

# Взаимосвязь изменений в тканях пародонта и щитовидной железе у пациентов с тиреоидитом Хашимото

И.Г. Романенко, Е.А. Кекош

## The correlation between changes in the periodontal tissues and the thyroid gland in patients on the background of autoimmune thyroiditis Hashimoto's

I.G. Romanenko, E.A. Kekosh

ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Симферополь

**Ключевые слова:** пародонтит, щитовидная железа, тиреоидит Хашимото, иммуногистохимическое исследование, биопсия, десна.

### Резюме

Взаимосвязь изменений в тканях пародонта и щитовидной железе у пациентов с тиреоидитом Хашимото

И.Г. Романенко, Е.А. Кекош

Цель данного исследования выявление патологических изменений в тканях пародонта у пациентов на фоне аутоиммунного тиреоидита Хашимото.

Материал и методы: Материалом для исследования выбрана модификация классической методики биопсии десны, которая предполагает иссечение участка десны длиной 3–5 мм в области боковых зубов верхней челюсти. Биопсия проводилась у больных с установленным цитологическим диагнозом – аутоиммунный тиреоидит (n=10). Биопсионный материал для контрольной группы выбран у больных при травматическом повреждении десны по той же методике. Иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) проводили по стандартизированной методике. Иммуногистохимическая панель включала в себя следующие антитела: CD4 (Clone 4B12), CD8 (Clone C8/144B) (DakoCytomation), CD68.

Результаты и обсуждение: При анализе гистологических препаратов ткани пародонта у больных аутоиммунным тиреоидитом обнаружены выраженные воспалительные процессы. Результаты морфологического и ИГХ исследований подтверждают, что аутоиммунный процесс имеет системный характер с поражением, в том числе, и тканей пародонта (Clone PG-M1, разведение 1:50).

Ключевые слова: пародонтит, щитовидная железа, тиреоидит Хашимото, иммуногистохимическое исследование, биопсия, десна.

*Романенко И. Г. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой стоматологии Факультета подготовки медицинских кадров высшей квалификации и ДПО Медицинской академии имени С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», действительный член Крымской Академии наук, врач высшей категории, заслуженный врач АР Крым, главный внештатный специалист Министерства Здравоохранения Республики Крым по «Профилактической стоматологии». Контактная информация: romanenko-inessa@mail.ru, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7, 295051.*

*Кекош Е. А. – заочный аспирант кафедры стоматологии Факультета подготовки медицинских кадров высшей квалификации и ДПО Медицинской академии имени С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», магистр медицины, стоматолог-терапевт ГАУЗ РК «ЯСП». Контактная информация: katerina88kekosh@gmail.com, Российская Федерация, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7, 295051*

**Abstract****The correlation between changes in the periodontal tissues and the thyroid gland in patients on the background of autoimmune thyroiditis Hashimoto's***I.G. Romanenko, E.A. Kekosh*

**Purpose:** The aim of this study is to identify pathological changes in periodontal tissues in patients on the background of autoimmune thyroiditis Hashimoto's.

**Materials and methods:** A modification of the classical technique of gingival biopsy was chosen as the material for the study, which involves excision of the gingiva 3-5 mm long in the region of the lateral teeth of the upper jaw. A biopsy was performed in patients with established cytologic diagnosis – autoimmune thyroiditis (n = 10). Biopsy material for the control group was chosen in patients with traumatic lesion of the gum by the same procedure. The immunohistochemical study (IHCS) was performed according to a standardized procedure. The immunohistochemical panel included the following antibodies: CD4 (Clone 4B12), CD8 (Clone C8 / 144B) (DakoCytomation), CD68 (Clone PG-M1, dilution 1:50).

**Results and discussion:** In the analysis of histological preparations of periodontal tissue in patients with autoimmune thyroiditis, pronounced inflammatory processes were found. Taking into account the results of morphological and IHC studies, it can be argued that the autoimmune process has a generalized character with lesion, including periodontal tissue.

