

УДК: 618.15-007.62+618.177

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМНОГО ТА МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ХРОНІЧНИХ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ.**

*РЕШЕТНЯК О.В., ЛІСЯНИЙ М.І., ПОТАПОВА А.Г., БИЧКОВА Н.Г.*

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України»,  
НМАПО імені П.Л.Шупика, Інститут стоматології,  
кафедра терапевтичної стоматології, м.Київ

Дослідженню місцевого та системного імунітету при захворюваннях верхніх дихальних шляхів та порожнини рота приділяється велике значення, що пояснюється, в першу чергу, найбільшою частотою їх захворювань як у дітей, так і у дорослих. Наявність хронічних захворювань слизових оболонок ротової порожнини (СОРП) та зубів є актуальною проблемою стоматології та імунології і, не дивлячись на велику кількість досліджень в цьому напрямку, немає однозначного тлумачення причин та механізмів розвитку цих захворювань [1-4].

Вважається, що в основі розвитку цих захворювань важливе місце займають як етіологічні чинники, так і певні порушення в системах вродженого та набутого імунітету, але конкретні незворотні порушення певних імунних реакцій залишаються ще до кінця не встановленими.

У імунному захисті слизових оболонок порожнини рота приймають участь як специфічні, так і неспецифічні імунні реакції [2,3,5,6].

Встановлено, що у випадках порушення реакції вродженого імунітету, а саме фагоцитозу та різних гуморальних чинників в механізми захисту включаються специфічні реакції як клітинного, так і гуморального типу з продукцією каскаду цитокінів, що часто приводить до розвитку млявопротікаючих чи хронічних процесів [6-8]. В той же час відкритим залишається питання про імунні причини розвитку цих хронічних запальних ушкоджень слизових оболонок порожнини рота та верхніх дихальних шляхів, яке місце в цій патології відіграє вторинна імунна недостатність, що не дозволяє імунним механізмам захистити слизові оболонки та завершити запальну реакцію [8,9]. Поглиблене вивчення співвідношення системних та місцевих імунних реакцій при СОРП дозволить направити цю патологію в кервану та відпрацювати покази для використання імунокорегуючої терапії в залежності від індивідуальних зрушень в системі імунітету. Метою даної роботи було дослідження стану системного та місцевого імунітету у хворих з хронічними запальними процесами в порожнині рота.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Було обстежено 23 особи з хронічним кандидозним стоматитом, які увійшли до I групи обстеження. Серед них у 13 осіб при клінічному обстеженні

встановлена гіперпластична форма кандидозного стоматиту, у 10 осіб – атрофічна форма кандидозного стоматиту та 22 умовно здорових особи, без патологічних змін СОПР, які склали контрольну групу.

При зборі стоматологічного анамнезу з'ясували скарги зі сторони порожнини рота, які характерні для запальних уражень: сухість, відчуття печії, стягнутості, поколювання, зниження або зміни смакової чутливості, болючість при вживанні їжі, наявність нальоту на язиці, враховували локалізацію елементів ураження.

При проведенні об'єктивного дослідження СОПР у хворих визначали наявність нальоту, враховували його локалізацію, колір, можливість зняття нальоту та появу після цього ерозивної поверхні. При огляді язика також враховували його колір, зволоженість, наявність відбитків зубів, наявність або відсутність нальоту.

Імунологічне обстеження хворих включало: загальний аналіз крові; кількісну оцінку Т- та В-ланок імунітету за допомогою непрямого імунофлюорисцентного методу з використанням моноклональних антитіл (виробництва ЗАТ «Сорбент» Росія) проти антигенів лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD16, CD22 та кінцевим підрахунком на проточному цитофлуориметрі «Beckman Coulter» USA; вивчення функціональної активності Т-лімфоцитів за допомогою реакції бласттрансформації з ФГА («WellcomeBurrroughs») морфологічним методом; вивчення функціональної активності В-лімфоцитів за продукцією сироваткових IgG, IgA та IgM; визначення концентрації ЦІК в сироватці крові з використанням ПЕГ-6000 на мікроспектрофотометрі «Srescol-21» (Німеччина) при довжині хвилі 450 НМ; вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів за ступенем поглинання часток латексу із обчисленням фагоцитарного індексу Гамбурга та фагоцитарного числа Райта [10,11]. Для кожного хворого проводили підрахунок відносної та абсолютної кількості всіх популяцій та субпопуляцій лімфоцитів та імунокорегуляторного індексу.

