

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ УЧАСТИЯ ГРИБКОВОЙ МИКРОФЛОРЫ В ПЕРИАПИКАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Киевский медицинский университет УАНМ

Современная эндодонтия располагает огромным арсеналом новых методик, техники и инструментария, однако это не позволяет достичь полного успеха в терапии периапикальной патологии. Основной причиной неудач эндодонтического лечения являются микробные ассоциации биопленки корневого канала, ликвидация которых порой затруднена и невозможна даже современными ирригационными растворами [10,14]. Давно доказана роль анаэробов при периодонтите, однако грибковой микрофлоре практически не уделено внимание [6,15]. Поскольку отмечается рост фокальных грибковых инфекций в последнее десятилетие, то данный аспект нас очень заинтересовал [12,13].

Нами обнаружено наличие грибковой микрофлоры при периодонтите в 67% наблюдений [9]. Обнаружение грибковой микрофлоры в тканях служит неоспоримым доказательством участия таковой в развитии периапикального процесса, поэтому использование морфологического метода исследования является обязательным [1,2,8,12].

Целью данной работы явилось изучение морфологической характеристики одонтогенных очагов при хронических формах периодонтита, обусловленных бактериально-грибковыми ассоциациями.

Материал и методы. Было изучено 40 микропрепаратов от пациентов с хроническими формами периодонтита. Исследовали срезы из материала околозубных очагов инфекции (гранулем, кистогранулем, кист). Срезы готовили стандартным способом и окрашивали гематоксилин-эозином

Для специфической окраски на грибы использовали метод Шабдаша [7, 11]. Принадлежность околозубных очагов инфекции (ООИ) к гранулеме, кистогранулеме, кисте определяли соответственно классификации И.И. Давиденко [5]. Материал делили на две равные части. Одну часть подвергали микробиологическим исследованиям, вторую — гистологическим. Микробиологические методы проводили по стандартным методикам, основной задачей было определение и идентификация грибковой микрофлоры, в частности, грибов рода *Candida*.

Результаты исследования и их обсуждение. Нами было обследовано 40 пациентов с хроническими деструктивными формами периодонтита. У пациентов с бессимптомным течением заболевания в 11 (36,7%) препаратах морфологическая картина соответствовала сложной гранулеме. В таких препаратах были отмечены участки отеочной фиброзной ткани с очаговым некрозом. Имелись очаги грануляционной ткани, частично окруженные растущим пластом многослойного плоского эпителия. Лейкоцитарная инфильтрация состояла из клеток лимфоцитарного ряда, макрофагов и нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов, что является свидетельством воспалительного процесса [4]. Вышеописанная микроскопическая картина указывала на наличие кистогранулемы с признаками активного воспаления. Периферия таких ООИ была обильно васкуляризирована и состояла из широкого слоя волокнистой оформленной соединительной ткани, что демонстрировало все признаки сформированной фиброзной капсулы.

Обострение периодонтита было отмечено у 13 (43,3%) пациентов, при этом отмечали преобладание общей симптоматики, в частности головные боли, явления интоксикации, субфебрилитет. В препаратах этих пациентов наблюдали картину простой гранулемы с явно выраженным активным воспалительным процессом. В центре таких ООИ были видны разнообразные клетки, преимущественно фибробласты, плазматические клетки, моноциты и сегментоядерные нейтрофилы. Имелась незрелая грануляционная ткань, без резкой границы переходящая в формирующуюся фиброзную капсулу.

На стадии ремиссии наблюдали нетипичные симптомы. Присутствовали жалобы на чувство ломоты, тяжести, распирания в причинном зубе, ощущения зуда слизистой оболочки в проекции верхушки корня, парестезии. Рентгенологическая картина характеризовалась преобладанием очагов средних и больших размеров с выраженной интенсивностью тени, четкими контурами. Гистологически при этом наблюдали картину радикулярной кисты (6 (20%) наблюдений).

У пациентов без грибковой микрофлоры в ООИ в препаратах (n=10) имелись очаги лимфоцитарной инфильтрации и участки грануляций. Сегментоядерные нейтрофилы и плазмциты встречались редко. В таких очагах воспалительная реакция была выражена слабо. Следует отметить явное преобладание грануляционной ткани.

Таким образом, при окраске гематоксилин-эозином патогистологическая картина препаратов соответствовала классической. Од-

нако следует отметить, что в ООИ, где микробиологически были обнаружены грибы рода *Candida*, преобладала картина сложных эпителиальноклеточных гранулем, характеризующихся выраженным активным воспалением. Об этом свидетельствовала значительная инфильтрация грануляционной ткани сегментоядерными нейтрофилами, макрофагами и плазматическими клетками.