**Keywords:** periodontitis, Hashimoto's thyroiditis, autoimmune periodontitis, immunohistochemical study, biopsy, gingiva.

**Введение**

В современном мире возрастает количество больных с дисфункцией щитовидной железы. Республика Крым относится к территории Российской Федерации, для которой характерен дефицит йода, и, как следствие, нарушение тиреоидного статуса жителей. Известно, что изменения функций щитовидной железы являются риск-факторами развития ряда сопутствующих заболеваний, в том числе и пародонтита [7, 13, 15]. Нами было установлено, что в экспериментальной группе животных, при моделировании аутоиммунного тиреоидита (тиреоидит Хашимото, АИТ), в тканях щитовидной железы и пародонта развиваются признаки аутоиммунного воспаления [16]. Такая же тенденция наблюдается и у пациентов с тиреоидитом Хашимото. Таким образом, наличие аутоиммунного процесса у пациента может привести к генерализации процесса и к снижению барьерной функции тканей пародонта, что требует своевременной профилактики и назначения адекватной терапии.

Целью данного исследования являлось установление взаимосвязи изменений в пародонте у больных с аутоиммунной патологией щитовидной железы (ЩЖ).

**Материал и методы**

Материалом для исследования выбрана модификация классической методики биопсии десны, которая предполагает иссечение участка десны длиной 3–5 мм в области боковых зубов верхней челюсти [8]. Биопсия проводилась у больных с установленным цитологическим диагнозом – аутоиммунный

тиреоидит (n=10). Биопсийный материал для контрольной группы выбран у пациентов при травматическом повреждении десны по той же методике.

Фиксация, проводка и приготовление срезов с последующей окраской гематоксилином и эозином проводили по стандартной методике [9]. Ткани пародонта фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Минимальный срок фиксации составлял 10 дней. После промывки материала в проточной воде в течение 24 часов ткань обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации (50%, 60%, 70%, 80%, 96% – 1, 96% – 2 и абсолютный спирт), просветляли в ксилоле, выдерживали в насыщенном при +37°C растворе парафина в ксилоле, помещали в парафин при + 56°C, с последующей заливкой в смесь парафина и пчелиного воска, изготавливали парафиновые блоки. Из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 4-5 мкм. С целью обзорной окраски, гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином [12].

Иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) проводили по стандартизованной методике [2] с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 3-4 мкм, помещённых на адгезивные стекла, покрытые полизином («Menzel-Glaser», Германия) и реактивов компании DAKO. Иммуногистохимическая панель включала в себя следующие антитела: CD4 (Clone 4B12), CD8 (Clone C8/144B) (DakoCytomation), CD68 (Clone PG-M1, разведение 1:50). Система визуализации EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link), Code K8012 на автостейнере фирмы DAKO.

В месте локализации антигена визуализировался продукт реакции коричневого цвета. Интенсив-

Табл. 1

**Уровень экспрессии CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, CD68 макрофагов в здоровой ткани контрольной группы и в воспалительном инфильтрате, ткани пародонта; соотношение CD4/CD8**

|         | Экспериментальная группа<br>n=10 | Группа контроля<br>n=10 |
|---------|----------------------------------|-------------------------|
| Cd4     | 37,00±0,93                       | 7,6±0,42* $p<0,0001$    |
| Cd8     | 44,16±1,35                       | 6,5±0,42* $p<0,0001$    |
| Cd4/cd8 | 0,78±0,021                       | 1,16±0,071* $p=0,0049$  |
| Cd68    | 58,3±1,17                        | 13,1±0,94* $p<0,0001$   |

Примечание: \* – во всех сравнениях показателей между экспериментальной и контрольной группами обнаружены статистически значимые отличия ( $p<0,0001$ ).

