

УДК:616.314.18-002.4:612.017.1

В. І. Шинкевич, І. П. Кайдашев

ЦНДЛ Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава.

Взаємозв'язок запально-дистрофічних та локальних імунологічних змін слизової оболонки ясен у хворих на хронічний генералізований пародонтит відповідно до ступенів тяжкості

***Резюме.** Досліджені взаємовідносини між морфологічними змінами слизової ясен та кількісними та якісними показниками основних імуноцитів на основі даних імуногістохімічного та морфологічного досліджень у відповідності до ступенів тяжкості хронічного генералізованого пародонтиту. З цією метою результати досліджень оброблені непараметричними статистичними методами.*

Установлені локальні імунологічні розлади і їх вплив на гістоархітектуру слизової оболонки. Продемонстровано ослаблення цитотоксичного захисту і зниження регуляторного потенціалу по підтриманню регенерації слизової оболонки; визначені фактори прогресування та підтримання патологічних процесів у слизовій ясен при хронічному генералізованому пародонтиті.

Не дивлячись на успіхи сучасної стоматологічної науки, проблема передчасної втрати зубів, обумовленої захворюваннями пародонту, залишається актуальною і важливою. Значні досягнення сучасної імунології повинні бути інкорпоровані клінічною та теоретичною стоматологією для розробки нових ефективних методів профілактики та лікування захворювань пародонту.

Рядом авторів встановлено, що деструкція альвеолярного відростку визначається природою та складом локального лімфоїдного інфільтрату, але не періодичному загостренню і не факторам вірулентності пародонтопатогенних мікроорганізмів [1]. Дослідження імунологічних процесів у слизовій оболонці ясен при хронічному генералізованому пародонтиті дозволили віднести це захворювання до імуноопосередкованих [2].

З іншого боку, морфологічні дослідження, проведені на рівні електронної мікроскопії дозволили виявити альтеративні зміни слизової оболонки ясен, вражених генералізованим пародонтитом [3-5]. Так, виявлені дегенеративні зміни мітохондріального апарату епітеліоцитів, інфільтрація лейкоцитами та етіологічно значущими мікроорганізмами розширених міжклітинних просторів слизової оболонки ясен при пародонтиті. Міжклітинні взаємодії відіграють важливу роль на різних етапах становлення й функціонування імунної системи – вони визначають

розвиток імуніцитів, напрямок їх міграції, здійснення багатьох ефекторних функцій [6]. Окрім взаємодій, опосередкованих розчинними медіаторами, адгезивні молекули епітеліоцитів можуть індукувати активацію імунікомпетентних клітин [7,8]. Отже, дистрофічні зміни епітелію опосередковано впливають на процеси міграції та функціонування імуніцитів при пародонтиті, що зумовлює актуальність вивчення взаємних впливів клітинних факторів локального імунітету і морфологічних особливостей слизової оболонки ясен при розвитку хронічного генералізованого пародонтиту.

Мета роботи полягала у вивченні взаємовідносин між морфологічними змінами слизової ясен та кількісними та якісними показниками основних імуніцитів на основі даних імунігістохімічного та морфологічного досліджень у відповідності до ступенів тяжкості хронічного генералізованого пародонтиту для поглиблення знань про патогенез захворювання.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проводили на серійних кріостатних зрізах (товщиною 5-7 мкм), виготовлених з біоптаптів слизової оболонки ясен, отриманих від пацієнтів віком 41- 60 років з хронічним генералізованим пародонтитом (ХГП) I-III ступенів (n=30, по 10 з кожним ступенем тяжкості). Інцизійна біопсія проводилася по відповідним показам, під анестезією, без шкоди для здоров'я та за дозволом етичної комісії Української медичної стоматологічної академії (УМСА), на базі кафедри пропедевтики ортопедичної стоматології і ортодонції УМСА. Для порівняння були дібрані практично здорові особи (n=6), врівноважені за віком та статтю. У дослідження включали особи з необтяженим алергологічним анамнезом; без хронічних системних захворювань крові, шлунково-кишкового тракту, сполучної тканини; без цукрового діабету. Діагностику хронічного генералізованого пародонтиту (ХГП) проводили на основі результатів клінічних методів дослідження (індекси та проби), ступінь тяжкості ХГП підтверджували рентгенологічно.

