

УДК: 616.314.165-002.2-092-08:616.523

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВІ, 2016

*Т. М. Волосовець, О. М. Дорошенко, Н. М. Юнакова,
М. В. Дорошенко, А. С. Андрусенко*

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ГЕРПЕСВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

Інститут стоматології Національної медичної академії післядипломної
освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ

Вступ. Незважаючи на стрімкий розвиток стоматології, проблема якісного лікування хронічних періодонтитів на тлі зниження загальних і місцевих чинників резистентності організму при ураженні вірусом герпеса залишається ще не вирішеною. Дослідження на молекулярному рівні дозволять підвищити надійність діагностичної інформації, пов'язаної з оцінкою ризику розвитку деструкції в периапікальних тканинах при хронічному періодонтиті і, таким чином, визначити роль вірусів в імуногенетичній детермінованості макроорганізму в розвитку та прогресуванні захворювання.

Мета. Вивчення особливостей лабораторних показників стану місцевого імунітету тканин периапікальної ділянки у пацієнтів із герпесвірусною інфекцією.

Матеріали і методи. Визначення герпесвірусної інфекції в периапікальних тканинах проводили методом полімеразної ланцюгової реакції, результати дослідження обробляли за допомогою транслюмінації і програми «Біо-тест»; для дослідження вмісту окремих субпопуляцій лімфоцитів використовували антитіла анти CD – 3+, 4+, 8+, 11β, 95+; дослідження вмісту окремих субпопуляцій лімфоцитів проводили на проточному цитофлюориметрі FACS scan Bector Diskinson (США).

Результати. В периапікальній тканині у хворих із хронічними періодонтитами та супутньою хронічною герпесвірусною інфекцією виявлено вірогідно нижчі показники кількості Т-лімфоцитів та Т-хелперів, підвищений відсотковий вміст активованих лімфоцитів, достовірно вищий рівень ІЛ-1β та знижений рівень ІФ-гамма, знижену концентрацію ІЛ-4 порівняно із аналогічними пацієнтами без супутньої герпесвірусної інфекції.

Висновки. Потребують розробки ефективні методи профілактики та лікування пацієнтів із хронічними періодонтитами на фоні супутньої хронічної герпесвірусної інфекції.

Ключові слова: хронічна герпесвірусна інфекція, хронічні періодонтити, стан місцевого імунітету.

Вступ. Незважаючи на стрімкий розвиток стоматології, проблема якісного лікування хронічних періодонтитів на тлі зниження загальних і місцевих чинників резистентності організму при ураженні вірусом герпеса залишається ще не вирішеною [1,2]. Дослідження на молекулярному рівні дозволять підвищити надійність діагностичної інформації, пов'язаної з оцінкою ризику розвитку деструкції в периапікальних тканинах при хронічному періодонтиті і, таким чином, визначити роль вірусів в імуногенетичній детермінованості макроорганізму в розвитку та прогресуванні захворювання [3, 4, 5].

Мета: вивчення особливостей лабораторних показників стану місцевого імунітету тканин периапікальної ділянки у пацієнтів із хронічною герпесвірусною інфекцією.

Матеріали і методи. Для визначення стану місцевого імунітету нами проведено імунологічне дослідження 96 периапікальних ділянок зубів у 96 пацієнтів. 36. наук. праць співробіт. НМАПО імені П.Л.Шупика 25/2016

тів із хронічними періодонтитами. Забір біологічного матеріалу здійснювався при встановленні діагнозу навколокоренева кіста чи кістогранульома та при неефективності консервативного лікування хронічних форм періодонтиту і потреби комбінованого лікування: консервативного та хірургічного.

Визначення герпесвірусної інфекції (ГВІ) в периапікальних тканинах проводили методом полімеразної ланцюгової реакції, результати дослідження обробляли за допомогою транскрипції і програми «Біо-тест»; для дослідження вмісту окремих субпопуляцій лімфоцитів використовували антитіла анти CD — 3+, 4+, 8+, 11β, 95+; дослідження вмісту окремих субпопуляцій лімфоцитів проводили на проточному цитофлюориметрі FACS scan Vector Diskinson (США).