ность цитоплазматической экспрессии CD68 оценивали полуколичественным методом на основании выраженности окраски и количества гранул в цитоплазме по следующей схеме: слабая экспрессия и выраженная. Морфометрическое исследование маркеров CD68, CD4 и CD8 включало подсчет позитивных клеток в 5 полях зрения при увеличении 200 с помощью программы DP SOFT. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «Olympus CX-41», микрофотографии получены фотокамерой Olympus 5050. Результаты исследования обрабатывали статистически с использованием общепринятых методов вариационной статистики. При выборе правильного метода сравнения мы ориентировались на показатели нормальности распределения и равенства дисперсий. Если распределения у сравниваемых рядов нормальное и их дисперсии равны, использовали методы параметрической статистики; в противном случае – методы непараметрической статистики. Для всех показателей мы использовали параметрические критерии, а для CD4/CD8 – непараметрические.

## Результаты и их обсуждение

При анализе гистологических препаратов ткани десны у больных АИТ обнаружены выраженные воспалительные процессы. Обращает на себя внимание мозаичность скопления воспалительного инфильтрата, располагающегося в подэпителиальной фиброзной ткани десны. Воспалительный инфильтрат состоит, в основном, из лимфоцитов и плазмоцитов, гистиоцитов. Однако в большинстве препаратов выявлено присутствие эозинофилов. Единично отмечаются формирующиеся лимфоидные агрегаты, представленные мономорфными мелкими лимфоцитами. В многослойном плоском эпителии десен отмечен выраженный пара-и гиперкератоз с формированием акантоэпителиальных выростов (рис.1, 1а).

Учитывая наличие воспалительной реакции в ткани пародонта, нами проведено иммуногистохимическое исследование с целью определения качественного и количественного состава основных вос-

палительных клеток, участвующих в иммунном ответе: ИГХИ CD4 (Clone 4B12) (Т-хелперы), CD8 (Clone C8/144B) (цитотоксические Т-лимфоциты), CD68 (Clone PG-M1) (макрофаги). В области локализации антигена визуализируется мембранная и цитоплазматическая реакция коричневого цвета (рис 2).

Анализ ИГХИ с моноклональными антителами CD4 и CD8 в ткани десны характеризуются резким повышением клеток лимфоцитарного ряда в воспалительном инфильтрате с достоверным преобладанием цитотоксических CD8 позитивных Т-лимфоцитов, определяемых в количестве  $44,16 \pm 1,35$  ( $p<0,0001$ ) по сравнению с контролем –  $6,5 \pm 0,42$  ( $p<0,0001$ ) в 5 полях зрения (при увеличении микроскопа 1x200) табл.1, рис.2).