Для дослідження кров забирали із вени натще в пробірку з 0,3 мл гепарину (25 одиниць в 1 мл фізіологічного розчину) в кількості 3,5–5 мл, розводили забуференими фосфатами фізіологічним розчином (0,85 % розчин NaCl, рН-7,6) в 2 рази і нашаровували на градієнт щільності

фіколл-верографін ( $d=1,077 \text{ г/см}^3$ ), центрифугували на протязі 30 хвилин при 400g в холодовій центрифугі PC-6 з кутовим ротором. Виділену суспензію лімфоцитів двічі відмивали в холодному забуференими фосфатами фізіологічному розчині (pH-7,6) і підраховували кількість клітин в камері Горяєва. Лімфоцити ресуспендували в фізіологічному розчині так, щоб концентрація клітин була не меншою за  $2,5 \times 10^6/\text{мл}$ . Моноклональні антитіла (ЗАТ «Сорбент-сервіс» Росія) вносили в пластикові пробірки «Vecton Dickinson» (США) в об'ємі 10 мкл та 100 мкл виділених лімфоцитів. Постановку реакції фенотипування проводили згідно рекомендації та інструкції до антитіл. Слину (ротову рідину) забирали у

хворих паралельно із забором крові в об'ємі до 20 мл в пластикову пробірку «епендорф» та досліджували вміст імуноглобулінів [3,7,11].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми "Statistica" для персонального комп'ютера.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Дослідження вихідного стану імунної системи у обстежених хворих показало, що кількість лейкоцитів була нижче за дані контрольної групи осіб ( $p < 0,05$ ), відносний вміст лейкоцитів не відрізнявся від показників здорових осіб ( $p > 0,05$ ), проте їх абсолютна кількість була достовірно знижена (табл.1).

**Таблиця 1**

**Стан клітинного імунітету у хворих запальними ураженнями СОПР ( I група)**

| Імунологічні показники             | Хронічний запальний процес (n=23) | Контрольна група (n=22) |
|------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Лейкоцити $10^9/\text{л}$          | $4,48 \pm 0,10^x$                 | $7,76 \pm 0,82$         |
| Лімфоцити % $10^9/\text{л}$        | $29,15 \pm 1,48$                  | $31,64 \pm 3,90$        |
|                                    | $1,51 \pm 0,12^x$                 | $2,41 \pm 0,239$        |
| CD3+лімфоцити % $10^9/\text{л}$    | $45,78 \pm 2,27^x$                | $65,85 \pm 7,20$        |
|                                    | $0,58 \pm 0,03^x$                 | $1,59 \pm 0,173$        |
| CD4+лімфоцити % $10^9/\text{л}$    | $25,19 \pm 2,83^x$                | $33,60 \pm 0,20^x$      |
|                                    | $0,39 \pm 0,04^x$                 | $0,86 \pm 0,093$        |
| CD8+лімфоцити % $10^9/\text{л}$    | $23,41 \pm 0,49$                  | $21,50 \pm 2,01$        |
|                                    | $0,36 \pm 0,02^x$                 | $0,52 \pm 0,059$        |
| Імунорегуляторний індекс CD3+/CD4+ | $1,11 \pm 0,09^x$                 | $1,81 \pm 0,19$         |
| CD25+лімфоцити % $10^9/\text{л}$   | $23,71 \pm 2,48^x$                | $28,10 \pm 0,70$        |
|                                    | $0,38 \pm 0,05$                   | $0,59 \pm 0,06$         |

x -  $p < 0,05$  - вірогідність різниці показників хворих відносно груп контролю.

