

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Теблосева Л.М.¹, Гусева О.А.², Хайдуков С.В.^{2,3}

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

² ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

³ Технопарк, ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Резюме. Причиной возникновения пародонтита являются функциональные нарушения в иммунной системе, которые способствуют персистенции воспалительного инфильтрата в тканях пародонта, что приводит к хроническому воспалению. Важную роль в развитии пародонтита играют нарушения как местного, так и системного иммунитета. Местная иммунореактивность связана с индукцией экспрессии провоспалительных цитокинов и привлечением провоспалительных клеток. Системные нарушения ассоциируются с изменениями субпопуляций Т-хелперов, а также CD3-CD8⁺ лимфоцитов. Степень выраженности воспалительного процесса и характер течения пародонтита определяется как качественным, так и количественным содержанием Т-хелперов, экспрессирующих молекулы CD45RA и CD45RO. Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов прямо коррелирует с цитокиновым профилем в сыворотке крови и жидкости десневого кармана. Возрастание концентрации IL-17, а также повышение уровней IFN γ и IL-18 в сыворотке крови больных подтверждают наличие аутоиммунной компоненты при пародонтите. В процессе возникновения и развития пародонтита важная роль принадлежит остеокластерным цитокинам sRANKL и OPG, а определение их соотношения в жидкости десневого кармана целесообразно для прогнозирования течения пародонтита.

Ключевые слова: проточная цитометрия, пародонтит, CD45RO, IL-17, sRANKL

Адрес для переписки:

Хайдуков Сергей Валерьевич
д.б.н., заведующий лабораторией ФГБУ
«Федеральный научно-клинический центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Дмитрия Рогачева» Министерства
здравоохранения РФ, старший научный
сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической
химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова»
117997, Россия, Москва, ГСП-7,
ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (985) 923-41-62.
E-mail: khsergey54@mail.ru

Авторы:

Теблосева Л.М. — к.м.н., докторант кафедры
ФПДО, Московский государственный
медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия
Гусева О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник,
лаборатория клеточной иммунологии ФГБУ
«Федеральный научно-клинический центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Дмитрия Рогачева» Министерства
здравоохранения РФ, Москва, Россия
Хайдуков С.В. — д.б.н., заведующий лабораторией
ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Дмитрия Рогачева» Министерства
здравоохранения РФ, старший научный
сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической
химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова», Москва, Россия

Поступила 26.09.2013

Отправлена на доработку 14.10.2013

Принята к печати 18.10.2013

PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS AND CYTOKINE PROFILE IN PERIODONTITIS

Tebloeva L.M.^a, Guseva O.A.^b, Khaidukov S.V.^{b, c}

^a Moscow A.I. Evdokimov University of Medical Dentistry, Moscow, Russian Federation

^b Dmitry Rogachev Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation

^c M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bio-Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. Functional disorders of immune system are among potential reasons of periodontal disease, thus contributing to persistence of inflammatory infiltrate in periodontal tissues and resulting into chronic local inflammation. Disturbances of local and systemic immunity play an important role in the development of periodontitis. Local immunoreactivity is associated with the induced expression of pro-inflammatory cytokines and attraction of pro-inflammatory cells. Systemic disorders are associated with changes in T-helper cell subpopulations, as well as those of CD3-CD8⁺ lymphocytes. Severity of inflammatory events and clinical course of periodontal disease is determined by qualitative and quantitative content of the T-helper cells, that express CD45RA and CD45RO antigens. Composition of T cell subsets shows direct correlations with cytokine profile in blood serum and crevicular fluid from gingival pockets. A higher IL-17 concentration, as well as increased IFN γ and IL-18 levels in blood serum of the patients suggest a potential autoimmune mechanism in periodontitis. Upon emergence and development of periodontitis, an important role may be ascribed to 'osteoclast' cytokines (sRANKL and OPG), and detection of their relative contents in crevicular fluid may be proposed for testing, in order to predict clinical risks in periodontitis. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 3, pp 257-264)

Keywords: periodontitis, flow cytometry, CD45RO, IL-17, sRANKL

Address for correspondence:

Khaidukov Sergey V.
PhD, MD, Head of Laboratory, Dmitry Rogachev Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health Care; Senior Research Associate, M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bio-Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow
117997, Russian Federation, Moscow, GSP-7, Miklukho-Maklaya str., 16/10.
Phone: 7 (985) 923-41-62.
E-mail: khsergey54@mail.ru