Изучив клинические особенности периодонтита, обусловленного наличием грибковой микрофлоры, микробиологическую характеристику ООИ было необходимо гистологическое подтверждение участия грибов рода *Candida* в процессе. Исследование микропрепаратов, окрашенных гематоксилин-эозином, оказалось малоинформативным в отношении грибов, так как их обнаружение требует специальной окраски. Наиболее приемлемой оказалась окраска по методу Шабдаша.

При специализированной окраске на грибы по Шабдашу в основной группе пациентов в 20 (66,7%) препаратах содержались клетки гриба, у 13 (65%) из 20 пациентов имелись все формы вегетации, включая многочисленные

нити псевдомицелия, у 6 (30%) - почкующиеся клетки и бластоспоры.

У пациентов группы сравнения (10 препаратов) не выявляли ни клеток грибов, ни мицелия.

Грибы рода *Candida* при специфической окраске выделялись на фоне клеток многослойного плоского эпителия, фибробластов, нейтрофилов ярко малиновой интенсивной окраской и крупными размерами клетки (рис. 1).

Бластоспоры располагались, как правило, на фоне изолированных эпителиоцитов, в местах соприкосновения бластоспор с клеточной мембраной отмечались усиление окраски цитоплазмы, ее уплотнение и появление зернистости, образование своеобразных бухточек и вдавлений, края клеток становились неровными. Между бластоспорами и цитоплазмой иногда прослеживались светлые промежутки. Эти зоны просветления, возможно, являются результатом выделения грибом протеолитических ферментов. На поверхности отдельных клеток можно было видеть адгезию множественных бластоспор.

Почкующиеся клетки гриба располагались преимущественно на поверхности клеток, в таких случаях эпителиальные клетки,

фибробласты и фиброциты утрачивали четкие очертания, отмечалась прерывистость клеточных границ, интенсивность окраски клеток снижалась, появлялись признаки кариолизиса и цитолиза. Это свидетельствовало об активности процесса и клинически соответствовало обострению периодонтита.

При наличии в препаратах псевдомицелия наблюдались деструкция клеток, утрата четких очертаний и бледное окрашивание. Псевдомицелиальные нити гриба пронизывали всю толщу грануляционной ткани, выделяясь на фоне клеточных элементов более интенсивной пурпурной окраской (рис. 2). Псевдомицелий располагался также в толще коллагеновых волокон. Это является свидетельством глубокой инвазии гриба. Наблюдался, по-видимому, активный рост возбудителя, что характеризовалось образованием длинных нитей псевдомицелия, способствующего выраженным деструктивно-некротическим изменениям в тканях.

Адгезия гриба к поверхности эпителиоцитов, высокая концентрация на ограниченном участке способствовали проникновению гриба через цитоплазматические мембраны, что вызывало деструкцию клеток и их усиленную эксфолиацию. Иногда ткань, подвергшаяся инвазии, находилась в состоянии некроза, ее окружал вал из нейтрофилов.

Известно, что субстратами для протеиназ *Candida* служат белки эндотелия, базальных мембран, в том числе коллаген, фибронектин. Активность протеиназ способствует пенетрации гриба через слизистые оболочки, ткани [12]. Все это усугубляется на фоне неэффективного фагоцитоза, как было показано выше.

Таким образом, взаимодействие между клетками гриба и тканями ООИ является не только показателем степени агрессии гриба, но и доказательством активного участия *Candida* при периодонтите.