Імунігістохімічне та гістологічне дослідження кріостатних зрізів проводили як описано раніше [9]. Використовували первинні моноклональні антитіла (мкАТ 1) до CD3 (клон RIV9, ізотоп IgG3), CD4 (клон RIV7, ізотоп IgG2a), CD8 (клон RIV11, ізотоп IgG1), CD20 (клон 93-1B3, ізотип IgG1), HLA-DR- (клон ПІО-10, ізотип IgG3) антигенів імуніцитів людини ("Сорбент", Росія) [10], та антитіла до $\gamma\delta$ -ланцюгів Т-клітинного рецептора (ТКР) лімфоцитів людини (клон 5A6.E9, ізотоп IgG1) ("CALTAG Laboratories", Buringame, CA) [11]. Локалізацію первинних антитіл виявляли за допомогою біотинильованих антитіл і екстравідин-пероксидазного комплексу (MOUSE ExtraAvidin® PEROXIDASE STAINING KIT, Sigma, USA). Проявку реакції здійснювали розчином 3-аміно-9-етілкарбазолу (АЕС) ("Sigma", USA). Зріз контрастували гемалауном Майєра ("Sigma", USA). Для морфологічних

досліджень зрізи забарвлювали гематоксином та еозином. Підрахунок імунореактивних клітин проводили методом стандартної площини [9], окремо в межах епітелію – на 100 епітеліоцитів, і у власне слизовій оболонці (ВСО) – на площу, рівну 100 епітеліоцитів. Результати досліджень документувалися фотографічно. Вірогідність при порівнянні результатів установлювали за Kruskal-Wallis ANOVA & Median Test, взаємозв'язки між показниками виявляли за допомогою непараметричного методу кореляції з підрахунком R-коефіцієнта Спірмена програми STATISTICA.

Результати та обговорення

Морфологічні дослідження слизової оболонки ясен у осіб групи порівняння принципово відповідали охарактеризованим у літературі.

В загальних рисах епітелій ясен здорових осіб був представлений 15-25 рядами клітин, які складали базальний, шипуватий, плесканий та роговий шари. Базальні епітеліоцити мали циліндричну форму, різко базофільне ядро, розміщувалися в 1-2 ряди на базальній мембрані. Шипуваті клітини характеризувалися крупними розмірами, складали 10-20 рядів; поодинокі клітини містили вакуолі. Плесканий шар представляли епітеліоцити видовженої форми з овальним ядром і чіткими межами, інколи спостерігалася добре виражена зернистість цитоплазми. Поверхня епітелію часто була представлена видовженими клітинами без чітких меж, різко еозинофільною цитоплазмою і збереженими овальними ядрами. Рогові клітини мали вигляд нашарувань лусочок і не містили ядер. Власна пластинка слизової оболонки ясен утворювала щільні сосочки, які вдавалися на 1/3-2/3 в глибину епітелію. У сосочках розташовувалися судини і багато клітинних елементів, сполучна тканина більш глибоких відділів складалася з добре виражених волокон.

При ХГП було виявлено ряд дистрофічних та запальних розладів в епітелії та ВСО слизової ясен, які наведені у таблиці 1 та на рис. 1-3.

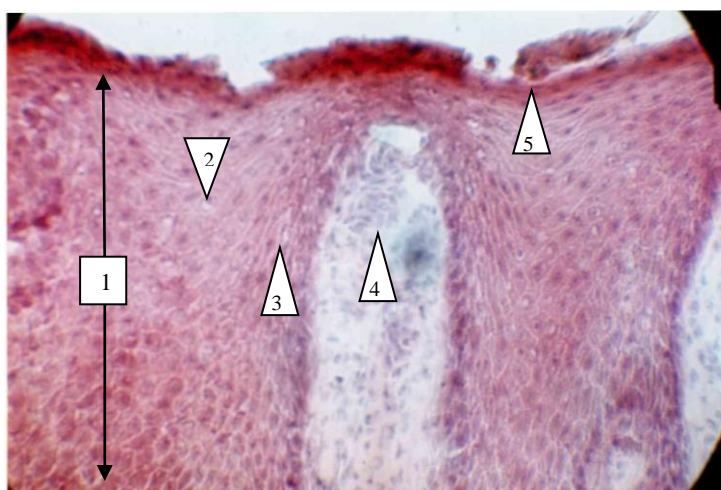
Таблиця 1

Частота виявлених морфологічних змін слизової оболонки при ХГП I-III ступенів тяжкості

Характер змін слизової ясен	I ступінь ХГП	II ступінь ХГП	III ступінь ХГП
	% від дослідженого матеріалу		
Паракератоз	90	90	80
Ороговіння	30	50	30
Відшарування поверхневих шарів епітелію	50	20	30
Вакуольна дистрофія	100	100% і 20% - різко виражена*	100% і 30% - різко виражена*
Спонгіоз	70	30	70
Акантоз	30	40	10
Набряк власне слизової	100	100	100
Круглоклітинна інфільтрація епітелію	0	Поодинокі випадки	Поодинокі випадки
Круглоклітинна інфільтрація власне слизової	100	100	100

* різко вираженою вважали балонуючу дистрофію з утворенням внутрієпітеліальних пухирців і відшаруванням пластів епітелію.

