінки	50	58,1%
Основна група:		
Хронічний перебіг ГП	35	40,7%
Прогресуючий перебіг ГП	36	41,9%
Контрольна група (інтактний пародонт)	15	17,4%

Для морфологічного дослідження використовували біоптати слизової оболонки ясен об'ємом 2-2,5мм. Забір біопсійного матеріалу здійснювався під час стоматологічних маніпуляцій (видалення зубного каменю, кюретажу) з ін'єкційним знеболенням 4% розчином Ubistesin forte після інформованої згоди пацієнта. Біоптати ясен фіксували у 4% розчині нейтрального формаліну протягом доби і заливали у парафін. Гістологічні зрізи товщиною 4-6 мкм наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus. Після депарафінізації та регідрації зрізів проводили температурне демаскування антигенів (зрізи були розміщені в цитратному буфері з рН 6,0 і підігрівалися в автоклаві при температурі +121°C 8 хвилин) та пригнічували активність ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню протягом 20 хвилин. Далі проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23-25°C протягом 30 хвилин. В якості первинних використовувалися моноклональні антитіла до p21, p53, Bcl-2, каспаза-3, COX-2 (LabVision). Титр антитіл підбирався індивідуально для кожного маркера з використанням у якості розчинника спеціального розчину Antibody Diluent (DakoCytomation). Для ідентифікації реакції використовували надчутливу сис-

тему візуалізації UltraVision Quanto (LabVision), з нанесенням в якості хромогену 3-діамінобензидин тетрахлориду (ДАБ) (Quanto, LabVision) під контролем мікроскопу протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді коричневого забарвлення специфічних структур. Для відокремлення неспецифічних тканинних структур зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра протягом 1-3 хвилини.

Використовуючи алгоритм S.Bulut із співавт. [10] рівні інтрануклеарної експресії маркерів p21 (у запальному інфільтраті), p53 та Bcl-2 (в епітелії маргінального пародонту) були розбиті на 4 градації від 0 до 3+: (0) = не має забарвлення; (1+) = забарвлених клітин до 10%, (2+) = кількість забарвлених клітин варіює в діапазоні від 10 до 30% та градація (3+), де забарвлених клітин більше 30% відповідно. Цитоплазматичну експресію маркера каспаза-3 оцінювали за бінарною шкалою: (0) = забарвлених клітин <30% запального інфільтрату; (1+) = відповідно забарвлення >30% [13]. Згідно рекомендаціям R.I.Marshall із співавт. [4] цитоплазматичну експресію маркера COX-2 оцінювали за трьома градаціями забарвлених клітин: (1+) – слабкий інфільтрат, (2+) – помірний інфільтрат, (3+) – виражений запальний інфільтрат з позитивною міткою.

Оцінка була виконана в десяти випадково обраних полях мікроскопу під збільшенням (×400). Розрахунки показників проводили на сто відповідних клітин. Дані морфометричних та імуногістохімічних досліджень зазнавали статистичної обробки з використанням непараметричних коефіцієнтів за допомогою IBM PC сумісного комп'ютера "Pentium 4" в програмі SPSS Statistica 17.0.

Результати та їх обговорення

Аналіз експресії маркера запалення COX-2 показав стійку тенденцію збільшення сили експресії маркера в запальному інфільтраті із збільшенням активності запалення (рис. 1 Б), тобто найбільша кількість спостережень з градацією (+3) припала на групу з прогресуючим перебігом ГП (табл. 2).

Таблиця 2
Розподіл значень експресії маркера COX-2 в залежності від клініко-морфологічних характеристик біоптатів, n

Експресія маркеру COX-2	p	Інтактний пародонт (n=15)	Форма перебігу пародонтиту	
			Хронічний (n=35)	Прогресуючий (n=36)
Слабка (+1)	pХГП* <0,05	15 (100%)	-	-
Помірна (+2)	pПГП* <0,05	-	28 (80%)	15 (42%)
Висока (+3)	pППП** <0,05	-	7 (20%)	21 (58%)

Примітка: * □ різниця вірогідна по відношенню до інтактного пародонту при 5% рівні значущості (p<0,05);