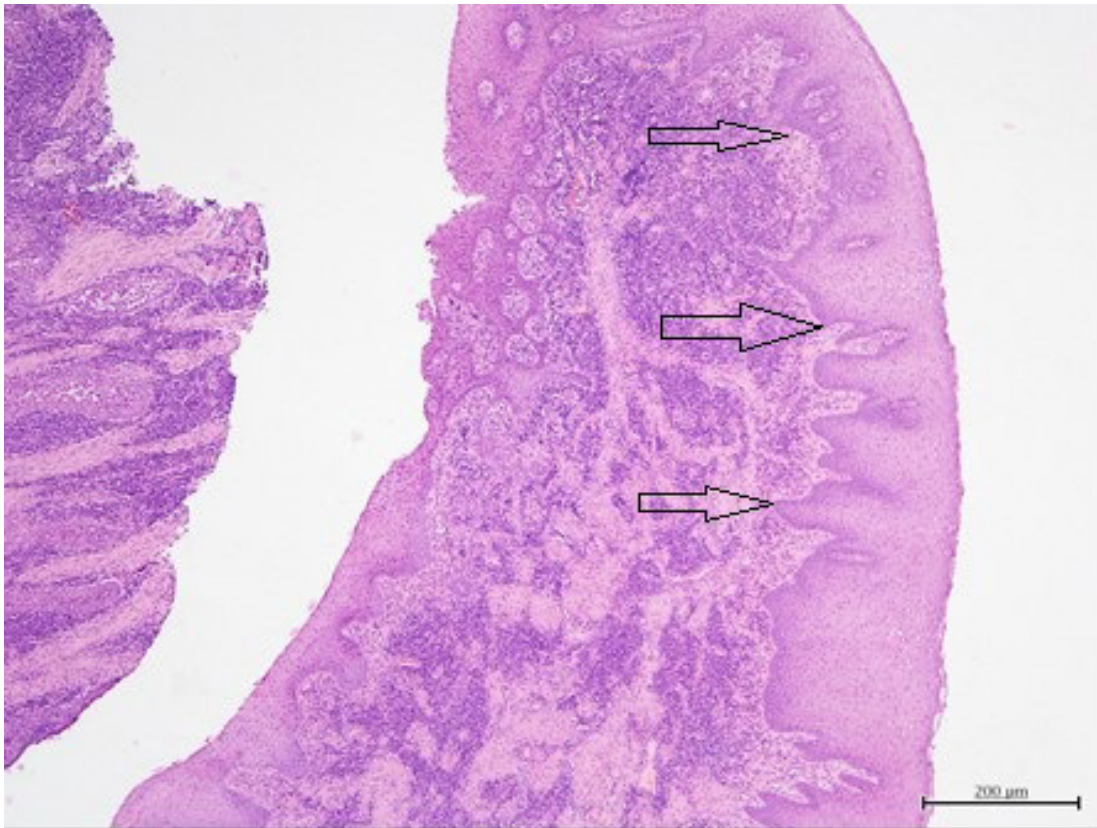
CD4 Т-лимфоциты-хелперы определяются в подэпителиальной зоне в количестве  $37,00 \pm 0,93$  в экспериментальной группе и  $7,6 \pm 0,42$  ( $p<0,0001$ ) в группе контроля в виде мембранной реакции на лимфоцитах (табл.1, рис. 3).

При этом индекс соотношения CD4/CD8, обозначенный в научной литературе как иммунорегуляторный индекс (ИРИ), достоверно снижается при аутоиммунном тиреоидите и составляет  $0,78 \pm 0,021$ , по сравнению с контрольной группой –  $1,16 \pm 0,071$  ( $p=0,0049$ ) (табл. 1).

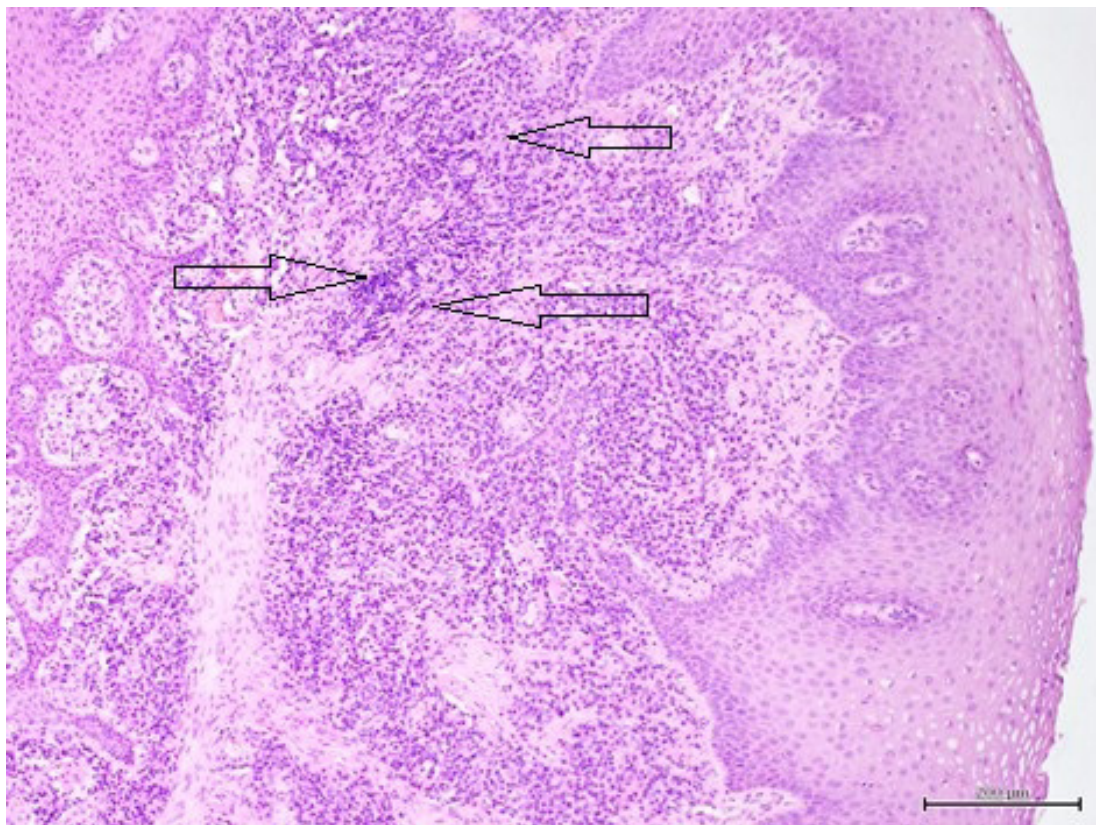
При ИГХ исследовании в ткани десны контрольной группы определяется незначительное количество CD68-позитивных макрофагов. CD68-позитивные клетки характеризуются мелкими размерами с гранулярным окрашиванием цитоплазмы, рассеяно локализируются в подэпителиальной зоне. При этом цитоплазматическая реакция в клетках имеет слабую интенсивность экспрессии CD68. Количество макрофагов в контрольной группе составляет  $13,1 \pm 0,94$  (табл.1)

