

УДК [618.3-06: 616.314.17-002]-092: 612.017.1-00864]-07-08(045)

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Проходная В.А.

ГБОУ ВПО "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: alald@inbox.ru

В статье у 165 беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта различной степени тяжести изучен иммунофенотип лимфоцитов. В работе определяли абсолютное и относительное количество лимфоцитов с маркерами CD3⁺ (общие Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-хелперы), CD8⁺ (цитотоксические клетки), CD16⁺ (NK-клетки), CD95⁺ (FAS/APO-1 антиген-индукторный фактор апоптоза). Установлено, что у беременных женщин с хроническим пародонтитом по мере повышения степени тяжести патологии пародонта, наблюдалась более выраженная лимфопения, дисбаланс субпопуляций Т-клеток с уменьшением относительного числа зрелых Т-лимфоцитов и Т-хелперов на фоне повышения клеток с киллерной и апоптической активностью. Особенности иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови в большинстве своем по направленности повторяли изменения у беременных женщин без стоматологической патологии, но были более выраженными. Более выраженная иммуносупрессия у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта предрасполагала к затяжному течению хронических воспалительных заболеваний.

Ключевые слова, беременность, хронический пародонтит, иммунофенотип лимфоцитов

FEATURES OF CELLULAR IMMUNITY IN PREGNANT WOMEN WITH INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASE

Prohodnaja V.A.

Rostov State Medical University, Krasnodar e-mail: alald@inbox.ru

In the article in 165 pregnant women with inflammatory periodontal disease of varying degrees of severity studied lymphocyte immunophenotype. In the define absolute and relative number of lymphocyte marker CD3⁺ (General t-lymphocytes), CD4 (t-helper), CD8⁺ (natural killer cells), CD16⁺ (NK cells), CD95⁺ (FAS/APO-1 Antigen-induktornyj factor of apoptosis). Found that pregnant women with chronic periodontitis with increasing severity of periodontal disease, there was a more marked lymphopenia, imbalance of subpopulations of T-cells with a reduction in the relative number of mature T-lymphocytes and T-helper cells to increase against the background of ciller and apoptic activity. Characteristics of peripheral blood lymphocyte immunophenotype in the majority on the focus of repeated changes in pregnant women without dental pathology, but were more pronounced. More pronounced immunosuppression in pregnant women with inflammatory periodontal disease determinant to a halting flow of chronic inflammatory diseases.

Keywords: pregnancy, chronic periodontitis, lymphocyte immunophenotype

Во время беременности у женщин изменяется секреция женских половых гормонов: уровень прогестерона в крови повышен в 10 раз, а эстрогенов – в 30 раз по сравнению с организмом небеременной женщины и сохраненным менструальным циклом [4]. Гормональные изменения

приводят к изменению клеточного метаболизма микробов ротовой полости, перестройке местных иммунных реакций [6]. Неспецифический механизм защиты ротовой полости от бактериальных патогенов представлен многими механизмами. К ним можно отнести механические механизмы

(барьерная функция слизистых оболочек), микробиологический компонент (роль нормальной микрофлоры), химические (гуморальные) и клеточные факторы ротовой жидкости [1,5,7,9].

Клеточные механизмы неспецифических иммунных реакций представлены системой клеток, обладающих фагоцитарной и киллерной натуральной активностью. Система натуральных киллеров (NK-клеток), обладающих способностью разрушать и переваривать клетки, представлена моноцитами и Т-лимфоцитами с рецепторами CD16 и CD56. Натуральные киллеры оказывают неспецифическое токсическое действие на клетки, пораженные инфекционным патогеном либо опухолевые клетки [2-3]. Согласно [8], пародонтит чаще всего протекает на фоне снижения бактерицидного потенциала нейтрофильных лейкоцитов, поликлональной активации В-лимфоцитов, высокого уровня антибактериальных антител и нарушения функции Т-лимфоцитов. Но многие стороны взаимодействия бактериальных агентов с факторами неспецифической резистентности и иммунитета. Особенно при беременности, остаются нераскрытыми, что требует дальнейшего изучения иммунологических аспектов пародонтита в гестационный период.