** □ різниця вірогідна по відношенню до хронічного пародонтиту при 5% рівні значущості (p<0,05).

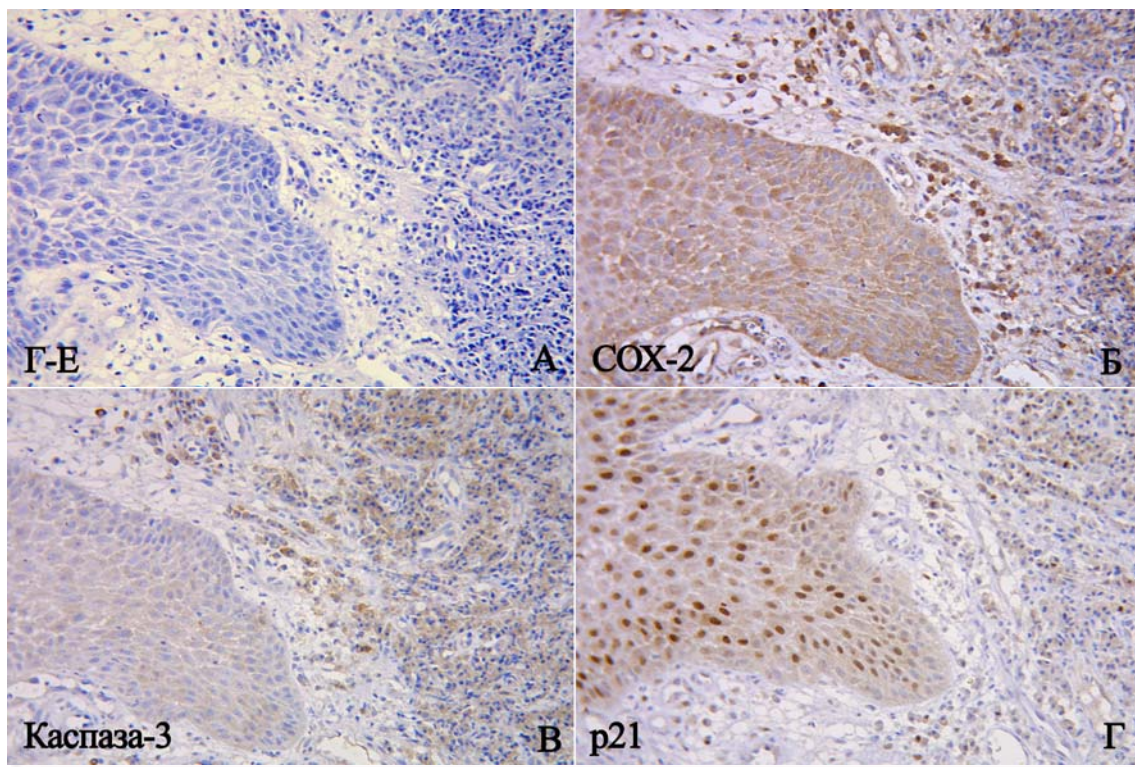


Рис. 1. Прогресуючий генералізований пародонтит. А. Забарвлення гематоксилином і еозином. Б. Цитоплазматична експресія високої інтенсивності (+3) маркеру COX-2 в запальному інфільтраті навколо багатошарового плоского епітелію також з позитивною реакцією. В. Цитоплазматична експресія маркеру каспаза-3 в >30% запальних клітин на рівні (+1). Г. Змішана цитоплазматично-інтрануклеарна реакція з маркером p21 в епітелії та запальному інфільтраті високої інтенсивності (+3). ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра. $\times 400$.

Всі зразки інтактного пародонту контрольної групи 100% ($n=15$) показали слабку експресію COX-2 на рівні (+1) в поодиноких мононуклеарах, що завжди присутні в здоровому пародонті. Більша кількість спостережень із групи хронічного пародонтиту – 80% ($n=28$) демонстрували помірну експресію COX-2, що статистично має вірогідну різницю порівняно з контрольною групою ($r_{\text{ХГП}}^* < 0,05$). Прогресуючий перебіг ГП характеризувався достатньо великою кількістю зразків з помірною експресією COX-2 – 42% ($n=15$), але й значно більшою кількістю зразків з високою експресією – 58% ($n=21$), порівняно з групою хронічних пародонтитів ($r_{\text{ПГП}}^{**} < 0,05$), а також з контрольною групою ($r_{\text{ПГП}}^* < 0,05$) (табл. 2).

В ході досліджень пародонту також було оцінено цитоплазматичну реакцію маркеру каспаза-3 та інтрануклеарну реакцію маркерів p21, p53, Bcl-2. Результати розподілу експресії маркерів апоптозу за градаціями наведені в таблиці 3.

