



УДК 616.314.17 - 002.2 : 612.017.1

Э.Ш. Григорович, Д.С. Черкашин

## МЕХАНИЗМЫ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА В ТКАНЯХ ДЕСНЫ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

*Омская государственная медицинская академия,  
644043, ул. Ленина, 12, тел.: 8-(3812)-23-32-89; 8-(3812)-23-13-32, г. Омск*

Современный уровень знаний патогенеза пародонтита определяет воспалительную концепцию в качестве основной, как результат взаимодействия «микроорганизм — хозяин» [2-4]. У больных хроническим генерализованным пародонтитом отмечено изменение ряда таких иммунных механизмов, как снижение количественных и функциональных показателей Т-лимфоцитов, дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на уровне слизистой [9, 12]. Такие изменения приводят к нарушению клеточных взаимодействий и, возможно, являются причиной хронизации воспаления, способствует персистенции воспалительного инфильтрата в тканях пародонта [1, 10]. До сих пор остаются недостаточно понятными вопросы морфогенеза воспалительных заболеваний пародонта и отсутствуют четкие критерии ремиссии воспалительного процесса в пародонте [8, 11, 13].

*Цель исследования* — определить иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата в десне больных хроническим генерализованным пародонтитом на этапах базового лечения и установить клинические и гистологические критерии ремиссии и прогрессирования воспаления.

### Материалы и методы

Для достижения поставленной цели проведено проспективное исследование. Выполнено клиническое обследование и лечение 47 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, имеющих клинические признаки активного течения заболевания пародонта. Структура группы была представлена: пациентами с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени (ХГПТ) — 17 чел.; пациентами с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести (ХГПС) — 18 чел.; пациентами с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (ХГПЛ) — 12 чел.

### Резюме

В статье анализируются изменения степени выраженности воспаления в биоптатах десны пациентов, больных хроническим генерализованным пародонтитом, иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> на этапах лечения. Доказано, что клиническая и иммунологическая ремиссия воспаления наступает в разные сроки. Наступление иммунологической ремиссии сопровождается значимым ослаблением корреляционной связи между количеством CD4<sup>+</sup> и CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов.

*Ключевые слова:* генерализованный пародонтит, иммунная регуляция, лечение.

E.Sh. Grigorovich, D.S. Cherkashin

### IMMUNOLOGIC REGULATION OF PERSISTENT INFLAMMATORY INFILTRATE IN GINGIVA OF PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS

*Omsk State Medical Academy, Omsk*

### Summary

Evidence based changes of the inflammation in gingival biopsates of patients with chronic generalized periodontitis, cell immunophenotype of CD4<sup>+</sup>, SD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> inflammatory infiltrate at the treatment stages were analyzed. It was found that clinical and immunological inflammatory remission took place at different periods. Immunologic remission is accompanied by significant correlation weakening between CD4<sup>+</sup> and CD20<sup>+</sup> lymphocytes quantity.

*Key words:* generalized periodontitis, immunological regulation, and treatment.

**Гистологические признаки степени тяжести воспалительного процесса в биоптатах десны**

Степень	Критерий	Показатель
Активное воспаление	Локализация клеток воспалительного инфильтрата	Как в пределах эпителиального пласта, так и в собственной пластинке слизистой оболочки в виде диффузной инфильтрации
	Полуколичественная оценка воспалительного инфильтрата	Выраженный, реже - умеренно выраженный
	Состав воспалительного инфильтрата	Полиморфноклеточный с доминированием нейтрофильных лейкоцитов
	Акантоз	Выраженный
Воспаление минимальной активности	Локализация клеток воспалительного инфильтрата	Тенденция к периваскулярной локализации в собственной пластинке слизистой оболочки с обязательным наличием единичных клеточных элементов интраэпителиально
	Полуколичественная оценка воспалительного инфильтрата	Умеренно выраженный, реже выраженный
	Состав воспалительного инфильтрата	Исключительно мононуклеарный, состоящий из лимфоцитов, плазмочитов и макрофагов с возможным наличием единичных нейтрофилов во всем биоптате
	Акантоз	Выраженный, умеренно выраженный
«Стационарная» стадия воспаления	Локализация клеток воспалительного инфильтрата	Исключительно в собственной пластинке слизистой оболочки десны с тенденцией к периваскулярной локализации
	Полуколичественная оценка воспалительного инфильтрата	Слабовыраженный, скудный
	Состав воспалительного инфильтрата	Исключительно мононуклеарный с доминированием лимфоцитов и макрофагов
	Акантоз	Умеренно выраженный, слабовыраженный

