

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ Здоров'я України
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

УДК: 616.314.17-008.1-022-092.08.28

Шинкевич Вікторія Ігорівна

Роль клітинних факторів імунітету тканин ясен в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту

14.03.08 – імунологія та алергологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ - 2005

Дисертацією є рукопис

Дисертація виконана в Центральній науково-дослідній лабораторії Української медичної стоматологічної академії Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор

Кайдашев Ігор Петрович,

Українська медична стоматологічна академія,

завідувач Центральної науково-дослідної лабораторії,

завідувач кафедри внутрішніх хвороб з доглядом за хворими.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор, член-кор. НАН України

Гольцев Анатолій Миколайович;

Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України,

заступник директора по науковій роботі;

Харківська медична академія післядипломної освіти,

керівник курсу клінічної імунології та алергології;

доктор медичних наук, професор

Мельников Олег Феодосійович;

Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка АМН України,

завідувач лабораторією патофізіології та імунології.

Провідна установа:

Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України, м. Київ

Захист відбудеться 20.10. 2005 року о 14-30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д. 26.003.02 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця за адресою: 01023, м. Київ, вул. Шовковична 39/1, Центральна міська клінічна лікарня, корпус 2, аудиторія кафедри шкірних та венеричних хвороб.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного медичного університету імені О. О. Богомольця за адресою 03057, м. Київ, вул. Зоологічна 3.

Автореферат розісланий 15.09.2005 р.

Вчений секретар

Спеціалізованої вченої ради Д 26.003.02

Доктор медичних наук, професор

Свирид С.Г.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми визначається високою захворюваністю на хронічний генералізований пародонтит (ХГП), його резистентністю до лікування, відсутністю високоефективної терапії, що призводить у кінцевому рахунку до

швидкої втрати зубів. Поряд з численними поглядами на механізми розвитку ХГП – від “пародонтального синдрому” (Григорьян А.С. и др., 2002) до специфічного інфекційного захворювання (Nguyen K.-A. et al., 2004; Jotwani R. et al., 2004), у патогенезі цього захворювання безсумнівно визнана участь імунних механізмів (Мащенко И.С. и др., 2001; Kinane D.F., 2000). Останнім часом значна увага приділяється дослідженням як клітинних, так і гуморальних факторів імунної системи у розвитку запальних захворювань пародонта (Максимовский Ю.М. и др., 2003; Ковальчук Л.В. и др. 2000; McDevitt M.J. et al., 2003). Так, досліджено зміни у системному імунитеті, отримано дані щодо складу крові мікроциркуляторного русла пародонта (Грудянов А.И. и др., 2000; Романов А.Е. и др. 2003). При цьому, все більш необхідним стає вивчення імунних реакцій безпосередньо в тканинах ясен (Harrison L.C. et al., 2000).

На сьогоднішній день накопичені результати досліджень окремих ланок локального імунітету при гінгівіті, швидкопрогресуючому пародонтиті, однак, ці данні недостатні і не розкривають у повному обсязі участь імунних механізмів в розвитку захворювань.

Дослідження клітинних факторів імунітету безпосередньо у слизовій оболонці альвеолярного відростку (яснах) при ХГП дозволяє отримати інформацію про імуніцити, які мають пряме відношення до захворювання, що допомагає уточнити роль цих клітин в патогенезі. Оцінку клітинних факторів імунітету слизової оболонки ясен доцільно використовувати з метою уточнення об’єктивної діагностики, моніторингу при лікуванні та для прогнозу (Guy V., 2002).

Важливим було отримати характеристики комплексу основних імунних клітин, які локалізуються безпосередньо в уражених яснах при ХГП, мають пряме відношення до захворювання, та оцінити взаємозв’язок між цими клітинами відповідно ступенів тяжкості ХГП.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є самостійним фрагментом планових НДР Української медичної стоматологічної академії “Імунні взаємодії в слизовій оболонці порожнини рота і їх роль в патогенезі стоматологічних захворювань”, № ДР 0100U000389, та “Вивчення імунологічного апарату м’яких тканин порожнини рота при генералізованому пародонтиті та ортопедичних втручаннях для розробки сучасних методів імунокорекції”, № ДР 0103U001312.

Мета і задачі дослідження. Вивчити стан клітинних факторів імунітету в тканинах ясен шляхом визначення кількісних та якісних характеристик імуноцитів відповідно до ступенів тяжкості хронічного генералізованого пародонтиту для визначення їх ролі в патогенезі цього захворювання.

Відповідно до мети роботи були визначені такі задачі:

1. На основі клініко-інструментальних методів дослідження виділити групи хворих на ХГП I, II, III ступенів тяжкості.

2. Вивчити кількісні та якісні характеристики імуніцитів тканин ясен у хворих на ХГП I, II, III ступенів тяжкості у порівнянні із здоровими особами.

3. Вивчити кількісні та якісні характеристики імуніцитів слизової оболонки, яка вкриває щілинний дефект піднебіння при вродженому незрощенні піднебіння для визначення специфічних ознак ХГП.

4. Встановити клініко-імунологічні паралелі між імунологічними порушеннями та ступенем тяжкості ХГП.

Об'єкт дослідження – роль імунних факторів тканин ясен в патогенезі ХГП.

Предмет дослідження – стан клітинних факторів локального імунітету слизової оболонки альвеолярних відростків (ясен) у динаміці розвитку I-III ступенів тяжкості ХГП.

Методи дослідження. На підставі даних імуногістохімічного і морфологічного дослідження ясен у пацієнтів з ХГП визначені кількісні і якісні характеристики клітинних факторів локального імунітету відповідно до I-III ступенів тяжкості; за допомогою непараметричного кореляційного статистичного аналізу встановлені клініко-імунологічні паралелі між імунологічними змінами та ступенем тяжкості ХГП.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі використання імуноцитохімічних заходів та панелей антитіл розроблено новий методичний комплексний підхід для визначення стану основних ланок імунологічного апарату слизової оболонки порожнини рота.

Отримано нові дані про кількість, розподіл, локалізацію, солокалізацію основних субпопуляцій лімфоцитів та дендритних антиген- презентуючих клітин (АПК) у таких відділах слизової оболонки порожнини рота: міжзубні ясенні сосочки, ясенний край, передній відділ твердого піднебіння (зона піднебінних зморшок); охарактеризовано якісно особливості будови імунних клітин: наявність, розгалуженість, протяжність їх відростків, розмір клітин.

Вперше на основі отриманих характеристик імуніцитів встановлено зміни та відхилення показників стану локального імунітету при I-III клінічних ступенях тяжкості ХГП, що дозволило пояснити клінічні прояви захворювання певними імунологічними процесами.