Треба відмітити, що онкопротеїн-супресор p21 та ефекторна каспаза-3 демонстрували позитивне ІГХ забарвлення з різною інтенсивністю в клітинах запального інфільтрату стромі і в епітеліоцитах багатошарового плоского епітелію (рис. 1 В, Г), що знаходяться в тісному взаємозв'язку між собою. Найвищі показники експресії цих маркерів ми спостерігали в ділянках активного запалення в групі прогресивного пе-

ребігу ГП. Контрольна група з інтактним пародонтом в обох дослідженнях показала 100% реакції на рівні слабкої експресії: з маркером каспаза-3 градація (0), з маркером p21 градація (+1) (табл. 3). Таким чином, має місце статистично вірогідна різниця між всіма групами дослідження (всі $p < 0,05$ відповідно) (табл. 3).

Аналізуючи експресію інших двох маркерів апоптозу p53 та Bcl-2, виявилося, що позитивна ІГХ реакція спостерігалася, більшим чином або виключно, в базальному шарі багатошарового плоского епітелію пародонту (рис. 2 А), на відміну від каспази-3 та p21, що навпаки активно експресувалися клітинами запального інфільтрату (рис. 2 В, Г). Експресія онкогену-супресору p53 трохи підвищувалась в групі ХГП (68,9%) і тим більше в групі ПГП (77,8%), порівняно з контрольною групою (60,0%), але статистично вірогідної різниці між групами дослідження виявлено не було (всі $p > 0,05$ відповідно) (табл. 3).

Антиапоптотичний білок Bcl-2 показав зниження експресії з підвищенням активності запалення (табл. 3), аж до повної втрати в більше половини зразків ПГП (63,9%) (рис. 2 Б). Згідно даних тесту Фішера статистично вірогідна різниця експресії Bcl-2 була знайдена між прогресуючим перебігом ГП і контрольною групою ($r_{\text{ПГП}}^* < 0,05$), між хронічним перебігом ГП і контролем ($r_{\text{ХГП}}^* < 0,05$), але не існувало ніяких від-

мінностей між та ХГП і ПГП ($p_{\text{ПГП}}^{**} > 0,05$).

Таблиця 3

Розподіл кількості пацієнтів за градаціями експресії маркерів апоптозу

Градації експресії маркерів апоптозу	Кількість випадків (n=86)	Хронічний перебіг ГП (n=35)	Прогресуючий перебіг ГП (n=36)	Контроль-на група (n=15)	p
Каспаза-3 град. 0	39 (45,3%)	16 (45,7%)	8 (22,2%)	15 (100%)	$p_{\text{ХГП}}^* < 0,05$
Каспаза-3 град. 1	47 (54,7%)	19 (54,3%)	28 (77,8%)	0 (0%)	$p_{\text{ПГП}}^* < 0,05$ $p_{\text{ПГП}}^{**} < 0,05$
p21 град. 0	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	$p_{\text{ХГП}}^* < 0,05$
p21 град. 1	28 (32,6%)	13 (37,1%)	0 (0%)	15 (100%)	$p_{\text{ПГП}}^* < 0,05$
p21 град. 2	27 (31,4%)	12 (34,3%)	15 (41,7%)	0 (0%)	$p_{\text{ПГП}}^{**} < 0,05$
p21 град. 3	31 (36,0%)	10 (28,6%)	21 (58,3%)	0 (0%)	
p53 град. 0	24 (27,9%)	11 (31,1%)	7 (22,2%)	6 (40,0%)	$p_{\text{ХГП}}^* > 0,05$
p53 град. 1	62 (72,1%)	24 (68,9%)	28 (77,8%)	9 (60,0%)	$p_{\text{ПГП}}^* > 0,05$
p53 град. 2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	$p_{\text{ПГП}}^{**} > 0,05$
p53 град. 3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Bcl-2 град. 0	45 (52,3%)	18 (51,4%)	23 (63,9%)	4 (26,7%)	$p_{\text{ХГП}}^* < 0,05$
Bcl-2 град. 1	41 (47,7%)	17 (48,6%)	13 (36,1%)	11 (73,3%)	$p_{\text{ПГП}}^* < 0,05$
Bcl-2 град. 2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	$p_{\text{ПГП}}^{**} > 0,05$
Bcl-2 град. 3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контрольної групи при 5% рівні значущості ($p < 0,05$);
** - різниця вірогідна по відношенню до хронічного пародонтиту при 5% рівні значущості ($p < 0,05$).