Таблица 2

**Индексная оценка состояния тканей пародонта у лиц с хроническим генерализованным пародонтитом на этапах обследования и лечения**

Оценка	Фоновые значения	Через 14 дн.	Через 90 дн.
Показатели в группе ХГПИС (n=12)			
ИГ, баллы	2,80±0,84	0,62±0,58***	0,80±1,13**
ИК, баллы	2,79±0,77	0,85±0,84***	1,09±1,53*
РМА, %	64,53±17,23	10,16±0,40***	5,68±3,68**
Показатели в группе ХГПСС (n=18)			
ИГ, баллы	3,44±1,37	1,35±1,47***	0,85±0,74
ИК, баллы	2,93±0,62	1,18±1,05***	1,28±0,56
РМА, %	67,17±15,61	28,13±4,23***	1,47±1,48**
Показатели в группе ХГПТС (n=17)			
ИГ, баллы	3,48±1,44	1,96±1,32***	0,44±0,35*
ИК, баллы	2,91±0,71	1,63±0,96***	0,93±0,86***
РМА, %	64,23±17,14	35,68±21,16***	9,36±16,40*

Примечания. Анализ с помощью парного критерия Манна-Уитни между I и II, II и III исследовательскими точками; \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ .

**Клинические методы.** Для оценки пародонтологического статуса определяли индекс кровоточивости десневого края (Saxer и Muhlemann ИК), индекс РМА,

**Гистологически определяемые признаки степени активности воспалительного процесса в биоптатах десны пациентов на этапах лечения (абс. числа)**

Степень выраженности воспалительного процесса	Исследовательская точка		
	I	II	III
Активное воспаление	28	13	6
Признаки минимальной активности	19	16	11
Признаки «стационарной» стадии	0	18	30

патологическую подвижность зубов (по А.И. Евдокимову, 1975), глубину пародонтального кармана (по А.И. Лампусовой, 1980), индекс зубного налета (ЗН), индекс зубного камня (ЗК), упрощенный индекс гигиены Грина Вермиллона (Green, Vermilion, 1964) (ИГ) [6, 7].

**Морфологические методы.** На этапах лечения определяли стадию, характер и иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата в момент первичного обследования, через 14 дн. (удаление зубных отложений, разработка индивидуальной гигиенической программы) и 3 мес. (санация полости рта) с момента первичного обследования. Исследование проведено методом поперечного среза. Всем больным в момент манипуляций проводился забор материала из области межзубного сочочка. Фиксацию и проводку материала осуществляли по общепринятой методике. В биоптатах оценивали степень пролиферации эпителиальных тяжей с использованием морфометрических методов. Степень воспалительной инфильтрации оценивали по субъективным критериям: активное воспаление, минимальной активности и «стационарная» стадия воспаления, с учетом клеточного состава и доминирующей локализации в пределах собственной пластинки слизистой оболочки десны и эпителиального пласта. Все биоптаты распределили на 3 группы согласно шкале (табл. 1). Для определения иммунофенотипа клеток воспалительного инфильтрата применялись иммуногистохимические маркеры: CD4<sup>+</sup>-маркер (Т-лимфоцит-хелпер), CD8<sup>+</sup>-маркер (Т-лимфоцит-киллер), CD20<sup>+</sup>-маркер (В-лимфоцит).

