

Межклеточные контакты, пролиферация и апоптоз эпителия десны у пациентов с пародонтитом после лазерной терапии

Е.М. Сперанская¹, Е.В. Москвичев^{1,2}, О.Ю. Кострова¹,
Е.М. Лузикова¹, Л.М. Меркулова¹, Г.Ю. Стручко¹

¹ ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

² АУ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Чувашии, Чебоксары, Россия

Резюме. *Введение.* Е-кадгерин участвует в образовании межклеточных контактов и защищает эпителиоциты десны от апоптоза, регулируя в них процесс пролиферации. Недостаточно изученным остается вопрос о воздействии диодного лазера на межклеточные контакты, пролиферацию и апоптоз эпителиоцитов десны в разные возрастные периоды. Целью исследования стало проведение сравнительного анализа пролиферативной и апоптотической активности эпителиоцитов десны человека и их межклеточного взаимодействия при хроническом воспалении, а также при терапии диодным лазером в возрастном аспекте.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие пациенты без воспаления пародонта (n=30) и пациенты с хроническим пародонтитом (n=30). Исследуемые были разделены на две возрастные группы: в I группу вошли пациенты в возрасте 20–40 лет, во II группу – 41–60 лет. Каждая возрастная группа была поделена на подгруппы: контрольная подгруппа – пациенты без воспаления десны; подгруппа с воспалением пародонта – пациенты с хроническим пародонтитом; подгруппа после лазеротерапии – пациенты после терапии диодным лазером Prometeu с длиной волны 940 нм. Проводили иммуногистохимические исследования с применением моноклональных антител к Ki-67, p53, Е-кадгерину, компьютерную морфометрию и статистический анализ данных.

Результаты. При пародонтите сочетается снижение количества пролиферирующих эпителиоцитов и уменьшение числа Е-кадгеринпозитивных межклеточных контактов в базальном и шиповатом слоях эпителия десны у людей как молодого, так и зрелого возраста (p=0,00002). Воздействие диодного лазера положительно воздействует на пролиферативную активность эпителиоцитов и достоверно увеличивает количество Е-кадгеринпозитивных межклеточных контактов в базальном слое (p=0,00002), но не влияет на экспрессию p53 (p=0,9) в эпителии десны во всех возрастных периодах.

Заключение. Воздействие диодного лазера вызывает увеличение индекса пролиферации/апоптоза в эпителии десны и приближает показатели экспрессии Е-кадгерина к контрольным значениям.

Ключевые слова: эпителий десны, хронический пародонтит, диодный лазер, Ki-67, p53, Е-кадгерин

Для корреспонденции: Екатерина Михайловна Сперанская. E-mail: katerina_dumspirospero@mail.ru

Для цитирования: Сперанская Е.М., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Лузикова Е.М., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю. Межклеточные контакты, пролиферация и апоптоз эпителия десны у пациентов с пародонтитом после лазерной терапии. Клини. эксп. морфология. 2022;11(3):22–29. DOI: 10.31088/SEM2022.11.3.22-29.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 25.04.2022. Получена после рецензирования 10.06.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Intercellular junctions, proliferation, and apoptosis of the gingival epithelium in patients with periodontitis after laser therapy

Е.М. Speranskaya¹, Е.В. Moskvichev^{1,2}, О.Ю. Kostrova¹, Е.М. Luzikova¹, Л.М. Merkulova¹, G. Yu. Struchko¹

¹ IN Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

² Republic Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russia

Abstract. *Introduction.* E-cadherin participates in the formation of intercellular junctions and protects the epitheliocytes of the gums from apoptosis and regulates proliferation in them. The effect of a diode laser on intercellular contacts, proliferation, and apoptosis of gum epitheliocytes at various ages remains poorly

studied. The purpose of the paper was to conduct a comparative analysis of the proliferative and apoptotic activity of human gingival epitheliocytes and their intercellular interaction in chronic inflammation, as well as in age-related diode laser therapy.

Materials and methods. The study included patients with and without periodontal inflammation (30 patients in each group). The subjects were divided into 2 age groups: group I included patients aged 20–40 years, whereas group II – 41–60 years. Each age group was divided into subgroups: the control subgroup (patients without gingival inflammation); subgroup with periodontal inflammation (patients with chronic periodontitis); and subgroup after laser therapy (patients after therapy with 940-nm Prometey diode laser). We performed immunohistochemical studies using monoclonal antibodies to Ki-67, p53, E-cadherin; as well as computer morphometry and statistical data analysis.

Results. Periodontitis combines a decrease in the number of both proliferating epitheliocytes and E-cadherin-positive intercellular contacts in the basal and spiny layers of the gum epithelium in both young and mature adults ($p=0.00002$). Exposure of a diode laser has a positive effect on the proliferative activity of epithelial cells and significantly increases the number of E-cadherin-positive intercellular contacts in the basal layer ($p=0.00002$), but does not affect the expression of p53 ($p=0.9$) in the gum epithelium in all age groups.

Conclusion. Exposure of a diode laser increases the proliferation/apoptosis index in the gingival epithelium and brings the expression of E-cadherin closer to the control values.