Received 26.09.2013

Revision received 14.10.2013

Accepted 18.10.2013

Authors:

Tebloeva L.M., PhD (Medicine), Doctoral Candidate, Faculty of Postgraduate Education, Moscow A.I. Evdokimov University of Medical Dentistry, Moscow, Russian Federation
Guseva O.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology, Dmitry Rogachev Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health Care, Moscow, Russian Federation
Khaidukov S.V., PhD, MD (Biology), Head of Laboratory, Dmitry Rogachev Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health Care; Senior Research Associate, M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bio-Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Введение

Одно из ведущих мест в структуре воспалительных заболеваний пародонта принадлежит пародонтиту [5, 9]. Причиной возникновения этого заболевания являются функциональные нарушения в иммунной системе, которые, в свою очередь, приводят к персистенции воспалительного инфильтрата в тканях пародонта, что способствует возникновению хронического воспаления [2, 4]. Значительное место в изучении патогенеза пародонтита занимают исследования состояния механизмов местной защиты полости рта, определяющие течение и степень тяжести данного заболевания. [1, 5, 13]. Местная иммунореактивность связана с индукцией продукции провоспалительных цитокинов, активацией хемоаттрактантов и привлечением провоспалительных клеток [5, 6, 10, 11]. Однако данные о патологических изменениях системного клеточного иммунитета носят единичный и противоречивый характер. Так, по мнению Takahashi K. et al., дефекты клеточного иммунитета при заболеваниях пародонта встречаются не чаще, чем у больных других категорий [11, 15]. Отечественные исследователи основное значение в иммунопатогенезе пародонтита придают местным факторам иммунной защиты [1]. Данные о связи местного и системного клеточного иммунитета при пародонтите практически отсутствуют, и, таким образом, вопрос об иммунопатогенезе данного заболевания остается недостаточно понятным.

Целью настоящего исследования являлось определение субпопуляционного состава лимфоцитов и концентрации цитокинов как в сыворотке крови, так и в жидкости десневого кармана, а также в выявлении взаимосвязи клеточного иммунитета и цитокинового профиля при пародонтите.

Материалы и методы

Исследование проводили у двух групп пациентов: условно здоровых доноров (контрольная группа) и пациентов с пародонтитом. Группа условно здоровых доноров состояла из 20 лиц в возрасте от 28 до 40 лет. Группа пациентов с пародонтитом состояла из 43 лиц в возрасте от 34 до 60 лет. Объектом исследования служили периферическая кровь, сыворотка крови и жидкость десневых карманов ротовой полости. Анализ абсолютного и относительного количества лимфоцитов периферической крови проводили на гематологическом анализаторе UniCel® DxH™ 800 (Beckman Coulter, США).

Для определения субпопуляционного состава лимфоцитов использовали следующие моноклональные антитела, конъюгированные с различными флуорохромами: CD45-FITC, CD4-PC7, CD4-PC5, CD45R0-ECD, CD45RA-PE, CD25-PC5, CD127-PC7. Помимо этого применяли коктейли моноклональных анти-

тел с двуцветной комбинацией флуорохромов (FITC/PE): CD3/CD19, CD3/CD4, CD3/CD8, CD3/CD16+56, CD3/HLA-DR (все Beckman Coulter, США). Окраску клеток периферической крови для многоцветного анализа проводили в соответствии с рекомендациями производителя по безотмывочной технологии. Лизис эритроцитов проводили с использованием станции пробоподготовки TQ-Prep (Beckman Coulter, США). Протокол для цитофлуориметрической регистрации с выбором зоны анализа для лимфоцитов по CD45 и морфологическим параметрам готовили, как описано в [8]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). В каждой пробе анализировали не менее 5×10^4 лимфоцитов. Математическую обработку данных проводили при помощи программы Kaluza v. 1.2 (Beckman Coulter, США). Полученные результаты сравнивали со стандартизованными физиологическими нормами [7].

В сыворотке периферической крови и десневой жидкости определяли следующие цитокины: TNF α , IFN γ , IL-17, IL-18, IL-4, IL-10, sRANKL и OPG. Исследования проводили методом твердофазного ИФА с помощью соответствующих коммерческих тест-систем («Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку всех полученных данных проводили с использованием программного обеспечения MS Excel 2007 и FoxPro 9.0.