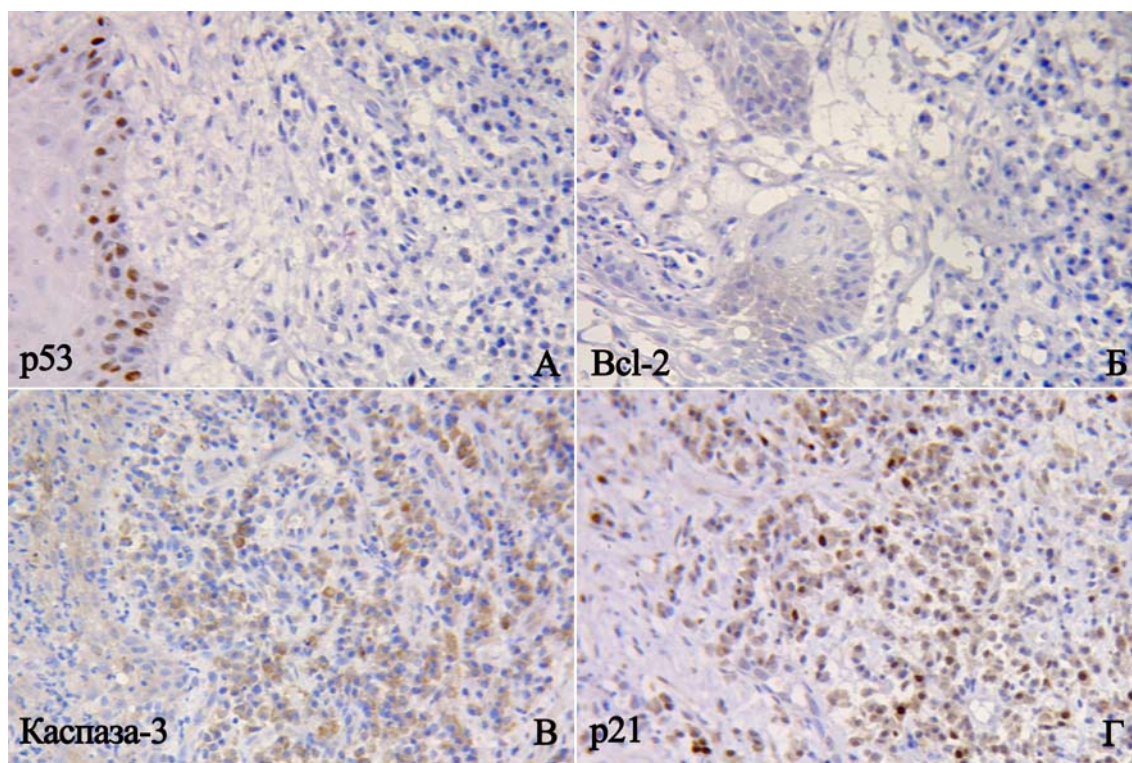


Рис. 2. Прогресуючий генералізований пародонтит. А. Інтрануклеарна реакція з маркером p53 на рівні (+1) виключно в епітелії маргінального пародонтиту. Б. Негативна реакція з маркером Bcl-2 градація (0) в епітелії і запальному інфільтраті пародонтиту. В. Цитоплазматична реакція з маркером каспаза-3 в запальному інфільтраті та епітеліальних тяжках багатощарового плоского епітелію, градація (+1). Г. Змішана реакція з маркером p21 в міжепітеліальних та стромальних імуніцитах високої інтенсивності. ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксином Майєра. $\times 400$.

Підсумок

Таким чином, перебіг прогресивного ГП характеризувався більш вираженою експресією маркеру запалення COX-2 та маркерів апоптозу каспаза-3 і p21 порівняно з контрольною групою ($p_{\text{ПП}} < 0,05$), а також порівняно з хронічним ГП ($p_{\text{ПП}} < 0,05$). Стосовно антиапоптотичного протеїну Bcl-2, статистично вірогідна різниця виявилася тільки в порівнянні з контрольною групою ($p_{\text{ПП}} < 0,05$).

Кількість статистичної невірогідної різниці показників експресії між контрольною групою та групою з прогресивним перебігом ГП (як між іншим і групою з хронічним перебігом ГП) стосувалося лише маркеру p53 ($p_{\text{ПП}} > 0,05$), що ставить під сумнів прогностичну значущість останнього для оцінки динамічних змін процесів апоптозу при запаленні в тканинах маргінального пародонту.