Keywords: gingival epithelium, chronic periodontitis, diode laser, Ki-67, p53, E-cadherin

Corresponding author: Ekaterina M. Speranskaya. E-mail: katerina_dumspirospero@mail.ru

For citation: Speranskaya E.M., Moskvichev E.V., Kostrova O.Yu., Luzikova E.M., Merkulova L.M., Struchko G.Yu. Intercellular junctions, proliferation, and apoptosis of the gingival epithelium in patients with periodontitis after laser therapy. Clin. exp. morphology. 2022;11(3):22–29 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.22-29.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 25.04.2022. **Received in revised form** 10.06.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Эпителиальный барьер десны напрямую зависит от процессов апоптоза, пролиферации и состояния межклеточных контактов эпителиоцитов. Целостность эпителиального пласта обеспечивается белком клеточной адгезии E-кадгерином, участвующим в образовании межклеточных контактов сцепляющего типа. Молекула E-кадгерина защищает эпителиоциты от апоптоза, регулируя в них процесс пролиферации [1].

При старении в клетках базального и шиповатого слоев ослабевают межклеточные контакты [2]. Анаэробные бактерии, такие как *Porphyromonas gingivalis*, также отрицательно влияют на процессы межклеточной адгезии в эпителиоцитах десны [3–6]. При воздействии LPS *P. gingivalis* экспрессия E-кадгерина в эпителиальных клетках десны человека снижается, что повышает риск проникновения патогенных липополисахаридов. Следовательно, происходит разрушение эпителиального барьера десны, что приводит к развитию хронического пародонтита [3].

В последнее десятилетие в качестве дополнительного метода лечения хронического пародонтита активно используется излучение диодного лазера [7, 8]. Отсутствие данных о стандартной процедуре в отношении режима, уровня энергии или периода применения диодных лазеров, используемых при лечении пародонта, обуславливает актуальность настоящего исследования [8, 9].

Межклеточное взаимодействие эпителиальных клеток десны, их пролиферативная и апоптотическая активность в различные возрастные периоды человека недостаточно изучены.

Цель исследования – провести сравнительный анализ пролиферативной и апоптотической активности эпителиоцитов десны человека и их межклеточного взаимодействия при хроническом воспалении, а также при терапии диодным лазером в возрастном аспекте.

Материалы и методы

Работа выполнена на биопсийном материале десны человека, полученном от 30 пациентов без воспаления пародонта и 30 пациентов с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести. Возраст пациентов, участвовавших в исследовании, составил от 20 до 60 лет. Биопсийный материал был взят у пациентов, обратившихся в Республиканскую стоматологическую поликлинику Минздрава Чувашии (Чебоксары). Перед биопсией всем пациентам проводили инфильтрационную анестезию 2% раствором лидокаина. Все участники исследования подписали информированное добровольное согласие.

Пациенты были разделены на две группы, каждая из которых подразделялась на три подгруппы (табл. 1).

Биопсию десны в контрольных подгруппах проводили после удаления зубов по ортопедическим, хирургическим и ортодонтическим показаниям. В подгруп-

Распределение пациентов по группам | Patient distribution in groups

Группа и возраст Group and age	Подгруппа и число пациентов (n) Subgroup and number of patients (n)
I (молодой возраст, 20–40 лет) I (young age, 20–40 years)	Контрольная подгруппа 1 (n=15) – пациенты без воспаления пародонта Control subgroup 1 (n=15) – patients without periodontal inflammation
	Подгруппа с воспалением пародонта 1 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести Periodontal inflammation subgroup 1 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis
	Подгруппа после лазеротерапии 1 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести после воздействия диодным лазером Subgroup after laser therapy 1 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis after diode laser exposure
II (зрелый возраст, 41–60 лет) II (mature age, 41–60 years)	Контрольная подгруппа 2 (n=15) – пациенты без воспаления пародонта Control subgroup 2 (n=15) – patients without periodontal inflammation
	Подгруппа с воспалением пародонта 2 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести Periodontal inflammation subgroup 2 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis
	Подгруппа после лазеротерапии 2 (n=15) – пациенты с хроническим пародонтитом легкой/средней степени тяжести после воздействия диодным лазером Subgroup after laser therapy 2 (n=15) – patients with mild/moderate chronic periodontitis after diode laser exposure

пах с воспалением пародонта и в подгруппах после лазеротерапии биопсийный материал был получен после проведения закрытого кюретажа. В подгруппах пациентов с воспалением пародонта кюретаж проводили после профессиональной гигиены полости рта в первое посещение (1-й день лечения).

Пародонтальные карманы в полости рта пациентов подгрупп после лазеротерапии обрабатывали диодным лазером Prometeu (Spectrum International, США) с длиной волны 940 нм, мощностью 0,5 Вт, импульсно-периодическим режимом 10 Гц без инициации оптического волокна в течение 1 минуты 30 секунд в первое посещение – 1-й день лечения (после проведения закрытого кюретажа пародонтального кармана), во второе посещение – 3-й день лечения и третье посещение – 7-й день лечения. Биопсийный материал у пациентов данных подгрупп был взят после проведения лазеротерапии и закрытого кюретажа в третье посещение.

Исследование проводили на базе патологоанатомического отделения Республиканского клинического онкологического диспансера Минздрава Чувашии (Чебоксары).