Гістологічне дослідження слизової оболонки ясен при I-III ступенях тяжкості ХГП установило утворення вакуолей у межах клітин шипуватого, плескатоного і, рідше, базального шарів епітелію (рис. 2) на всіх препаратах (рис. 1-3). Вакуолі відтісняли ядро до периферії, інколи сполучалися, утворюючи мікропухирці, що характерно для балонуючої дистрофії (рис. 2). Поверхня епітелію найчастіше була представлена плескатими клітинами, які не мали чітких меж, із збереженими ядрами овальної форми, що характерно для паракератозу (рис. 2, 3). В нормі ороговіння епітелію ясен в окремих ділянках може проходити шляхом паракератозу. Частина досліджених препаратів мала відокремлені поверхневі шари (рис. 1), утворені лусочки склалися з паракератозних клітин і звичайно супроводжували різко виражену балонуючу дистрофію звичайно плескатоного шару. У більшості випадків було відзначено спонгіоз шипуватого шару епітеліоцитів, який проявлявся накопиченням рідини у міжклітинних проміжках і ослабленням та/або розривом міжклітинних контактів (рис. 1, 2). У ряді випадків було відзначено потовщення епітеліального шару за рахунок шипуватих клітин, що характерно для акантозу (рис.1). Акантоз відображав розвиток гіпертрофічного гінгівіту, який супроводжував ХГП. При II та, особливо, при III ступенях тяжкості ХГП часто епітеліальний шар був потоншений (рис. 3). Прикмети набряку та круглоклітинна інфільтрація власної пластинки слизової оболонки була виявлена на всіх препаратах.



- 1- акантоз;
 - 2- вакуольна дистрофія;
 - 3- спонгіоз;
 - 4- набряк та круглоклітинна інфільтрація власне слизової;
 - 5- відшарування поверхні епітелію.
- Забарвлення гематоксиліном та еозином; зб. х 60.

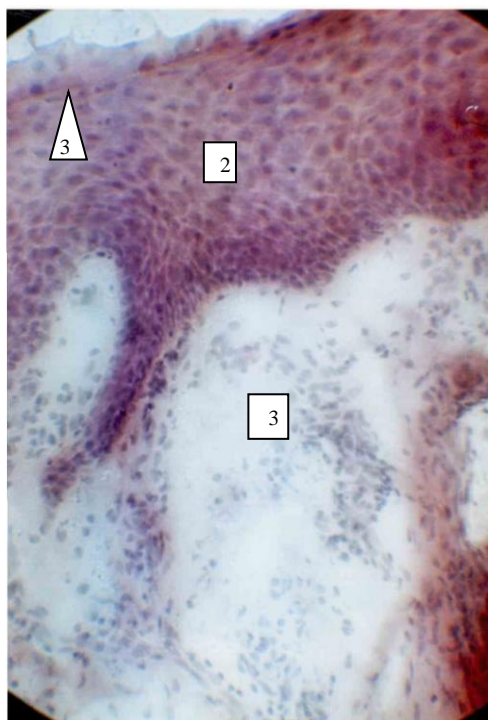


Рис. 2. Слизова оболонка ясен при II ступені тяжкості ХГП:
 1- паракератоз;
 2- потоншення епітеліального шару;
 3- набряк та круглоклітинна інфільтрація власне слизової.
 Забарвлення гематоксиліном та еозином; зб. х 60.



Рис. 3. Слизова оболонка ясен при III ступені тяжкості ХГП:
 1- паракератоз;
 2- балонуюча дистрофія;
 3- спонгіоз;
 4- вакуольна дистрофія епітеліоцитів базального шару;
 5- набряк власне слизової.

Забарвлення гематоксиліном та еозином; зб. х 60.

Морфологічну характеристику слизової оболонки співвідносили з кількісними та якісними показниками імуніцитів. Кількісна характеристика імуніцитів та результати порівнянь між групами у вигляді рангів наведені у табл. 2

Таблиця 2

Кількісні показники імуніцитів інтактної слизової оболонки ясен та слизової ясен при ХГП I-III ступенів тяжкості

Імуноцити	Інтактна слизова ясен		Слизова ясен при I ступені тяжкості ХГП		Слизова ясен при II ступені тяжкості ХГП		Слизова ясен при III ступені тяжкості ХГП	
	епітелій	Власне слизова	епітелій	Власне слизова	епітелій	Власне слизова	епітелій	Власне слизова
HLA-DR ⁺	144	197	174	222*	122	212*	97**	177
CD3 ⁺	26	61	46	82*	31	81	19	76
CD4 ⁺	66	65	18*	76	28*	92* **	8*	57* ** ***
CD8 ⁺	153	165	86	146	44*	65*	58*	104*
γδ ⁺	5	107	6	14*	13*	144**	8	25* **
CD20 ⁺	8	14	10	26	7	40	11*	54* **

Примітка: Кількісні показники наведені у вигляді рангів, стат. обробка – Kruskal-Wallis ANOVA & Median Test.

* - позначено вірогідні відміни від показників інтактної слизової;

** - вірогідні відміни від показників при I ступені тяжкості;

*** - вірогідні відміни від показників при II ступені тяжкості.

Для визначення залежності між кількісними змінами імуніцитів у слизовій оболонці проводився непараметричний кореляційний аналіз з розрахунком R-коефіцієнту Спірмена.