Результаты

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных пародонтитом определяли пятицветным цитофлуориметрическим анализом, как описано в [7, 8]. Зону анализа лимфоцитов выделяли при помощи логических ограничений по CD45 и морфологическим параметрам. Результаты представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что при пародонтите у больных определялся достаточно высокий уровень лейкоцитов в периферической крови, при этом относительное содержание лимфоцитов было умеренно сниженным по отношению к нормативным показателям. Это свидетельствует в пользу того, что в данном случае имел место нейтрофильный лейкоцитоз, что характерно для воспалительного процесса.

Практически у всех обследованных больных отмечался повышенный уровень Т-хелперов при сниженном содержании цитотоксических Т-лимфоцитов, что нашло отражение при расчете соотношения Тх/Тц, которое почти у 40% больных значительно превышало нормативное значение.

У пациентов с пародонтитом наблюдалось незначительное повышение относительного уровня В-лимфоцитов, тогда как абсолютное содержа-

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ И МАЛЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПАРОДОНТИТОМ

Показатели	Относительное количество позитивных клеток(%)		Абсолютное количество кл/л ($\times 10^6$)	
	Нормативные значения, $m \pm \sigma$	Полученные данные, $m \pm \sigma$	Нормативные значения, $m \pm \sigma$	Полученные данные, $m \pm \sigma$
Лейкоциты			7000 \pm 2500	9900 \pm 4080
Лимфоциты	32,0 \pm 4,0	26,0 \pm 8,2	2085 \pm 725	2620 \pm 141
Т-клетки общие (CD3 ⁺ CD19 ⁻)	73,0 \pm 12,0	70,3 \pm 7,7	1513 \pm 567	1900 \pm 1100
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺)	45,0 \pm 10,0	46,6 \pm 6,1	958 \pm 382	1200 \pm 600
Т-цитотоксические (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	27,0 \pm 8,0	23,1 \pm 6,6	673 \pm 301	700 \pm 400
В-клетки общие (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	12,0 \pm 5,0	12,5 \pm 3,4	250 \pm 150	700 \pm 300
NK-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺)	12,5 \pm 4,5	15,6 \pm 7,0	246 \pm 123	400 \pm 300
NK цитолитические (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{dim})	11,9 \pm 4,1	15,1 \pm 6,7	234 \pm 114	280 \pm 170
NK цитокинпродуцирующие (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{bright})	0,6 \pm 0,4	0,5 \pm 0,3	125 \pm 10	100 \pm 58
NK-клетки (CD3 ⁺ C8 ⁺)	2,8 \pm 2,3	5,8 \pm 2,7	79 \pm 72	150 \pm 110
Т-активированные (CD3 ⁺ CD25 ⁺)	3,3 \pm 2,8	3,4 \pm 1,6	86 \pm 79	100 \pm 80
Treg (CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg})	1,9 \pm 1,3	2,8 \pm 2,0	44 \pm 35	80 \pm 70
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺)	3,3 \pm 2,8	4,0 \pm 2,2	86 \pm 79	96 \pm 67
Т-хелперы памяти (CD4 ⁺ CD45R0 ⁺ CD45RA ⁻) от популяции CD4 ⁺	29,5 \pm 15,5	45,9 \pm 22,1	342 \pm 261	1030 \pm 660
Т-хелперы наивные (CD4 ⁺ CD45RA ⁺ CD45R0 ⁻) от популяции CD4 ⁺	64,5 \pm 7,5	35,8 \pm 15,7	647 \pm 319	800 \pm 500
Т-активированные (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺)	3,3 \pm 2,8	5,2 \pm 3,2	92 \pm 85	140 \pm 110
Расчетные показатели				
Показатель	Нормативные значения		Полученные данные	
Индекс соотношения (Тх/Тц)	2,05 \pm 0,55		2,2 \pm 0,8	

Примечание. $p < 0,05$ относительно нормативных показателей.

ние этих клеток в 2-2,5 раза превышало физиологическую норму.

Полученные данные коррелировали с результатами исследования биоптата десны больных с пародонтитом [1, 6].

Показано, что при пародонтите происходит повышение относительного (20%) и абсолютного (40%) содержания CD16⁺CD56⁺ клеток по сравнению с нормативными значениями. В то же время количество NK-клеток в биоптате десны достоверно снижалось [1]. Возможно, при воспалении пародонта клетки, обеспечивающие естественную цитотоксичность, накапливаясь в кровяном русле, не сразу достигают очага воспаления.