В ходе исследования применяли иммуногистохимический метод, компьютерную морфометрию, статистическую обработку данных.

1. Иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител:

- а) Ki-67 в разведении 1:400 (Dako, Дания);
- б) p53 в разведении 1:800 (Leica, Германия);
- в) E-кадгерин в готовом разведении (RTU) (Leica, Германия).

Для иммуногистохимического исследования материал фиксировали в забуференном 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов. Далее его заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной

4 мкм. Срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре +37°C 18 часов. Иммуногистохимическое окрашивание, демаскировку проводили на автостейнере Leica DM 4000B (Leica, Германия). Неиммунизированная кроличья сыворотка служила контролем иммуногистохимической реакции. В каждом образце была исследована экспрессия Ki-67, p53, E-кадгерина. Ядра клеток докрашивали гематоксилином.

2. Компьютерную морфометрию проводили с использованием лицензионных программ Leica application suite 3.6.0 (Leica, Германия) и программного обеспечения «Микроанализ» (ООО «Микроанализ», Россия).

В эпителии десны подсчитывали число эпителиоцитов с позитивной экспрессией к Ki-67 и p53 на 100 клеток базального и шиповатого слоев в 10 полях зрения при $\times 400$. В результате определяли процент иммунопозитивных к Ki-67 и p53 эпителиоцитов и индекс отношения пролиферации к апоптозу ($I_{p/A} = \text{Ki-67-положительных эпителиоцитов} / \text{p53-положительных эпителиоцитов}$) [10].

Экспрессию E-кадгерина оценивали качественно и количественно. Качественная оценка основана на интенсивности окрашивания плазмолеммы: 0 баллов – окрашивание отсутствует; 1 балл – слабое окрашивание в бежевый цвет; 2 балла – окрашивание средней интенсивности в коричневый цвет; 3 балла – сильное окрашивание в темно-коричневый цвет [11].

Количественную оценку E-кадгерин-положительных эпителиоцитов с сильным окрашиванием межклеточных контактов на 100 клеток базального и шиповатого слоев многослойного плоского эпителия десны проводили в 10 полях зрения при $\times 400$.

3. Статистическую обработку данных проводили с использованием лицензионного пакета программ

Statistica Application версия 10.0.228.2 (StatSoft, США). В каждой подгруппе рассчитывали среднее арифметическое и стандартное отклонение. Нормальность распределения данных определяли с использованием теста Колмогоров-Смирнова и Лиллиефорса. Для определения значимости различий между группами был использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим тестом высокосignификантных различий Тьюки $p \leq 0,05$ [12].

Дизайн данного исследования одобрен этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол № 20/06 от 16.06.2020).

Результаты

При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что распределение Ki-67-положительных эпителиоцитов в I и II группах было неоднородным (рис. 1). Так, в группе пациентов молодого возраста (I группа, 20–40 лет) процент пролиферирующих клеток эпителия в подгруппах был распределен следующим образом: контрольная подгруппа 1 – 28,3% (рис. 1 А); подгруппа с воспалением пародонта 1 – 22,8% (рис. 1 В); подгруппа после лазеротерапии 1 – 38,5% (рис. 1 С).

Следовательно, в молодом возрасте (20–40 лет) при хроническом пародонтите снижается пролиферативная активность эпителиоцитов десны в 1,2 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой контроля 1. Процент пролиферирующих эпителиальных клеток после терапии диодным лазером увеличивается в 1,7 раза по сравнению с подгруппой с воспалением пародонта 1 ($p=0,00002$).

Процентное содержание Ki-67-положительных клеток в эпителии десны группы пациентов зрелого возраста (II группа, 41–60 лет) было следующим (рис. 2 А–С): контрольная подгруппа 2 – 26,9%; подгруппа с воспалением пародонта 2 – 18,6%; подгруппа после лазеротерапии 2 – 37,7%.

Таким образом, у пациентов зрелого возраста при хроническом пародонтите (подгруппа с воспалением пародонта 2) уменьшается процент пролиферирующих клеток базального и шиповатого слоев в 1,4 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой без воспаления пародонта (контрольная подгруппа 2). В образцах десны пациентов 41–60 лет после лазеротерапии процент Ki-67-положительных эпителиальных клеток достоверно увеличивается в 2 раза ($p=0,00002$) по сравнению с подгруппой с хроническим пародонтитом.

Белок p53 в образцах десны преимущественно локализовался в базальном и шиповатом слоях много-