нту.

Перебіг хронічного ГП показав аналогічну тенденцію, але із меншою різницею в показниках, порівняно з контрольною групою (табл. 3).

Аналіз показників експресії всіх вищезазначених маркерів в групах ППП та ХГП між собою не дав вірогідної різниці лише при ІГХ дослідженнях з онкосупресором p53 та антиапоптотичним протеїном Bcl-2 (обидва $p_{\text{ПП}} > 0,05$ відповідно), що говорить про неможливість використання цих маркерів для визначення активності перебігу запалення пародонту при ГП.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з подальшим визначенням клініко-морфологічних зв'язків між імуногістохімічними характеристиками і агресивністю перебігу генералізованого пародонтиту.

Літературні джерела References

1. Apoptosis de fibroblastos gingivales en periodontitis // R. Mauricio Arce, O. Tamayo, A. Cortes / Colomb. Med. – 2007. – Vol. 38. – P. 197–209.

Arce RM, Tamayo O, Cortes A. Apoptosis de fibroblastos gingivales en periodontitis [Apoptosis of gingival fibroblasts in periodontitis]. Colombia Medica. 2007; 38 (3): 197–209.

2. Ford P. J. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis / P. J. Ford, J. Gamonal, G. J. Seymour // Periodontology 2000. – 2010. – Vol. 53. – P. 111–123.

Ford PJ, Gamonal J, Seymour GJ. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. Periodontol 2000. 2010 Jun;53:111-23. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00349.x. Cited in: PubMed; PMID: 20403108.

3. Самойленко А. В. Патогенетическое значение различных пародонтальных микроорганизмов в развитии иммунологических и клинических нарушений у больных генерализованным пародонтитом / А. В. Самойленко // Український стоматологічний альманах. – 2001. - №6. – С. 44–47.

Samoilenko AV. [Pathogenetic significance of the various periodontal microorganisms in the development of immunologic and clinical abnormalities in patients with generalized periodontitis]. Ukrayinskiy stomatologichnyi almanakh. 2001; (6): 44-7. Russian.

4. COX-1 and COX-2 in human periodontal disease states / R. I. Marshall, E. Gemmell, C. Carter [et al.] // Austrailian Dental J. – 2003. – Vol. 48. – P. 4.

Marshall RI, Gemmell E, Carter C, Bartold PM, Brooks PM, Seymour GJ. COX-1 and COX-2 in human periodontal disease states. Austrailian Dental J. 2003; 48: 4.

5. Apoptosis in chronic adult periodontitis analyzed by in situ DNA breaks, electron microscopy, and immunohistochemistry // J. Gamonal, A. Bascones, A. Acevedo [et al.] / J. Periodontol. – 2001. – Vol. 72. – P. 517–525.

Gamonal J, Bascones A, Acevedo A, Blanco E, Silva A. Apoptosis in chronic adult periodontitis analyzed by in situ DNA breaks, electron microscopy, and immunohistochemistry. J Periodontol. 2001 Apr;72(4):517-25. Cited in: PubMed; PMID: 11338305.

6. Грудянов А. И. Методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, О. А. Зорина. – М. : «Медицинское информационное агентство», 2009. – 112 с.

Grudyanov AI, Zorina OA. Metody diagnostiki vospalitel'nykh zabolevaniy parodonta [Methods of diagnosis of inflammatory periodontal diseases]. Moscow: Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo; 2009. 112 p. Russian.

7. Вольф Г. Ф. Пародонтология / Г. Ф. Вольф, Э. М. Ратейцхак, К. Ратейцхак. – М. : «МЕДпресс-информ», 2008. – 548 с.

Vol'f GF, Rateytskhak EM, Rateytskhak K. Parodontologiya [Parodontology]. Moscow: MEDpress-inform; 2008. 548 p. Russian.

8. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении пародонтита / П. В. Иванов, И. В. Маланьин, А. В. Стоматов, Ю. В. Грибовская // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 11. – С. 23–27.

Ivanov PV, Malanin IV, Stomatov AV, Gribovskaya YuV. [Antioxidative therapy in periodontitis complex treatment]. Fundamentalniye issledovaniya. 2008; (11): 23-7. Russian.