Наиболее информативные данные были получены при исследовании малых субпопуляций лимфоцитов периферической крови. Выявлено, что протекание пародонтита сопровождается не столько повышением NK-клеток (количество лимфоцитов в субпопуляциях NK-клеток находилось практически в пределах физиологической нормы, табл. 1), сколько увеличением киллерных клеток, принадлежащих к Т-клеточной популяции (NKT-клетки). Кроме этого, следует отме-

тить высокий уровень CD3⁺CD8⁺ клеток, вдвое превышающий физиологическую норму

В результате исследования субпопуляций лимфоцитов с регуляторной функцией достоверно значимых различий по сравнению с нормативными показателями выявлено не было. Как следует из таблицы 1, содержание клеток, экспрессирующих CD25 (α -цепь рецептора IL-2), и количество естественных Treg-лимфоцитов практически не отличались от установленных нормативных значений. Вместе с тем следует отметить, что у 30% больных пародонтитом были отмечены некоторые изменения клеточного состава в рассматриваемых субпопуляциях. Так, у 10% больных отмечалось более выраженное повышение клеток с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD25⁺, тогда как у остальных повышалось количественное содержание клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}.

Распределение лимфоцитов в этих субпопуляциях представлено на рисунке 1, отражающем два типичных случая повышения уровня клеток с регуляторными функциями при пародонтите.

Из рисунка следует, что в некоторых случаях течения пародонтита в периферической крови больных повышается количество активированных Т-лимфоцитов (гистограмма А),

обладающих, в том числе, регуляторными функциями, и естественных Treg (гистограмма Б). Экспрессия CD25 в первом случае происходит на низком уровне (CD25^{low}), во втором случае — на высоком уровне (CD25^{high}).

Отмечено повышение в 1,5 раза уровня Т-клеток с поверхностным рецептором HLA-DR, что, вероятно, связано с персистенцией воспалительной реакции при пародонтите.

Использование пятицветной проточной цитофлюориметрии с дополнительным логическим ограничением по CD4⁺ Т-клеткам позволило проследить переход Т-хелперов из состояния наивных, неактивированных клеток (CD45RA⁺) в состояние Т-хелперов памяти (CD45R0⁺). Как видно из рисунка 2, течение пародонтита сопровождается как накоплением CD45R0-положительных Т-хелперов, так и повышением плотности экспрессии CD45R0-рецептора на этих клетках. В то же время достаточно четко прослеживается как количественное уменьшение CD45RA-положительных клеток (табл. 1), так и снижение плотности экспрессируемого на Т-хелперах CD45RA-рецептора.

Следующий этап исследования заключался в определении концентрации цитокинов в сыворотке и жидкости из десневого кармана у больных пародонтитом.

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Как показано в таблице 2, наибольший уровень продукции среди исследуемых цитокинов определялся у TNF α как в жидкости десневого кармана, так и в сыворотке крови больных пародонтитом, концентрация которого была выше в 7 и 10 раз (соответственно), чем у практически здоровых лиц. Кроме того, в сыворотке крови больных была выявлена высокая концентрация IL-17, превышающая в 8,5 раз таковую, определяемую у практически здоровых лиц. Также

отмечено увеличение содержания IFN γ и IL-18 в сыворотке крови (в 2 раза) и в жидкости десневого кармана у больных при пародонтите (в 1,6 и 2 раза соответственно). В ходе исследования было выявлено, что при пародонтите происходит достоверное снижение количества противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 как в сыворотке крови, так и в жидкости десневого кармана по сравнению с уровнем последних, характерным для практически здоровых лиц. Причем наиболее выраженное снижение уровня IL-4 и IL-10 отмечалось в жидкости десневого кармана (в 6,6 и 2 раза соответственно — против 2,7 и 1,2 раза в сыворотке крови) (табл. 2).

Помимо всего перечисленного выше, было выявлено значительное увеличение концентраций sRANKL и OPG (цитокинов, непосредственно участвующих в остеокластогенезе) в жидкости десневого кармана (в 4,8 и 2,3 раза соответственно относительно уровня, определяемого у здоровых лиц). При этом индекс соотношения sRANKL/OPG составлял $2,02 \pm 1,8$, что в 2 раза превосходило значение, отмеченное у здоровых лиц ($0,95 \pm 0,6$). Незначительное повышение уровня этих цитокинов наблюдалось и в сыворотке крови, что может быть связано с возрастной неоднородностью группы обследованных больных.