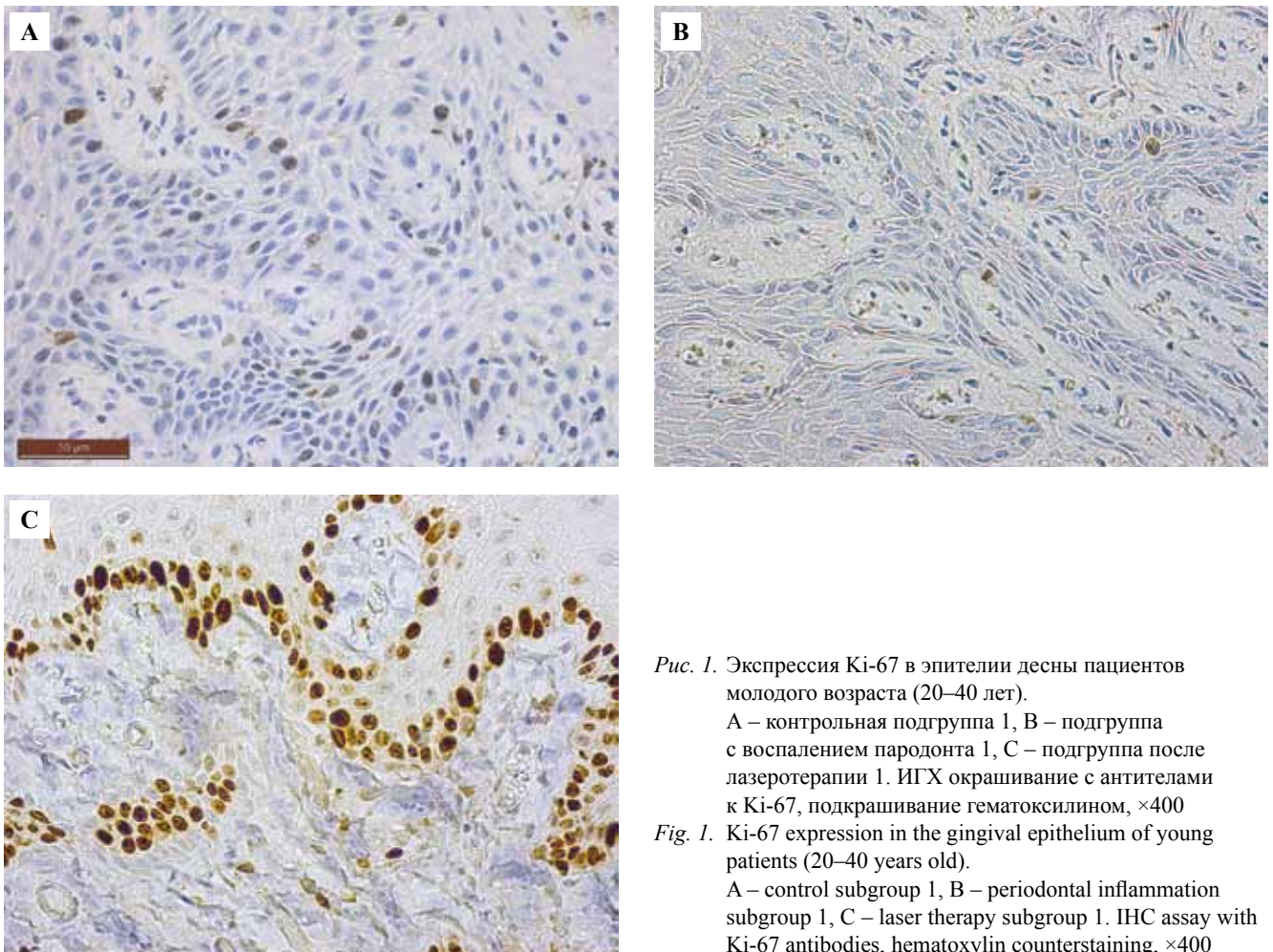


Рис. 1. Экспрессия Ki-67 в эпителии десны пациентов молодого возраста (20–40 лет).

А – контрольная подгруппа 1, В – подгруппа с воспалением пародонта 1, С – подгруппа после лазеротерапии 1. ИГХ окрашивание с антителами к Ki-67, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 1. Ki-67 expression in the gingival epithelium of young patients (20–40 years old).

А – control subgroup 1, В – periodontal inflammation subgroup 1, С – laser therapy subgroup 1. IHC assay with Ki-67 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