Дослідження вмісту основних популяцій лімфоцитів із фенотипом – CD3+, CD4+, CD8+ – показало достовірне їх зниження відносно даних здорових осіб, хоча відносна кількість суттєво не відрізнялась від останніх, на тлі якого імунорегуляторний індекс був значно знижений ( $p < 0,05$ ).

Вміст активованої популяції Т-лімфоцитів – CD25+, CD22+ клітин (В-лімфоцити) та натуральних кілерних клітин (CD16+) за абсолютними значеннями також був менше, ніж у здорових осіб без ознак запалення СОПР ( $p < 0,05$ ).

Проліферативна активність Т-лімфоцитів, стимульована in vitro ФГА, хоча і була вірогідно зниженою, спонтанна ж незначно перевищувала дані здорових осіб (табл.2).

**Таблиця 2**

**Функціональна активність клітин крові хворих на запальні ураження СОПР в тестах РБТЛ та фагоцитозу.**

| Імунологічні показники | Хронічний запальний процес (n=23) | Контрольна група (n=22) |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| РБТЛ з ФГА %           | $53,91 \pm 4,17^x$                | $80,21 \pm 8,7$         |
| Спонтанна РБТЛ %       | $4,19 \pm 0,26^x$                 | $1,85 \pm 0,04$         |
| Фагоцитарний індекс    | $49,28 \pm 3,21^x$                | $69,84 \pm 7,25$        |
| Фагоцитарне число      | $3,18 \pm 0,019^x$                | $8,22 \pm 0,65$         |
| НСТ-тест %             | $38,22 \pm 2,51^x$                | $21,69 \pm 2,38$        |

x -  $p < 0,05$  - вірогідність різниці показників хворих відносно групи контролю.

Фагоцитарна активність нейтрофілів, за даними фагоцитарного індексу (ФІ) та фагоцитарного числа (ФЧ) також не відрізнялася від аналогічних даних у здорових осіб ( $p > 0,05$ ). Проте метаболічна активність нейтрофілів за даними НСТ-тесту була високою ( $p < 0,05$ ), що свідчило про наявність запального процесу в організмі обстежених хворих.

Дослідження концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) за різною молекулярною масою показала, що на тлі зниження на

26,93 % кількості непатогенних високомолекулярних ЦІК із константою седиментації більше 19S спостерігається підвищення вмісту високопатогенних середньомолекулярних (11–19S) – на 18,8 % – та дрібномолекулярних (<11S) – на 106,9 % ЦІК. Підвищення концентрації патогенних ЦІК на тлі зниження фагоцитарної активності нейтрофілів при зростанні їх метаболічної активності супроводжується порушенням їх елімінації із організму (табл.3).

Таблиця 3

Стан гуморального імунітету у хворих СОПР (I група)

| Імунологічні показники |  | Хронічний запальний процес (n=23) | Контрольна група (n=22) |
|------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------|
| ЦІК (ум. од. )         | >19S (2,5 % ПЕГ крупномолекулярні)     | 34,84 ± 2,71 <sup>x</sup>         | 51,70 ± 3,17            |
|                        | 11-19S (3,5 % ПЕГ середньомолекулярні) | 48,99 ± 3,46 <sup>x</sup>         | 34,54 ± 2,02            |
|                        | <11S (7,5 % ПЕГ дрібномолекулярні)     | 23,21 ± 3,06                      | 10,94 ± 1,13            |
| Вміст                  | IgG, г/л                               | 9,41 ± 1,24                       | 13,85 ± 1,46            |
|                        | IgA, г/л                               | 1,40 ± 0,19 <sup>x</sup>          | 2,02 ± 0,24             |
|                        | IgM, г/л                               | 0,89 ± 0,09                       | 1,29 ± 0,13             |

x -  $p < 0,05$  - вірогідність різниці показників хворих відносно групи контролю

На тлі зниженої фагоцитарної активності нейтрофілів в крові хворих на кандидозний стоматит виявлялася висока концентрація високопатогенних середньо- та дрібномолекулярних ЦІК при достовірно зниженому вмісті непатогенних високомолекулярних ЦІК з константою седиментації >19S.

