

Результати досліджень змін місцевого та системного імунітету у жінок репродуктивного віку

М.І. Лісяний¹, А.Г. Потапова³, Н.Г. Бичкова¹, О.В. Решетняк²

¹ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А.П. Ромоданова НАМН України», м. Київ

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

³Інститут стоматології, м. Київ

Проведеними дослідженнями встановлено, що при запальних ураженнях слизової оболонки порожнини рота у жінок репродуктивного віку проходять значні зміни в системному та місцевому імунітеті, корекція яких може дозволити як запобігти виникненню захворювання, так і сприяти більш якісному лікуванню.

Ключові слова: системний, місцевий імунітет, хронічна урогенітальна патологія, слизові оболонки.

Дослідженню місцевого та системного імунітету при запальних захворюваннях у практиці лікаря-гінеколога та лікаря-стоматолога надають великого значення. Наявність супутньої патології в практиці різних спеціалістів ускладнює лікування первинного захворювання. Вивчення імунного статусу при різних захворюваннях залишається актуальною проблемою гінекології, стоматології та імунології і, не дивлячись на велику кількість досліджень в цьому напрямку, немає однозначного тлумачення причин та механізмів розвитку запальних захворювань [1–4].

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

В імунному захисті слизових оболонок беруть участь як специфічні, так і неспецифічні імунні реакції [1, 3, 5, 6].

Установлено, 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 цитокинів, що часто призводить до розвитку млявоперебігаючих чи хронічних процесів [6–8]. У той самий час відкритим залишається питання про імунні причини розвитку хронічних запальних ушкоджень слизових оболонок статевих органів та порожнини рота, яке місце в цій патології відіграє вторинна імунна недостатність, що не дозволяє імунним механізмам захистити слизові оболонки та завершити запальну реакцію. Поглиблене вивчення співвідношення системних та місцевих імунних реакцій слизових оболонок дозволить спрямувати цю патологію в керувану та відпрацювати показання для використання імунокоригувальної терапії залежно від індивідуальних зрушень в системі імунітету.

Мета дослідження: вивчення стану системного та місцевого імунітету у хворих жінок репродуктивного віку з хронічними запальними процесами в практиці лікаря-гінеколога та лікаря-стоматолога.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено спільне, паралельне обстеження (лікарем-гінекологом та лікарем-стоматологом) 23 жінок репродук-

тивного віку з хронічним гіперпластичним кандидозним стоматитом на фоні хронічної урогенітальної патології. Ці жінки склали I групу обстеження. Також було проведено обстеження 22 умовно здорових жінок, без патологічних змін слизової оболонки порожнини рота (СОПР) та без супутньої гінекологічної патології, які склали контрольну (II) групу. Усі пацієнтки отримували консультацію лікаря-імунолога.

При зборі стоматологічного анамнезу з'ясували скарги з боку порожнини рота, які характерні для запальних уражень: сухість, відчуття печіння, стягнутості, поколювання, зниження або зміни смакової чутливості, болючість при споживанні їжі, наявність нальоту на язиці.

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 імунофлюоресцентного 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 Ig G, Ig A, та Ig M; визначення концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові з використанням ПЕГ-6000 на мікроспектрофотометрі «Specol-21» (Німеччина) при довжині хвилі 450 НМ; вивчення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів за ступенем поглинання часток латексу із обчисленням фагоцитарного індексу Гамбурга та фагоцитарного числа Райта. Для кожного хворого проводили підрахунок відносно та абсолютної кількості всіх популяцій та субпопуляцій лімфоцитів та імунорегуляторного 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 забуференим 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 протягом 30 хв при 400° в холодовій центрифугі РС-6 з кутовим ротором. Виділену суспензію лімфоцитів двічі відмивали в холодному забуференому фосфатами фізіологічному розчині (рН-7,6) і підраховували кількість клітин в камері Горяєва. Лімфоцити ресуспендували в фізіологічному розчині так, щоб концентрація клітин була не меншою за $2,5 \times 10^6$ /мл. Моноклональні ан-

Стан клітинного імунітету у обстежених I групи

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

Примітка: ^x – p<0,05 – вірогідність різниці показників хворих відносно груп контролю.