Визначено, що прогресування генералізованого пародонтиту супроводжується локальною перевагою В-клітин на тлі зниженого Т-клітинного захисту епітелію ясен. Несприятливим прогностичним критерієм при ХГП всіх ступенів тяжкості є CD20⁺ клітинна інфільтрація власної пластинки ясен.

Досліджено стан локального імунітету при вродженому незрощенні

піднебіння для слизової оболонки, яка вкриває щілинний дефект. Продемонстрована специфічність стану локального імунітету у відповідності досліджуваним патологіям. Так, ця специфічність при вродженому незрощенні піднебіння полягає в посиленій клітинно-опосередкованій імунній відповіді, що реалізується на рівні епітелію і власне слизової оболонки країв щілинного дефекту; при ХГП розвивається локальний імунодефіцит у вигляді ослаблення Т-клітинного захисту епітелію, мають місце локальні аутоімунні процеси.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблений “Спосіб оцінки функціонального стану слизової оболонки порожнини рота за допомогою маркерів імунокомпетентних клітин” і оформлений як нововведення у практичну охорону здоров’я (Позитивне рішення проблемної комісії “Стоматологія”, Витяг № 4 від 01.04.2002 р.). Метод дозволяє виявляти порушення локального імунітету слизової оболонки порожнини рота, уточнювати діагностику, вести моніторинг, прогнозувати запальні та алергійні стоматологічні захворювання, обґрунтовувати та проводити імунокорекцію при цих захворюваннях. Метод захищений двома Деклараційними патентами України і впроваджений для наукових досліджень у Центральній науково-дослідній лабораторії Української медичної стоматологічної академії. Матеріали дисертації використовують в учбовому процесі на кафедрах мікробіології, вірусології та імунології; пропедевтики ортопедичної стоматології та ортодонтії; нормальної фізіології та кафедри патологічної фізіології Української медичної стоматологічної академії.

Особистий внесок здобувача. Автором проведено патентно-інформаційний пошук, підбрано літературу, проведено імуногістохімічне дослідження біоптатів слизової оболонки ясен; взято участь у постановці експериментів; викладено результати та сформовано основні положення й висновки у відповідності до мети і задач дослідження. Автор вдячний завідувачу кафедри дитячої хірургічної стоматології, д.мед.н., проф. Ткаченко П.І., співробітникам кафедри пропедевтики ортопедичної стоматології і ортодонтії Української медичної стоматологічної академії: д.мед.н., проф. Сіленко Ю.І., к.мед.н., ас. Ткаченко І.М., ас. Бусло А.М. за допомогу в отриманні біоптатів.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації повідомлені на Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні проблеми ортопедичної стоматології та ортодонтії”, м. Полтава, (2000); VI науково-практичній конференції Українського товариства фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації, м. Київ, (2002); Школі молодих вчених, м. Полтава, (2003); 58-й науково-практичній конференції “Актуальні проблеми сучасної медицини”, м. Київ, (2003); Всеукраїнській науково-практичній

конференції “Актуальні питання взаємозв’язку патології внутрішніх органів і зубо-щелепної системи та слизової оболонки ротової порожнини”, м. Полтава, (2003), 5-й Річній Зустрічі FOCIS (Federation of Clinical Immunology Societies), м. Бостон, США (2005); на засіданні апробаційної Ради № 1 Української медичної стоматологічної академії (витяг з протоколу № 29 від 7.12.2004) і на засіданні апробаційної Вченої Ради „Теоретична медицина” Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (протокол № 20 від 11.03.2005).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 статей у фахових вітчизняних журналах, 7 тез, отримано 2 деклараційних патенти України.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 196 сторінках комп’ютерного тексту, містить 22 таблиці, 68 рисунків, з яких 42 є мікрофото. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 7 розділів результатів власних досліджень, 199 літературних джерел, з яких 74 є вітчизняними і 125 – зарубіжними.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Загальна характеристика груп пацієнтів. Під спостереженням знаходилися пацієнти з хронічним генералізованим пародонтитом та пацієнти з вродженим незрощенням піднебіння, які й склали основні групи дослідження. Дослідження слизової оболонки при вродженому незрощенні піднебіння було проведено з метою підтвердити специфічність характеристик імуніцитів при ХГП. Практично здорові та умовно здорові особи склали відповідні групи порівняння. Вибірки пацієнтів були врівноважені за віком та статтю. 1 групу порівняння склали практично здорові особи з клінічно інтактним пародонтом, кількістю 6 (серед яких 3 особи були жіночої статі і 3 – чоловічої), віком від 32 до 56 років (середній вік – 49 років); 2 групу – пацієнти з ХГП I ступеня тяжкості, кількістю 10 (5 осіб – жіночої статі і 5 – чоловічої), віком від 34 до 60 років (середній вік – 50 років); 3 групу – пацієнти з ХГП II ступеня тяжкості, кількістю 10 (5 осіб – жіночої статі, 5 – чоловічої), віком від 34 до 61 року (середній вік – 55 років); 4 групу – пацієнти з ХГП III ступеня тяжкості, кількістю 8 (4 особи – жіночої статі і 4 – чоловічої), віком від 45 до 63 років (середній вік – 58 років); 5 групу порівняння склали умовно здорові діти, які були залучені у дослідження з метою встановлення кількісних і якісних характеристик імуніцитів слизової оболонки твердого піднебіння у нормі, кількість осіб становила 5 (2 дівчинки і 3 хлопчика), їх вік – 8-13 років (середній вік – 10 років); і 6 групу – 7 пацієнтів з вродженим незрощенням піднебіння (2 дівчинки і 5 хлопчиків), віком 2-14 років (середній вік – 8 років).

В периферійній крові обстежених осіб проводили реакцію

бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ), загальноклінічний і біохімічний аналізи з визначенням таких показників: загального білку, сечовини, креатинину, трансфераз – АЛТ і АСТ, γ -глутамілтранс-пептидази, рівнів тригліцеридів, холестерину, загального білірубіну, вмісту калію, натрію та кальцію, рівню глюкози, тиротропного гормону. Також проводили загальноклінічний аналіз сечі з визначенням рН, питомої ваги, білку, цукру, ацетону, еритроцитів незмінених і змінених за допомогою діагностичних смужок „Penta Phan” („PLIVA-Lachema”, Чехія). Показники аналізів крові та сечі характеризували стан ліпідного, пігментного, мінерального обмінів, що дозволяло виключити наявність загальносоматичних захворювань. Всі визначення проводили за стандартними методиками (Кайдашев І.П. та ін., 2003).

Загальна кількість обстежених складала 70 осіб.

Діагноз “хронічний генералізований пародонтит” встановлювали за класифікацією захворювань пародонта, рекомендованою Республіканською конференцією стоматологів України (Одеса, 1998) до використання у якості робочої в учбових та лікувальних закладах України. Діагностику здійснювали на основі результатів загальноприйнятих клініко-лабораторних досліджень: показників гігієнічного, пародонтального індексів, індексу рухливості зубів і кровоточивості ясен, формалінової проби, внутрішньоротової контактної рентгенографії альвеолярних відростків. Для дослідження були обрані особи без супутніх соматичних захворювань.