Результати та їх обговорення. При лабораторному дослідженні 96 периапікальних ділянок вірусна інфекція виявлена в 64 випадках. Активна моновірусна інфекція була виявлена у 27 (28,1 %) пацієнтів, HSV1/2 — 2 (2,1 %), CMV — 7 (7,3 %), EBV — 18 (18,7 %), асоційована герпесвірусна інфекція — у 37 (37,5 %) хворих: HSV1/2 — EBV — CMV — 2 (2,1 %), HSV1/2 — EBV — 12 (12,5 %), HSV1/2 — CMV — 4 (4,2 %), EBV — CMV — 19 (19,8 %). Отже, асоційовані форми ГВІ виявлялися в 2 рази частіше, ніж моноінфекція. Найчастіше виявляли асоціації EBV — CMV і HSV1/2 — CMV.

Пацієнти були згруповані залежно від масштабів деструкції кісткової тканини (більше 5 мм або менше 5 мм). У 67 пацієнтів деструкція сягала більше 5 мм, а у 29 пацієнтів — 5 мм. Із загальної кількості пацієнтів з рентгенологічно виявленою деструкцією кісткової тканини більше 5 мм ДНК EBV, HCMV, HSV - 1/2 виявлена у 63 пацієнтів. У пацієнтів з радіографічною деструкцією кісткової тканини менше 5 мм ДНК EBV, HCMV, HSV - 1/2 виявлена у 4.

Таким чином, ми виявили прямий зв'язок між розміром периапікального вогнища і наявністю вірусної ДНК в периапікальній тканині (табл.).

Аналіз субпопуляційного складу клітин, інфільтруючих периапікальну тканину, показав, що їх кількісний склад залежав від наявності або відсутності супутньої хронічної ГВІ. В першу чергу, це було виявлено для популяції Т-лімфоцитів. Їх відсотковий вміст в периапікальній тканині у хворих із ГВІ становив $29,81 \pm 4,85\%$, в той час як у пацієнтів без ГВІ — $65,85 \pm 7,20\%$ ($p < 0,05$). Аналогічна залежність була виявлена і для субпопуляції Т-лімфоцитів-хелперів, відсоткова кількість яких в периапікальній ділянці групи із ГВІ пацієнтів була нижчою на $25,89\%$ ($p < 0,05$) порівняно із показником групи без ГВІ.

Процентна кількість CD8+ лімфоцитів в обох групах не мала достовірних відмінностей залежно від наявності супутньої хронічної персистуючої вірусної інфекції. Отже, у хворих із супутньою хронічною ГВІ в периапікальній тканині було виявлено вірогідно нижчі показники кількості Т-лімфоцитів та Т-хелперів, що може бути обумовлено як імуносупресивним впливом вірусів на дані клітини, так і міграцією цих клітин із периферичної крові у периневральні ганглії та периферичні лімфатичні вузли для елімінації вірусних антигенів, в зв'язку з чим зменшується кількість цих клітин в периапікальній ділянці.

В периапікальній тканині у хворих без супутньої ГВІ виявлено вміст CD11+ лімфоцитів, який не мав достовірних відмінностей залежно від наявності супутньої хронічної ГВІ, відповідно — $15,06 \pm 4,01\%$ та $19,91 \pm 4,01\%$. Оскільки дана субпопуляція лімфоцитів забезпечує зв'язок між лейкоцитами та з ендотелієм, цілком можливо припустити, що кількість цих клітин в

периапікальній тканині у пацієнтів із періодонтитом буде підвищеною внаслідок наявності запального процесу.

Таблиця

Вміст субпопуляцій Т-лімфоцитів та цитокінів в периапікальних тканинах

Досліджуваний показник	Пацієнти з ГВІ (n=64)	Пацієнти без ГВІ (n=32)
CD 3 (%)	29,81±4,85	65,85±7,20* p<0,01 (t=4,15)
CD 4 (%)	26,69±2,55	33,60±1,20* p<0,01 (t=2,39)
CD 8 (%)	23,42±2,37	21,50±2,01
CD 11 (%)	15,06±4,01	19,91±4,01
CD 95 (%)	39,54±7,04	22,0±4,38* p<0,01 (t=2,12)
ІЛ-1β пг/мл	95,75±8,75	66,70±3,52* p<0,01 (t=3,08)
ІЛ-4 пг/мл	0,39±0,02	0,58±0,72
ІФ-γ пг/мл	3,77±0,74	6,91±0,84* p<0,01 (t=2,8)

Примітка: * - p<0,05 – вірогідність різниці показників хворих з ГВІ відносно даних групи пацієнтів без ГВІ; n - кількість обстежених.