**Статистические методы.** Для сравнения выборок с попарно связанными вариантами использовался критерий Манна-Уитни (U) и критерий Фридмана (F), за статистически значимую разницу принимали значение  $p < 0,05$ . Также рассчитывался коэффициент корреляции рангов Пирсона (r), Спирмана (ρ) и критерий их достоверности, расчет минимально допустимой выборки проведен по формуле Лера [5].

## Результаты и обсуждение

Всем больным было показано и проведено базовое лечение, направленное на устранение инфекционных агентов с поверхностей зубов и из зоны пародонтальных карманов. Данные клинического обследования состояния тканей пародонта пациентов с разной степенью тяжести воспалительного процесса в динамике лечения представлены в табл. 2. После проведенной терапии статистически значимо изменились все клинические показатели, характеризующие воспалительный процесс в тканях пародонта, что свидетельствует о наступлении клинической ремиссии. На момент первичного обследования в биоп-

Таблица 4

**Индексная оценка состояния тканей пародонта у лиц с хроническим генерализованным пародонтитом на этапах обследования и лечения в группах А и В**

Группы исследования	ИГ, баллы	ИК, баллы	ПМА, %
Фоновые значения: - группа А	3,67±1,44	2,8±0,71	68,04±17,14
- группа В	3,68±1,25	2,94±0,71	72,71±17,11
Через 14 дн.: - группа А	1,3±1,32	1,31±0,96	21,19±11,16
- группа В	1,61±1,4	1,54±1,02	34,67±0,62
Через 90 дн.: - группа А	0,52±0,35	0,65±0,46	8,34±10,93
- группа В	0,60±0,67	1,07±0,99	15,23±10,93*

Примечание. \* — статистически значимые различия значений индексов при сравнении в группах А и В парным критерием Манна-Уитни между I и II и III исследовательскими точками,  $p < 0,05$ .

Таблица 5

**Количество CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов в 1 мм<sup>2</sup> биоптата десны пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в группах биоптатов с различной степенью тяжести воспаления**

Группы биоптатов	Кол-во CD4 <sup>+</sup> -лимфоцитов в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	Кол-во CD8 <sup>+</sup> -лимфоцитов в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	Кол-во CD20 <sup>+</sup> -лимфоцитов в 1 мм <sup>2</sup> биоптата
1 - активное воспаление (n=47)	112,40±25,42	61,00±12,77	60,68±15,50
2 - признаки минимальной активности (n=46)	90,88±27,66*	48,88±14,18*	49,77±13,65*
3 - признаки «стационарной» стадии (n=48)	46,63±25,94*	23,00±13,94*	44,05±10,18*

Примечание.\* — анализ изменения количества клеток воспалительного инфильтрата парным критерием Манна-Уитни между I и II и III группами биоптатов десны,  $p < 0,001$ .

татах пациентов определялись гистологические признаки активного воспаления (n=28) и воспаления с признаками минимальной активности (n=19).

При анализе гистологических изменений в биоптатах десны обследованных пациентов (табл. 3) мы выявили, что на фоне проведенной терапии, снижение степени выраженности воспалительного процесса к концу лечения (при клинических признаках ремиссии) произошло не во всех случаях. Из 47 пациентов, прошедших курс базового лечения, у 30 пациентов (ХГПТ — 7 чел., ХГПС — 13 чел., ХГПЛ — 10 чел.) в биоптатах десны выявлены гистологические признаки «стационарной» стадии воспалительного процесса (суррогатное выздоровление) (группа А). У остальных (группа В) 17 пациентов (ХГПТ — 10 чел., ХГПС — 5 чел., ХГПЛ — 2 чел.) в биоптатах десны отмечены гистологические признаки персистенции воспалительного инфильтрата.