У пацієнтів за відповідними показами отримували біоптати ясен, виготовляли серійні кріостатні зрізи і проводили гістологічне та імуногістохімічне дослідження. Біопсію у представників 1-ї групи порівняння виконували під час операції встановлення дентального імплантату та екстирпації зубів з приводу фіброзного апікального періодонтиту. У пацієнтів з ХГП біопсію виконували при хірургічному лікуванні пародонтиту за відповідними показами. Біопсію слизової оболонки у пацієнтів з вродженим незрощенням піднебіння проводили під час планової операції пластики піднебіння, у передньому відділі твердого піднебіння (зона піднебінних зморшок). Біоптати слизової оболонки переднього відділу піднебіння у представників 5-ї групи порівняння отримували під час операцій з приводу ретенції і дистопії зубів, поза межами операційного поля, без шкоди для здоров'я. Всі маніпуляції по відбору біоптатів у пацієнтів проводилися на базі кафедри пропедевтики ортопедичної стоматології та кафедри дитячої хірургічної стоматології УМСА за дозволом етичної комісії Української медичної стоматологічної академії (Витяг з протоколу № 18 від 05.07.2004) та згодою пацієнтів.

Гістологічні, імуногістохімічні, імунологічні та біохімічні дослідження проводилися на базі Центральної науково-дослідної лабораторії УМСА.

Методи досліджень. Для виконання поставлених задач було проведено імуногістохімічне дослідження серійних криостатних зрізів, виготовлених з біоптатів слизової оболонки, за допомогою модифікованої нами методики, оснований на непрямому біотин-стрептавідин-пероксидазному методі (Дж. Полак и др., 1987; Тотолян А.А. и др., 2002).

Визначали кількість, локалізацію, солокалізацію, ознаки активності, особливості будови імуноцитів за експресією субпопуляційних маркерів Т-лімфоцитів – CD3, Т-лімфоцитів - хелперів – CD4, цитотоксичних/ефекторних Т-лімфоцитів – CD8, В-лімфоцитів – CD20; професійних антиген-презентуючих дендритних клітин (ДК) – HLA-DR; внутрієпітеліальних лімфоцитів, які несуть -ланцюги у складі Т-клітинного рецептора (ТКР) – за допомогою анти--моноклональних антитіл. Клон, ізотип та назву фірми-виробника первинних моноклональних антитіл (мкАТ1) наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Характеристика використаних моноклональних антитіл

Специфічність антитіл мкАТ1	Назва клону	Ізотип антитіл	Фірма - виробник
HLA-DR	ІПО-10	IgG3	“Сорбент”, Росія
CD3	RIV9	IgG3	“Сорбент”, Росія
мкАТ1 до -ланцюгів ТКР	5A6.E9	IgG1	“CALTAG Laboratories”, Buringame, CA
CD4	RIV7	IgG2a	“Сорбент”, Росія
CD8	RIV11	IgG1	“Сорбент”, Росія
CD20	93-1B3	IgG1	“Сорбент”, Росія

Локалізацію мкАТ1 виявляли за допомогою біотинильованих (вторинних) антитіл і екстравідин-пероксидазного комплексу (EXTRA-2, Sigma, USA). У якості субстрату пероксидази використовували 3-аміно-9-етилкарбазол (Sigma, USA) або діамінобензидин (Sigma, USA). Тканинний зріз контрастували гематоксиліном (Sigma, USA), метиловим зеленим або метиловим синім, заключали в гумі-сироп під покривне скло. Підраховували позитивно забарвлені (імунореактивні) клітини під мікроскопом (“ЛЮМАМ-Р11”, Росія), у межах епітелію – в розрахунку на 100 епітеліоцитів по всій товщі шару, відзначали типові місця локалізації; у власній пластинці слизової оболонки клітини підраховували на стандартну площу, яка дорівнювала 100 епітеліоцитів

(Кайдашев І.П. та ін., 2003), характеризували розташування клітин. Результати дослідження документували фотографуванням на фотоплівку “Konica VX 400” за допомогою мікрофотонасадки МФН-10 (“ЛОМО”, Росія). Частину результатів документували шляхом зйомки з мікроскопа відеокамерою (“Panasonic WV-CP410/ G”, Japan).

Із кожної отриманої серії криостатних зрізів один забарвлювали гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою з метою наступного співставлення гістоархітектоніки й характеру розташування імунних клітин, а також для морфологічної характеристики ступеня тяжкості ХГП, що обґрунтовано морфофункціональною єдністю і тісними взаємовідносинами між структурними елементами тканини і імуніцитами (Schenck K. et al., 2001; Бородай Н.В., 2001).

Реакцію бласттрансформації лімфоцитів проводили на водно-сольовий екстракт тканин пародонта за стандартною методикою (Кайдашев І.П. та ін., 2003). Водно-сольовий екстракт тканин пародонта готували також за стандартною методикою, стерилізували пропусканням крізь фільтр із розміром пір 0,22 μ l, діаметром 25 мм (Milipore MF, SIGMA, USA). Водно-сольовий екстракт являв собою стерильний розчин антигенів ясен людини з концентрацією білку за Лоурі 0,08 г/л, і відповідь лімфоцитів периферійної крові обстежених осіб бласттрансформацією на ці антигени виявляла їх сенсibiliзацію аутоантигенами.

Цифровий матеріал обробляли за допомогою непараметричних методів статистичного аналізу, використовуючи ранги: за Ван-дер-Верденом (Славин М.Б., 1989; Румшинский Л.З., 1971), Kruskal-Wallis ANOVA & Median Test, ANOVA/MANOVA, за допомогою кореляційного аналізу із розрахунком r-критерію Спірмена; узагальнювали результати на основі дисперсійного, кластерного (K-means Clustering) та факторного (Factor analysis) аналізів програми STATISTICA. Непараметричні статистичні методи дозволяють працювати з невеликими вибірками, проводити порівняння між групами з визначенням будь-яких відмінностей, уникаючи оцінки закономірностей розподілу величин у варіаційному ряді (Радзішевська Є.Б. та ін., 2000).

Результати досліджень та їх обговорення

За високим рівнем експресії HLA-DR-молекул виявляли визріваючі дендритні антиген-презентуючі клітини слизової оболонки (Novak N. et al. 2004; Nagl M. et al., 2003). Важливість їх ролі обумовлена участю в модуляції напрямку імунної відповіді за певним типом (Drakesmith H. et al., 2000).