В той же час, у пацієнтів із періодонтитом та ГВІ в периапікальній тканині виявлено високий відсотковий вміст активованих лімфоцитів, які експресують FAS-рецептор і готові вступити в апоптоз – на 79,72% вище ніж в групі без ГВІ (p<0,05). Підвищений рівень клітин пов'язаний, в першу чергу, з наявністю персистуючої ГВІ, оскільки відомо, що віруси родини герпесів чинять специфічний вплив на клітини імунної системи, збільшуючи кількість активованих та апоптичних. Запрограмована клітинна загибель лімфоцитів призводить до зменшення кількості Т-лімфоцитів та Т-хелперів.

В супернатантах із периапікальної тканини у пацієнтів із супутньою хронічною ГВІ було виявлено достовірно вищий рівень ІЛ-1β на 43,55% (p<0,05) порівняно з групою без ГВІ, підвищення його концентрації обумовлено наявністю запального процесу при періодонтиті. Одночасно в супернатантах із тканин було виявлено знижений рівень ІФ-гамма порівняно із аналогічним показником групи без ГВІ на 45,44% (p<0,05). Низький рівень ІФ може бути як причиною, так і наслідком тривалої персистенції вірусів родини герпесу.

В супернатантах із тканин також було встановлено низьку концентрацію ІЛ-4. Знижений вміст протизапального ІЛ-4 в групі пацієнтів із ГВІ безпосередньо пов'язаний із тривалим запальним процесом та виснаженням імунної системи, а також посиленою активністю Т-хелперів 1 типу при супутній вірусній інфекції, коли функціонування імунної системи спрямоване на елімінацію вірусів, а функція Т-хелперів 2 типу, які продукують ІЛ-4, компенсаторно пригнічена.

Література

1. Лисяний Н. И. Содержание субпопуляций Т-лимфоцитов в периапикальных тканях лиц с персистирующей герпесвирусной инфекцией / Н. И. Лисяний, Т. Н. Волосовец, Н. Н. Юнакова, Н. А. Галарник // Имунологія та алергологія: Наука і практика. – 2011. – № 2. – С. 108–112.

2. Юнакова Н. М. Аналіз частоти персистенції вірусів сімейства HERPES VIRIDAE у пацієнтів із хронічними формами періодонтитів / Юнакова Н. М. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — К., 2015. - Випуск 24, книга 2.- С. 83-88.

3. Волосовець Т. М. Оцінка впливу ступеня тяжкості герпетичної інфекції на особливості перебігу хронічних періодонтитів / Т. М. Волосовець, О. М. Дорошенко, Н. М. Юнакова, М. В. Дорошенко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — К., 2015. - Випуск 24, книга 1. -С. 493-497.

4. Волосовець Т. М. Особливості деяких лабораторних показників пацієнтів при патології пародонта, асоційованої з персистуючою герпесвірусною інфекцією / Т. М. Волосовець, О. М. Дорошенко, М. В. Дорошенко // Запорозький медичинський журнал. – 2015. - № 2 (89). – С. 86-88.

**Т. Н. Волосовец, Е. Н. Дорошенко, Н. Н. Юнакова,
М. В. Дорошенко, А. С. Андрусенко**

Особенности местного иммунитета у пациентов с герпесвирусной инфекцией

Институт стоматологии НМАПО имени П. Л. Шупика, г. Киев

Введение. Несмотря на стремительное развитие стоматологии, проблема качественного лечения хронических периодонтитов на фоне снижения общих и местных факторов резистентности организма при поражении вирусом герпеса остается еще не решенным. Исследования на молекулярном уровне позволят повысить надежность диагностической информации, связанной с оценкой риска развития деструкции в периапикальных тканях при хроническом периодонтите и, таким образом, определить роль вирусов в иммуногенетическом детерминировании макроорганизма при развитии и прогрессировании заболевания.

