

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

*научно-практический журнал*

Издается с июня 1997 г., ежеквартально

Свидетельство о государственной регистрации:

серия КВ № 2522 от 07.03.1997

**3.2003**

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

### БИОХИМИЯ. ИММУНОЛОГИЯ

### BIOCHEMISTRY. IMMUNOLOGY

*Вирстюк Н.Г., Орынчак М.А., Нейко В.Е., Дикий Б.Н.*

*Virstyuk N.G., Orynychak M.A., Neiko V.Ye., Dikiy B.N.*

**Особенности диагностики аутоиммунных процессов у больных хроническим гепатитом различной этиологии**

**Particularities of diagnostics of autoimmune reactions in patients with chronic hepatitis of different etiology**

3

3

*Рябоконт О.В., Колесник Ю.М., Таманский В.А.*

*Ryabokon O.V., Kolesnik Yu.M., Tamansky V.A.*

**Содержание трансформирующего фактора роста-1 $\beta$  и интерлейкина-6 в сыворотке крови больных HCV-инфекцией.....**

**The content of the growth transforming factor-1 $\beta$  and interleukine-6 in blood serum of patients with HCV-infection**

6

6

*Пристипа Л.Н., Катерних А.А., Орловский А.В.*

*Pristupa L.N., Katernich A.A., Orlovsky A. V.*

**Выраженность нарушений в системе протеолиза у больных пептической язвой двенадцатиперстной кишки хеликобактерной этиологии.....**

**Disorders in the system of proteolysis in the patients with *Helicobacter pylori* related duodenal ulcer**

9

9

*Волкова С. В.*

*Volkova S. V.*

**Изучение специфических протеиназ и их ингибиторов в смешанной слюне детей с различной степенью тяжести хронического катарального гингивита .....**

**Study of specific proeinases and their inhibitors in mixed children's saliva with different degrees of the chronic catarrhal gingivitis severity**

11

11

*Кайдашев И.П., Шинкевич В.И., Рябенко В.В.,*

*Kaidashev I.P., Shinkevich V.I., Ryabenko V.V.,*

*Король Д.М., Ткаченко И.М., Крутикова Э.И.*

*Korol D.M., Tkachenko I.M., Krutikova E.I.*

**Имуногистохимическое исследование слизистых оболочек**

**Immunohistochemical investigation**

15

15

*Степаненко И. В.*

*Stepanenko I. V.*

**Зависимость изменений иммунологических показателей от рН крови у ликвидаторов аварии на ЧАЭС**

**Dependence of immunologic characteristics on blood pH in the Chernobyl accident liquidators**

21

21

### ГЕМАТОЛОГИЯ

### HAEMATOLOGY

*Чумаченко Т.А., Мироненко Л.Г., Мироненко Ю.В.*

**Прогнозирование исходов дифтерийной инфекции с использованием гематологических индексов .....**

24

*Аношина М.Ю., Третьяк Н.Н., Яговдик М.В.,*

*Павлюк Р.П., Басова О.В.*

**Свободнорадикальное окисление липидов, антиоксидантная система у больных остеомиелофиброзом**

27

**И. П. Кайдашев, В. И. Шинкевич,  
В.В. Рябенко, Д. М. Король,  
И.М.Ткаченко, Э.И.Крутикова**

## **ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК**

Украинская медицинская  
стоматологическая академия,  
Центральная научно-исследовательская  
лаборатория, г. Полтава, Украина

Приемы иммуноцитохимии, позволяющие определить локализацию определенных поверхностных тканевых и внутриклеточных антигенов путем специфического связывания их антителами, все более широко применяются при ультраструктурном описании физиологических и патологических явлений [1]. Метод иммуноцитохимии, предложенный еще в 40-50-х годах, в настоящее время усовершенствован, и представляет собой высоконформативный, современный способ определения компонентов (антигенов) ткани *in situ*. Абсолютная специфичность реакции антиген-антитело даёт возможность надежной идентификации.