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±4,17 ^x	80,21±8,7
Спонтанна РБТЛ, %	4,19±0,26 ^x	1,85±0,04
Фагоцитарний індекс	49,28±3,21 ^x	69,84±7,25
Фагоцитарне число	3,18±0,019 ^x	8,22±0,65
НСТ-тест, %	38,22±2,51 ^x	21,69±2,38

Примітка: ^x – p<0,05 – вірогідність різниці показників хворих відносно групи контролю.

титіла (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 з рекомендацією та інструкції до антитіл. Сліну (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].

Статистичне оброблення даних проводили за допомогою програми «Statistica» для персонального комп'ютера.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження вихідного стану імунної системи у обстежених хворих свідчить, що кількість лейкоцитів була нижче за дані контрольної групи осіб (p<0,01), відносний уміст лейкоцитів не відрізнявся від показників здорових осіб (p>0,01), проте їхня абсолютна кількість була достовірно знижена (табл. 1).

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

Уміст 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).

Фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів, за даними фагоцитарного індексу (ФІ) та фагоцитарного числа

(ФЧ) також не відрізнялася від аналогічних даних у здорових осіб (p>0,1). Проте метаболічна активність нейтрофільних гранулоцитів за даними НСТ-тесту була високою (p<0,01), що свідчило про наявність запального процесу в організмі обстежених хворих.

Дослідження концентрації ЦІК за різною молекулярною масою виявило, 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 фоні зниження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів при зростанні їхньої метаболічної активності супроводжується порушенням їх елімінації із організму (табл. 3).

На тлі зниженої фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів в крові хворих I групи виявлялася висока концентрація високопатогенних середньо- та дрібномолекулярних ЦІК при достовірно зниженому вмісті непатогенних високомолекулярних ЦІК з константою седиментації 19 >S.

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

У той самий 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.

Стан гуморального імунітету у обстежених I групи

Імунологічні показники		Хронічний запальний процес (n=23)	Контрольна група (n=22)
ЦІК (ум.од.)	>19S (2,5% ПЕГ крупномолекулярні)	34,84±2,71*	51,70±3,17
	11-19S (3,5% ПЕГ середньомолекулярні)	48,99±3,46*	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*	2,02±0,24
	IgM, г/л	0,89±0,09	1,29±0,13

Примітка: * – p<0,05 – вірогідність різниці показників хворих відносно групи контролю.

Таблиця 4

Рівень імуноглобулінів та фагоцитарної активності клітин рідини ротової порожнини у пацієнтів із запальними захворюваннями СОПР

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

Примітка: * – вірогідність різниці показників відносно даних контрольної групи.

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 порушень в організмі на тлі індукованої вторинної імунної недостатності. Велике значення в оцінюванні отриманих даних має як тривалість тяжкості запального процесу, так і етіологічний чинник, який спричинив розвиток цієї патології. Проведені нами дослідження свідчать, що запальна реакція в СОПР супроводжується вірогідно зниженням вмістом IgA в крові, зниженням абсолютної та відносної концентрації Т-лімфоцитів, особливо хелперної її субпопуляції. У той самий 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 нейтрофільних гранулоцитів крові.