Загальну Т-клітинну популяцію слизової оболонки характеризували за

експресією CD3- молекул, загальну Т-хелперну – CD4-, і цитотоксичну – за експресією CD8- молекул (Сидоренко С.П., 1998). Визначали також внутрієпітеліальні $\gamma\delta$ -Т-лімфоцити (за допомогою антитіл до $\gamma\delta$ -ланцюгів ТКР), оскільки їм належить особливе значення у нормі та при розвитку аутоімунних захворювань (Svensson L. et al., 2003).

Під час міграції дендритні клітини (ДК) зменшують кількість відростків, секретують фермент желатиназу MMP-9 (Wolf K. et al., 2003; Ratzinger G. et al., 2002), яка дозволяє долати, зокрема, базальну мембрану і, в той же час, затримує клітини у вигляді скупчень уздовж мембрани. На основі цих ознак, ми визначили посилену міграцію HLA-DR⁺ клітин епітелію при I та II ступенях тяжкості ХГП.

Повідомлялося про кореляцію кількості антигену і ДК у слизових оболонках людини (Neutra M.R. et al., 1998; Banchereau J. et al., 1998). У нашому дослідженні при I та II ступенях тяжкості ХГП виявлене вірогідне збільшення кількості HLA-DR⁺ клітин (рис.1), що відображає наявність антигенного навантаження у власній пластинці ясен. Враховуючи наявність аутоантигенних механізмів при ХГП (Anusaksathien O. et al., 1992), скупчення HLA-DR⁺ клітин у цьому відділі слизової, свідчить про їх участь у локальній презентації аутоантигенів.

Рис. 1. Кількісна динаміка HLA-DR⁺ клітин ясен ХГП:

Примітки: тут і далі:

1. На вірогідні відміни вказує позначка "р < 0,05".
2. Кількісні показники – сума рангів.

CD3⁺ клітинна інфільтрація власної пластинки ясен, відзначена нами при I ступені тяжкості, відображає посилену Т-клітинну відповідь при ХГП. Оскільки реалізація функції CD3⁺ клітин полягає у специфічній взаємодії з антигеном, то локалізація цих клітин саме у власній пластинці також пов'язана з локалізацією антигенів. При I ступені CD3⁺ клітини відзначені нами як одні з найчисленніших (рис. 2). Звичайно, це неоднорідна популяція Т-клітин, однак наявність CD3 – ТКР-асоційованого комплексу, який бере участь в передачі сигналу в клітину, може відображати потенційно активний стан виявлених клітин (Кайдашев І.П. та ін., 2004).

Зменшення кількості CD4⁺ клітин епітелію при I ступені тяжкості ХГП (рис. 3) відображає поступове зниження регуляції імунної відповіді. Рядом авторів показана також здатність цих клітин експресувати ростові фактори і підтримувати морфологічну структуру, регенерацію тканини (Boismenu R., Navran W.L., 1998).

Рис. 2. Кількісна динаміка Т- клітин власної пластинки ясен при ХГП.

Примітка. Тут і далі зірочкою * позначені вірогідні відміни ($p \leq 0,05$) від показників інтактної слизової.

При I ступені тяжкості ХГП у складі круглоклітинних інфільтратів власної пластинки ясен часто виявлялися $CD8^+$ клітини. Разом із збільшенням числа $CD3^+$ клітин у яснах і точною солокалізацією цих клітин, це означає активні ефекторні реакції локальної імунної відповіді за Th1 типом, що принципово характерно для слизових оболонок (Harrison L.C. et al., 2000).

Рис. 3. Кількісна динаміка Т- клітин епітелію ясен при ХГП.

Відомо, що частина популяції Т-лімфоцитів може не нести $CD4$ чи $CD8$ молекул. Результати нашого дослідження рідко виявляли поодинокі $\gamma\delta^+$ клітини в межах епітелію, а також зареєстрували незначну їх долю у складі круглоклітинних інфільтратів власної пластинки. Це узгоджується із літературними даними про невелику чисельність внутріепітеліальних лімфоцитів. З іншого боку, недостатність $\gamma\delta^+$ клітин у слизових може бути причиною хронізації запального процесу (Дранник Г.Н., 1999). При I ступені тяжкості зменшувалося представництво $\gamma\delta^+$ клітин у сосочках власної пластинки, де у нормі вони були численні (рис. 2), що не виключає важливість їх внеску на початкових етапах патогенезу ХГП (Gemmel E., Seymour G.J., 1995), тому ми припускали недоліки у їх функціонуванні.

Результати реакції бласттрансформації лімфоцитів при I ступені тяжкості показали наявність сенсibiliзації периферійних лімфоцитів до пародонтальних антигенів, у протилежність здоровим донорам.

Ґрунтуючись на отриманих результатах встановлено, що на початку розвитку ХГП (I ступінь тяжкості) у центрі подій знаходиться процес затримки АПК у власній пластинці ясен і активна локальна презентація. При цьому кількість популяції підтримується міграцією попередників клітин. Як результат паралельно триваючої міграції визріваючих АПК у периферійні лімфоїдні органи, розпочинаються ефекторні реакції у вигляді вірогідного збільшення $CD3^+$, $CD4^+$ і $CD8^+$ клітин у власній пластинці ясен.

При II ступені тяжкості ХГП показано перевагу інтенсивних процесів рекрутування імунних клітин до тканин ясен на основі реєстрації вірогідного збільшення числа $HLA-DR^+$, $CD4^+$, $\gamma\delta^+$ (рис. 2) клітин у власній пластинці і значній кількості $CD3^+$. Інтенсивна міграція, збільшення кількості $HLA-DR^+$ клітин (рис. 1), втрата відростків цими клітинами, локалізованими у власній пластинці, відображає стабільно високий рівень антигенів і триваючу активну

локальну презентацію. Виявлена нами інфільтрація HLA-DR⁺, $\gamma\delta$ ⁺, CD4⁺ клітинами власної пластинки ясен вказує на перебіг локальних аутоімунних процесів, а результати РБТЛ підтверджують наявність сенсibiliзації лімфоцитів антигенами пародонта. CD4⁺ клітинна інфільтрація має негативний прогноз по прискоренню резорбції кісткової тканини, враховуючи здатність цих клітин до експресії RANK-L (receptor activator of NF- κ B ligand), який є остеокластогенним фактором (Tend Y.Y., 2003). Вірогідне збільшення і інфільтрація власної пластинки ясен $\gamma\delta$ ⁺ клітинами (рис. 2) свідчить про їх активне включення у патогенез ХГП. Повідомлялося, що ці клітини здатні до перехресних реакцій з бактеріальними і власними білками теплового шоку, що є одним з механізмів розвитку аутоімунних процесів (Haas W., 1992), до того ж кількість білку hsp60 зростає локально під впливом пародонтопатогенних мікроорганізмів таких як *P.gingivalis*, *A.actinomycetemcomitans* при пародонтиті (Gaston J.S.H., 2002; Pettit M.D. et al. 1999).