В інтактній слизовій оболонці корелятивні взаємозв'язки між CD4⁺ і CD8⁺ клітинами; CD3⁺ і CD4⁺ клітинами; CD3⁺ і CD8⁺ клітинами BCO (табл. 3), відображали двопозитивність клітин (так, здатністю до CD4- та CD8-експресії, крім CD4⁺ Т-лімфоцитів хелперів та CD8⁺ цитотоксичних лімфоцитів, у незначній мірі володіють: CD4 – моноцити, гранулоцити, тканинні макрофаги, дендритні клітини; CD8 – НК-клітини [12]). Отримані результати кореляційного аналізу узгоджуються з можливим зниженням рівню CD3-експресії (CD3 – маркер загальної Т-клітинної популяції) Т-клітинами слизової в процесі диференціювання їх в CD4⁺ і CD8⁺ клітини (така можливість дискутується в літературі [13, 14]). Виявлені кореляційні відносини в інтактній слизовій між CD3⁺ клітинами; CD4⁺ клітинами; CD8⁺ клітинами BCO з одного боку і CD20⁺ клітинами (В-клітинами) епітелію (табл. 3) відображають стабільність пропорції Т- / В-клітинної імунної відповіді.

Таблиця 3

Кореляційні зв'язки між кількісними показниками імуніцитів
інтактної слизової оболонки ясен

Кількісні показники клітин	Коефіцієнт Спірмена R	p
CD4 ⁺ і CD8 ⁺ клітини власне слизової	0,90000	0,005752
CD3 ⁺ і CD4 ⁺ клітини власне слизової	- 0,87671	0,009582
CD3 ⁺ і CD8 ⁺ клітини власне слизової	- 0,87671	0,009582
CD3 ⁺ клітини власне слизової і CD20 ⁺ клітин епітелію	- 0,90749	0,004755
CD4 ⁺ клітини власне слизової і CD20 ⁺ клітин епітелію	0,96609	0,000399
CD8 ⁺ клітини власне слизової і CD20 ⁺ клітин епітелію	0,96609	0,000399

У межах інтактної ВСО кореляційних зв'язків не було встановлено між Т- і В-клітинними популяціями. За високою експресією HLA-DR-молекул, ми ідентифікували дендритні антигенпрезентуючі клітини [15]. Кореляційні зв'язки були відсутні між HLA-DR⁺ клітинами епітелію й ВСО – з одного боку, і Т-, В-клітинами – з іншого, що підкреслює різні механізми появи цих клітин у власній пластинці слизової у нормі.

При ХГП кореляційний аналіз проводили між показниками, які відображали ступінь дистрофічних змін епітелію і кількістю імуніцитів, характером їх локалізації (наявність/відсутність скупчень) для пояснення взаємного впливу цих факторів у патогенезі ХГП.

При I ступені тяжкості ХГП вірогідне збільшення числа HLA-DR⁺клітин і позитивні корелятивні зв'язки між цим показником і утворенням лусочок на поверхні слизової, та з утворенням скупчень CD3⁺клітин в епітелії (табл. 4) відображали посилене антигенне навантаження у ВСО. Neutra M. R. та співав. (1998), Vanchereau J. та співав. (1998) продемонстрували високу відповідність кількості антигену і дендритних клітин у тканинах [16, 17]. У відносно рідких випадках акантозу інфільтрація ВСО CD3⁺ клітинами була менш визначною (однак кількість цих клітин вірогідно підвищувалася (табл. 3), що відображено негативною кореляцією між акантозом і числом CD3⁺ клітин ВСО (табл. 4). Спонгіоз епітелію супроводжувався зменшенням числа CD4⁺ клітин ВСО (позитивна кореляція між наявністю спонгіозу і CD4⁺ клітинною інфільтрацією ВСО, табл. 4). При цьому втрачалися корелятивні взаємовідносини між кількісними показниками імуніцитів, які були визначені для нормальної слизової. Отже, при I ступені тяжкості ХГП спостерігався значний вплив дистрофій на кількісні показники імуніцитів.

Таблиця 4

Кореляційні зв'язки між кількісними показниками імуніцитів та
дистрофіями слизової оболонки ясен при I ступені тяжкості ХГП

Корелюючі показники	Коефіцієнт Спірмена R	p
Відшарування поверхневих шарів епітелію і скупчення CD3 ⁺ клітин в епітелії	0,801784	0,005276

Утворення лусочок на поверхні слизової і кількість HLA-DR ⁺ клітин власне слизової	0,772393	0,008829
Скупчення CD3 ⁺ клітин в епітелії і HLA-DR ⁺ клітини власне слизової	0,668442	0,034603
Акантоз і число CD3 ⁺ клітин власне слизової.	-0,655789	0,039507
Спонгіоз і CD4 ⁺ клітинні інфільтрати власне слизової	0,771517	0,008955

При II ступені ХГП ряд кореляційних взаємовідносин, установлених з типом ороговінням епітелію (ороговіння/паракератоз, табл. 5), характеризують цей процес як досить важливий, який бере участь, зокрема, в евакуації антигенного матеріалу з поверхні слизової. Так, при ороговінні епітелію відмічена втрата відростків HLA-DR⁺ клітинами; ороговіння епітелію супроводжувалося більш інтенсивною вакуольною дистрофією. Паракератоз слизової оболонки позитивно корелював з утворенням $\gamma\delta^+$ клітинних угруповань ВСО (табл. 5), що відображає переважне розміщення $\gamma\delta^+$ клітин ВСО – у вигляді груп. Відомо, що внутрієпітеліальним $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитами належить особливе значення у нормі та при розвитку ряду захворювань [18].