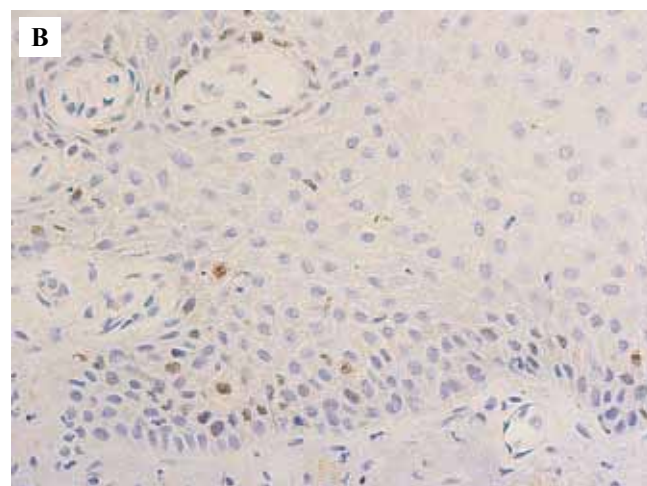
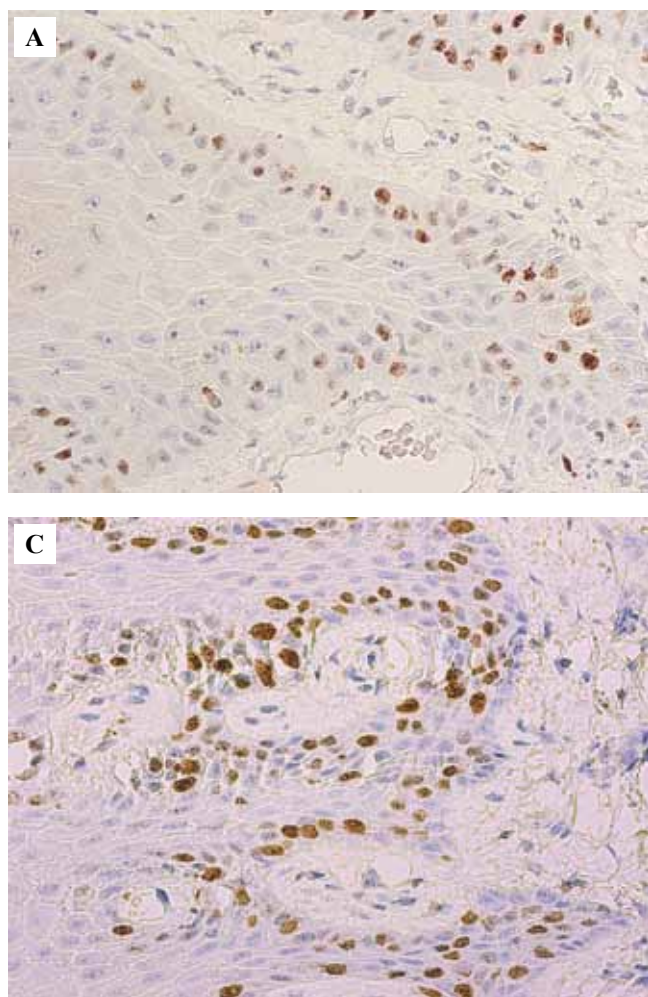


Рис. 2. Экспрессия Ki-67 в эпителии десны пациентов среднего возраста (41–60 лет).
А – контрольная подгруппа 2, В – подгруппа с воспалением пародонта 2, С – подгруппа после лазеротерапии 2. ИГХ окрашивание с антителами к Ki-67, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 2. Ki-67 expression in the gingival epithelium of middle-aged patients (41–60 years old).
А – control subgroup 2, В – periodontal inflammation subgroup 2, С – laser therapy subgroup 2. IHC assay with Ki-67 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

слоистой плоского эпителия. Выявлено неравномерное распределение данного маркера в I (молодой возраст) и II (зрелый возраст) группах (рис. 3). В образцах десны пациентов молодого возраста наблюдали отсутствие достоверно значимых изменений экспрессии маркера p53 в подгруппах: контрольная подгруппа 1 – 12,8%; подгруппа с воспалением пародонта 1 – 13,5%; подгруппа после лазеротерапии 1 – 13,2% ($p=0,6$).

В группе пациентов 41–60 лет (II группа) имеют место различия в подгруппах по степени экспрессии p53: контрольная подгруппа 2 – 17,5%; подгруппа с воспалением пародонта 2 – 8,5%; подгруппа после лазеротерапии 2 – 8,8%.

Таким образом, наивысшую степень экспрессии маркера p53 наблюдали у пациентов зрелого возраста без воспаления пародонта. В образцах десны с хроническим пародонтитом пациентов 41–60 лет процент p53 положительных эпителиоцитов достоверно уменьшается в 2 раза ($p=0,00002$). В базальном и шиповатом слоях после терапии диодным лазером наблюдали незначительное увеличение экспрессии p53 в эпителиоцитах десны ($p=0,9$).

Экспрессия маркера межклеточной адгезии (Е-кадгерин) имела отличия между группами пациентов молодого и зрелого возраста. Так, в I группе (20–40 лет)

в базальном и шиповатом слоях многослойного эпителия десны распределение Е-кадгерин-положительных межклеточных контактов с интенсивной окраской в подгруппах неоднородно. При хроническом пародонтите (подгруппа с воспалением пародонта 1) процент межклеточных контактов с положительной окраской

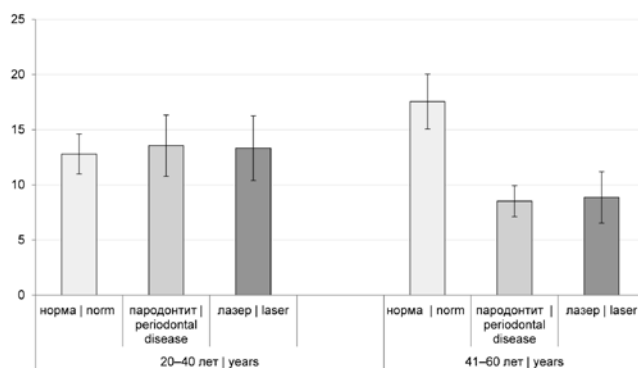


Рис. 3. Экспрессия p53 в эпителии десны пациентов молодого и среднего возраста. ИГХ окрашивание с антителами к p53, подкрашивание гематоксилином, $\times 400$

Fig. 3. p53 expression in the gingival epithelium of young and middle-aged patients. IHC assay with p53 antibodies, hematoxylin counterstaining, $\times 400$