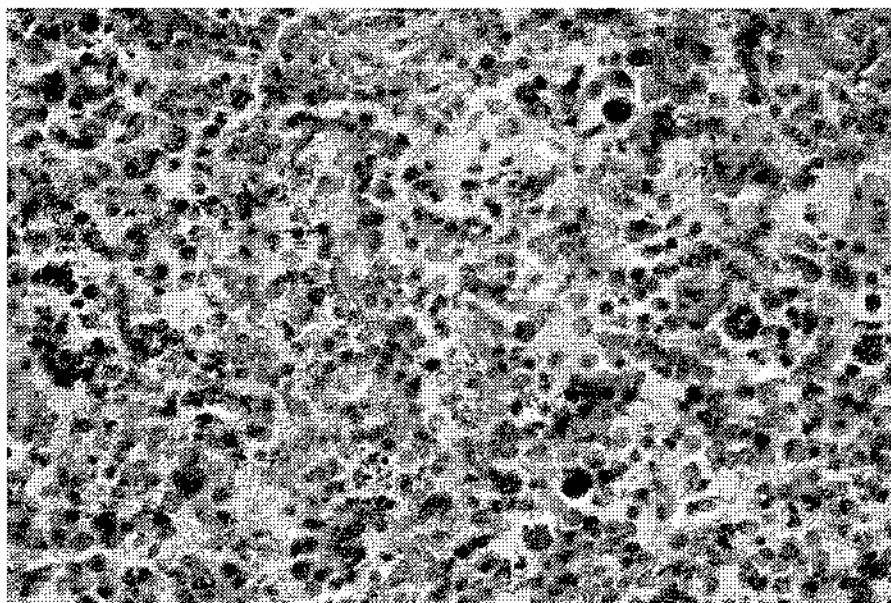


Рис. 1. Микрофотография участка гранулемы пациента Ч., 1987 г., амбулаторная карта № 08К. Диагноз: обострение хронического гранулематозного периодонтита 36 зуба. Клетки грибов рода *Candida* в тканях ООИ: 1 - клетки гриба; 2 - миофибробласты; 3 - плазматическая клетка; 4 - нейтрофил; 5 - макрофаг. Окраска: по Шабдашу (кислый фуксин); увеличение: объектив 10, окуляр 40

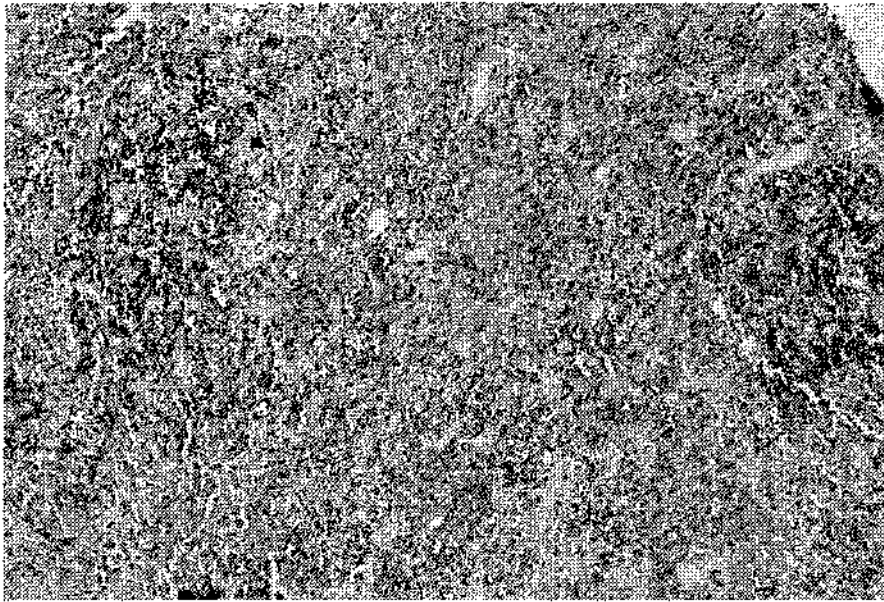


Рис. 2. Микрофотография участка гранулемы пациентки Т., 1969 г., амбулаторная карта № 03К. Диагноз: обострение хронического гранулематозного периодонтита 15 зуба. Псевдомицелий грибов рода *Candida* в тканях ООИ: 1 - нити псевдомицелия; 2- коллагеновые волокна; 3- участки грануляционной ткани. Окраска: по Шабдашу (кислый фуксин). Увеличение: объектив 10, окуляр 10.

Следует отметить, что морфологическая картина ООИ с грибковой микрофлорой отличалась выраженным активным воспалением, не всегда проявляющимся клинически. Преобладание в таких препаратах нейтрофилов свидетельствует о хроническом гнойном воспалении, что отражено у Вайндруха [3]. Инвазивность грибковой инфекции доказывает необходимость проведения специфической терапии такого процесса.

Вывод.

Доказательством активного участия *Candida* в развитии периодонтита является взаимодействие между клетками гриба и тканями околозубных очагов инфекции: глубокая инвазия клеток гриба, нитей псевдомицелия, бластоспор в грануляционные ткани и коллагеновые волокна одонтогенного очага.