В последнее время особое внимание направлено на изучение иммунологического аппарата слизистых оболочек, который представлен специфичной для каждого отдела, популяцией иммуноцитов. Определению роли местного иммунитета, в частности слизистых оболочек, при патологии посвящено значительное количество работ [4, 12, 13].

При ряде заболеваний роль местного иммунитета признается ведущей [5]. Существует достаточный опыт воздействия на факторы местного иммунитета в терапевтических целях [9, 10]. Однако, как показывают данные литературы, нет единства исследователей во взглядах на компоненты, составляющие иммунологический аппарат слизистой оболочки.

Среди дендритных клеток (ДК) слизистых оболочек выделяются профессиональные антиген презентующие клетки (АПК), которые ответственны за индукцию иммунных реакций [8]. Нарушение функций АПК, таких как процессинг антигена, миграция и созревание, изменения цитокинового микроокружения, а также неверное восприятие АПК цитокиновых сигналов может приводить к развитию аллергических, аутоиммунных заболеваний [17]. Таким образом, ДК слизистых оболочек представляют собой афферентное звено иммунологического аппарата, а

их идентификация, определение особенностей структуры и локализации имеет важное значение для диагностики и обоснования терапии многих заболеваний.

Представителями эффекторного звена иммунологического аппарата слизистых являются внутриэпителиальные лимфоциты, часть из которых имеют Т-клеточный рецептор (ТКР), состоящий из  $\gamma$ -,  $\delta$ -цепей (т. н.  $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты). В то же время, в периферической крови преобладают  $\alpha$ -,  $\beta$ -Т-лимфоциты (имеющие в составе ТКР  $\alpha$ -,  $\beta$ -цепи), а количество  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов не превышает 10% [2, 16].

В настоящее время накопленные данные по исследованию  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов позволяют считать, что роль этих клеток реализуется преимущественно в слизистых оболочках, рассматривается ведущей при аутоиммунной патологии, при некоторых инфекциях (малярия, туберкулёз, лейшманиоз), а также может заключаться в дополнительном сигнале для переключения синтеза иммуноглобулинов на IgE, при аллергическом воспалении [20-23]. Существует точка зрения, что интраэпителиальные  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты первыми реагируют на внедрение различных возбудителей в эпителий, а затем сюда мигрируют периферические  $\alpha$ -,  $\beta$ -Т-лимфоциты, индуцированные дендритными антигенпрезентирующими клетками, и развивают реакции специфического иммунитета [2]. При этом  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты не требуют молекул ГКГС класса II для презентации им антигенов - в качестве лигандов для них могут выступать белки теплового шока бактериального и эндогенного происхождения [18, 21].

Интраэпителиальные Т-лимфоциты фенотипически и функционально отличаются от Т-лимфоцитов периферической крови. Почти все они имеют на своей поверхности антиген 1 лимфоцитов слизистой оболочки человека (HML-1 - human mucosallymphocyte antigen 1), которого нет на лимфоцитах периферической крови. Большинство клеток имеет CD8 молекулу (75%) и только 6% - CD4 [2]. В собственной пластинке слизистой, помимо Т-лимфоцитов, располагаются также В-клетки, тканевые базофилы, макрофаги, могут присутствовать ЕК-клетки (естественные киллерные клетки). Как показывают современные данные литературы, не много известно о состоянии клеточных факторов иммунитета в процессе функционирования, а также об изменениях, происходящих при патологии. Важность подобных исследований продемонстрирована при изучении слизистой оболочки полости рта при некоторых аномалиях и пороках развития [3,4].

Цель данной работы - определить эффективность иммуногистохимического исследования иммуноцитов слизистой оболочки как диагностического метода для выявления специфических изменений локального иммунитета слизистых оболочек при патологии, и для уточнения роли клеточных факторов иммунитета в патогенезе заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено иммуногистохимическое исследование биоптатов десны 10 пациентов в области установленного дентального имплантата из титанового сплава [15]; десневых межзубных сосочков у 15 пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом - ХКГ [11]. Исследована слизистая оболочка десны 10 больных при хроническом генерализованном пародонтите, а также слизистая оболочка шейки матки при эрозии у 10 женщин. Группу сравнения составили 10 пациентов с показаниями к имплантации, перед ее осуществлением. Клинически десна имела обычный вид, без патологических изменений.

