

Закиров Т.В., Ожгихина Н.В., Иощенко Е.С.

Иммунологическая характеристика пациентов с агрессивным генерализованным пародонтитом

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

Zakirov T.V., Ozhgikhina N.V., Ioshchenko E.S.

Immunological characteristics of patients with generalized aggressive periodontitis

Резюме

Было проведено исследование гуморальных и клеточных параметров иммунного статуса 223 пациентов в стадии обострения агрессивного пародонтита. Полученные данные подтверждают мультифакторность заболевания, демонстрируя нарушения как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета, а также значительно выраженные изменения в системе фагоцитарной защиты.

Ключевые слова: агрессивный пародонтит, показатели иммунитета, пародонтопатогены

Summary

There were 223 patients with acute stage of aggressive periodontitis included into the study of the cell and humoral parameters of the immunity. Results of this investigation credibly demonstrated defects both in cell and humoral immunity, as well as in the system of phagocytosis pathological recession was registered.

Keywords: aggressive periodontitis, immunity indicators, periopathogens

Введение

Агрессивный пародонтит (АП) представляет серьезную проблему современной стоматологии, так как имеет атипичное упорно-рецидивирующее течение. Атипичность данной формы проявляется в том, что активное разрушение опорных тканей зубов начинается в молодом возрасте. Заболевание сопровождается глубоким разрушением костной ткани и пародонта, очень часто обильным, стойким гноетечением и разрастанием грануляционной ткани в пародонтальных карманах, с другой стороны – незначительным воспалением в мягких тканях. АП практически не поддается лечению с помощью традиционных средств и в относительно короткий срок приводит к полной потере зубов [1,6].

Микробный фактор является одним из определяющих факторов в развитии АП. Главными патогенными микроорганизмами, вызывающими заболевания пародонта и, в частности, АП являются *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* (далее - пародонтопатогены), которые входят в состав зубной бляшки и отличаются наиболее высокой агрессивностью и способностью проникать в ткани пародонта. В ответ на их внедрение в пародонтальный комплекс в организме человека формируется иммунный ответ с развитием аутоиммунного воспаления. Иммунологический ответ при этом обращается против клеток собственного организма, несущих тот же доминантный эпитоп. Многими исследователями отмече-

на неоднозначность корреляции показателей количества пародонтопатогенов и клинических проявлений воспаления, а также степени и скорости деструкции костной ткани [1,3,7,8].

Локальное иммунодефицитное состояние формируется в условиях хронического воспалительного процесса в пародонте, и при этом происходит неизбежное повреждение эпителиального барьера, что приводит к активации эпителиальных клеток, которые приобретают иммуногенные свойства, начинают выделять цитокины, ответственные за активацию и привлечение Т-лимфоцитов. Имеет место выраженная активация В-клеточного звена. В период обострения количество В-лимфоцитов повышается, в период ремиссии - падает. Однако эффективность гуморальной защиты не обеспечивается повышением количества иммунных клеток - есть данные, что пародонтопатогены не разрушаются под действием иммуноглобулинов и системы комплемента [6,7]. Ряд авторов отмечает, что у пациентов с агрессивным пародонтитом отсутствует выработка достаточного количества полноценных антител к анаэробным микроорганизмам. Таким образом, эффективного гуморального ответа на внедрение этих бактерий не происходит и формируется иммунная недостаточность. Есть данные и об уменьшении в периферической крови количества Т-лимфоцитов у лиц с АП, причем прослеживается генетическая предрасположенность [4,5,6].

Другим нарушением в системе защиты организма от патогенной микрофлоры у пациентов с агрессивным пародонтизом является снижение эффективности фагоцитоза. Данная патология имеет наследственный характер и может быть связана с нарушением строения рецепторов на поверхности клеток, подавлением процессов опсонизации и хемотаксиса лейкоцитов, снижением активности лизосомальных ферментов и др. Итогом становится незавершенный фагоцитоз и внутриклеточное размножение патогенных микроорганизмов. [3,12].

Необходимо отметить, что частота встречаемости нарушений врожденного иммунитета различается в разных популяциях, а снижение функциональной активности фагоцитирующих клеток может быть обусловлено наличием хронических рецидивирующих заболеваний бактериальной и грибковой природы или иметь наследственную природу [4].

Клинические исследования состояния иммунитета у больных агрессивным пародонтизом немногочисленны, и полученные результаты проанализированных нами источников литературы часто противоречивы. Это связано с тем, что АП - заболевание мультифакторной этиологии со сложными причинно-следственными связями, для изучения механизмов развития которого необходимо большое количество клинического материала.