9. Delayed neutrophil apoptosis in chronic periodontitis patients / J. Gamonal, M. Sanz, A. O'Connor [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2003. – Vol. 30. – P. 616–628.

Gamonal J, Sanz M, O'Connor A, Acevedo A, Suarez I, Sanz A, Martínez B, Silva A. Delayed neutrophil apoptosis in chronic periodontitis patients. J Clin Periodontol. 2003 Jul;30(7):616-23. Cited in: PubMed; PMID: 12834499.

10. Expression of caspase-3, p53 and Bcl-2 in generalized aggressive / Sule Bulut, Hilal Uslu, B. Handan Özdemir, Ömer Engin Bulut // Head & Face Medicine. – 2006. – Vol. 2. – P. 17. – Режим доступу до журн.: www.head-face-med.com/content/

2/1/17.

Bulut S, Uslu H, Özdemir BH, Bulut ÖE. Expression of caspase-3, p53 and Bcl-2 in generalized aggressive periodontitis. *Head Face Med.* 2006; 2: 17. Published online 2006 June 20. doi: 10.1186/1746-160X-2-17. Cited in: PubMed; PMCID: PMC1524725.

11. Altered innate immune functioning of dendritic cells in elderly humans: a role of phosphoinositide 3-kinase-signaling pathway // A. Agrawal, S. Agrawal, J.-N. Cao [et al.] / *J. of Immunology.* – 2007. – Vol. 178, № 11. – P. 6912-6922. – Режим доступа до журн.: <http://www.jimmunol.org/content/178/11/6912>.

Agrawal A, Agrawal S, Cao JN, Su H, Osann K, Gupta S. Altered innate immune functioning of dendritic cells in elderly humans: a role of phosphoinositide 3-kinase-signaling pathway. *J Immunol.* 2007 Jun 1;178(11):6912-22. Cited in: PubMed; PMID: 17513740.

12. Biomarkers of periodontitis in oral fluids / Balwant Rai, Simmi Kharb, Rajniish Jain, Suresh C. Anand // *J. of Oral Science.* – 2008. – Vol. 50, № 1. – P. 53-56.

Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci.* 2008 Mar;50(1):53-6. Cited in: PubMed; PMID: 18403884.

Самойленко А.В., Шпонька И.С., Горшкова А.Е., Пославская А.В., Карнаух С.А. Иммуногистохимическое исследование маркеров апоптоза и воспаления в тканях пародонта больных генерализованным пародонтитом.

Реферат. Механизмы апоптоза должны играть важную роль в элиминации и обновлении клеток пародонта. Однако, несмотря на выяснение сигнализации каскадов апоптоза, их связь с клиническими проявлениями во время воспаления пародонта практически неизвестна. Цель – определить иммуногистохимические показатели экспрессии маркеров апоптоза и воспаления в тканях маргинального пародонта у больных с хроническим и прогрессирующим течением генерализованного пародонтита по сравнению с контрольной группой здоровых испытуемых. По клинко-морфологическим особенностям течения генерализованного пародонтита все образцы основной группы были разделены на 2 группы: первая составляет случаи пародонтита с хроническим течением, а вторая группа – с прогрессирующим. Пациенты с интактным пародонтом составляли контрольную группу. Образцы тканей пародонта исследовали с помощью гистологических методов, оценивали цитоплазматическую реакцию маркера каспаза-3 и интрануклеарную реакцию маркеров p21, p53, Bcl-2 и маркера воспаления СОХ-2. Расчеты показателей проводили на сто соответствующих клеток. Данные морфометрических и иммуногистохимических исследований подвергались статистической обработке с использованием непараметрических коэффициентов. Течение прогрессирующего генерализованного пародонтита характеризовалось более выраженной экспрессией маркера воспаления СОХ-2 и маркеров апоптоза каспаза-3 и p21 по сравнению с контрольной группой, а также с хроническим генерализованным пародонтитом. Относительно антиапоптотического протеина Bcl-2, статистически достоверной разницы оказалась только в сравнении с контрольной группой. Между двумя группами генерализованного пародонтита не определено статистически достоверной разницы только для уровней экспрессии онкосупрессора p53 и антиапоптотического протеина Bcl-2. Необходимо проведение дальнейших исследований для определения возможности использования каспазы-3, p21 и СОХ-2 в качестве маркеров активности течения генерализованного пародонтита.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, апоптоз, p53, p21, каспаза-3, Bcl-2, СОХ-2.