

**ДОСЛІДЖЕННЯ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦІЙНОЇ АКТИВНОСТІ ОКІСТЯ
НИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ КІСТОК, УРАЖЕНИХ КІСТАМИ РІЗНОГО
ГЕНЕЗУ**

**STUDY OF OSTEOREGENERATIVE ACTIVITY OF PERIOSTEUM OF
MANDIBULAR BONES AFFECTED BY CYSTS OF DIFFERENT GENESIS**

Олег Мокрик (Oleg Mokryk)¹, Ігор Ломницький (Ihor Lomnytsky)¹

¹ ТОВ «Львівський медичний інститут», Львів, Україна (Lviv Medical Institute LLC, Lviv, Ukraine)

Abstract. In response to the prolonged increasing influence of the radicular cyst, there is an adaptive compensatory reaction of the adjacent bone tissue and periosteum located in the area of damage. However, in the available professional literature there is no data on the activity of the marker of osteoregeneration-alkaline phosphatase in the periosteum of the mandible, which is in the growth zone of osteoblastoclastoma. The purpose of the study: to study in a comparative aspect osteoregenerative activity of the periosteum of the mandibular bones affected by radicular cyst and cystic form of osteoblastoclastoma by using the histochemical method. Histochemical studies were performed in 10 patients with large radicular cysts (d>3.0 cm) located on the mandibles – 1st clinical group, and in 9 patients with cystic forms of osteoblastoclastomas, localized on the mandibles - 2nd clinical group. Determination of alkaline phosphatase in periosteal

tissues of the mandible was performed by the method of simultaneous azo combination according to Kaplow. Prepared samples of histochemicals were studied under a light microscope, the received images were photographed. Digitized images of histochemicals were analyzed using the computer program ImageJ. The accumulation of alkaline phosphatase in the periosteum of the mandibular areas affected by osteoblastoclastomas is less intense compared to the process of synthesis of this enzyme in the periosteum of the mandible, which is affected by radicular cysts of large size. Osteoregenerative potential of periosteum of mandibular bones affected by radicular cysts is much greater than in the periosteum located in the growth zone of the cystic form of osteoblastoclastoma.

Keywords: radicular cyst of the jaw, osteoblastoclastoma, periosteum, alkaline phosphatase, histochemical examination, osteoregeneration.

Вступ. Кісти щелеп займають перше місце серед інших пухлиноподібних захворювань щелеп [1, 2]. Вони часто зустрічаються в осіб працездатного віку. Кожному виду кіст притаманні характерні особливості, що дозволяють

диференціювати їх одну від одної. Розрізняють одонтогенні і неодонтогенні кісти щелеп. Серед одонтогенних кіст частіше зустрічаються кісти запального генезу – радикулярні [1, 2]. Диференційна діагностика цих кіст повинна проводитися з кістозною формою амелобластоми і остеобластокластоми [3]. Зокрема при кістозній формі остеобластокластоми щелепної кістки рентгенологічно визначається вогнище деструкції кісткової тканини з чіткими, нерівними краями й за формою нагадує одонтогенну (радикулярну) кісту [4]. Однак, вона не має зв'язку з «причинним» зубом. Гістологічно для даної пухлини характерна велика кількість гігантських багатоядерних клітин (остеокластів), що визначає деструктивний (остеолітичний) характер її росту. Натомість одонтогенні кісти збільшуються в розмірах за рахунок аппозиційного росту, внаслідок хронічної компресії їх оболонки на прилеглу кісткову тканину. У відповідь на тривалий вплив зростаючого обсягу з боку радикулярної кісти відбувається адаптаційна компенсаторна реакція ушкодженої кісткової тканини та окістя, розташованого в цій ділянці [5]. Однак, у доступній фаховій літературі нами не виявлено даних щодо стану остеорегенераційної активності періосту нижньої щелепи, який знаходиться в зоні росту остеобластокластоми.

Мета: вивчити у порівняльному аспекті за допомогою гістохімічного методу дослідження остеорегенераційну активність окістя нижньощелепних кісток, уражених радикулярною кістою та кістозною формою остеобластокластоми.

Матеріали і методи дослідження. Гістохімічні дослідження проводились у 10 хворих (6 чоловіків, 4 жінок) із радикулярними кістами великих розмірів (діаметром більше 3,0 см), розташованих на нижніх щелепах – 1 – ша клінічна група, та у 9 хворих (4 чоловіків, 5 жінок) із кістозними формами остеобластокластом, локалізованих на нижніх щелепах – 2 – га клінічна група. Всі хворі були зрілого віку – від 35 до 50 років, у них не було виявлено соматичної патології.