Цель работы - изучение иммунного статуса пациентов с агрессивным генерализованным пародонтизом тяжелой степени в стадии обострения.

Материалы и методы

Контролируемое сравнительное клиническое исследование выполнено на базе Многопрофильной стоматологической поликлиники УГМУ (гл. врач - к.м.н., Стати Т.Н.). Лабораторная диагностика проведена в лаборатории клинической иммунологии МУ «Клинико-диагностический центр» (гл. врач д.м.н., Бейкин Я.Б.) г. Екатеринбурга. В исследовании приняли участие 223 пациента, обратившихся в МСП УГМУ в период с 2009 г. по 2013 г., из них 156 (69,9%) женщин и 67 (30,04%) мужчин. Возраст пациентов варьировал от 14 до 35 лет и в среднем составил $22,6 \pm 7,02$ года. Критерии включения пациентов в группу исследования: подтвержденный диагноз агрессивного генерализованного пародонтита тяжелой степени в стадии обострения, отсутствие соматических заболеваний. Группу контроля составили 37 практически здоровых человека, соотносимых по возрасту с основной группой. От всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании.

Комплексное иммунологическое исследование периферической крови включало исследование общих гематологических показателей, определение гуморальных факторов иммунитета, иммунофенотипирование лимфоцитов, определение показателей фагоцитарного звена.

Параметры общего анализа крови регистрировали с помощью гематологического анализатора «Cobas Micros 60» («АВХ»). Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов проводили с использованием моноклональных антител CD3-FITC/CD19-PE, CD3-FITC/CD4-PE,

CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE «IO Test» («Beckman Coulter») методом лазерной проточной цитофлюориметрии на цитометре «FacsCanto II» («Becton Dickinson»). Для оценки поглотительной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови, а также внутриклеточного киллинга (бактерицидной активности лейкоцитов) использовали методы, разработанные в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии Минздрава РФ [9,10]. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного и стимулированного НСТ-теста [11]. Концентрации сывороточных иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini [2]. Содержание ЦИК оценивали методом преципитации в растворе ПЭГ-6000.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Биостатистика». Для оценки достоверности полученных результатов применяли t-критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни. Достоверность различий определяли при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования (табл.1) показали, что 30% пациентов с агрессивным пародонтизом имеют изменения лейкоцитарной формулы. В 40% случаев в основной группе мы наблюдали повышенное содержание лимфоцитов при достоверном повышении среднего значения до $2,57 \pm 0,37$ ($p < 0,05$), сниженное содержание лимфоцитов имели 17% пациентов.

При иммунофенотипировании лимфоцитов выявлены различные отклонения, наиболее распространенные - это повышение общего содержания Т-лимфоцитов, также у половины больных выявлено снижение CD8+, что приводит к нарастанию общей активности всей популяции лимфоцитов, активации NK-клеток, усилению продукции провоспалительных цитокинов, провоцируя развитие деструкции и аутоиммунных процессов [8,10]. Изменение содержания CD4+ не имеет превалирующего направления - около трети больных имеют повышенные показатели содержания CD4+ по сравнению с контролем, также около трети - пониженные. Также нами не выявлено повышения количества NK-клеток, напротив, у 76 участников исследования показатели были ниже нормы. При этом выявлено снижение количества В-лимфоцитов у 87 (39%) пациентов. Относительное снижение количества В-лимфоцитов можно рассматривать как признак хронического воспалительного процесса (рис.1).

У 62% больных было повышено СОЭ, что отражает наличие интенсивного воспалительного процесса в организме пациента с агрессивным пародонтизом.

При анализе данных иммунологического исследования выявлены следующие изменения гуморального звена: содержание IgM повышено у 38% исследуемых основной группы, среднее значение этого показателя также выше контрольного - $1,76 \pm 0,7$ ($p < 0,05$). IgM являются иммуноглобулинами, которые первыми отвечают на антигенную стимуляцию, поэтому повышение их со-

Таблица 1. Основные показатели иммунитета у больных агрессивным пародонтитом (M±m)