Таблиця 5

Кореляційні зв'язки між кількісними показниками імуніцитів та дистрофіями слизової оболонки ясен при II ступені тяжкості ХГП

Корелюючі показники	Коефіцієнт Спірмена R	p
Ороговіння епітелію і вакуольна дистрофія	0,59 1608	0,033189
Ороговіння епітелію і кількість CD3 ⁺ клітин епітелію	0,698709	0,009469
Ороговіння епітелію і групування CD8 ⁺ клітин епітелію	0,554762	0,052717
Ороговіння епітелію і CD4 ⁺ клітинні інфільтрати власне слизової	0,69048	0,008984
Ороговіння епітелію і наявність відростків у HLA-DR ⁺ клітин	-0,59161	0,033 189
Паракератоз і $\gamma\delta^+$ клітинні угруповання власне слизової	0,66667	0,0325265
Акантоз і CD3 ⁺ клітинні інфільтрати власне слизової	-0,69 282	0,008660
Акантоз і кількість HLA-DR ⁺ клітин власне слизової	0,59571	0,031686
Вакуольна дистрофія і CD4 ⁺ клітинні інфільтрати власне слизової	0,59161	0,033189
Вакуольна дистрофія і кількість CD20 ⁺ клітин власне слизової	0,74112	0,009 060
Кількість HLA-DR ⁺ і кількість CD20 ⁺ клітин власне слизової	R= -0,667235	p=0,035 052
Кількість CD4 ⁺ клітин епітелію і власне слизової	R=0,587817	p=0,044426

Акантоз супроводжувався більш рідким утворенням CD3⁺ клітинних інфільтратів ВСО та збільшенням кількості HLA-DR⁺ клітин у ВСО (табл. 5). Ці результати характеризують більш рівномірний перерозподіл CD3⁺ клітин при збільшенні числа шарів епітелію. Відмічена також позитивна кореляція акантозу з кількістю HLA-DR⁺ клітин ВСО при II ступені тяжкості ХГП: відповідно до потовщення епітелію збільшувалося число ДК, які просканували його. Взагалі, збільшена кількість HLA-DR⁺ клітин

BCO при I та II ступенях ХГП (табл. 2), відображає посилене антигенне навантаження у цьому відділі слизової оболонки, яке, в основному, не пов'язане з потовщенням епітелію.

Вакуольна дистрофія позитивно корелювала з утворенням CD4⁺ клітинних інфільтратів BCO, а також із кількістю CD20⁺ клітин BCO. Інтенсивність вакуольної дистрофії один з факторів, який забезпечує проникність епітелію і сприяє надходженню антигенів до BCO [3], які, у свою чергу, впливають на CD4⁺ і CD20⁺ імуніцити, – цей опосередкований механізм є одним з можливих пояснень виявленої кореляції.

Позитивна кореляція для CD4⁺ клітин епітелію і BCO (табл. 5) може відображати близькі механізми накопичення клітин внутріепітеліально і у BCO, а також значну проникність крізь базальну мембрану. Показано переважно згруповане розміщення CD8⁺ клітин в епітелії, характерне для II ступеня тяжкості ХГП.

При II ступені тяжкості ХГП установлені корелятивні зв'язки також відображали зміни кількісних показників імуніцитів слизової оболонки ясен, порівняно з інтактною слизовою і з I ступенем тяжкості ХГП (табл. 2).

При III ступені тяжкості ХГП виявлено наступний взаємозв'язок дистрофій та імуніцитів слизової оболонки (табл. 6): ороговіння епітелію позитивно корелювало з кількістю CD3⁺ клітин епітелію; при паракератозі внутріепітеліальні CD3⁺ клітини були розташовані переважно рівномірно. Спонгіоз супроводжувався зменшенням числа CD8⁺ клітин у BCO (табл. 6), що співпадає із вірогідним зменшенням числа CD8⁺ клітин у BCO при III ступені ХГП (табл. 2). Вакуольна дистрофія епітелію супроводжувалася зменшенням кількості CD20⁺ клітин у BCO. Це спостереження протилежне, визначеному при II ступені ХГП, і може пояснюватися більш інтенсивним розвитком вакуольної дистрофії при III ступені тяжкості ХГП, порівняно з II (табл. 1).