Ряд авторів свідчить про розвиток вторинного імунодефіциту на системному рівні у пацієнтів з генералізованим пародонтитом (Самойленко А.В. 2001; Романов А.Е. и др., 2003; Pettit M.D. et al., 1999), однак у переважній більшості ці дослідження не враховують ступенів тяжкості ХГП і наявності загальних соматичних захворювань, для виключення „пародонтального синдрому” (Цепов Л.М., Николаев А.И., 2003). Щодо локальних процесів при ХГП, Перова А.І. (2001) відзначає відносне зменшення рівнів концентрації лізоциму і sIgA у слині по мірі обтяження процесу, що узгоджується з поступовим виснаженням захисних механізмів. Нами ж встановлено зниження Т-клітинного, особливо цитотоксичного, захисту епітелію на основі реєстрації вірогідного зменшення кількості CD4⁺, CD8⁺ клітин епітелію при II ступені тяжкості ХГП (рис. 3).

При III ступені тяжкості ХГП показано домінування В-клітин у складі інфільтратів власної пластинки (рис. 4) на тлі вірогідного зменшення кількості АПК епітелію (рис. 1), Т-клітин слизової (рис. 2, 3). Підвищена кількість CD20⁺ клітин власне слизової (рис. 4) вказувала на зміну напрямку локальної імунної відповіді.

Рис. 4. Кількісна динаміка В-клітин власної пластинки ясен при ХГП.

Існує погляд на плазматичні клітини як провідні в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту (Шаповалов В.Д. и др., 2002; Kono Y. et al., 2004). Хоча їх роль не слід перебільшувати, локальні плазматичні клітини роблять внесок у синтез антитіл очевидно ауто-напрямку, враховуючи локальну кооперацію із CD4⁺ клітинами на пізніх стадіях розвитку захворювання, що

проявляється обтяженням клінічного перебігу. Отже, виявлене нами збільшення кількості $CD20^+$ клітин власне слизової ясен означає підвищення локальних попередників плазматичних клітин і є несприятливим прогностичним показником ХГП.

За зменшенням кількості $CD4^+$ й $CD8^+$ клітин в епітелії, та зменшенням кількості $CD4^+$, $CD8^+$ і $\gamma\delta^+$ Т-клітин у власне слизовій при III ступені ХГП (рис. 2, 3), констатовано зниження захисту ясен, тобто ми спостерігали локальне виснаження імунологічних механізмів з розвитком імунодефіциту.

Зменшена кількість $HLA-DR^+$ клітин ясен (рис. 1) на тлі високого антигенного навантаження при прогресуванні ХГП також свідчить на користь локального імунодефіциту. Результати кореляційного аналізу підтвердили тісну взаємодію $HLA-DR^+$ з Т-лімфоцитами, пов'язану з підтриманням морфології епітелію. Встановлена кореляція між кількісними показниками $CD4^+$ і $CD20^+$ клітин власне слизової відображає взаємодію між ними. Крім того, за результатами РБТЛ виявлено високий рівень сенсibilізації лімфоцитів антигенами пародонту при III ступені ХГП, що підтверджує перебіг аутоімунних процесів як однієї з можливих причин розвитку імунодефіциту. В цілому результати реакції бласттрансформації лімфоцитів показали вірогідне зростання сенсibilізації до пародонтальних антигенів при ХГП по мірі обтяження захворювання.

При III ступені тяжкості ХГП вірогідне зменшення кількості Т-клітин у власній пластинці ясен може бути пояснене поширенням патологічного процесу на більш глибокий тканинний рівень, де зосереджувалися інфільтрати імунних клітин, зокрема Т-клітин, і, отже, недостатнім їх представництвом у біоптатах ясен.

Несприятливий прогноз $CD20^+$ клітинної інфільтрації, зокрема при III ступені ХГП, несе біологічний зміст додаткової презентації антигенів і локального зосередження попередників продуцентів аутоантитіл. Сенсibilізовані Т-лімфоцити, кількість яких росте по мірі обтяження ХГП, надходять до ясен, вступають у кооперацію з $CD20^+$ клітинами і з надзвичайно активними $HLA-DR^+$ клітинами (Novak N. et al., 2004), при цьому запускають синтез антитіл такої ж самої специфічності, як ТКР лімфоцитів, що пояснює обмеженість патологічного процесу пародонтом, не дивлячись на відсутність специфічних аутоантигенів у цих тканинах (Hahn C.L. et al., 1997).

Раніше установлені прогресуючі морфологічні зміни ясен при хронічному пародонтиті відповідно ступеням тяжкості (Колесова Н. В., 2001; Григорьян А. С. и др., 1998). Також раніше доведена функція лімфоцитів по локальному контролю та регуляції росту периферійних тканин (Саркисов Д.С., 1987; Бабаева А.Г., 1985). Отже, ми реєстрували і співвідносили морфологічні

особливості із змінами з боку імуніцитів.

В основі встановлених в роботі кореляційних зв'язків лежить вплив імунних клітин на розвиток дистрофічних змін епітелію: $CD3^+$ клітини, локалізовані в епітелії, можуть, шляхом продукції цитокінів, впливати на ріст та диференціювання епітеліоцитів; позитивні ж зв'язки морфологічних особливостей ясен з кількісними показниками клітин власної пластинки пояснюються опосередкованим впливом міграції імуніцитів. На основі результатів кореляційного аналізу у нашому дослідженні доведено вплив $CD3^+$ і $CD8^+$ клітин на морфологію епітелію. Важливо, що встановлена кореляція змінювала пряму пропорційність при I і II ступенях ХГП на зворотню при III, що пояснює зміну негативного впливу інфільтрації епітелію цими клітинами (I, II ступінь) на функцію підтримання регенераторних процесів епітелію при прогресуванні імунідефіциту.

Отримані результати продемонстрували особливості характеристик імуніцитів слизових оболонок при I-III ступенях тяжкості ХГП, а також при вродженому незрощенні піднебіння. Для слизової оболонки, яка вкриває щілинний дефект піднебіння, встановлено різке зменшення кількості $HLA-DR^+$ клітин в епітелії (до 1-2 на 100 епітеліоцитів) із збереженням морфології, характерної для стабільного стану (розгалужені розвинені відростки, локалізація в базальному, шипуватому і плескатому шарах) і у власній пластинці, при одночасному різкому збільшенні $CD3^+$, $CD4^+$ і $CD8^+$ клітин в епітелії (12-15, 10-14 і 4-10 на 100 епітеліоцитів відповідно); формування особливих скупчень $CD8^+$ клітинами в глибоких відділах власної пластинки. Аналіз отриманих результатів характеризує локально скомпрометоване функціонування імуніцитів при вродженому незрощенні, порівняно з інтактною слизовою оболонкою піднебіння. Ґрунтуючись на співставленні характеристик імуніцитів з розвитком деформуючих рубців після пластики незрощення (Музичина Г.А., 1996; Пасечник А.М., 1989), ми розцінюємо виявлені відхилення як розлади, що проходять на фоні порушеної трофіки тканин і стосуються регуляції регенерації.