Вид исследования	Контрольная группа (n = 37)	Основная группа (n = 223)
Гематологическое исследование		
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	5,38 ± 0,29	5,9 ± 1,4
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,87 ± 0,15	2,57 ± 0,37*
Лимфоциты (%)	34,76 ± 1,68	37,3 ± 9,6
Моноциты (10 ⁹ /л)	0,31 ± 0,03	0,39 ± 0,12
Моноциты (%)	5,76 ± 0,44	6,67 ± 1,4
Гранулоциты (10 ⁹ /л)	3,28 ± 0,96	3,45 ± 1,1
Нейтрофилы (%)	56,70 ± 1,62	57,05 ± 10,1
Базофилы (%)	0,19 ± 0,08	0,3 ± 0,09
Эозинофилы (%)	1,30 ± 0,27	2,08 ± 0,13
Гемоглобин (г/л)	128,52 ± 8,34	132,05 ± 11,46
Гематокрит (%)	37,23 ± 2,18	38,45 ± 3,14
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	264,3 ± 42,5	252,9 ± 54,3
Эритроциты (10 ⁹ /л)	4,77±0,36	4,86±0,59
СОЭ (мм/час)	8,54 ± 4,32	12,14 ± 5,38
Гуморальные факторы иммунитета		
IgA (г/л)	1,82 ± 0,08	2,09 ± 0,9
IgM (г/л)	1,20 ± 0,04	1,76 ± 0,7*
IgG (г/л)	10,49 ± 0,12	12,03 ± 3,04
ЦИК (Ед)	54,3 ± 15,5	50,2 ± 23,6
Имунофенотипирование лимфоцитов		
В-лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,25±0,03	0,23 ±0,08
В-лимфоциты (%)	10,70±1,19	11,3 ± 3,8
Т-лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,31±0,07	1,6 ± 0,52
Т-лимфоциты (%)	70,34±1,61	72,7 ± 7,86
Т-хелперы (10 ⁹ /л)	0,8±0,05	0,9 ± 0,3
Т-хелперы (%)	42,78±1,36	43,4 ± 7,3
Т-супрессоры (10 ⁹ /л)	0,54±0,03	0,57 ± 0,29
Т-супрессоры (%)	28,8±0,84	25,7 ± 7,6
НК-клетки (10 ⁹ /л)	0,18±0,05	0,26 ± 0,14
НК-клетки (%)	9,63±1,5	13,5 ± 7,75
Фагоцитоз		
НСТ спонт. (%)	9,6±1,6	5,95 ± 1,8*
НСТ стимул. (%)	36,9±3,6	10,9 ± 2,2*
Активность фагоцитоза (моноциты), %	64,21±3,4	80,2 ± 8,4*
Активность фагоцитоза (нейтрофилы), %	79,24±2,7	91,5 ± 3,03
Фагоцитарное число (шт)	8,5±2,3	4,2±1,9*

*p < 0,05;

держания в период обострения свидетельствует об активности пародонтопатогенами гуморального иммунного ответа. Важным свойством этого класса иммуноглобулинов считается их способность активировать фагоцитоз, привлекать фагоцитирующие клетки к месту нахождения антигена, либо к очагу инфекции. IgM способен путем опсонизации усиливать антигенные раздражители, в том числе микробного происхождения. Таким образом, гипериммуноглобулинемия М может свидетельствовать как о напряжении первичного иммунного ответа, так и о нарушениях в регуляторных функциях Т- лимфоцитов-хелперов (рис.2).

У трети больных был выявлен дефицит IgA, у 25% больных - дефицит IgG. Снижение содержания IgA, особенно при присоединении его секреторного компонента, может свидетельствовать о недостаточности ответа гуморального звена на внедрение патогена на уровне слизистых оболочек, в частности в полости рта. Полученные данные согласуются с результатами ранее проводимых исследований [8]. Изменение содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) разнонаправлено – снижение и повышение показателя выявлено примерно у равных групп пациентов (19% и 23% соответственно). При этом количество пациентов с повышенным содержа-



Рис.1. Содержание В лимфоцитов у пациентов с агрессивным пародонитом



Рис.2. Содержание JgM у больных агрессивным пародонитом



Рис.3. Показатели спонтанного НСТ теста у больных агрессивным пародонитом



Рис.4. Показатели стимулированного НСТ теста у больных агрессивным пародонитом

нием ЦИК может свидетельствовать наряду с другими показателями о распространенности аутоиммунных нарушений.