Иммуногистохимические исследования слизистой оболочки шейки матки имели описательный характер (без сравнения с контрольной группой).

Материал для исследования отбирали при помощи инцизионной биопсии во время соответствующих манипуляций по показаниям, под анестезией, без вреда здоровья пациентов. В течении 0,5 часа биоптаты, погруженные в ледяной физиологический раствор, доставляли в Центральную научно-исследовательскую лабораторию Украинской медицинской стоматологической Академии (УМСА), на базе которой проводили исследования. Материал немедленно погружали в 6% раствор карбоксиметилцеллюлозы (Sigma, USA) и замораживали в жидком азоте [1]. Приготовление серийных срезов толщиной 5-7 мкм, проводили на криостате. С целью сопоставления гистоархитектоники и характера расположения, численности иммуноцитов, из каждой Серии срезов один окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике [6].

Определение субпопуляционных маркеров иммуноцитов исследуемого отдела слизистой оболочки проводили непрямым биотин-экстравайднин-пероксидазным методом [1.12].

Использовали моноклональные антитела к HLA-DR, CD20, CD3, CD4, CD8 («Сорбент», Россия) и к  $\gamma\delta$ -ТКР Т-лимфоцитов («GALTAC Laboratories», Buringame, CA

роксидазного комплекса (EXTRA-2 kit, Sigma, [10]). Локализацию моноклональных антител выявляли с помощью биотинилированных антител и экстравайднин-пе-

USA). Активность пероксидазы визуализировали в реакции с 3-амино-9-этилкарбазолом (Sigma, USA): в местах нахождения антигена определялась красная окраска. Препараты заключали в гумми-сироп под покровные стекла и окантовывали парафином [6]. Подсчет положительно окрашенных клеток проводили при помощи микроскопа («ЛЮМАМ-Р11», Россия), в пределах эпителия - в расчете на 100 эпителиоцитов по всей толще слоя, отмечали типичные места локализации; в собственной пластинке описывали наличие и характер расположения клеток. Результаты исследования документировали фотографированием на фотопленку «Konica VX 400» при помощи микрофотонасадки МФН-10 («ЛОМО», Россия). Часть результатов документировали путем съемки с микроскопа видеокамерой «Panasonic WV-CP410/G», Japan).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате иммуногистохимического исследования слизистой оболочки десны в области установленного имплантата при использовании моноклональных антител к HLA-DR были выявлены HLA-DR+ дендритные клетки. Поскольку наиболее высокая экспрессия молекул МНС II класса присуща дендритным АПК, их идентификация при помощи моноклональных антител к HLA-DR считается высокоспецифичной [2, 5,8]. HLA-DR+ ДК внутри эпителия располагались по всей толще пласта в количестве 6-10 на 100 эпителиоцитов. Отмечалась тенденция скопления ДК у базального полюса внутриэпителиальных пузырьков (рис. 1). В собственной пластинке численность HLA-DR+ клеток уменьшалась, по сравнению с картиной до имплантации. При сопоставлении характеристики HLA-DR+ клеток с гистологическими изменениями слизистой оболочке десны в области установленных имплантатов, которые про-

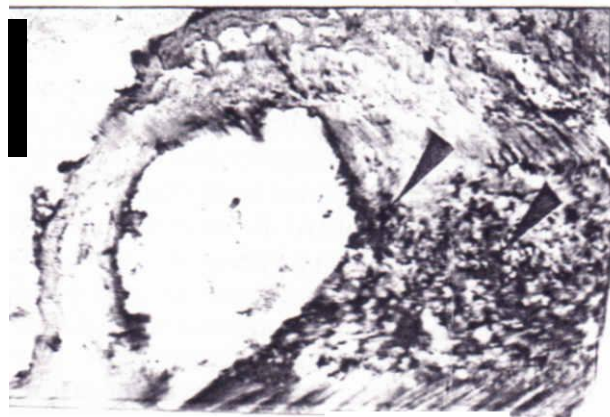


Рис. 1. HLA-DR+ клетки слизистой оболочки десен в области установленного дентального имплантата  $\times 60$ . Доокрашивание - Гемалаун Маера