Таблиця 6

Кореляційні зв'язки між кількісними показниками імуніцитів та дистрофіями слизової оболонки ясен при III ступені тяжкості ХГП

Корелюючі показники	Коефіцієнт Спірмена R	p
Ороговіння і кількість CD3 ⁺ клітин епітелію	R=0,798372;	0,017518
Паракератоз і наявність скупчень CD3 ⁺ клітин в епітелії	- 0,745356	0,033798
Спонгіоз і кількість CD8 ⁺ клітин власне слизової	- 0,837526	0,004837
Вакуольна дистрофія і кількість CD20 ⁺ клітин власне слизової	- 0,75 0555	0,032906
Кількість CD3 ⁺ клітин епітелію і кількість CD8 ⁺ клітин епітелію	0,708197	0,049316
Кількість CD3 ⁺ клітин епітелію і наявність скупчень CD8 ⁺ клітин в епітелії	0,873334	0,002100

Кількість HLA-DR ⁺ клітин епітелію і кількістю CD3 ⁺ клітин епітелію	0,866683	0,00547
Кількість HLA-DR ⁺ клітин епітелію і кількістю CD8 ⁺ клітин епітелію	0,819337	0,012816
Кількість CD20 ⁺ клітин епітелію і власне слизової	0,832050	0,020238
Кількість CD20 ⁺ клітин власне слизової і кількістю CD4 ⁺ клітин власне слизової	0,800000	0,17120
Кількість $\gamma\delta^+$ клітин власне слизової і кількістю CD8 ⁺ клітин власне слизової	0,888523	0,043925

При III ступені ХГП були виявлені кореляційні зв'язки між кількісними показниками CD3⁺ і CD8⁺ клітин, що пояснюється подібними механізмами залучення цих клітин до слизової, наявністю двопозитивної субпопуляції. Кореляційні зв'язки між кількістю HLA-DR⁺ та кількістю CD3⁺ клітин, а також з кількістю CD8⁺ клітин, відображають можливість взаємодії імуніцитів. Позитивні корелятивні взаємовідносини, які відмічені для CD4⁺ і CD20⁺ клітин слизової, також підпорядковані можливості взаємовідносин між ними, подібно до подій (антигенної презентації) у периферійних лімфоїдних органів. Сьогодні доведена можливість антигенної презентації безпосередньо в тканинах при аутоімунних процесах [19, 20]. І також доведено наявність аутоімунного компоненту у патогенезі ХГП [21].

Також, при III ступені тяжкості ХГП встановлена кореляція між кількістю $\gamma\delta^+$ клітин і кількістю CD8⁺ клітин у межах власне слизової. Відомо, що визначна роль у розвитку аутоімунних процесів належить $\gamma\delta^+$ клітинам [18, 20, 21]. Отже, результати кореляційного аналізу відображають визначну роль аутоімунного компоненту в патогенезі ХГП.

Отримані результати морфологічних змін слизової оболонки ясен відповідно ступенів тяжкості довели посилення інтенсивності і розповсюдженості у глибоких шарах епітелію вакуольної дистрофії, а також переважно зменшену товщину епітелію при III ступені тяжкості ХГП.

Нами показано, що морфологічні зміни слизової оболонки ясен при ХГП впливли, в загальних рисах, на угруповане розміщення імуніцитів і, менше, на їх кількість.

Таким чином, порушення гістоархітектоніки слизової оболонки ясен при ХГП призводить до збільшення проникності для антигенів зубоясенних сполучень, змін мікрооточення для імуніцитів, що узгоджується з попередніми дослідженнями [2-4]. Однак, відомо, що епітеліальні клітини експресують ряд адгезивних молекул, ростових факторів, які впливають на функціонування внутріепітеліальних лімфоцитів. Так, KGF (keratinocyte growth factor), продукуємий епітеліоцитами та кератиноцитами, викликає швидку активацію і проліферацію $\gamma\delta$ -лімфоцитів і не впливає на $\alpha\beta$ -лімфоцити [22]. Отже, угруповання лімфоцитів, виявлене нами, може служити морфологічним субстратом, що визначає їх проліферацію.

De Boer та співав. (2000) показали підвищений рівень експресії TGF-1 (який бере участь в ремоделюванні слизової оболонки дихальних шляхів [23]) месенджерної РНК і протеїну бронхоальвеолярним епітелієм у хворих на хронічну обструктивну хворобу легень [24]. Також, відомо, що експресія $\alpha E\beta 7$ епітеліоцитами дихальних шляхів може відігравати вирішальну роль в затримці HML-1⁺ $\gamma\delta$ - T-лімфоцитів в межах епітеліального відділу і їх активації [25]. Що припускає додаткові механізми взаємозв'язків імунних та епітеліальних клітин при ХГП, які ще належить дослідити.