Рівень сироваткових IgG та IgM в крові був дещо достовірно зниженим відносно даних контрольної групи, що може бути пов'язано як із їх участю в усуненні запального процесу, про що свідчить високий рівень метаболічної активності нейтрофілів за даними НСТ-тесту, так і той загальновідомий факт, що IgG та IgM-антитіла завдяки своїм властивостям приймають участь у формуванні ЦІК з подальшою інактивацією та елімінацією антигену.

В той же час рівень сироваткового IgA, який має відношення до імунітету слизових оболонок був вірогідно знижений та складав лише 1,4±0,19 г/л, при нормі 2,02±0,24 г/л.

Отримані нами дані співпадають з багатьма даними літератури, в яких цей процес розглядається з різних точок зору, а саме з позиції місцевого запального процесу або з позиції системних порушень в організмі або з позиції системних зрушень в організмі на тлі індукованої вторинної імунної недостатності. Велике

значення в оцінці отриманих даних має як тривалентність тяжкості запального процесу, а також етіологічний чинник, який визвав розвиток цієї патології. Проведені нами дослідження показують, що запальна реакція в СОПР супроводжується вірогідно зниженим вмістом IgA в крові, зниженням абсолютної та відносної концентрації Т лімфоцитів, особливо хелперної її субпопуляції. В той же час виявлено збільшення в крові кількості В лімфоцитів (CD22+). Виявлені зміни в функціональній активності клітин імунної системи, а саме гальмування проліферації лімфоцитів на ФГА та зниження фагоцитарної активності нейтрофілів крові.

Таким чином, хронічний запальний процес СОПР не є винятково місцевою реакцією, а він супроводжується різнонаправленими змінами в ланках системного імунітету, який потребує відповідного лікування.

Загально відомо, що важливим показником стану СОПР є склад та активність ротової рідини, де знаходяться як фактори вродженого імунітету, так і специфічні імунні чинники, а саме антитіла та цитокіни [4]. Проведені нами дослідження рівня імуноглобулінів в ротовій рідині та фагоцитарної активності клітин, які віддзеркалюють стан місцевого імунітету, представлені в таблиці 4.

Інтегральним показником стану місцевого імунітету є рівень секреторного IgA в слині.

Загальновідомо, що sIgA – це перша лінія протиантигенного захисту слизових оболонок. Достатній його рівень в слині навіть при неглибоких зрушеннях в клітинному та гуморальному імунітеті забезпечує резистентність слизових оболонок до бактеріальних та вірусних антигенів.

sIgA здатні попереджувати адгезію вірусів до епітеліальних клітин слизових оболонок (СО), а при внутрішньоклітинному розпізнаванні вірусів – можуть блокувати процеси транскрипції вірус-

ного геному. Аналогічним механізмом секреторні IgA блокують і адгезію мікроорганізмів. sIgA здатні посилювати активність фагоцитуючих клітин та регулювати клітинну опосередковану антитілозалежну цитотоксичність лімфоцитів слизових оболонок. Окрім sIgA, в слині виявляються і інші імуноглобуліни, зокрема IgG та мономерна форма IgA, проте на поверхню епітеліального шару СО вони можуть проходити лише при певних порушеннях та дефіциті sIgA. Зокрема, такими факторами можуть бути загострення хронічних запальних процесів у верхніх дихальних шляхах, викликаних різними патогенами.