являлись вакуольной дистрофией с переходом в балонирующую под ороговевающим слоем эпителия, многочисленными очажками вакуольной дистрофии в шиповидном слое, в основном в центральных отделах, также с переходом в балонирующую, нами отмечено привлечение ДК в зону внедрения антигена. Интенсивный приток HLA-DR+ ДК способствует и объясняет их характерную локализацию вокруг дефектов эпителия. Наблюдаемое уменьшение числа HLA-DR+ клеток в собственной пластинке, очевидно, отражает их миграцию в эпителий в результате привлечения хемокинами, способность к синтезу которых приобретают эпителиоциты, фибробласты при захвате ионов металлов [14]. Специфические изменения со стороны локального иммунитета слизистой десны, сопровождающие дентальную имплантацию, позволили предположить HLA-DR+ клетки на роль одного из ведущих показателей стабильности имплантата [15].

Следует отметить, что гистологические методы исследования не позволяют получить подобную информацию об иммуноцитах.

Имуногистохимический метод позволил выявить специфические изменения со стороны локального клеточного иммунитета слизистой десны при ХКГ. Количество HLA-DR+ ДК составило 8-12 внутри эпителия. Характерной была локализация клеток в базальном слое эпителия в виде скоплений, что свидетельствует об усиленной миграции ДК из эпителия и накоплении под базальной мембраной как у труднопреодолимого препятствия. В толще шиповидного слоя количество ДК уменьшалось, их отростки располагались в основном биполярно и были направлены к поверхности эпителия и к базальной мембране, что свидетельствует об активации их передвижения [5] (рис. 2, а). В собственно слизистой оболочке наблюдалось значительное увеличение количества HLA-DR+ клеток по сравнению с нормой, отражающее их интенсивный приток при ХКГ (рис. 2, б). Отростки HLA-DR+ ДК ориентировались по ходу соединительнотканых волокон, что также служит признаком миграции.

Для иммуногистохимического исследования слизистой оболочки десны, при хроническом генерализованном пародонтите средней тяжести использовали, в частности,  $\gamma\delta$ -первичные антитела. Gemmel E., Seymour G.J. (1995) предположена пусковая роль  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов при пародонтите [19]. С другой стороны, Kawahara K. et al. (1995) в результате исследований, проведенных на десневой ткани, ограничили вклад  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов в развитие воспаления, лишь ранними сроками действия повреждающих факторов [20] Имеются сведения, что  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты способны вы-

делять соответствующие цитокины, которые регулируют пролиферацию эпителиоцитов [2]. В покоем состоянии  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты не имеют маркеров CD4 или CD8, но могут дифференцироваться либо в CD4+, либо в CD8+ клетки после стимуляции. Все это послужило обоснованием выявления полной популяции  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов слизистой оболочки внутриэпителиальных  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов [2], что подчеркивает важность выявления этих клеток при патологии слизистых оболочек. В пределах эпителия  $\gamma$ -,  $\delta$ -+ клетки не были обнаружены, что согласуется с данными об уменьшении количества  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов слизистых оболочек при заболеваниях с хроническим течением, но не исключает тот факт, что изначальная хронизация процесса может быть обусловлена первичной малочисленностью либо отсутствием интраэпителиальных  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов [2]. Результаты показали характерное расположение  $\gamma$ -,  $\delta$ -+ клеток в слизистой оболочке при хроническом генерализованном пародонтите - в сосочках собственно слизистой оболочки, вдоль базальной мембраны, изредка позитивно-окрашенные клетки занимали почти весь сосочек.  $\gamma$ -,  $\delta$ -+ клетки также были выявлены в составе инфильтратов сетчатого слоя слизистой в количестве 2-6 на 100 клеток. В 25% исследованных биоптатов десны при пародонтите 1 степени тяжести  $\gamma$ -,  $\delta$ -+ клетки нами не обнаружены. По мере резорбции костных перегородок  $\gamma$ -,  $\delta$ -+ клетки выявлялись чаще (II, III степень тяжести пародонтита), при III степени тяжести лишь в 10% случаев позитивно окрашенные клетки не были обнаружены.