Визначення лужної фосфатази в тканинах періосту нижніх щелеп проводили методом одночасного азопоєднання за Кеплоу. Цей метод базується на розщепленні лужною фосфатазою а-нафтил-фосфату із звільненням а-нафтолу, що утворює з солями діазонію нерозчинний пофарбований в темнокоричневий колір осад в місцях локалізації ферменту лужної фосфатази [6]. Підготовлені зразки гістохімічних препаратів вивчали у світловому мікроскопі, отримані зображення фотографували. Оцифровані зображення гістохімічних препаратів аналізували за допомогою комп'ютерної програми ImageJ. Для оцінки рівня накопичення лужної фосфатази (ЛФ) у біоптаті періосту використано наступні показники: 1. Ширина смуги зони накопичення ЛФ, 2. Інтенсивність забарвлення зони накопичення ЛФ. Ширина смуги накопичення визначалася за допомогою інструменту straight (лінійний замір) комп'ютерної програми ImageJ після калібрування за допомогою слайду Меїї МА285 з визначенням коефіцієнту співвідношення пікселя до мікрметра. Інтенсивність забарвлення зони накопичення ЛФ в окісті визначалася за показником середнього значення сірого (mean gray value) гістограми в досліджуваних ділянках гістопрепарату. З цією метою кольорове зображення переводили в чорно-біле шляхом розділення на канали RGB. В подальшому опрацьовували лише зелений канал, як найбільш інформативний для даного коричневого барвника. З метою отримання прямого співвідношення між значенням показника сірого кольору та інтенсивністю накопичення барвника зображення було інвертоване – переведене в негатив. При такій обробці зображення показник середнього значення сірого (mean gray value) гістограми зображення прямо пропорційно залежить від інтенсивності накопичення коричневого барвника – при більшому накопиченні коричневого барвника в ділянці, показник значення сірого більше за відповідне значення у ділянці із меншою інтенсивністю забарвлення. Тому цей параметр можна використовувати для переведення суб'єктивної оцінки інтенсивності забарвлення в чисельний показник для порівняння різних зразків. Для

безпосередньо заміру показника використовували інструмент Oval програми ImageJ діаметром 300 пікселів, яким проводили замір вздовж крайової зони препарату. З метою нівелювання впливу товщини препарату та базової інтенсивності забарвлення на заміри, від значення показника сірого кожного зразка віднімали середнє значення показника сірого базового фону. Для цього проводили замір базового фону в глибині кожного препарату.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. При цифровій обробці гістохімічних препаратів окістя, отриманих із нижніх щелеп хворих із радикулярними кістами великих розмірів, встановлено, що зони накопичення ЛФ представляли собою суцільні смуги, які були інтенсивно забарвлені коричневим кольором вздовж крайової ділянки. Інтенсивність знижувалася в глибину від краю препарату (Рис. 1). Ширина зони, де візуалізувалося накопичення барвника, в середньому у групі становили $219,357 \pm 26,14$ мкм, показник товщини коливався від мінімального значення 69,15 мкм до максимального – 482,71 мкм. Середнє значення показника сірого гістограм у ділянці накопичення ЛФ становило $86,91 \pm 12,7$ умов. од.

При дослідженні гістохімічних препаратів окістя, отриманих від хворих другої клінічної групи (із кістозною формою остеобластокластоми), виявлено відмінності в морфологічних проявах остеобластичної активності цих анатомічних утворень. Виявлялись лише тонкі смуги накопичення барвника в крайовій ділянці періосту (Рис. 2). Ширина смуг становила $112,36 \pm 31,58$ [діапазон від 79,83 до 145,19] мкм. Товщина коливається від мінімального значення 48,34 мкм до максимального – 306,52 мкм. Різниця при порівнянні із показником першої клінічної групи є статистично значущою ($p < 0,01$). Значення сірого гістограм в ділянці накопичення ЛФ становить $40,13 \pm 8,72$, що на 58,56% менше за відповідний показник першої клінічної групи ($p = 0,007856$).