Проведене дослідження дозволило установити локальні імунологічні розлади і можливість їх впливу на гістоархітектуру слизової оболонки ясен. Досить широко досліджена роль локальних лімфоцитів по контролю та регуляції росту периферійних тканин [26]. Так, нами виявлено зменшення представництва T- лімфоцитів в епітелії слизової ясен при всіх ступенях тяжкості ХГП, яке відображає послаблення клітинно-опосередкованого захисту і зниження регуляторного потенціалу по підтриманню росту й регенерації слизової оболонки.

Результати кореляційного аналізу між кількісними показниками імуноцитів, отримані у нашій роботі, підпорядковані змінам чисельності клітин відповідно до ступенів тяжкості ХГП і аутоімунним процесам, які протікають у ВСО.

Дослідження Schenck K. та співав. (2001), Gemmell E. та співав. (2002) продемонстрували, що імунологічні процеси у тканинах пародонту зобов'язані довготерміновій персистенції антигенів (хронічна інфекція та аутоімунітет), презентації чужорідних антигенів в аномальних умовах або неадекватним відповідям, генетично властивим макроорганізму [2, 3]. У таких умовах дендритні клітини здатні змінювати свої властивості по презентації антигенного матеріалу і індукції відповіді певного типу, до індукції аутоімунної відповіді [21]. Також, перехресні імунні реакції на шаперони бактеріального походження і, зокрема, на hsp60 людини можуть лежати в основі механізмів аутоімунітету при ХГП, безпосередньо індукуючи інтраепітеліальні $\gamma\delta$ -T-лімфоцити [27].

Дана робота підтримана фінансуванням МОЗ України за темою „Вивчення імунологічного апарату м'яких тканин порожнини рота при генералізованому пародонтиті та ортопедичних втручаннях для розробки сучасних методів імунокорекції” № ДР 0103U001312.

Висновки

1. При всіх ступенях тяжкості ХГП виявлено зменшення представництва імуноцитів в епітелії слизової ясен, яке відображає послаблення цитотоксичного захисту і зниження регуляторного потенціалу по підтриманню росту й регенерації слизової оболонки.
2. При I і II ступенях тяжкості ХГП відзначено підвищене антигенне навантаження на епітелій слизової оболонки, внаслідок дистрофій. При III ступені тяжкості ХГП зменшується товщина епітелію, знижується

кількість імунних клітин, що дозволяє антигенам полегшено потрапляти до підлеглої власної пластинки слизової.

3.Прогресування ХГП підтримується аутоімунними процесами у тканих пародонту за участі $\gamma\delta$ -Т-клітин.

Резюме

В. И. Шинкевич, И. П. Кайдашев

Взаимосвязь воспалительно-дистрофических и локальных иммунологических изменений слизистой оболочки десны у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в соответствии со степенями тяжести

Исследована взаимосвязь между морфологическими изменениями слизистой оболочки десны и количественными и качественными показателями основных иммуноцитов на основании данных иммуногистохимического и морфологического исследований в соответствии со степенями тяжести хронического генерализованного пародонтита. С этой целью результаты исследования обработаны непараметрическими статистическими методами.

Установлены локальные иммунологические расстройства и их влияние на гистоархитектонику слизистой оболочки. Продемонстрировано ослабление цитотоксической защиты и снижение регуляторного потенциалу регенерации слизистой оболочки; определены факторы прогрессирования и по поддержания патологических процессов в слизистой десны при хроническом генерализованном пародонтите.

Summary

V. Shinkevich, I. Kaidashev

It was research the interrelationships between morphological changes and the quantity and quality of local mucosal base immune cells at chronic generalized periodontitis according to disease severity degree. The immunohistochemical technique, morphological and nonparametric statistical methods were used for the aim approach.

It was established mucosal regeneration potential decreasing level, the factors responsible for disease progression and for remain pathological processes in gingival mucosa at chronic generalized periodontitis.

Література

1. Schenck K., Kiyono H., Helgeland K., Steinsvoll S., Taylor B. Immune-mediated mucosal disease: tales about lost and won // Proceedings of the conference 'New Frontiers in Oral Immunological Diseases'.- Lillehammer, Norway.-2001.-Part 2.
2. Колесова Н. В. Особенности нарушения барьерной функции эпителия десны при генерализованном пародонтите. Сообщение // Современная стоматология.-2001.-№3.-С.42-45.
3. Gemmell E., Yamazaki K., Seymour G.J. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response // Crit. Rev. Oral. Biol. Med.-2002.-Vol. 13, No 1.-P. 17-34.
4. Зубачик В. М., Бісярін Ю. В., Пасько О. О. Електронно-мікроскопічне дослідження порушення мембранно-десмосомальних міжклітинних контактів в епітелії ясен при пародонтиті // AML.-2000.-т. VI.-№ 2.-С.31-34.
5. Григорьян А. С., Грудянов А. И., Антипова З. П., Фролова ОГ. А., Кулаженко Т. В., Титов М. Н. Цитологические показатели как критерии оценки состояния пародонта // Стоматология.-1998.-№3.-С.17-21
6. Ярилин А. А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе. Выбор клеткой формы ответа // Иммунология.-1999.-№1.-С.17-24.
7. Lee B., J., Naclerio R. M., Bochner B. S., et. al. Nasal challenge with allergen upregulates the local expression of vascular endothelial adhesion molecules // J. Allergy. Clin. Immunol.-1994.-Vol.94 (6 Pt 1).-P.1006-1016.
8. Bieber T., Wollenberg A. The skin as immunocompetent organ in health and disease / In: Burg G., Dmmer R. (Hrsg), Strategies for Immunointervention in Dermatology, Springer-Verlag.: 1997.-P. 21-28.
9. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. проф. Кайдашева І. П.,- Полтава.-«Полімет».-2003.-319с.