Таблица 2 | Table 2

Е-кадгеринположительные межклеточные контакты в базальном и шиповатом слоях десны пациентов в I и II группах (M ± SD) | E-cadherin-positive intercellular contacts in basal and spiked gingival layers of patients in groups I and II (M ± SD)

Группа group	Подгруппа Subgroup / количество измерений, n number of measurements, n	Базальный слой, усл. ед. basal layer, cond. units	p, базальный слой basal layer	Шиповатый слой, усл. ед. spiked layer, cond. units	p, шиповатый слой spiked layer
I	Контрольная подгруппа 1 Control subgroup 1 / (n=150)	9,7±0,9	*p=0,00002 **p=0,000034	13,3±1,7	*p=0,00002 **p=0,43
	Подгруппа с воспалением пародонта 1 Inflammatory subgroup Periodontal 1 / (n=150)	7,3±0,8		8,8±0,5	
	Подгруппа после лазеротерапии 1 Laser therapy subgroup 1 / (n=150)	8,7±0,7		9,38±0,9	
II	Контрольная подгруппа 2 Control subgroup 2 / (n=150)	7,5±0,6	***p=0,00002 ****p=0,00002	9,48±0,7	***p=0,00002 ****p=0,00002
	Подгруппа с воспалением пародонта 2 Inflammatory subgroup Periodontal 2 / (n=150)	2,5±0,3		6,5±0,4	
	Подгруппа после лазеротерапии 2 Laser therapy subgroup 2 / (n=150)	5,4±0,4		8,5±0,7	

- * – сравнение подгруппы контроля 1 с подгруппой с воспалением пародонта 1
 ** – сравнение подгруппы с воспалением пародонта 1 с подгруппой после лазеротерапии 1
 *** – сравнение подгруппы контроля 2 с подгруппой с воспалением пародонта 2
 **** – сравнение подгруппы с воспалением пародонта 2 с подгруппой после лазеротерапии 2
 * – comparison of control subgroup 1 with subgroup with periodontal inflammation 1
 ** – comparison of periodontal inflammation subgroup 1 with laser therapy subgroup 1
 *** – comparison of control subgroup 2 with subgroup with periodontal inflammation 2
 **** – comparison of periodontal inflammation subgroup 2 with laser therapy subgroup 2

уменьшается в базальном слое в 1,3 раза, в шиповатом слое – в 1,5 раза по сравнению с контрольной подгруппой 1. При сравнении образцов десны пациентов подгруппы после лазеротерапии 1 с подгруппой с воспалением пародонта 1 показатели экспрессии Е-кадгерина в межклеточных контактах в базальном слое достоверно повышаются в 1,2 раза. В шиповатом слое в сравниваемых подгруппах статистически достоверная значимая разница не обнаружена (табл. 2).

В образцах десны пациентов зрелого возраста с воспалением пародонта уменьшается процент Е-кадгеринположительных межклеточных контактов с сильным окрашиванием в базальном слое в 3 раза,

в шиповатом слое – в 1,4 раза по сравнению с контрольной подгруппой 2. После лазеротерапии наблюдали повышение процента интенсивно окрашенных межклеточных контактов в 2,1 раза в базальном слое и в 1,3 раза в шиповатом (табл. 2).

Индекс отношения пролиферации и апоптоза свидетельствует об интенсивности регенеративных процессов в ткани десны. В своем исследовании мы наблюдали снижение интенсивности регенерации при пародонтите в молодом возрасте в 1,2 раза ($p=0,01$) и повышение в зрелом возрасте в 1,5 раза ($p=0,0004$) (рис. 4). При лечении диодным лазером отмечали увеличение интенсивности регенерации в молодом возрасте в 1,7 раза ($p=0,0003$), в зрелом – в 2,9 раза ($p=0,00002$) по сравнению с хроническим пародонтитом.

Обсуждение

В нашем исследовании проведен анализ изменений процессов пролиферации и апоптоза, а также числа Е-кадгеринположительных межклеточных контактов в эпителиоцитах десны человека в возрастном аспекте.

В результате проведенного исследования установлено, что в образцах десны пациентов без воспаления пародонта возраст не влияет на число пролиферирующих эпителиоцитов ($p=0,03$). Также установлено, что в данных образцах количество Е-кадгеринположительных межклеточных контактов в эпителии десны пациентов 20–40 лет достоверно больше в базальном слое – в 1,3 раза ($p=0,00002$) и в шиповатом слое – в 1,4 раза

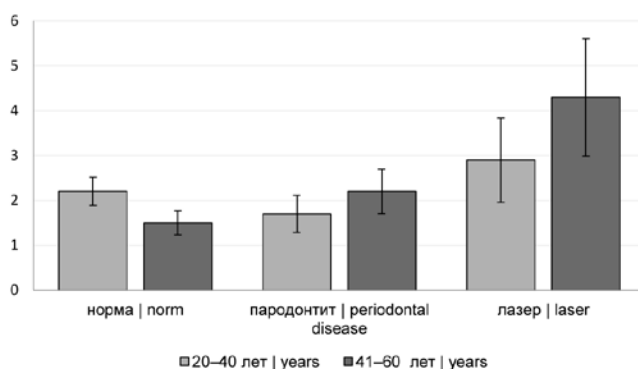


Рис. 4. Индекс отношения пролиферации и апоптоза ($I_{p/a}$) в исследуемых группах

Fig. 4. Index of the ratio of proliferation and apoptosis ($I_{p/a}$) in the studied groups

($p=0,00002$), чем у пациентов 41–60 лет. Высокая экспрессия Е-кадгерина в здоровых деснах напрямую коррелирует с барьерными свойствами эпителия десны [12, 13].