**Таблиця 4**

**Рівень імуноглобулінів та фагоцитарної активності клітин ротової рідини у хворих на запальні захворювання СОПР**

| Імунологічні показники     | Хворі на запальні захворювання (n=23) СОПР | Контрольна група(n=22) |
|----------------------------|--|------------------------|
| Секреторний IgA (sIgA) г/л | 0,29 ± 0,05 <sup>x</sup>                   | 1,49 ± 0,08            |
| IgA г/л                    | 0,54 ± 0,02 <sup>x</sup>                   | 0,32 ± 0,025           |
| IgG г/л                    | 3,48 ± 0,20 <sup>x</sup>                   | 0,45 ± 0,004           |
| Фагоцитарний індекс (ФІ) % | 48,81 ± 2,93                               | 54,21 ± 6,12           |
| Фагоцитарне число          | 4,73 ± 0,13 <sup>x</sup>                   | 7,24 ± 0,81            |

x – вірогідність різниці показників відносно даних контрольної групи;

Проведеними дослідженнями показано, що у хворих на запальні захворювання СОПР виявляється глибоке пригнічення рівня секреторного імуноглобуліну А, рівень його в 4 рази менше ніж контрольній групі, в той же час IgG підвищений в 5 разів, що можна пояснити тим, що при запальному процесі слизової оболонки в реакції включаються і слизові залози або походження цього імуноглобуліну із судин слизової оболонки у яких порушена проникливість капілярів внаслідок запалення та набряку. Поряд із збільшенням в 1,5 разів рівня IgG реєструється вірогідне підвищення IgA. Отримані дані дозволяють вважати, що у місцевому імунітеті СОПР має місце суттєве порушення синтезу та секреції секреторного IgA, що, можливо, і є однією із причин як розвитку, так і хронічного перебігу запального ураження СОПР та тривалої персистенції різних збудників.

Поряд з цим відмічено гальмування фагоцитарної активності клітин ротової порожнини, особливо фагоцитарного числа, яке показує кількість захоплених патогенів однією клітиною. Зниження фагоцитарної активності нейтрофілів крові співпадає із зниженням цієї активності у клітин слини, що дозволяє рахувати, що ці процеси взаємопов'язані між собою і виконуються однією популяцією клітин, а саме нейтрофілами, які із кровообігу прийшли при запаленні слизових оболонок у ротову порожнину [3,5,7].

Таким чином, в місцевому імунітеті мають місце суттєві зміни у відповідних показниках, серед яких, з одного боку має місце гальмування продукції секреторного IgA та процесів фагоцитозу, а з іншого – компенсаторно збільшується секреція сироваткового IgG. Якщо причини збільшення вмісту імуноглобуліну більш менш зрозумілі, то причини та механізм гальмування продукції секреторного IgA, досліджені недостатньо і потребує подальшого вивчення.

Проведеними дослідженнями встановлено, що при запальних ураженнях СОПР без урахування етіології процесу та характеру протікання процесу проходять значні зміни в системному та місцевому імунітеті, корекція яких може дозволити як запобігти виникненню, так і більш якісному лікуванню.

**ВИСНОВКИ**

1. При запальних ураженнях СОПР відбувається гальмування Т клітинної ланки системного імунітету, пригнічення синтезу імуноглобулінів крові, особливо імуноглобуліну А.
2. Порушення в гуморальній ланці імунної системи неоднозначні – відмічається підвищення відсоткового рівня В лімфоцитів в крові при зниженні рівня сироваткових імуноглобулінів.
3. При запальному ураженні СОПР мають місце різнонаправлені зміни в місцевому імунітеті,