При порівнянні з результатами дослідження слизової ясен при ХГП, кількість Т-лімфоцитарної популяції була на порядок вища саме при вродженому незрощенні піднебіння; а кількість $HLA-DR^+$ клітин, локалізованих в епітелії і власній пластинці – менша, що відповідає діаметрально протилежним локальним змінам. Таким чином, локальні імунітологічні розлади при вродженому незрощенні піднебіння та при ХГП певного ступеня тяжкості точно відповідають, тобто є специфічними, цим захворюванням.

Результати трьохзначного кластерного аналізу на 100% підтвердили склад

3-ої досліджуваної групи (пацієнти з II ступенем тяжкості ХГП). На 50-57% підтверджено склад 2-ої та 4-ої досліджуваних груп. Таким чином, кількісні показники імуніцитів слизової ясен є точним діагностичним критерієм для II ступеня тяжкості, і у половині випадків можуть слугувати критеріями для I та III.

Дисперсійний статистичний аналіз результатів дослідження продемонстрував вірогідні зміни кількісних показників $CD8^+$ клітин власної пластинки, і $\gamma\delta^+$ клітин епітелію та власної пластинки при I, II, III ступенях тяжкості ХГП, що обґрунтовує їх значення як діагностичних критеріїв для уточнення ступеню тяжкості.

З метою визначення новоутворених комбінацій взаємопов'язаних корелюючих показників імуніцитів ясен при пародонтиті ми провели факторний аналіз. Перший фактор підтвердив локальні події по підвищенню антигенного навантаження на епітелій вражених ХГП ясен і формування Т-клітинних інфільтратів у власне слизовій. Другий фактор відобразив зниження клітинно-опосередкованого захисту епітелію ясен і визначну роль $\gamma\delta^+$ Т-лімфоцитів та В-клітин власної пластинки у прогресуванні ХГП.

Сутність імунологічних процесів при розвитку ХГП відповідно ступеням тяжкості заключається в переміщенні взаємодій антиген – імуніцити з епітелію до власної пластинки із супутньою втратою захисного потенціалу епітелію і всієї слизової оболонки.

Таким чином, загальні імунологічні риси, специфічні для ХГП, проявляються посиленням антигенним навантаженням з локалізацією підтримуючого запалення джерела аутоантигенів у власне слизовій пластинці ясен; основні взаємодії імуніцитів переміщуються і протікають у власній пластинці, при цьому розвиток цитотоксичної відповіді, характерний для епітелію, знижується за рівнем. Тривалість запалення, його поновлення після ремісії підтримується аутоантигенами, наявність яких підтверджена результатами РБТЛ. Сенсibiliзовані ефектори клітинної імунної відповіді: $CD3^+$ Т-лімфоцити і $CD8^+$ цитотоксичні лімфоцити, які обов'язково присутні в інфільтратах, беруть участь у руйнуванні власних клітин і тканини.

ВИСНОВКИ

В роботі уточнені, поглиблені знання про імунопатогенез хронічного генералізованого пародонтиту в результаті вивчення стану клітинних факторів імунітету в тканинах ясен шляхом визначення кількісних і якісних характеристик імуніцитів відповідно до ступенів тяжкості захворювання.

1. Комплексне визначення імуніцитів, які експресують $CD3$, $CD4$, $CD8$,

CD20, HLA-DR -молекули, $\gamma\delta$ -Т клітинний рецептор разом з морфологічним станом ясен дозволяє об'єктивно охарактеризувати стан клітинних факторів імунітету та з'ясувати їх зв'язок із ступенями тяжкості ХГП.

2. При ХГП I ступеню тяжкості спостерігаються ознаки посиленої міграції HLA-DR⁺ антиген презентуючих дендритних клітин з епітелію до власної пластинки ясен, що підтверджує зменшення кількості і розгалуження клітинних відростків, у власній пластинці кількість цих клітин збільшується (до 10-15 на умовну площу підрахунку); зменшується кількість CD4⁺ клітин епітелію (до 0-3 на 100 епітеліоцитів); збільшується кількість CD3⁺ і різко зменшується – $\gamma\delta$ ⁺ клітин розміщених у власній пластинці ясен (до 4-8 клітин і поодинокі групи в окремих сосочках по 5-8 клітин відповідно). Результати можуть відображати домінування процесів локальної презентації і початок інфільтрації ефекторними периферійними сенсibilізованими CD3⁺ Т-клітинами власної пластинки ясен.

3. ХГП II ступеню тяжкості проявляється стабільно високим рівнем HLA-DR⁺ клітин у власній пластинці ясен (до 10-15). Інтенсивна дистрофія епітелію тісно пов'язана з міграцією HLA-DR⁺ клітин з епітелію (кореляція між вакуольною дистрофією і втратою відростків у HLA-DR⁺ клітин ($r=0,59$; $p=0,03$). Зменшується кількість CD4⁺ клітин в епітелії (0-1 на 100 епітеліоцитів) і збільшується – у власній пластинці (до 5-10); зменшується кількість CD8⁺ в обох відділах ясен (1-4 і 3-6, відповідно). Виявлено до 1-5 $\gamma\delta$ ⁺ клітин в межах епітелію, різко збільшена їх кількість у власній пластинці (до 10-13). Результати характеризують високий рівень локальної індукції і розвиток Т-клітинно-опосередкованої імунної відповіді у власній пластинці ясен.

4. ХГП III ступеню тяжкості характеризується зменшенням числом HLA-DR⁺ клітин в епітелії (до 2-5) та власній пластинці (до 4); зменшеними кількостями CD4⁺ і CD8⁺ клітин в обох відділах ясен (CD4⁺ – 0-1 і 2-3; CD8⁺ – 0-3 і 3-5, відповідно) та $\gamma\delta$ ⁺ – у власній пластинці (до 1-3), інфільтрацією власної пластинки CD20⁺ клітинами (від 6-8 клітин, тотальна інфільтрація), що відображає зв'язок прогресування ХГП з локальною перевагою В-клітинної відповіді на тлі зниженої Т-клітинної.

5. Специфічність стану основних імуноцитів слизової оболонки ясен при ХГП, порівняно з вродженим незрошенням піднебіння, полягає в локальному розвитку імунодефіциту у вигляді зниження Т-клітинного захисту ясен і аутоімунних реакціях; слизова, яка вистилає щілинний дефект піднебіння, характеризується високим рівнем Т-клітинних ефекторних реакцій і мало пристосована до сприйняття антигенів.