Обсуждение

Литературные данные свидетельствуют о том, что распространенность заболеваний пародонта достигает 98%, среди них ведущее место занимает пародонтит. Несмотря на отсутствие единой точки зрения на этиологию и патогенез этого заболевания, общепризнанным является мнение о значительной роли микробного фактора в развитии пародонтита [3]. Вместе с тем многие авторы считают, что не менее важным фактором

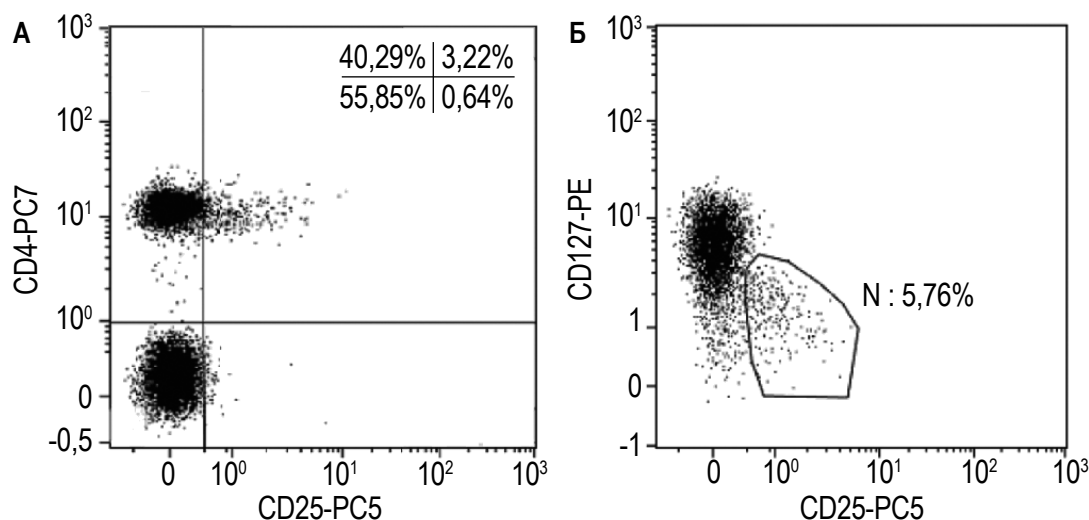


Рисунок 1. Гистограммы распределения клеток в зависимости от экспрессии CD4, CD25 и CD127 на Т-клетках

Примечание. (А) — экспрессия CD25- на CD4-позитивных Т-лимфоцитах. (Б) — коэкспрессия CD25 и CD127 исключительно на Т-хелперах.

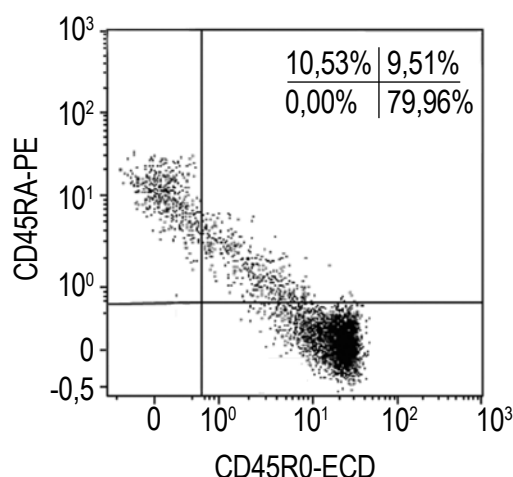


Рисунок 2. Гистограмма распределения CD45RA и CD45R0 на Т-хелперах периферической крови больных пародонтитом. Результат одного из типичных анализов

возникновения и течения пародонтита является состояние местных механизмов защиты ротовой полости. Установлено, что пародонтит протекает на фоне существенных изменений популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови десны и возрастания концентрации цитокинов в слюне (IL-1 β , IL-4, TNF α , IFN γ) [1, 2, 5, 6]. Однако, при его тяжелом течении поражается не только местный иммунитет, но и обнаруживаются нарушения системной иммунореактивности организма [2, 4]. Сопоставление результатов настоящего исследования с данными, представленными в литературе, выявило наличие корреляции между иммунологическими показателями, определяемыми в периферической крови десны и вены, а также в слюне, сыворотке крови и жидкости десневого кармана у пациентов с пародонтитом. Так, выявлена прямая корреляция между субпопуляционным составом лимфоцитов периферической венозной (табл. 1) и десенной крови [5].