Общий пул CD68-позитивных макрофагов в биоптатах десны пациентов с АИТ значительно возрастает, по сравнению с контролем, и составляет, в среднем,  $58,3 \pm 1,17$  (табл.1). Межгрупповые отличия являются достоверными ( $p<0,0001$ ). В гистологических препаратах десны больных АИТ отмечается увеличение размеров и усиление интенсивности окраски макрофагов, визуализация гранул в цитоплазме, что позволяет расценивать такие клетки как функционально активные (рис.4).

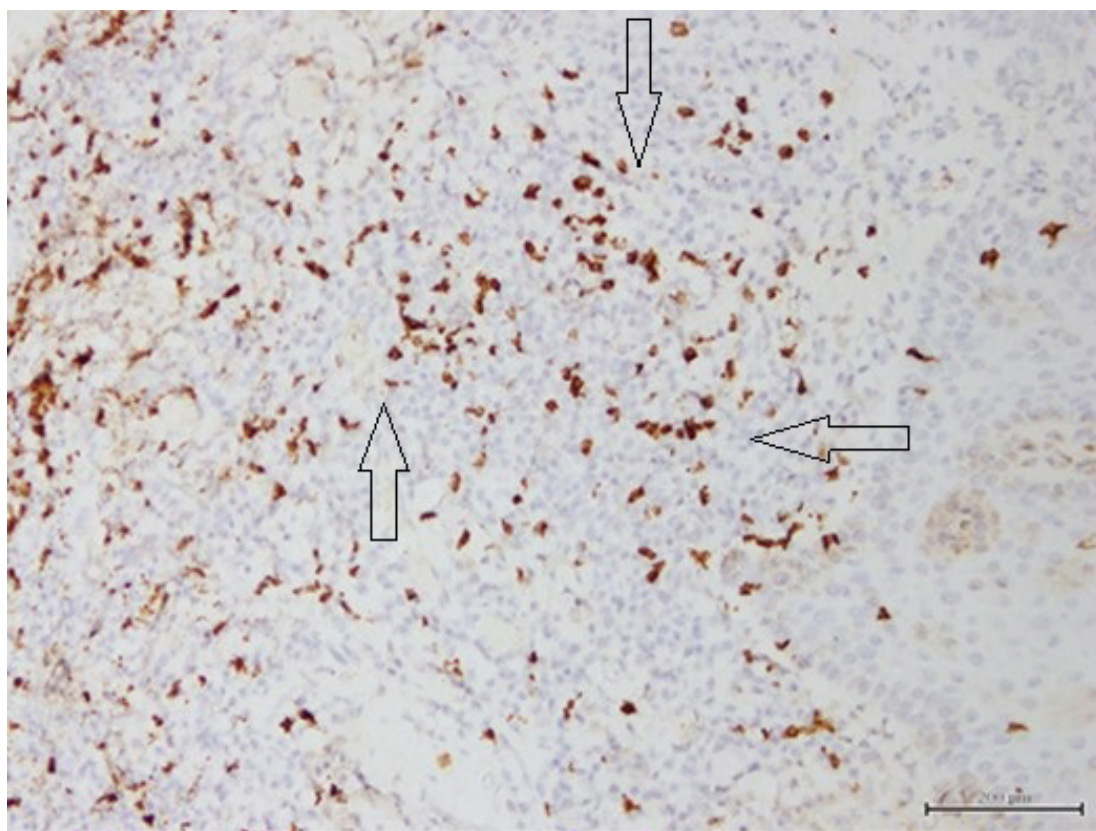
При исследовании биоптатов десны также отмечается наличие воспалительного инфильтрата, состоящего из лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов и эозинофилов. Анализ воспалительного инфильтрата свидетельствует о наличии как CD4 Т-лимфоцитов-хелперов, так и CD8 Т-цитотоксических лимфоцитов. При этом их количество достоверно увеличивается ( $p<0,0001$ ), по сравнению с контролем. Однако соотношение CD4/CD8 – иммунорегуляторный индекс – меньше, по сравнению с контролем, что соответствует снижению локального местного иммунитета.