6. Діагностичними критеріями для уточнення ступеню тяжкості ХГП служать кількість цитотоксичних/ефекторних CD8⁺ лімфоцитів власної

пластинки, і внутрієпітеліальних $\gamma\delta^+$ лімфоцитів – показники, які вірогідно змінюються при I- III ступенях тяжкості; несприятливим прогностичним критерієм при ХГП є CD20⁺ В-лімфоцитарна інфільтрація власної пластинки ясен.

Список опублікованих робіт за темою дисертації

1. Структурные изменения слизистой оболочки аномалиейно прикрепленных мягких тканей полости рта у детей / И.П. Кайдашев, В.Д. Куроедова, П.И. Ткаченко, О.А. Карасюнок, В.И. Шинкевич // Вісник стоматології.-2000.- №1.- С.35-37.
2. Гистоморфологические изменения эпителия слизистой оболочки, выстилающей щелевой дефект, у детей с врожденными несращениями неба / П.И. Ткаченко, И.П. Кайдашев, В.И. Шинкевич, Н.А. Боброва// Український стоматологічний альманах.-2001.- №3.-С.50-52.
3. Роль дендритных клеток в обеспечении локального иммунитета полости рта / И.П. Кайдашев, Л.И. Волошина, О.А. Карасюнок, В.И. Шинкевич, В.В. Рябенко, О.А. Ножинова, О.А. Баштовенко // Український стоматологічний альманах.-2001.- №5.-С.80-87.
4. Иммункомпетентность краевого эпителия щелевого дефекта у детей с врожденными несращениями неба / П.И. Ткаченко, И.П. Кайдашев, В.И. Шинкевич, О.А. Баштовенко, В.В. Рябенко, О.А. Карасюнок // Современная стоматология.- 2002.- №2.-С.104-107.
5. Состояние иммунологического аппарата десны у детей с хроническим катаральным гингивитом / П.И. Ткаченко, И.П. Кайдашев, Н.М. Лохматова, В.В. Рябенко, В. И. Шинкевич // Современная стоматология.-2002.- №4.-С.39-42.
6. Ткаченко П. І., Лохматова Н. М. Шинкевич В. І. Імунологічний апарат слизової оболонки порожнини рота: сучасний стан питання // Вісник стоматології.- 2002.- №4.-С.130-134.
7. Характеристика состояния локального иммунитета слизистой оболочки десны при установленном дентальном импланте / Д.М. Король, И.П. Кайдашев, В.И. Шинкевич, В.В. Рябенко // Современная стоматология.-2003.-№1.-С.79-82.
8. Иммуногистохимическое исследование слизистых оболочек / И.П. Кайдашев, В.В. Рябенко, Д.М. Король, И.М. Ткаченко, Э.И. Крутикова // Лабораторная диагностика. - 2003. - №3. - С. 15-20.
9. Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. Взаємозв'язок запально-дистрофічних та локальних імунологічних змін слизової оболонки ясен у хворих на хронічний генералізований пародонтит відповідно ступенів тяжкості // Український

стоматологічний альманах.-2004.- № 3-4.-С. 14-22.

10. Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. Характеристика імунних клітин слизової оболонки ясен при хронічному генералізованому пародонтиті відповідно ступенів тяжкості // Імунологія та алергологія.-2004.-№ 4.-С.15-19.

11. Деклараційний пат. України 48519 А, МПК 7 А61С17/00. Спосіб оцінки функціонального стану слизової оболонки порожнини рота: Пат. 48519 А, МПК 7 А61С17/00 / І.П. Кайдашев, П.І. Ткаченко, В.Д. Куроєдова, О.О. Карасюнок, В.І. Шинкевич, О.А. Баштовенко (Україна).-№ 2001096503; Заявл. 24.09.2001; Опубл.15.08.2002, Бюл. № 8.-3с.

12. Деклараційний пат. України 58163 А, МПК 7 А61С17/00. Спосіб оцінки імунологічного стану слизової оболонки порожнини рота: Пат. 58163 А, МПК 7 А61С17/00 / Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. (Україна).- № 2002108169; Заявл. 15.10.2002; Опубл.15.08.2003, Бюл. № 8.-2с.

13. Влияние анатомических нарушений лицевого скелета на структуру заболеваемости верхних дыхательных путей у детей с врожденными уродствами лица / П. И. Ткаченко, Е. В. Гуржий, О. Б. Доленко, В. І. Шинкевич // Всеукр. наук.-практ. конф. „Актуальні проблеми ортопедичної стоматології та ортодонції”.-Полтава, 2000.-С.29-30.

14. Кайдашев І.П., Ткаченко П.І., Шинкевич В.І. Результаты исследования состояния иммунологического аппарата слизистой оболочки, выстилающей щелевой дефект у детей с врожденными несращениями неба // VI звіт.-вибор. та наук.-практ. конф. Укр. товариства фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації.-Київ.- Імунологія та алергологія.-2002.- №2.-С. 70.

15. Шинкевич В.І. Дослідження функціонального стану $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів слизової оболонки при хронічному генералізованому пародонтиті // Всеукр. наук.-практ. конф. „Актуальні питання взаємозв'язку патології внутрішніх органів і зубо-щелепної системи та слизової оболонки ротової порожнини”.- Полтава, 2003.-С.11-12.

16. Шинкевич В.І. Роль клітинних факторів імунітету у патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту // 58 наук.-практ. конф. „Актуальні проблеми сучасної медицини”.-Київ, 2003.-С.60.

17. Шинкевич В.І. Стан локального імунітету слизової оболонки порожнини рота при хронічному генералізованому пародонтиті // Школа молодих вчених „Сучасні аспекти клінічної імунології та алергології”.-Полтава.-Проблеми екології та медицини.- 2003.-Т. 7, №5-6.-С.38-39.

18. Кайдашев І.П., Шинкевич В.І. Клініко-імунологічне обґрунтування застосування препарату Імудон у передопераційному періоді у хворих з вродженим незрощенням піднебіння // I Всеукр. науч.-практ. конф. „Иммунотропные препараты в клинической практике”.-Київ.- Імунологія та

алергологія.-2004.- №1.-С. 51.

19. Kaidashev I., Shinkevich V., DuBuske L.M. The characteristics of mucosal immunity in chronic adult periodontitis patients // 5th Annual Meeting FOCIS.- Boston, USA.-Clin.Immunol. Abstract Supplement.-2005.-N 2.-P.S256-S257.

АНОТАЦІЯ

Шинкевич В. І. Роль клітинних факторів імунітету тканин ясен в патогенезі хронічного генералізованого пародонтиту.-Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.- Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2005.

Дисертація присвячена дослідженню клітинних факторів імунітету в тканинах ясен шляхом визначення їх кількісних і якісних характеристик відповідно до ступенів тяжкості хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП), що поглиблює знання про імунопатогенез захворювання.