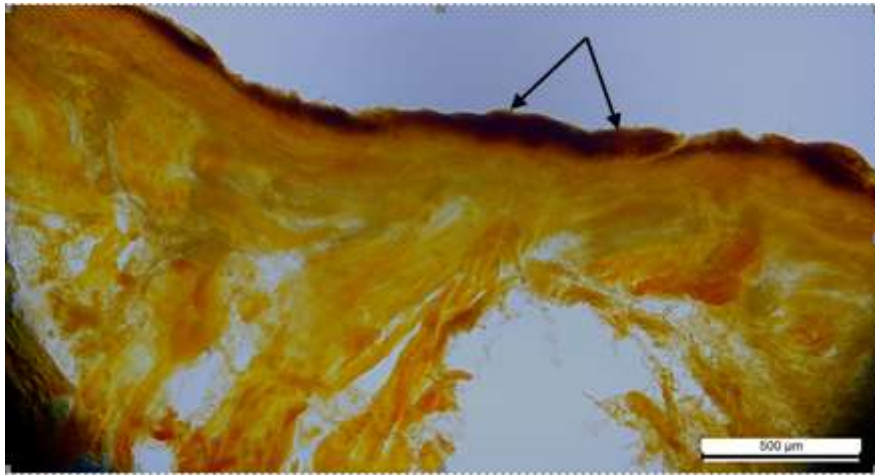


Рис. 1. Гістохімічний препарат окістя нижньої щелепи, ураженої радикулярною кістою великих розмірів. Збільшення $\times 50$. Окуляр 10. Забарвлення гематоксилін – еозином. Дослідження активності лужної фосфатази за методикою Кеплоу (одночасним азопоєднанням). Інтенсивність забарвлення камбіального шару періосту в темно - коричневий колір показано стрілками.

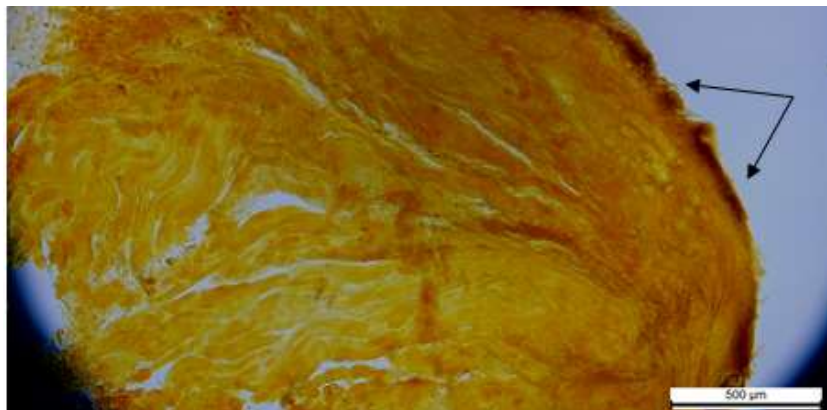


Рис. 2. Гістохімічний препарат окістя нижньої щелепи, ураженої остеобластокластою (кістозною формою). Збільшення $\times 50$. Окуляр 10. Забарвлення гематоксилін-еозином. Дослідження активності лужної фосфатази за методикою Кеплоу. Інтенсивність забарвлення камбіального шару періосту в темно-коричневий колір показано стрілками.

Практичні рекомендації. Для встановлення остеорегенераторного потенціалу щелепних кісток, уражених доброякісними пухлинами чи пухлиноподібними новоутвореннями, може бути застосовано гістохімічне

дослідження вмісту лужної фосфатази в періості, взятому з ділянки ураження патологічним процесом.

Висновки. Накопичення лужної фосфатази в окісті ділянок нижньощелепних кісток, уражених остеобластокластомами, є менш інтенсивним у порівнянні із процесом синтезу цього ферменту в окісті нижніх щелеп, які зазнають впливу радикулярних кіст великих розмірів. Остеорегенераторний потенціал окістя нижньощелепних кісток, уражених радикулярними кістами, є значно більшим ніж у періості, що знаходиться в зоні росту кістозної форми остеобластокластоми.

Список літератури.

1. Zabolevanija, povrezhdenija i opuholi cheljustno-licevoj oblasti: rukovodstvo po klinicheskoj stomatologii / Pod red. A.K. Iordanishvili. – Spb.: «SpecLit», 2007. – 494 s.
2. Lin H.P. A clinicopathological study of 338 dentigerous cysts / H.P. Lin, Y.P. Wang, H.M. Chen, S.J. Cheng, A. Sun, C.P. Chiang // J Oral Pathol Med. – 2013. – №6. – P. 462–467.
3. Malanchuk V.O., Kopchak A.V. Dobroiakisni pukhlyny ta pukhlynopodibni urazhennia schelepno-lytsevoi dilianky ta shyi. Kyiv : Askaniia, 2008. 319 s.
4. Luchevaja diagnostika v hirurgicheskoj stomatologii / Pod red. A.Ju. Vasil'eva, Ju.M. Vorob'eva, N.S. Serovoj. – M.: «GJeOTAR Media», 2008. – 176 s. Havryl'tsiv S.T. Vdoskonalennia diahnostychno-likuval'noho alhorytmu pry radykuliarnykh kistakh schelep patsiientiv iz dyferentsijovanym osteoreheneratornym statusom : avtoref. dys. kand. med. nauk: spets. 14.01.22 «Stomatolohiia» / L'vivs'kyj natsional'nyj medychnyj universytet imeni Danyla Halyts'koho. L'viv, 2020. 20 s.
5. Lojda Z., Gossrau R., Shibler T. Gistohimija fermentov. Laboratornye metody / per. s angl. Moskva : Mir, 1982. S. 14-17.