Цель. Изучение особенностей лабораторных показателей состояния местного иммунитета тканей периапикального участка у пациентов с герпесвирусной инфекцией.

Материал и методы. Определение герпесвирусной инфекции в периапикальных тканях проводили методом полимеразной цепной реакции, результаты исследования обрабатывали с помощью трансклюминации и программы «Био-тест»; для исследования содержания отдельных субпопуляций лимфоцитов использовали антитела анти CD - 3+, 4+, 8+, 11β, 95+; исследования содержания отдельных субпопуляций лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре FACS scan Vector Diskinson (США).

Результаты. В периапикальной ткани у больных с хроническими периодонтитами и сопутствующей хронической герпесвирусной инфекцией выявлены достоверно более низкие показатели количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов, повышенный уровень содержания активированных лимфоцитов, достоверно более высокий уровень ИЛ-1β и сниженный уровень ИФ-гамма, пониженную концентрацию ИЛ -4 сравнительно с аналогичными пациентами без сопутствующей герпесвирусной инфекции.

Выводы. Требуєт разработки методи профилактики и лечения пациентов с хроническими периодонтитом на фоне сопутствующей хронической герпес-вирусной инфекции.

Ключевые слова: хроническая герпесвирусная инфекция, хронический периодонтит, состояние местного иммунитета.

T. Volosovets, O. Doroshenko, N. Yunakova, M. Doroshenko, A. Andrusenko

Features of local immunity in patients with herpes viral infections

Institute of Dentistry of Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

Introduction. Despite the rapid development of dentistry, the issue of quality of treatment of chronic periodontitis against the background of a decrease in general and local factors of resistance of the body in herpetic lesions is still relevant. Molecular research can increase the reliability of diagnostic information related to the risk assessment of tissue destruction and determine the role of viruses in immunogenetic determinism of microorganisms in the development and progression of the disease.

The purpose. Studying features of local immunity values in periapical tissues in patients with herpes virus infection.

Material and methods. Herpes infection in the tissues was identified by PCR, the results were processed through trans-illumination and using "Bio-Test" program; antibodies anti CD - 3+, 4+, 8+, 11β, 95+ were used to study the content of individual subpopulations of lymphocytes; content of individual subpopulations of lymphocytes was determined by flow cytometry (FACS scan Becton Dickinson, USA).

Results. Patients with chronic periodontitis and concomitant chronic herpes virus infections were found to have significantly lower quantities of T-lymphocytes and T-helper cells, an increased percentage of activated lymphocytes, significantly higher levels of IL-1β, and reduced levels of IF-γ, a lower concentration of IL-4 as compared to similar patients without concomitant herpesvirus infection.

Conclusion. There is need for the development of effective methods of prevention and treatment of chronic periodontitis against the background of concomitant chronic herpes infection.

Key words: chronic herpes infection, chronic periodontitis, the state of local immunity.

Відомості про авторів:

Волосовець Тетяна Миколаївна – д. мед. н., професор кафедри стоматології Інституту стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика. Адреса: Київ, вул. Пимоненка 10-а, тел. (044) 482-08-50.

Дорошенко Олена Миколаївна - д. мед. н., професор кафедри ортопедичної стоматології Інституту стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика. Адреса: Київ, вул. Пимоненка 10-а, тел. (044) 482-08-50.

Юнакова Наталія Миколаївна – к. мед. н, асистент кафедри стоматології Інституту стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика. Адреса: Київ, вул. Пимоненка 10-а, тел. (044) 482-08-50.

Дорошенко Максим Віталійович - к. мед. н, асистент кафедри стоматології Інституту стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика. Адреса: Київ, вул. Пимоненка 10-а, тел. (044) 482-08-50.

Андрусенко Ала Сергіївна - к. мед. н, асистент кафедри стоматології Інституту стоматології НМАПО імені П. Л. Шупика. Адреса: Київ, вул. Пимоненка 10-а, тел. (044) 482-08-50.