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

Загальновідомо, що важливим показником стану СОПР є склад та активність рідини ротової порожнини, де знаходяться як фактори вродженого імунітету, так і специфічні імунні чинники, а саме антитіла та цитокіни [4]. Проведені нами дослідження рівня імуноглобулінів в рідині ротової порожнини та фагоцитарної активності клітин, які віддзеркалюють стан місцевого імунітету, представлені в табл. 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 порушеннях 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 вірусного геному. Аналогічним ме-

ханізмом секреторні IgA блокують і адгезію мікроорганізмів. SIgA здатні посилювати активність фагоцитувальних клітин та регулювати клітинну опосередковану антитілозалежну цитотоксичність лімфоцитів слизових оболонок. Окрім SIgA, в слині виявляють і інші імуноглобуліни, зокрема IgG та мономерну форму IgA, проте на поверхню епітеліального шару СО вони можуть проходити лише при певних порушеннях та дефіциті SIgA.

Проведеними дослідженнями встановлено, що у пацієнтів із запальними захворюваннями СОПР виявляється глибоке пригнічення рівня секреторного імуноглобуліну А, рівень його в 4 рази менше, ніж у контрольній групі, в той самий 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 проникність капілярів внаслідок запалення та набряку. Поряд зі збільшенням в 1,5 разу рівня IgG реєструється вірогідне підвищення IgA. Отримані дані дозволяють думати, що у місцевому імунітеті СОПР має місце суттєве порушення синтезу та секреції секреторного IgA, що, можливо, і є однією з причин як розвитку, так і хронічного перебігу запального ураження СОПР та тривалої персистенції різних збудників.

Поряд із цим відзначено гальмування фагоцитарної активності клітин ротової порожнини, особливо фагоцитарного числа, яке свідчить про кількість захоплених патогенів однією клітиною. Зниження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів крові співпадає зі зниженням цієї активності клітин слини, що дозволяє вважати, що ці процеси взаємопов'язані і виконуються однією популяцією клітин, а саме нейтрофільними гранулоцитами, які із кровообігу прийшли при запаленні слизових оболонок потрапили 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, що потребує подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ

1. При запальних ураженнях СОПР відбувається гальмування Т-клітинної ланки системного імунітету, пригнічення синтезу імуноглобулінів крові, особливо IgA.

Результаты анализа местного и системного иммунитета у женщин репродуктивного возраста Н.И. Лисяний, А.Г. Потапова, Н.Г. Бычкова, О.В. Решетняк

Проведенными исследованиями установлено, что при воспалительных поражениях слизистой оболочки полости рта у женщин репродуктивного возраста происходят значительные изменения в системном и местном иммунитете, коррекция которых позволит как препятствовать возникновению заболеваний, так и способствовать более качественному лечению.

Ключевые слова: системный, местный иммунитет, хроническая урогенитальная патология, слизистые оболочки.

2. Порушення в гуморальній ланці імунної системи неоднороззначні – відзначається підвищення відсоткового рівня В-лімфоцитів в крові при зниженні рівня сироваткових імуноглобулінів.

3. При запальному ураженні СОПР мають місце різноспрямовані зміни в місцевому імунітеті, а саме суттєве зниження рівня секреторного IgA та фагоцитарної активності клітин на фоні підвищеного рівня IgG в слині, що може відтворювати тяжкість стану СОПР.

The results of indicators systemic and local immunity in women of reproductive age M.I. Lessianuyi, A.G. Potapova, N.G. Buchkova, O.V. Reshetnyak

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.

Key words: system and local immunity, chronic urogenital pathology.

Сведения об авторах

Лисяний Николай Иванович – ГУ «Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 32

Потапова Антонина Игнатьевна – ГУ «Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 32

Бычкова Нина Григорьевна – ГУ «Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 32

Решетняк Ольга Викторовна – кафедра терапевтической стоматологии Института стоматологии Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (097) 232-09-55. E-mail: olga.reshetnyak@gmail.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

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., Просверьяк Г.П. – [2-е изд., перераб. и доп.]. – Минск: Высшая шк., 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., Поныкина И.Д. Оценка местного 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. – К.: Здоров'я. – 1999. – 521 с.
9. Проблема неспецифического и специфического факторов в индук-

ции 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 исследования / 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.

Статья поступила в редакцию 01.12.2014