При сравнении клинических показателей состояния тканей пародонта у пациентов в группах А и В выявлены статистически значимые различия по значению индекса ПМА и тенденция к сохранению более высокого показателя индекса кровоточивости в группе В, по сравнению с группой А (табл. 4).

Таблица 6

**Количество CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов в 1 мм<sup>2</sup> биоптата десны пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в группах А и В**

Показатель	Исследовательские точки		
	I	II	III
<i>Группа А</i> - кол-во клеток CD4 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	103,84±31,39	78,53±34,92*	40,30±23,59*
- кол-во клеток CD8 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	58,15±19,68	40,30±17,14*	19,46±12,47*
- кол-во клеток CD20 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	58,46±13,70	48,69±18,13**	45,69±8,69**
<i>Группа В</i> - кол-во клеток CD4 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	105,00±26,78	99,15±23,27	106,76±31,15
- кол-во клеток CD8 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	56,00±12,50	55,30±12,02	56,07±14,02
- кол-во клеток CD20 <sup>+</sup> -лимф. в 1 мм <sup>2</sup> биоптата	57,07±15,50	60,07±16,84	47,15±13,49

Примечания. \* — анализ критерием Фридмана  $df=2$ ,  $p < 0,001$ , \*\* —  $df=2$ ,  $p < 0,01$  изменения количества клеток воспалительного инфильтрата в группах А и В между I, II и III исследовательскими точками.

Таблица 7

**Корреляционные взаимоотношения между популяциями клеток воспалительного инфильтрата, экспрессирующими маркеры CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, в исследовательских точках (n=26)**

Показатель	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
I исследовательская точка - CD4 <sup>+</sup>	1	0,913*
- CD8 <sup>+</sup>	0,913*	1
- CD20 <sup>+</sup>	0,446**	0,475**
II исследовательская точка - CD4 <sup>+</sup>	1	0,913*
- CD8 <sup>+</sup>	0,913*	1
- CD20 <sup>+</sup>	0,786*	0,774*
III исследовательская точка - CD4 <sup>+</sup>	1	0,992*
- CD8 <sup>+</sup>	0,992*	1
- CD20 <sup>+</sup>	0,349	0,316

Примечания. \* — анализ критерием Пирсона корреляционных взаимоотношений между популяциями клеток воспалительного инфильтрата в трех исследовательских точках,  $p < 0,001$ ; \*\* —  $p < 0,05$ .

Анализируя данные морфометрии в 3 группах биоптатов (в 1 мм<sup>2</sup>), разделенных согласно степени выраженности воспалительного инфильтрата, мы выявили, что по мере снижения активности воспаления происходит статистически значимое уменьшение количества CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов (табл. 5).

При изучении данных морфометрии количества клеток воспалительного инфильтрата, экспрессирующих маркеры CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> в 1 мм<sup>2</sup> биоптата десны у пациентов в группе А, отмечается уменьшение количества CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов в 1 мм<sup>2</sup> биоптата во II и III исследовательских точках. В группе В количество CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов в 1 мм<sup>2</sup> биоптата в трех исследовательских точках сохранилось на прежнем уровне (табл. 6).

Нами проведено исследование взаимосвязи между клетками воспалительного инфильтрата, экспрессирующими маркеры CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> на этапах лечения

(табл. 7). В I исследовательской точке выявлена сильная положительная корреляционная связь между количеством CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате. Во II исследовательской точке, наряду с сохраняющейся сильной положительной корреляционной связью между количеством CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, отмечается выраженная положительная корреляционная связь между количеством клеток воспалительного инфильтрата, экспрессирующими маркеры CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>. В III исследовательской точке сохраняется сильная положительная корреляционная связь между CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитами; с клетками, экспрессирующими маркер CD20<sup>+</sup>, она значимо ослабевает.

### Выводы

Результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что сохранение активного воспалительного процесса в биоптатах десны на третьем этапе исследования, в условиях отсутствия объективных признаков воспаления, свидетельствует о неодинаковых сроках наступления клинической и гистологической ремиссии.