Несмотря на существующий в настоящее время ряд теорий патогенеза пародонтита [2, 4, 11, 14, 15] и участия иммунных механизмов в манифестации и дальнейшем протекании данного заболевания, вопрос о роли иммунокомпетентных клеток, отвечающих за развитие иммунологических реакций при пародонтите, остается невыясненным. Использование многоцветного цитофлуориметрического анализа позволило выявить и проанализировать малые субпопуляции лимфоцитов. В результате было показано, что основными лимфоидными клетками, участвующими в патогенезе пародонтита, являются клетки, принадлежащие к Т-лимфоцитарной популяции. В первую очередь это Т-хелперы и клетки, обладающие цитотоксичностью (Т-цитотоксические лимфоциты, NKT-клетки).

В последние годы большой интерес у исследователей вызывают регуляторные Т-клетки (Treg), которые благодаря своей способности супрессировать различные иммунные реакции регулируют Т-клеточный гомеостаз, предотвращают аутоиммунные заболевания, аллергии, гиперчувствительность, реакцию трансплантата против хозяина, но при этом снижают противоинфекционный иммунитет. Клетки этой субпопуляции характеризуются высокой экспрессией CD25 (α -цепь рецептора IL-2) – CD25^{high} и отсутствием экспрессии CD127 [8]. С другой стороны, среди популяции Т-лимфоцитов выявляют клетки и с низким уровнем экспрессии CD25 (CD25^{low}) и фенотипом CD3⁺CD4⁺CD25^{low}, которые рассматривают в большей степени как активированные Т-лимфоциты. Регуляторная функция у этих клеток выражена слабее, чем у клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}.

Настоящее исследование выявило, что в большинстве случаев при пародонтите и та, и другая субпопуляция лимфоцитов существенно не отличались от нормативных показателей. В тех случаях, когда происходит повышение активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD25⁺, вероятно, имеет место уси-

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЖИДКОСТИ ДЕСНЕВОГО КАРМАНА И СЫВОРОТКЕ БОЛЬНЫХ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Цитокины, пкг/мл	Жидкость десневого кармана		Сыворотка крови	
	контроль	пародонтит	контроль	пародонтит
TNF α	36,3 \pm 2,9	268,0 \pm 37,0	0,5 \pm 0,4	5,0 \pm 1,2
IFN γ	4,2 \pm 1,23	6,9 \pm 5,0	1,6 \pm 0,3	2,9 \pm 2,3
IL-17	0,7 \pm 0,3	1,42 \pm 1,0	2,0 \pm 3,7	17,1 \pm 2,3
IL-18	14,6 \pm 5,6	30,3 \pm 26,4	160,5 \pm 41,6	293,76 \pm 80,8
IL-4	12,7 \pm 3,2	1,9 \pm 1,3	2,7 \pm 1,7	1,0 \pm 0,9
IL-10	2,7 \pm 1,2	1,4 \pm 0,9	5,1 \pm 2,7	4,1 \pm 1,1
sRANKL	3,15 \pm 0,5	15, 2 \pm 2,3	2,1 \pm 1,5	3,2 \pm 0,9
OPG	3,3 \pm 0,8	7,5 \pm 1,3	2,5 \pm 1,2	3,5 \pm 0,7
sRANKL/OPG	0,95 \pm 0,6	2,02 \pm 1,8	0,84 \pm 1,3	0,91 \pm 1,3

Примечание. p < 0,05 относительно показателей контрольной группы.

ление реактивности иммунной системы в ответ на агрессию со стороны инфекционного агента, что в свою очередь приводит к активации Т-системы иммунитета. Повышение уровня клеток с фенотипом CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg} в периферической крови больных пародонтитом, возможно, связано не столько с агрессивной инфекцией, сколько с усилением степени выраженности аутоиммунной компоненты, как правило, присутствующей при пародонтите.