Целью работы явилось изучить у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта различной степени тяжести иммунофенотип лимфоцитов.

Материалы и методы исследования

Клеточное звено иммунитета изучено у 165 беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта путем иммунофенотипирования лимфоцитов, в ходе которого определяли поверхностные маркеры и, соответственно, принадлежность клеток к той или иной субпопуляции. Как известно, лимфоциты экспрессируют особые у каждой субпопуляции поверхностные маркерные молекулы (CD) в зависимости не только от типа и стадии дифференцировки, но и от их функционального состояния, что позволяет дать характеристику различным иммунным реакциям в ответ на бактериальное воспаление. В работе определяли абсолютное и относительное количество лимфоцитов

с маркерами CD3⁺ (общие Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-хелперы), CD8⁺ (цитотоксические клетки), CD16⁺ (NK-клетки), CD95⁺ (FAS/APO-1 антиген-индукторный фактор апоптоза).

Состояние клеточного иммунитета оценивали путем количественного определения как относительного, так и абсолютного содержания циркулирующих в крови Т- и В- лимфоцитов, исходя из количества лимфоцитов в 1 мкл крови. Абсолютное количество лейкоцитов рассчитывали на $\times 10^9/\text{л}$.

Мононуклеарные клетки крови выделяли центрифугированием на градиенте плотности фиколла-верографина (плотность 1,077 г/см³). Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом лазерной проточной цитофлуориметрии (Cytomics FC500, BeckmanCoulter, USA) с использованием мышиных моноклональных антител LT3, LT4, LT8, LNK16, LT95, меченных ФИТЦ (ООО "Сорбент", Москва) к антигенам CD3⁺ (общие Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-хелперы), CD8⁺ (цитотоксические клетки), CD16⁺ (NK-клетки), CD95⁺ (FAS/APO-1 антиген-индукторный фактор апоптоза).

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США), MedCalc (версия 9.3.5.0).

Результаты исследований и их обсуждение

Количество субпопуляций лимфоцитов в целом по группе в сравнительном аспекте со здоровыми донорами и здоровыми соматически женщинами с физиологически протекающей беременностью отражено в таблице 1. У здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью в отличие от здоровых доноров наблюдалось снижение общего количества лимфоцитов на 10%, а также процентного содержания относительного числа зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD4⁺), соответственно, на 8,9% ($p < 0,05$) и 7,4% ($p < 0,05$) на фоне повышения Т-цитотоксических (CD8⁺) клеток на 19,5% ($p < 0,05$). Изменение количества лимфоцитов с хелперными и киллерными свойствами привело к снижению иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 на 17,4% ($p < 0,05$) (рис. 2). Абсолютное и относительное количество лимфоцитов с естественной киллерной активностью CD16⁺ было достоверно снижено на 19,6%, а также лимфоцитов с рецептором программирования клеточной

гибели повышено, соответственно, на 26,2% ($p < 0,05$) (рис. 2). Установленное изменение иммунофенотипирования лимфоцитов у беременных женщин с физиологически

протекающей беременностью свидетельствовало о развитии незначительной иммуносупрессии.

Таблица 1

Абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций у больных 2 группы и у здоровых доноров

Показатель	2 группа, n=165	Здоровые доноры, n=32	Здоровые беременные женщины, n=31
Лимфоциты, %	24,6±0,6*°	30,1±1,2	27,1±0,8*
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,6±0,2	1,9±0,4	1,7±0,3
CD3+, %	60,8±1,2*°	70,5±2,2	64,2±1,1*
CD3+, $\times 10^9$	0,97±0,1	1,1±0,2	1,0±0,1
CD4+, %	38,2±0,4*°	43,3±0,6	40,1±0,5*
CD4+, $\times 10^9$	0,61±0,08	0,73±0,09	0,62±0,06
CD8+, %	28,9±0,5*°	21,5±1,3	25,7±0,7*
CD8+, $\times 10^9$	0,47±0,05	0,42±0,03	0,48±0,02*
ИРИ	1,32±0,1*°	1,9±0,3	1,57±0,2
CD16+, %	23,5±0,7*°	20,9±1,0	16,8±0,6*
CD16+, $\times 10^9$	0,37±0,04°	0,40±0,03	0,28±0,02*
CD95+, %	9,9±0,6*°	6,5±0,9	8,2±0,4*
CD95+, $\times 10^9$	0,16±0,01*	0,10±0,02	0,13±0,01