На основании корреляционного анализа установлено, что при хроническом генерализованном пародонтите воспалительный процесс в десне реализуется с преобладанием клеточного механизма специфической защиты. Наличие во II исследовательской точке (через 14 дн. после первичного обследования и начала лечения) высокой, положительной корреляции CD4<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов является ответной реакцией тканей пациента на активное механическое и медикаментозное лечение, при котором возникает ятрогенное повреждение тканей десны, что приводит к повышению проницаемости эпителиального барьера слизистой оболочки десны и может способствовать избыточному поступлению антигенов в ткани пародонта.

Индекс ПМА (15%) и индекс кровоточивости ИК (1,0) можно считать наиболее информативными клиническими показателями, отражающими сохранение воспалительного процесса в тканях десны.

На основании гистологического исследования выделена группа лиц с персистенцией воспалительного инфильтрата (группа В). Изученные субпопуляции лимфоцитов участвуют в межклеточных взаимодействиях и тем самым осуществляют регуляцию как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета. Снижение активности воспалительного процесса сопровождается уменьшением количества CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>-лимфоцитов в тканях десны. При этом персистенция воспалительного инфильтрата после проведенного консервативного лечения характеризуется сохранением в собственной пластинке слизистой оболочки десны и эпителиальном компартменте инфильтрации иммунокомпетентными клетками.

У данной группы пациентов сохранился риск возникновения обострения процесса в тканях пародонта, несмотря на удовлетворительный клинический результат лечения. На наш взгляд, данные пациенты нуждаются в пролонгировании консервативного этапа лечения до достижения гистологических признаков «стационарной» стадии воспаления.

### Л и т е р а т у р а

1. Бажанов Н.Н., Иванюшко Т.П., Тер-Асатуров Г.П. Иммунные механизмы патогенеза пародонтита // Наука - практике. - М., 1998. - 103 с.
2. Быков В.А. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. - 2003. - № 3. - С. 12-17.
3. Грудянов А.И., Фролова О.А. Заболевания пародонта и меры их профилактики // Лечащий врач. - 2001. - №4. - С. 3-5.
4. Дмитриева Л.А. Современные аспекты клинической пародонтологии. - М., 2001. - 125 с.
5. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика: учеб. пос. - СПб.: Фолиант, 2006. - 432 с.
6. Иванюшко Т. П., Ганковская Л.В., Рогова М.А. Роль цитокинов в развитии хронического воспаления в тканях пародонта // Труды V съезда Стоматологической ассоциации России. - М., 1999. - С. 131-132.
7. Канкян А.П., Леонтьев В.К. Болезни пародонта: новые подходы в этиологии, патогенезе, диагностике, профилактике и лечении. - Ереван: Тигран Мец, 1998. - 360 с.
8. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. - М., 1995. - 233 с.
9. Banchereau J., Steinman R. M. Dendritic cells and the control of immunity // Nature. - 1998. - Vol. 392. - P. 245-252.
10. Christopher W. Cutler, Ravi Jotwani. Antigen presentation and the role of dendritic cells in periodontitis // Periodontology. - 2004. - Vol. 35. - P. 135-157.
11. Gemmell E., Seymour G. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease // Periodontol. - 2004. - Vol. 35. - P. 21-41.
12. Kaech S.M., Hemby S., Kersh E. et al. Molecular and functional profiling of memory CD8 T cell differentiation // Cell. - 2002. - Vol. 111. - P. 837-851.
13. Shapira L., Van Dyke T.E., Hart T.C. // Med. Hypothes. - 1992. - Vol. 39. - P. 319-322.

**Координаты для связи с авторами:** Григорович Эльмира Шахидовна — канд. мед. наук, доцент кафедры терапевтической стоматологии, тел.: 8-(3812)-23-32-28; Черкашин Денис Сергеевич — канд. мед. наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии.