10. Кайдашев І. П., Ткаченко П. І., Кроєдова В. Д., Карасюнок О. О., Шинкевич В. І., Баштовенко О. А. Спосіб оцінки функціонального стану слизової оболонки порожнини рота. Деклараційний патент України № 48519 А, МПК 7 А61С17/00, заявл. 24.09.2001, опубл. 15.08.2002. Бюл. № 8.
11. Кайдашев І. П., Шинкевич В. І. Спосіб оцінки імунологічного стану слизової оболонки порожнини рота. Деклараційний патент України № 58163 А, МПК 7 А61С17/00, заявл. 15.10.2002, опубл. 15.08.2003. Бюл. № 8.-2с.
12. Сидоренко С. П. Поверхностные антигены человека, систематизированные международными рабочими совещаниями по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека // Імунологія та алергологія.-1998.-№3.-С.16-38.
13. Ткаченко П. І., Кайдашев І. П., Лохматова Н. М., Рябенко В. В., Шинкевич В. І. Состояние иммунологического аппарата у детей с хроническим катаральным гингивитом // Современная стоматология.-2002.-№4.-С.39-42.
14. Park C.-S., Yang Y.-F., Zhou X.-Y., Toyooka K., Yashiro-Ohtani Y., Park W.-R., Tomura M., Tai X.-G., Hamaoka T., Fujiwara H. Reversible CD8 expression induced by common cytokine receptor γ chain-dependent cytokines in a cloned CD4⁺ T_H1 cell line // International Immunology.-2002.-Vol.14, N 3.-P.259-266.
15. Кайдашев І. П., Шинкевич В. І., Рябенко В. В., Король Д. М., Ткаченко І. М., Крутикова Э. І. Иммуногистохимическое исследование слизистых оболочек // Лабораторная диагностика.-2003.-№3.-С.15-20.
16. Neutra M. R. Current concepts in mucosal immunity. V. Role of M cells in transepithelial transport of antigens and pathogens to the mucosal immune system // Am. J. Physiol.-1998.-Vol.274.-P.785.

17. Banchereau J. Steinman R. M. Dendritic cells and the control of immunity // Nature.-1998.-Vol.392.-P.245.
- 18.Svensson L., Lilliehöök B., Larsson R., Bucht A. $\gamma\delta$ T cells contribute to the systemic immunoglobulin E response and local B-cell reactivity in allergic eosinophilic airway inflammation // Immunology.-2003.-Vol.108.-P.98-108.
- 19.Пащенко М. В., Пинегин Б. В. Роль дендритных клеток в регуляции иммунного ответа // Иммунология.-2002.-№5.-С.313-321.
- 20.Drakesmith H., Chein B., Beverley P. How can dendritic cells cause autoimmune disease? // Immunology Today.-2000.-Vol.21.-P.214-217.
21. A Wassenaar, C Reinhardus, T Thepen, L Abraham-Inpijn and F Kievits Cloning, characterization, and antigen specificity of T-lymphocyte subsets extracted from gingival tissue of chronic adult periodontitis patients // Infect. Immun.- 1995.- Vol 63, No. 6.- P.2147-2153.
22. Boismenu R., Havran W.L. γ -, δ -T-cells in Host Defense and Epithelial cell Biology// Clin. Immunol and Immunopathol.-1998.-Vol.86,-№2.-P.121-133.
- 23.Vingola A. M., Chanez P., Chiappara G. et. al. Transforming growth factor-expression in mucosal biopsies in asthma and chronic bronchitis // Am. J. Respir. Crit. Care. Med.-1997.-Vol.156.-P.591-599.
- 24.De Boer et al. Epidemiologic and experimental studies suggest that diesel exhaust particles (DEPs) may be related to increasing respiratory mortality and morbidity // Am. J. Respir. Crit. Care Med.-2000.
- 25.Pawankar R. Epithelial cells as immunoregulators in allergic airway diseases // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology.-2002.-Vol.2.-P.1-5.
- 26.Бабаева А. Г. Регенерация и система иммуногенеза.- М.:Медицина,1985.-255с.
27. Goulhen F., Grenier D., Mayrand D. Oral microbial heat-shock proteins and their potential contributions to infections // Crit. Rev. Oral. Biol. Med.-2003.- Vol.-14,№6.-P.399-412.