Примечание: * - достоверные отличия по сравнению со здоровыми донорами при $p < 0,05$, ° - достоверные отличия по сравнению со здоровыми беременными женщинами

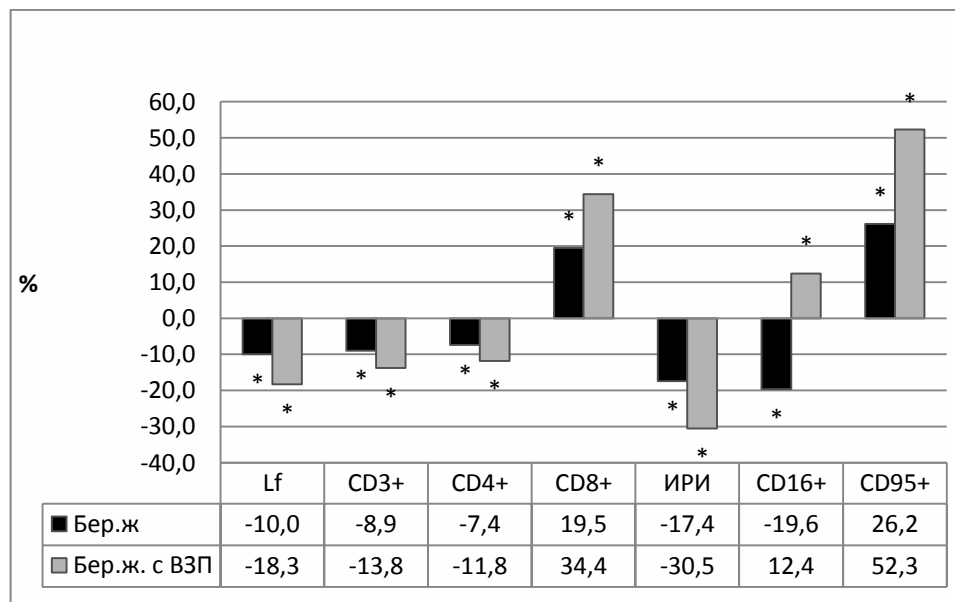


Рис. 1. Процентное изменение относительного количества лимфоцитов и их субпопуляций у беременных женщин (Бер.ж.) и беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП) по сравнению со здоровыми донорами. * - достоверные отличия по сравнению со здоровыми донорами при $p < 0,05$

У беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта снижение общего количества лимфоцитов, зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и лимфоцитов

с хелперно-индукторными свойствами ($CD4^+$) происходило в большей мере, соответственно, на 18,3% ($p<0,05$), 13,8% ($p<0,05$) и 11,8% ($p<0,05$) по сравнению со здоровыми донорами (рис. 2). При этом, наблюдалось значимое повышение клеток, обладающих цитотоксическими свойствами, а также лимфоцитов, обладающих естественной киллерной активностью. В результате иммунорегуляторный индекс у беременных женщин на фоне воспалительных заболеваний пародонта значительно снижался на 30,5% ($p<0,05$) по сравнению со здоровыми волонтерами. У беременных женщин 2 группы относительное количество лимфоцитов с

апоптической активностью возрастало на 52,3% ($p<0,05$), что предрасполагало к цитокиновому дисбалансу.