Выявлены также и изменения фагоцитарного звена – средний показатель активности фагоцитоза, отображающий процент клеток, способных к активному захвату, оказался выше нормальных значений у моноцитов и составил $80,2 \pm 8,4$; повышение было выявлено у 33,6% больных. В основной группе количество частиц, поглощенных одним фагоцитом было ниже, чем в контрольной ($4,2 \pm 1,9$ против $8,5 \pm 2,3$). В то же время показатели спонтанного НСТ-теста, характеризующие функциональную активность фагоцитирующих клеток крови, были снижены примерно у 60% пациентов и составляли в основной группе в среднем $5,95 \pm 1,8\%$ (рис.3). Более того - у 41,4% пациентов показатели спонтанного НСТ теста не превышали значения в 3%. Показатель стимулированного НСТ теста был также значительно снижен в основной группе и составил $10,9 \pm 2,2\%$ против $36,9 \pm 3,6\%$ в контроле (рис.4). Соотношение НСТ стимул. / НСТ спонт. - 1,83, что может указывать на сниженный метаболический потенциал и переваривающую способность фагоцитирующих клеток. В этой ситуации они не только неэффективно борются с патогеном, но и способствуют его диссеминации.

Выводы

1. Изменения гуморального иммунитета у пациентов с агрессивным пародонитом носят разнона-

правленный характер. Характерно достоверное увеличение содержания в сыворотке крови JgM и снижение В-лимфоцитов в основной группе.

2. Показатели спонтанного ($5,95 \pm 1,8$) и стимулированного ($10,9 \pm 2,2$) НСТ теста, а также соотношение НСТ стимул. / НСТ спонт. - 1,83 при высокой активности фагоцитоза свидетельствуют о глубоком нарушении метаболического потенциала фагоцитов.

3. Наличие вышеупомянутых изменений на фоне соматического здоровья пациентов и нормальной концентрации нейтрофилов и моноцитов, а также часто выявляемое (41,4% пациентов) резкое снижение показателей НСТ теста менее 3% говорит о врожденном характере выявленной патологии.■

Закиров Т.В., доцент кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, г. Екатеринбург; Ожгихина Н.В., к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, г. Екатеринбург; Иоценко Е.С., к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку – Закиров Тарас Валерьевич, sekir-zakirov@mail.ru, моб. тел.: 89122238957

Литература:

1. Levin L. Aggressive periodontitis: the silent tooth killer. Alpha Omega. 2011 Fall-Winter; 104(3-4):74-8.
2. Mancini M., Carbonata A.O., Heremans J.F.

Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Jmmynochimistry. 1965, 2: 235-254.

3. Nonnenmacher C, Mutters R, de Jacoby L.F. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. *Clin Microbiol Infect.* 2001 Apr;7(4):213-7.
4. Ren XY, Xu L, Meng HX, Zhao HS, Lu RF, Chen ZB, Feng XH, Shi D, Zhang L, Tian Y/ Family-based association analysis of S100A8 genetic polymorphisms with aggressive periodontitis/*J Periodontal Res.* 2009 Apr;44(2):184-92.
5. Underwood K, Sjustrum K, Darveau R, Lamont R, Schenkein H, Gunsolley J, Page R, Engel D. Serum antibody opsonic activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases.*J Infect Dis.* 1993 Dec;168(6):1436-43.
6. Безрукова Н.В. Быстропрогрессирующий пародонтит. Эпидемиология Кавказа. Лечение. Дис. д-ра мед. наук – М., 2001
7. Кадурин Т.И., Шторина Г.Б., Цимбалитов А.В., Тарасова Е.А., Суворова М.А., Нацвлишвили Т.Т. Особенности микрофлоры пародонтальных карманов при агрессивных формах пародонтита //Институт стоматологии, 2010.-N 4.-С.73-74.
8. Карпенко И.Н., Булкина Н.В., Понукалина Е.В.Современные представления об этиологии и патогенезе быстропрогрессирующего пародонтита// Архив патологии и1, 2009, с.57-59
9. Мазуров Д.В., Дамбаева С.В., Пинегин Б.В. Оценка внутриклеточного киллинга стафилококка фагоцитами периферической крови с помощью проточной цитометрии. *Иммунология.* 2000, 2: 57-59.
10. Мазуров Д.В., Хамидуллина К.Ф., Пинегин Б.В. Оценка поглощения бактерий гранулоцитами и моноцитами периферической крови методом проточной цитометрии. *Иммунология.* 2000, 1: 57-61.
11. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические перспективы изучения фагоцитоза. *Казан. мед. журнал.* 1993, 3: 193-196.
12. Орехова Л.Ю. Иммунологические механизмы в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта/ автореф. дис. докт. мед. наук.- М, 1997