а саме суттєве зниження рівня секреторного IgA та фагоцитарної активності клітин на тлі підвищеного рівня IgG в слині, що може відтворювати тяжкість стану СОПР.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Иммуноморфология хронического воспаления / В. С. Пауков, Б. Б. Салтыков, С. В. Шашлов и др. // Медицинский журнал России. – 1998. – № 1–2. – С. 48-50.
2. Диагностика, лечение и профилактика стоматологических заболеваний / Яковлева В. И., Трофимова Е. К., Давидович Т. П., Просверяк Г. П. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – Минск : Высшая школа, 1995. – 493 с.
3. Мельников О.Ф., Заболотная Д.Д. Современные подходы к консервативной терапии хронического тонзиллита (клинико-иммунологические аспекты) / [Заболотная Д.Д.]; под редакцией Мельникова О.Ф. – К.: ООО «Вістка», 2012. – 80 с.
4. Repentigny L. Immunopathogenesis of Oropharyngeal Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus Infection / L.Repentigny, D.Lewandowski, P. Jolicoeur// Clinical Microbiology Reviews. – 2004. – Vol. 17, № 4. – P. 729-759.
5. Быкова В.П. Структурные основы мукозального иммунитета верхних дыхательных путей //Рос.Ринология. – 1999. – №1. – С.5-11.
6. Демин О.В., Драгомирецкий В.Д., Бажора Ю.И., Лебедев К.А., Понякина И.Д. Оценка местного и системного иммунитета в диагностике и лечении профессиональных заболеваний верхних дыхательных путей // Метод. Рекомендации. – Одесса. – 1990. – 15 с.
7. Рязанцев С. В. Содержание иммуноглобулинов в секрете гортани, в слюне и смывах из полости носа у здоровых людей /С. В. Рязанцев, С. Б. Костюкова // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 1998. – № 3. – С. 39–42.
8. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев. – Здоров'я. – 1999. – 521 с.
9. Проблема неспецифического и специфического факторов в индукции и регуляции иммунологических реакций / А. М. Земсков, В. М. Земсков, М. А. Земсков [и др.] // Журн. микробиол. – 2005. – № 4. – С. 105-109.
10. Чернушенко Е. Ф. Подклассы иммуноглобулинов IgA, IgG в крови, изменения их содержания при различных патологических состояниях, методы исследова-

ния / Е. Ф. Чернушенко, С. А. Олейник, И. Ф. Мишунин // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 3. – С. 72–77.

11. Фримель Г. Иммунологические методы.-М.: Медицина. – 1987. – 473 с.

## РЕЗЮМЕ

### ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМНОГО И МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

*Решетняк О.В., Лысяний М.І., Потапова А.Г., Бичкова Н.Г.*

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України», НМАПО імені П.Л.Шупіка, Інститут стоматології, кафедра терапевтичної стоматології, м.Київ

В статье приведены данные иммунологического обследования 23 больных с хроническим кандидозным воспалением ротовой полости и 22 здоровых лиц.

Установлено, что в крови больных выявляется снижение уровня CD-4,8 лимфоцитов и относительное увеличение концентрации В лимфоцитов. У больных с воспалительным поражением полости рта отмечается снижение иммунных показателей ротовой жидкости (слюны), особенно снижение уровня секреторного иммуноглобулина А.

Выводы. При хронических воспалительных заболеваниях слизистой оболочки рта отмечаются изменения как в местном, так и в системном звеньях иммунной системы, что и обуславливает затяжное течение.

**Ключевые слова:** системный и местный иммунитет, воспалительные заболевания полости рта.

## SUMMARY

### OF THE STUDYING OF SELECTED INDICATORS SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNITY IN CHRONIC INFLAMMATORY PROCESSES IN MOUTH

*Reshetnyak O.V., Lessianuyi M.I., Potapova A.G., Buchkova N.G.*

PA "Institute of neurosurgery by academic A.P. Romodanov NAMS of Ukraine" NMAPE by P. L. Shupick, Institute of stomatology, Department of Preventive Dentistry, Kiev

In this article has been given the data of neurological surgery of 23 patients with chronic candidiasis inflammation in mouth and 22 healthy persons.

It is established that patients revealed a decrease of blood levels CD-4,8 lymphocytes and relative increase in the concentration of B lymphocytes. In patients with inflammatory lesions of the oral cavity there is a decrease of immune indicators of oral fluid (saliva), especially reduction of secretory immunoglobulin A.

Conclusions. In chronic inflammatory diseases of the oral mucosa it is marked changes in both local and systemic links in the immune system, which results in a prolonged duration.

**Keywords:** system and local immunity, inflammation diseases in mouth.