Сниженная интенсивность пролиферации эпителиоцитов при пародонтите сочетается со сниженной экспрессией Е-кадгерина в базальном и шиповатом слоях эпителия десны, что, вероятно, объясняет снижение барьерных свойств эпителия при пародонтите у людей как молодого, так и зрелого возраста ($p=0,00002$). Экспрессия Е-кадгерина снижается при воспалении эпителия десны [14], что приводит к потере межклеточных соединений [15]. Полученные нами данные частично расходятся с результатами исследования Р. Preethi et al., в котором низкая экспрессия белка Ki-67 наблюдалась в ткани здоровых десен, высокая – при хроническом пародонтите. Процентное соотношение Ki-67-положительных эпителиоцитов пациентов со здоровым пародонтом (18–26 лет) в данном исследовании совпадает с нашими результатами в группе пациентов молодого возраста без воспаления пародонта. В работе Р. Preethi пациенты с пародонтитом не были разделены на возрастные группы, возраст участников исследования варьировал от 28 до 67 лет [16].

Диодный лазер, усиливая пролиферацию эпителиоцитов десны независимо от возраста человека, достоверно увеличивает количество Е-кадгерин-позитивных межклеточных контактов в базальном слое эпителия молодых пациентов ($p=0,00003$), а также в базальном и шиповатом слоях в эпителии пациентов зрелого возраста ($p=0,00002$).

В группе пациентов без воспаления пародонта число р53-положительных эпителиоцитов десны в зрелом возрасте достоверно выше, чем в молодом, в 1,4 раза ($p=0,00002$).

Обращает на себя внимание тот факт, что в молодом возрасте ни пародонтит ($p=0,6$), ни воздействие диодного лазера ($p=0,9$) значимо не влияют на численность р53-положительных эпителиоцитов. Напротив, в зрелом возрасте при пародонтите достоверно уменьшается количество р53-положительных эпителиоцитов ($p=0,00002$), но при воздействии диодным лазером достоверные изменения не проявляются ($p=0,9$). Белок р53 ингибирует процесс воспаления, а его потеря вызывает развитие воспалительных реакций [17]. Следовательно, можно предположить, что лазерное излучение не влияет на процесс апоптоза в эпителиальных клетках десны при трехкратном воздействии на пародонтальные карманы диодным лазером с длиной волны 940 нм.

Заключение

Снижение индекса пролиферации/апоптоза и уменьшение количества Е-кадгерина в межклеточных контактах эпителиоцитов свидетельствуют о деструктивных процессах в ткани десны. Терапия хронического пародонтита диодным лазером увеличивает индекс

пролиферации/апоптоза в эпителии десны и приближает показатели экспрессии Е-кадгерина к контрольным значениям у пациентов как молодого, так и зрелого возраста.

Результаты нашего исследования могут быть использованы при лечении пациентов с хроническим пародонтитом диодным лазером в различные возрастные периоды, а также в экспериментальных исследованиях для оценки регенеративных процессов в тканях.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.М. Сперанская.

Сбор и обработка материала – Е.М. Сперанская, Е.В. Москвичев, Е.М. Лузикова.

Написание текста – Е.М. Сперанская, О.Ю. Кострова, Л.М. Меркулова.

Редактирование – Е.М. Сперанская, Е.В. Москвичев, Г.Ю. Стручко.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Е.М. Speranskaya.

Collected the data and performed the analysis – Е.М. Speranskaya, Е.В. Moskvichev, Е.М. Luzikova.

Wrote the paper – Е.М. Speranskaya, О.Ю. Kostrova, L.M. Merkulova.

Edited the manuscript – Е.М. Speranskaya, Е.В. Moskvichev, G.Yu. Struchko.

Литература/References

1. Zasadkevich YM, Brilliant AA, Sazonov SV. Role of cadherins in health and in developing breast cancer. *Arkh Patol.* 2015;77(3):57–64. DOI: 10.17116/patol201577357-64.
2. Wael Youssef E. Age-dependent differential expression of apoptotic markers in rat oral mucosa. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(11):3245–50. DOI: 10.31557/APJCP.2018.19.11.3245.
3. Yost S, Duran-Pinedo AE, Krishnan K, Frias-Lopez J. Potassium is a key signal in host-microbiome dysbiosis in periodontitis. *PLoS Pathog.* 2017; 13(6):e1006457. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006457.
4. Bugueno IM, Batool F, Keller L, Kuchler-Bopp S, Benkirane-Jessel N, Huck O. Porphyromonas gingivalis bypasses epithelial barrier and modulates fibroblastic inflammatory response in an in vitro 3D spheroid model. *Sci Rep.* 2018;8(1):14914. DOI: 10.1038/s41598-018-33267-4.
5. Groeger S, Meyle J. Oral mucosal epithelial cells. *Front Immunol.* 2019;10:208. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00208.
6. Walkenhorst MS, Reyes L, Perez G, Progulske-Fox A, Brown MB, Phillips PL. A uniquely altered oral microbiome composition was observed in pregnant rats with Porphyromonas gingivalis induced periodontal disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:92. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00092.
7. Yadwad KJ, Veena HR, Patil SR, Shivaprasad BM. Diode laser therapy in the management of chronic periodontitis – A clinico-microbiological study. *Interv Med Appl Sci.* 2017;9(4):191–8. DOI: 10.1556/1646.9.2017.38.
8. Malgikar S, Reddy SH, Sagar SV, Satyanarayana D, Reddy GV, Josephin JJ. Clinical effects of photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to scaling and root planing of chronic periodontitis: A split-mouth randomized controlled clinical trial. *Indian J Dent Res.* 2016;27(2):121–6. DOI: 10.4103/0970-9290.183130.