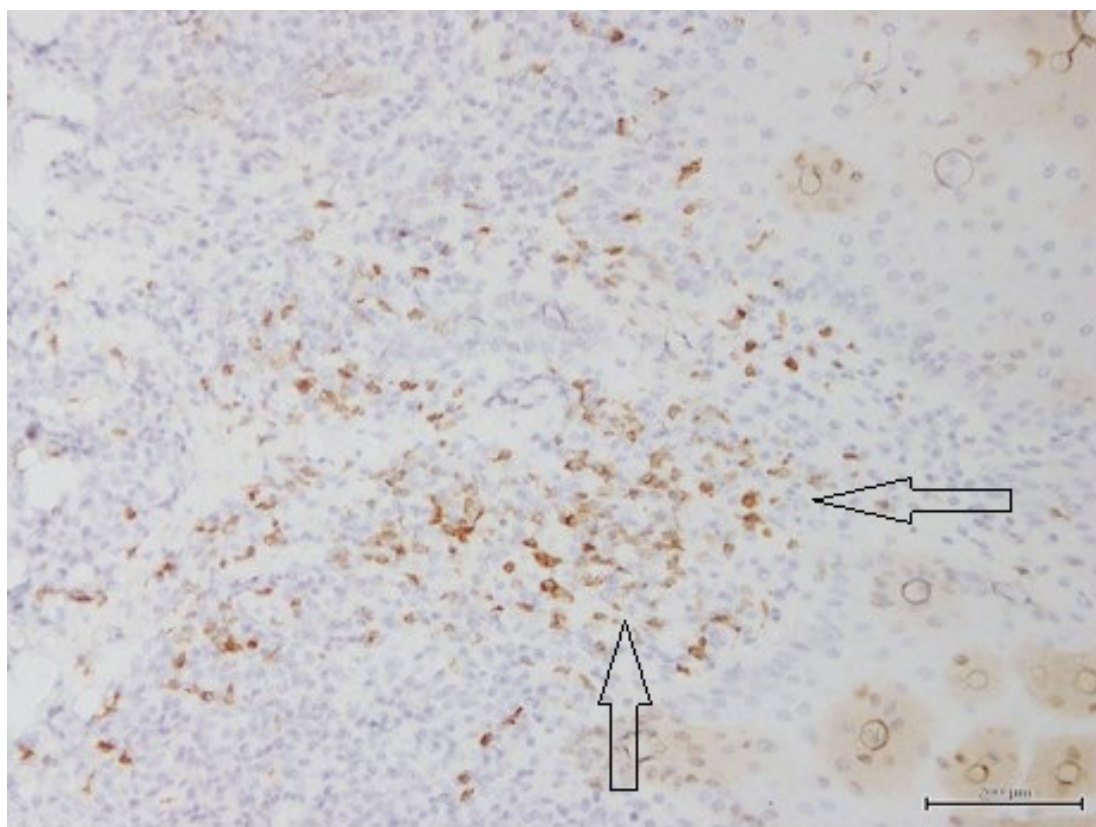
**Рис. 1.** Биоптат десны больного аутоиммунным тиреоидитом. Мозаичность воспалительного инфильтрата, акантоз (стрелка). Окраска гематоксилин-эозин, Ув. 10х.