Литература

1. Быков В.Л. Патогенез и морфогенез кандидоза при иммунодепрессии // Архив патологии. — 1990. — №11. — С.67-70.
2. Прилепская В.Н. Вагинальный кандидоз / [В.Н. Прилепская, А.С. Анкирская, Г.Р. Байрамова, В.В. Муравьева]. — М., 2007. — 260 с.
3. Вайндрух С.А. Основы рентгенодиагностики у стоматологии / С.А. Вайндрух. — К.: Держ. мед. вид-во УРСР, 1962. — 215 с.
4. Воспаление; под ред. Серова В.В., Паукова В.С. — М.: Медицина, 1995. — 640 с.
5. Давиденко И.И. Пластические свойства периодонта при хронических верхушечных периодонтитах / И.И. Давиденко // Актуальные вопросы стоматологии: тезисы докл. респ. науч.-практ. конф. врачей-стоматологов, посвящ. 50-летию Полтавского мед. стомат. ин-та. — Полтава, 1981. — С.20-21.
6. Ковалев Е.В. Воспаление периодонта: учебн. пособ. по терапевтической стоматологии / Ковалев Е.В., Шундрик М.А., Марченко И.Я. — Полтава: Дивосвіт, 2006. — 172 с.
7. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия; пер. с англ.; под ред. В.В. Португалова / Р. Лилли. — М.: Мир, 1969. — 645 с.
8. Липова В.А. Роль цитологического исследования мазков при кандидозном вульвовагините / Липова В.А., Хачатурян Р.Е. // Архив патологии. — 1990. — №11. — С.20-22.
9. Лукьянова Н.С. Особенности клиники и лечение периодонтита, вызванного бактериально-грибковыми ассоциациями: дис. кан. мед. наук: 14.01.22. — Симферополь, 2005. — 179 с.
10. Педорез А.П. Предсказуемая эндодонтия / Педорез А.П., Пиляев А.Г., Педорез Н.А. — Донецк: Норд-Пресс, 2006. — 645 с.
11. Практикум по гистологии, цитологии и эмбриологии: учебн. пособ.; под ред. Н.А. Юриной, А.И. Радостной. — М.: Изд-во УДН, 1989. — 253 с.
12. Сергеев А. Ю. Кандидоз (Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, диагностика и лечение) / Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. — М.: Триада-Х, 2000. — 472 с.
13. Agatensi L. Vaginal pathogenic and proteolytic *Candida* species in outpatients attending a gynaecology clinic / L. Agatensi, F. Franchi, F. Mondello // J. Clin. Pathol. — 1991. — Vol.44, N10. — P.826–830.
14. Rello J. Epidemiology and etiology of fungal infections in the ICU In book: The management of fungal infection in the ICU / J. Rello, E. Diaz / Ed. J. Vincent — 1999. — P.11–22.
15. Waltimo T.M. In vitro susceptibility of *Candida albicans* isolates from apical and marginal periodontitis to common antifungal agents / T.M. Waltimo, D. Orstavik, J.H. Meurman // Oral Microbiol Immunol. — 2000. — Vol.15, №4. — P.245–258.

Стаття надійшла 6.12.2010 р.

Резюме

У доступній нам літературі немає інформації про морфологічну картину навколозубних вогнищ інфекції при періодонтиті, зумовленому грибовою мікрофлорою. Було вивчено 40 мікропрепаратів від пацієнтів із хронічними формами періодонтиту. Для специфічного забарвлення на гриби використовували метод Шабаша.

Наше дослідження показує, що доказом активної участі грибів роду *Candida* в розвитку періодонтиту є взаємодія між клітинами гриба й тканинами навколозубних вогнищ інфекції: глибока інвазія клітин гриба, ниток псевдоміцелію, бластоспор у грануляційній тканині й колагенові волокна одонтогенного вогнища.

Ключові слова: періодонтит, одонтогенні вогнища інфекції, *Candida*, грибова мікрофлора.

Summary

Summary

The available literature doesn't give any information on morphological view of odontogenic infection niduses at the apical periodontitis caused by fungoid microflora.

Forty micropreparations from the patients with chronic forms of periodontitis have been studied. The method of Shabadash has been used for specific fungus' marking.

The result of our research shows that the evidence of active participation of *Candida* fungus in the periodontitis development is the interaction between fungus cells and the tissues of odontogenic infection centers: the deep invasion of fungus cells, pseudomycelium strings, blastospory in the granulation tissues and collagenous odontogenic center fibres.

Key words: periodontitis, odontogenic infection sources, *Candida*, fungoid microflora.