9. *Uslu MÖ, Eltas A, Marakoğlu İ, Dündar S, Şahin K, Özercan İH.* Effects of diode laser application on inflammation and mpo in periodontal tissues in a rat model. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170266. DOI: 10.1590/1678-7757-2017-0266.
10. *Кудинова Е.А., Боженко В.К., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л., Захаренко М.В., Макарова М.В. и др.* Оценка соотношения пролиферации и апоптоза в ткани молочной железы в норме и при гиперпролиферативных процессах. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России.* 2019;19(2):25–39. Доступно по ссылке: http://vestnik.mrcr.ru/vestnik/v19/docs/kudinova_v2.pdf (получено 25.08.22). *Kudinova EA, Bozhenko VK, Kulnich TM, Dzhikiya EL, Zakharchenko MV, Makarova MV et al.* Evaluation of the ratio of proliferation and apoptosis in breast tissue in normal and hyperproliferative processes. *Vestnik (Herald) of the Russian Scientific Center of Roentgen Radiology.* 2019;19(2):25–39 (In Russ.). Available from: http://vestnik.mrcr.ru/vestnik/v19/docs/kudinova_v2.pdf (assessed 25.08.22)
11. *Новикова И.А., Кум О.И.* Особенности экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода – E-кадгерина и ZEB1 – при колоректальном раке. *Исследования и практика в медицине.* 2021;8(2):23–33. DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-2-2.
Novikova IA, Kit OI. Expression of epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin and ZEB1 in colorectal cancer. *Research and Practical Medicine Journal.* 2021;8(2):23–33 (In Russ.). DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-2-2.
12. *Arun R, Hemalatha R, Arun KV, Kumar T.* E-cadherin and CD1a expression in gingival epithelium in periodontal health, disease and post-treatment. *Indian J Dent Res.* 2010;21(3):396–401. DOI: 10.4103/0970-9290.70811.
13. *Abe-Yutori M, Chikazawa T, Shibasaki K, Murakami S.* Decreased expression of E-cadherin by Porphyromonas gingivalis-lipopolysaccharide attenuates epithelial barrier function. *J Periodontal Res.* 2017;52(1):42–50. DOI: 10.1111/jre.12367.
14. *Oh C, Kim HJ, Kim HM.* Vitamin D maintains E-cadherin intercellular junctions by downregulating MMP-9 production in human gingival keratinocytes treated by TNF- α . *J Periodontal Implant Sci.* 2019;49(5):270–86. DOI: 10.5051/jpis.2019.49.5.270.
15. *Arora H, Madapusi BT, Ramamurti A, Narasimhan M, Periasamy S, Rao SR.* Immunohistochemical localization of epithelial mesenchymal transition markers in Cyclosporine a induced gingival overgrowth. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(8):ZC48–52. DOI: 10.7860/JCDR/2016/20808.8271.
16. *Preethi PL, Rao SR, Madapusi BT, Narasimhan M.* Immunolocalization of Ki-67 in different periodontal conditions. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18(2):161–5. DOI: 10.4103/0972-124X.131315.
17. *Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A.* Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules.* 2020;10(3):420. DOI: 10.3390/biom10030420.

Информация об авторах

Екатерина Михайловна Сперанская – старший преподаватель, аспирант кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Евгений Васильевич Москвичев – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова, заведующий патологоанатомическим отделением Республиканского клинического онкологического диспансера Минздрава Чувашии.

Ольга Юрьевна Кострова – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Елена Михайловна Лузикова – кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Лариса Михайловна Меркулова – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Глеб Юрьевич Стручко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией ЧГУ им. И.Н. Ульянова.

Author information

Ekaterina M. Speranskaya – Senior Lecturer, Postgraduate Student, Department of the General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0003-0946-3434>

Evgenij V. Moskvichev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University, Head of the Pathology Department, Republican Clinical Oncology Dispensary of the Ministry of Health of Chuvashia.

<https://orcid.org/0000-0002-2850-5487>

Olga Yu. Kostrova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of the Instrumental Diagnostics with Phthsiology Course, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>

Elena M. Luzikova – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0002-1217-0985>

Larisa M. Merkulova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>

Gleb Yu. Struchko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of the Normal and Topographic Anatomy with Operative Surgery, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>