В качестве показателя степени выраженности иммуновоспалительной реакции при пародонтите можно рассматривать характер перехода высокомолекулярной изоформы CD45RA в низкомолекулярную изоформу CD45R0. Количественное увеличение CD45R0⁺ клеток, сопровождаемое повышением плотности экспрессии этих рецепторов, может свидетельствовать как об активности, так и о хронизации воспалительного процесса (рис. 2). Показано, что в иммунопатогенезе пародонтита задействованы не только лимфоциты, но и продуцируемые ими медиаторы. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови коррелирует с изменением цитокинового профиля как в сыворотке крови, так и в жидкости десневого кармана. Это предположение согласуется с данными литературы по исследованию субпопуляций лимфоцитов периферической крови десны и концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в слюне [1, 2, 5, 6]. В результате данного исследования была выявлена прямопропорциональная зависимость между уровнем Т-хелперов и продукцией провоспалительных цитокинов, а также количественным содержанием цитотоксических Т-лимфоцитов и концентрацией противовоспалительных цитокинов (табл. 1, 2). Так, в 65% случаев повышение TNF α коррелирует с количественным увеличением Т-хелперов, а количество цитотоксических Т-лимфоцитов пропорционально концентрации IL-4 как в сыворотке крови, так и в жидкости десневого кармана (70% случаев). Эти данные согласуются с результатами исследования, отражающими выраженное снижение CD8-позитивных клеток в биоптате десны и концентраций IL-4 и IL-10 в слюне [1, 6]. Было отмечено значительное увеличение концентрации IL-17, особенно в сыворотке крови. Поскольку продуцентами IL-17 в основном

являются Th17-лимфоциты, повышение которых в периферической крови наблюдается, как правило, при аутоиммунных состояниях, можно предположить, что в нашем случае повышение уровня IL-17 в сыворотке крови обусловлено наличием аутоиммунной компоненты в патогенезе пародонтита. Косвенно об этом свидетельствует и увеличение количества Т-хелперов, экспрессирующих CD45R0, поскольку этот маркер является неотъемлемой частью фенотипа Th17-клеток. Все это свидетельствует в пользу существующей концепции об аутоиммунной природе пародонтита, отраженной в [11]. С другой стороны, удвоенное повышение концентрации IFN γ и IL-18 в сыворотке крови также может служить признаком наличия аутоиммунной компоненты.

В литературе встречаются указания на то, что пародонтит характеризуется не столько воспалительной реакцией, сколько изменениями остеобластов и остеокластов, приводящими к резорбции костной ткани [15]. Поскольку дисбаланс между sRANKL и OPG приводит к разрушению костной ткани, определение соотношения sRANKL/OPG при течении пародонтита представляется важным моментом для контроля формирования, активации и дифференцировки остеокластов. Проведенные исследования выявили, что наиболее информативным для прогноза течения пародонтита представляется определение этого показателя в жидкости десневого кармана, но не в сыворотке периферической крови.

Таким образом, полученные результаты наводят на мысль о том, что в основе иммунопатогенеза пародонтита лежат патологические изменения, связанные с Т-клеточным звеном иммунитета. Одним из основных участников развития пародонтита являются Т-хелперы, а также субпопуляция лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD8⁺. О степени выраженности воспалительного процесса, так же как и о характере течения пародонтита, целесообразно судить по распределению Т-хелперов по экспрессии молекул CD45RA и CD45R0. Выявлена прямая корреляция между количественным составом субпопуляций Т-лимфоцитов и состоянием цитокинового профиля при пародонтите, а соотношение остеокластных цитокинов sRANKL/OPG может служить показателем прогноза течения данного заболевания.

Список литературы

1. Бажанов Н.Н., Тер-Азатуров Г.П., Кассин В.Ю. Использование иммунологических показателей для оценки тяжести течения пародонтита и эффективности лечения // Стоматология. — 1996. — Т. 75, № 1. — С. 15-18.
2. Бажанов Н.Н., Иванюшко Т.П., Тер-Азатуров Г.П. Иммунные механизмы патогенеза пародонтита. — М.: Наука-практика, 1998. — 103 с.
3. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. — М.: Медицинское информационное агентство, 2009. — 328 с.
4. Дмитриева Л.А. Современные аспекты клинической пародонтологии. — М., 2001. — 125 с.

5. Московский А.В. Комплексное исследование клинического и иммунного статуса при осложненном кариесе и пародонтите // *Здравоохранение Чувашии*. — 2010. — № 1. — С. 25-28.
6. Фрейдлин И.С. Цитокины в клинике. // *Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии*. Сб. трудов РААКИ. — М., 1998. — С. 104-119.
7. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа) // *Медицинская иммунология*. — 2009. — Т. 11, № 2-3. — С. 227-238.
8. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // *Медицинская иммунология*. — 2012. — Т. 14, № 3. — С. 255-268.
9. Цепов Л.И., Николаев А.И. Диагностика и лечение заболеваний пародонта. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 200 с.
10. Шмагель К.В., Беляева О.В., Черешнев В.А. Современные взгляды на иммунологию пародонтита // *Стоматология*. — 2003. — № 1. — С. 61-64.