Таким образом, у беременных пациенток на фоне воспалительных заболеваний пародонта по сравнению со здоровыми беременными женщинами иммуносупрессия была выражена в большей мере, что предрасполагало к затяжному течению хронических воспалительных заболеваний.

Абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций у беременных женщин с хроническим пародонтитом различной степени тяжести в сравнительном аспекте со здоровыми донорами отражено в таблице 2.

Таблица 2

Абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций у беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести и у здоровых доноров

Показатель	Хронический пародонтит легкой степени	Хронический пародонтит средней степени	Здоровые доноры, n=32
Лимфоциты, %	24,8±0,6*	23,3±0,7*°	30,1±1,2
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л	1,62±0,3	1,58±0,2	1,9±0,4
CD3+, %	61,2±0,9*	58,9±1,1*°	70,5±2,2
CD3+, $\times 10^9$	0,97±0,1	0,92±0,05	1,1±0,2
CD4+, %	37,8±0,4*	36,4±0,3*°	43,3±0,6
CD4+, $\times 10^9$	0,61±0,08	0,57±0,06*	0,73±0,09
CD8+, %	27,4±0,5*	29,6±0,7*°	21,5±1,3
CD8+, $\times 10^9$	0,46±0,05	0,47±0,03	0,42±0,03
ИРИ	1,32±0,1*	1,21±0,06*	1,9±0,3
CD16+, %	22,7±0,7	24,9±0,8*°	20,9±1,0
CD16+, $\times 10^9$	0,37±0,04	0,39±0,06	0,40±0,03
CD95+, %	8,7±0,6*	10,9±0,4*°	6,5±0,9
CD95+, $\times 10^9$	0,16±0,01	0,17±0,03	0,10±0,02

Примечание: * - достоверные отличия по сравнению со здоровыми донорами при $p<0,05$,

° - достоверные отличия по сравнению с беременными женщинами с хроническим пародонтитом легкой степени

При повышении тяжести пародонтита снижалось общее количество лимфоцитов, зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов, повышалось число Т-лимфоцитов с цитотоксической и киллерной, апоптической активностью (рис. 2). При хроническом пародонтите средней степени тяжести в

отличие от здоровых доноров относительное число лимфоцитов снижалось на 22,6%, зрелых Т-лимфоцитов на 16,5%, Т-хелперов на 15,9% на фоне повышения относительного количества Т-лимфоцитов с маркером CD8+ на 37,7%, CD16+ на 19,1% и CD95+ на 67,7% ($p<0,05$).