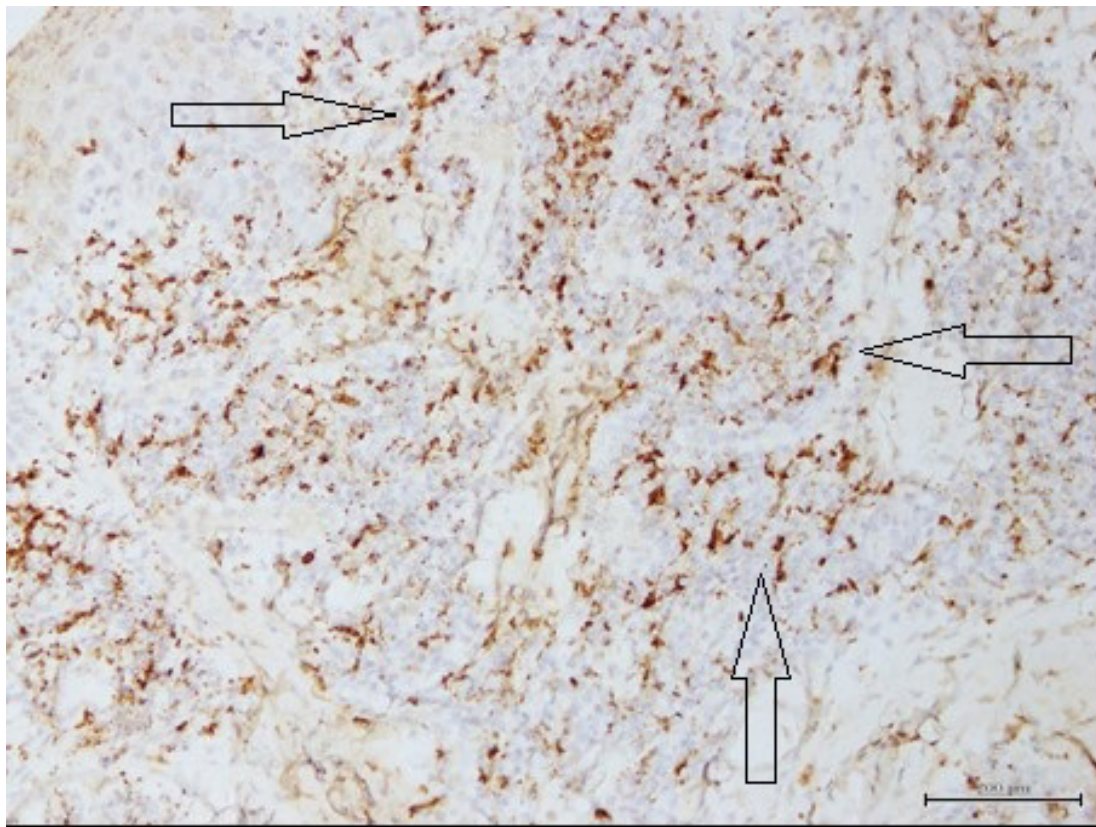
**Рис. 1а.** Биоптат десны больного аутоиммунным тиреоидитом. Мозаичность воспалительного инфильтрата. Скопления лимфоидных клеток (стрелка). Окраска гематоксилин-эозин, Ув. 20х.