Ссылки 11-16 см. в References (стр. 264). See References for numbers 11-16 at p. 264.

References

1. Bazhanov N.N., Ter-Azaturov G.P., Kassin V.Yu. Ispol'zovanie immunologicheskikh pokazateley dlya otsenki tyazhesti techeniya parodontita i effektivnosti lecheniya [The use of immunological indicators for assessing the severity of periodontal disease and the effectiveness of treatment]. *Stomatologiya — Dentistry*, 1996, vol. 75, no. 1, pp. 15-18.
2. Bazhanov N.N., Ivanyushko T.P., Ter-Asaturov G.P. Immunnye mekhanizmy patogeneza parodontita (Immune mechanisms of pathogenesis of periodontitis). *Moscow, Science-practice*, 1998. 103 p.
3. Grudyanov A.I. Zabolevaniya parodonta [Periodontal Disease]. *Moscow. Medical news Agency*, 2009. 328 p.
4. Dmitrieva L.A. Sovremennyye aspekty klinicheskoy parodontologii [Modern aspects of clinical Periodontology]. *Moscow*, 2001. 125 p.
5. Moskovskiy A.V. Kompleksnoe issledovanie klinicheskogo i immunnogo statusa pri oslozhnennom kariese i parodontite [Comprehensive study of clinical and immune status with complicated caries and periodontitis]. *Zdravookhranenie Chuvashii — J. Health Chuvashia*, 2010, no. 1, pp. 25-28.
6. Freydlin I.C. Tsitokiny v klinike. Sovremennyye problemy allergologii, klinicheskoy immunologii i immunofarmakologii. Sb. trudov RAAKI. [Cytokines in the clinic. Modern problems of allergology, clinical immunology and immunofarmacology. Sat. works RAACI]. *Moscow*, 1998, pp. 104-119.
7. Khaidukov S.V., Zurochka A.V., Totolian Areg A., Chereshevnev V.A. Osnovnyye i malye populyatsii limfotsitov perifericheskoy krovi cheloveka i ikh normativnyye znacheniya (metodom mnogotsvetnogo tsitometricheskogo analiza) [Basic and small populations of lymphocytes of peripheral blood and their normative values (method of multicolor. cytometry analysis)]. *Meditsinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2009, vol. 11, no. 2-3, pp. 227-238.
8. Khaidukov S.V., Baydun L.V., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standartizovannaya tekhnologiya «Issledovanie subpopulyatsionnogo sostava limfotsitov perifericheskoy krovi s primeneniem protochnykh tsitofluorimetrov-analizatorov» (proekt) [Standardized technology «Research subpopulation of lymphocytes in peripheral blood using flow cytometry analyzers» (The Project)]. *Meditsinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2012, vol. 14, no. 3, pp. 255-268.
9. Tsepov L.I., Nikolaev A.I. Diagnostika i lechenie zabolevaniy parodonta [Diagnostics and treatment of diseases of parodont]. *Moscow, MEDpress-inform*, 2004. 200 p.
10. Shmagel' K.V., Belyaeva O.V., Chereshevnev V.A. Sovremennyye vzglyady na immunologiyu parodontita [Modern views on the immunology of periodontitis]. *Stomatologiya — Dentistry*, 2003, no. 1, pp. 61-64.
11. Buduneli N., Bickel N., Keskinoglu A. Flow-cytometric analysis of lymphocyte subsets and mCD14 expression in patients with various periodontitis categories. *J. Clin Periodontol.*, 2001, no. 28, pp. 419-424.
12. Chapple I.L., Milward M.R., Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J. Nutr.*, 2007, vol. 137, no. 3, pp. 657-664.
13. Getka T., Alexander D.C.C., Parker W., Miller G.A. Immunomodulatory and superantigen activities of bacteria associated with adult periodontitis. *J. Periodontol.*, 1996, vol. 76, no. 9, pp. 909-917.
14. Siqueira J., Lopes H.P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int. Endod. J.*, 2001, vol. 34, no. 4, pp. 300-307.
15. Takahashi K., Nagai A., Satoh N. Studies on the phenotypic and functional characterization of peripheral blood lymphocytes from patients with early on-set periodontitis. *Journal of Periodontology*, 1995, vol. 66, pp. 391-396.
16. Zadeh H.H., Kreutzer D.L. Evidence for involvement of superantigens in human periodontal disease. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 1996, vol. 11, no. 2, pp. 88-95.