Комплексна оцінка імуноцитів, які експресують CD3, CD4, CD8, CD20, HLA-DR -молекули, $\gamma\delta$ -Т- клітинний рецептор та морфологічного стану ясен має відповідність ступеням тяжкості ХГП і відображає розвиток певних локальних імунологічних подій. При I ступені має місце посилення міграції HLA-DR⁺ дендритних клітин з епітелію до власне слизової, активна локальна презентація і початок інфільтрації сенсibiliзованими ефекторними CD3⁺ Т-лімфоцитами. II ступінь характеризується високим рівнем локальної презентації і розвитком клітинноопосередкованої відповіді на антигени (у т. ч. і на аутоантигени) у власній пластинці вражених ясен. III ступінь характеризується локальним домінуванням В-клітинної імунної відповіді на тлі зниження Т-клітинної.

Специфічність стану основних імуноцитів слизової оболонки ясен при ХГП, порівняно з вродженим незрощенням піднебіння, полягає в локальному розвитку імунодефіциту у вигляді зниження Т-клітинного захисту ясен і аутоімунних реакціях; слизова, яка вистилає щілинний дефект піднебіння, характеризується високим рівнем Т-клітинних ефекторних реакцій і мало пристосована до сприйняття антигенів.

Ключові слова: хронічний генералізований пародонтит, імунітет слизової оболонки, локальний імунітет, ясна, антиген презентуючі клітини, дендритні клітини, лімфоцити, внутріепітеліальні лімфоцити, $\gamma\delta$ -лімфоцити.

Шинкевич В. И. Роль клеточных факторов иммунитета десны в патогенезе хронического генерализованного пародонтита.-Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.08 – иммунология та алергологія.- Национальний

медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, 2005.

Диссертация посвящена исследованию клеточных факторов иммунитета десны посредством определения их количественных и качественных характеристик в соответствии со степенью тяжести хронического генерализованного пародонтита (ХГП), что углубляет знания об иммунопатогенезе заболевания.

Комплексная оценка иммуноцитов, которые экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD20, HLA-DR -молекулы, $\gamma\delta$ -Т клеточный рецептор и морфологического состояния десны точно соответствует степени тяжести хронического генерализованного пародонтита и отображает развитие определенных локальных иммунологических событий. При I степени тяжести имеет место усиление миграции HLA-DR⁺ дендритных клеток из эпителия в собственную пластинку десны, активная локальная презентация и начало инфильтрации сенсibilизированными эффекторными CD3⁺ лимфоцитами. II степень характеризуется высоким уровнем локальной презентации и развитием Т-клеточно опосредованного ответа на антигены (в т.ч. на аутоантигены) собственной пластинки десны. III степень характеризуется локальным преобладанием В-клеточного иммунного ответа на фоне снижения Т-клеточного.

Диагностическими критериями для уточнения степени тяжести ХГП служат количество CD8⁺ цитотоксических/киллерных клеток собственной пластинки, и $\gamma\delta$ ⁺ внутриэпителиальных лимфоцитов – показатели, достоверно изменяющиеся в соответствии со степенью тяжести; неблагоприятным прогностическим критерием при ХГП всех степеней является CD20⁺ В-клеточная инфильтрация собственной пластинки десны.

Специфичность состояния основных иммуноцитов десны при ХГП, в сравнении с врожденным несращением нёба, заключаются в том, что слизистая, выстилающая щелевой дефект нёба характеризуется высоким уровнем Т-клеточных эффекторных реакций и слабо приспособлена к восприятию антигенов. При ХГП имеют место локальные аутоиммунные процессы с последующим развитием иммунодефицита в виде снижения Т-клеточной защиты.

Сущность иммунологических процессов при развитии ХГП соответственно степеням тяжести заключается в перемещении взаимодействий антиген – иммуноциты из эпителия в собственную пластинку с сопутствующей утратой защитного потенциала эпителия и всей слизистой оболочки. Общие иммунологические черты, специфические ХГП проявляются усилением антигенной нагрузки с локализацией поддерживающего воспаление очага аутоантигенов в собственной пластинке десны; основные иммунологические

события протекают в собственной пластинке; при этом уровень развития ответа, опосредованного Т- цитотоксическими/киллерными лимфоцитам и типичного для слизистых оболочек, снижается. Длительность воспаления, его возобновление после ремиссии поддерживается аутоантигенами, наличие которых подтверждено результатами РБТЛ. Сенсибилизированные эффекторы клеточного иммунного ответа: $CD3^+$ Т-лимфоциты и $CD8^+$ цитотоксические лимфоциты, которые в значительном количестве обязательно присутствуют в инфильтратах, принимают участие в деструкции собственных тканей.

Ключевые слова: хронический генерализованный пародонтит, иммунитет слизистой оболочки, локальный иммунитет, десна, антиген презентующие клетки, дендритные клетки, лимфоциты, внутриэпителиальные лимфоциты, $\gamma\delta$ -лимфоциты.

Shinkevich V. The Role of Gingival Immunity Cells in the Pathogenesis of Adult Generalized Chronic Periodontitis.-Manuscript.

The thesis for acquiring of scientific degree of candidate of medicine, the speciality 14.03.08 – Immunology and Allergy.- National Medical University name of academic A.Bogomolets, Ukraine, Kiev, 2005.

The thesis is devoted to studying major immunity cells in gingiva at human adult generalized periodontitis by quantitative and quality assay in accordance with disease severity degree at tissue section. The researching results are facilitated disease immunopathogenesis.

The immune cells expressed CD3, CD4, CD8, CD20, HLA-DR –molecules and $\gamma\delta$ –chains in the TCR was identified and their localization, colocalization, quantitative, dendrites presents, size was characterized. Taking together with morphological assay this data were exactly related to disease severity degree and displayed the development of determined immunological events.

Intensive migration of HLA-DR⁺ cells from epithelium to lamina propria was established at the I disease severity degree following active local antigen presentation and beginning CD3⁺ T cells infiltration.

Increased levels of presentation and development of T cell mediated immune response to antigens and autoantigens was established at the II disease severity degree in gingival lamina propria in association with depressed T cell response in gingival epithelium.

The local immune response shift from T cells mediated on B cells was elucidated at III disease severity degree.

Specify of gingival immune cells status with respect to the generalized chronic periodontitis was confirm by compared with those at congenital palate unadhesion. Palatal mucosa from defect had increasing numbers of T cells effector CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ subpopulations and only some HLA-DR⁺ antigen presenting cells

demonstrated low ability for antigen capture.

The local autoimmune reactions take place in gingiva at adult generalized chronic periodontitis resulting in decreasing T cells defence.

Key words: adult generalized chronic periodontitis, mucosal immunity, local immunity, gingiva, gum, antigen presenting cells, dendritic cells, lymphocytes, intraepithelial lymphocytes, $\delta\gamma$ - lymphocytes.