**Рис. 2.** Фрагмент десны. Эксп. группа. Экспрессия CD8+ лимфоцитов. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 20х



**Рис. 3** Ткань пародонта больного аутоиммунным тиреоидитом. Экспрессия CD4+ лимфоцитов. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 20х



**Рис 4.** Фрагмент десны пациента с АИТ. Экспрессия CD68+ макрофагов, локализирующихся под эпителием. ИГХР. Система визуализации FLEX. Ув. 20х.

## Выводы

Проведенные исследования продемонстрировали, что у больных АИТ ткани пародонта (в частности, десна) подвержены изменениям, связанным с аутоиммунным процессом, протекающим в организме. Полученные результаты являются основанием для разработки схем лечения гингивита (в том числе симптоматического) с учетом особенностей фоновой патологии.

## Литература

- Brandtzaeg P, Kraus FW. Autoimmunity and periodontal disease. *Odontol idskr* 1965;73: 285-93.
- Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry* / D.J. Dabbs. – 3rd ed. – New York: Ch. Livingstone, 2010. – 941 p
- Feitosa D.S. et al. The influence of thyroid hormones on periodontitis-related bone loss and tooth-supporting alveolar bone: a histological study in rats. *J Period Res* 2008; 44: Issue 4: 472-478.
- Feitosa D.S. et al. The influence of thyroid hormones on periodontitis-related [ *J Period Res* 2008; 44: Issue 4: 472-478.
- Jenkins RC, Weetman AP. Disease associations with autoimmune thyroid disease. *Thyroid* 2002; 12: 977-88.
- Kantarci A, Oyaizu K, Van Dyke TE. Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: Findings from localized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:66-75.
- Kimura H, Kimura M, Tzou SC, Chen YC, Suzuki K, Rose NR, Caturegli P 2005 Expression of class II major histocompatibility complex molecules on thyrocytes does not cause spontaneous thyroiditis but mildly increases its severity after immunization. *Endocrinology* 146:1154-1162
- Lighterman I. A modified technique for gingival biopsy in the diagnosis of secondary amyloidosis // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* — 1951. — Vol. 4, № 3. — P. 351-354.
- ShaluChandna and Manish Batbla Oral manifestations of thyroid disorders and its management. *Indian J Endocrinol Metab.* Jul 2011; 15(Suppl2): S113-S116.
- А.Г. Сапожников, А.Е. Дорошевич *Гистологическая и микроскопическая техника: руководство.* / А.Г. Сапожников, А.Е. Дорошевич. — Смоленск: САУ, 2000. — 476 с.
- Анорсова А.С., Баракат М.Ю., Пругло Ю.В. Патоморфологический и иммунологический анализ аутоиммунных процессов в щитовидной железе // *БЭБиМ.*— 2007.— Т. 143, №6.— С. 704-708.
- А.В. Коржевский, А.В. Гиляров. *Основы гистологической техники* — СПб.: СпецЛит, 2010. — 95 с.
- Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом // П. А. Горбачева, А. П. Киринов, А.Ю. Орехова // *Стоматология.* — 2004. — № 3. — С. 11-17
- Орехова А.Ю., Осипова М.В. Роль врача-пародонтолога в диагностике общесоматической патологии // *«Пародонтология».* — 2010. — № 4. — С. 20-26.
- Цепов А.М., Цепова Е.А., Цепов А.А. Пародонтит: локальный очаг серьезных проблем // *Пародонтология.* — 2014.— № 3. — С. 3-10.
- Романенко П.Г., Кекош Е.А. «Изменения пародонта при экспериментальном моделировании тиреоидита Хашимото у крыс» // *«Пародонтология».* — 2016. — № 2. — С. 43-48.