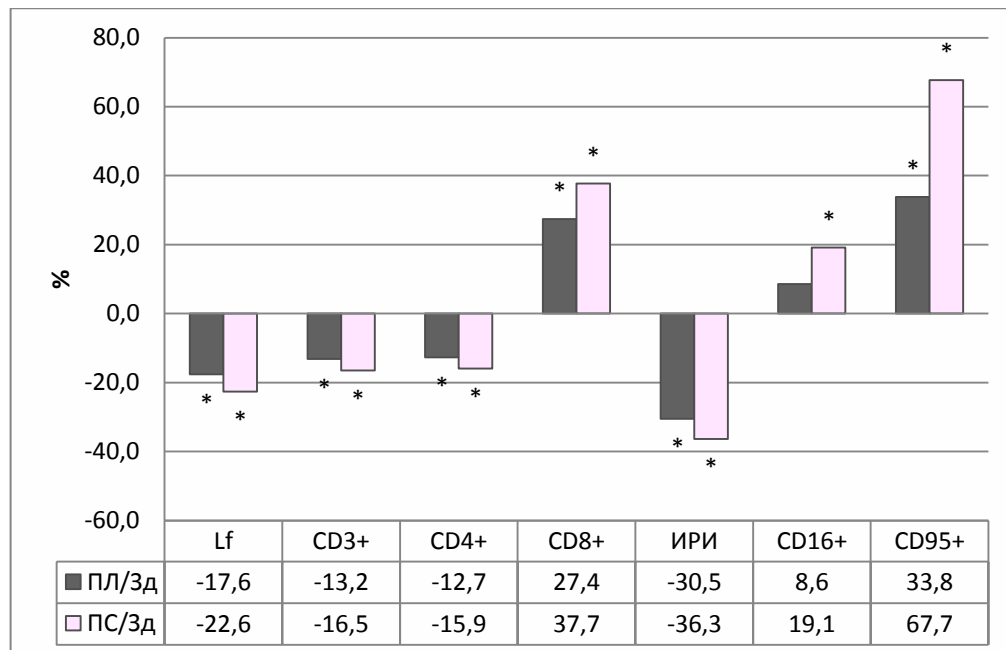


Рис. 2. Процентное изменение относительного количества лимфоцитов и их субпопуляций у беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести по сравнению со здоровыми донорами (Зд). * - достоверные отличия по сравнению со здоровыми донорами при $p < 0,05$. ПЛ – хронический пародонтит легкой степени, ПС - хронический пародонтит средней степени тяжести.

Таким образом, воспалительные заболевания пародонта у беременных женщин ассоциированы с нарушениями в клеточном звене иммунитета. У беременных женщин с хроническим пародонтитом по мере повышения степени тяжести патологии пародонта, наблюдалась более выраженная лимфопения, дисбаланс субпопуляций Т-клеток с уменьшением относительного числа зрелых Т-лимфоцитов и Т-хелперов на фоне повышения клеток с киллерной и апоптической активностью. Особенности иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови в большинстве своем по направленности повторяли изменения у беременных женщин без стоматологической патологии, но были более выраженными. Более выраженная иммуносупрессия у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта предрасполагала к затяжному течению хронических воспалительных заболеваний.

Заключение

У беременных женщин с хроническим пародонтитом по мере повышения степени тяжести от легкой к средней наблюдается

усугубление лимфопении, дисбаланса субпопуляций Т-клеток с уменьшением относительного числа зрелых Т-лимфоцитов и Т-хелперов на фоне повышения клеток с киллерной и апоптической активностью, что ведет к цитокиновому дисбалансу и активации секреции провоспалительных медиаторов.

Список литературы

1. Быков И.М., Басов А.А., Еремина Т.В., Хвостова Т.С., Быкова Н.И. Особенности продукции иммуноглобулинов и состояния антирадикальной защиты в ротовой жидкости и крови при ишемической болезни сердца с нарушенным углеводным обменом // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 2. – С. 41-44.
2. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта. – М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2007. – 79 с.
3. Зайрятыянец О.В., Бойкова С.П., Смольяникова В.А. Роль иммунокомпетентных клеток десны, Toll-like рецепторов и других молекулярных механизмов в патогенезе воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта. // Пародонтология. – 2007. – Т. 44. – №3. – С.12-20.
4. Косенко И.Б. Стоматологическая заболеваемость беременных: результаты

социологического исследования и медицинского осмотра. // Вестник медицинского стоматологического института. – 2011. – №2. – С.6-8.

5. Литвинова М.Г., Басов А.А., Быков И.М. Показатели свободнорадикального окисления в крови и ротовой жидкости у больных при ишемической болезни сердца и сахарном диабете 2-го типа // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 3 (132). – С. 94-98.

6. Толмачева С.М., Лукиных Л.М. Стоматологические заболевания в период беременности и их профилактика. – М.: Медицинская книга. 2005. – 152 с.

7. Цепов Л.М., Орехова Л.Ю., Николаев А.И., Михеева Л.А. Факторы местной резистентности и

иммунологической реактивности полости рта. Способы их клинико-лабораторной оценки (обзор литературы). Ч.2. // Пародонтология. – 2005. – Т.36. - №3. – С.35-39.

8. Шмагель К.В., Беляева О.В., Черешнев В.А. Современные взгляды на иммунологию пародонтита // Стоматология. – 2003. – № 1. – С. 61-64.

9. Basov A.A., Akopova V.A., Bykov I.M. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus // International Journal on Immunorehabilitation. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 84.