Имуногистохимический анализ позволил охарактеризовать также HLA-DR+, CD20+, CD3+, CD4+, CD8+ клетки при хроническом генерализованном пародонтите средней тяже-

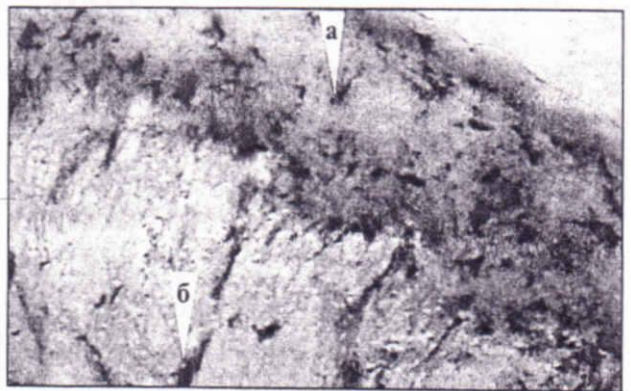


Рис. 2. HLA-DR+ клетки слизистой оболочки десен при хроническом катаральном гингивите: а) HLA-DR+ дендритные клетки эпителия; б) HLA-DR+ дендритные клетки собственной пластинки. х 60. доокрашивание - Гемалаун Маера.

сти. Так, HLA-DR+ клетки в пределах эпителия составляли популяцию 10-12 на 100 эпителиоцитов при I степени пародонтита, 6-10 - при II, и 5-6 - при III степени тяжести. В базальном слое эпителия и в собственно слизистой под базальной мембраной (I степень) отмечалось характерное накопление HLA-DR+ клеток, что указывает на интенсификацию миграции клеток в эпителии. По мере утяжеления процесса, количество клеток в эпителии уменьшалось, и миграция замедлялась. Многочисленные HLA-DR+ клетки входили в состав инфильтратов собственной пластинки.

Как показано в недавних исследованиях [8, 13], в нормальной слизистой оболочке полости рта могут присутствовать единичные В-клетки. Обычными местами локализации В-клеток являются лимфоидные фолликулы подслизистой основы, регионарные лимфоузлы, миндалины, поскольку для их функционирования необходимо определенное цитокиновое микроокружение и кооперация Т-лимфоцитов и АПК. Следовательно, при, например, нарушении целостности базальной мембраны может наблюдаться инфильтрация В-клетками эпителия слизистой оболочки. Рядом авторов предполагается возможность местного синтеза иммуноглобулинов плазматическими клетками. Однако, роль этих клеток в защите слизистой оболочки полости рта, как и в развитии пародонтита, не должна быть переоценена. С целью выявления общей популяции В-клеток, нами были использованы моноклональные антитела к CD20.

При хроническом генерализованном пародонтите в пределах эпителия CD20+ клетки не обнаруживались. По мере утяжеления процесса (II и III степени тяжести) отмечено появление от единичных до 3-4 (на площадь, равную 100 эпителиоцитам) CD20+ клеток в сосочках собственно слизистой оболочки. Клетки также выявлялись в составе инфильтратов, где были представлены разным количеством: как единичными, так и преобладающими, что, вероятно, может объясняться активностью патологического процесса на момент Биопсии.

CD3 молекула представляет собой ТКР-ассоциированный комплекс, участвующий в передаче сигнала в клетки, и считается специфической для всех Т-клеток. Однако, как показали недавние исследования [8], в эпителии, покрывающем врожденный дефект нёба, количество CD8+ Т-лимфоцитов превышало количества CD3+ клеток, т.е. было больше численности общей популяции Т-лимфоцитов. Сделано предположение, что CD3-молекулу не экспрессируют внутриэпителиальные  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты [14].

В результате исследования десен при хроническом генерализованном пародонтите средней степени тяжести CD3+ клетки были выявлены единичные, и в эпителии, и в собственной пластинке слизистой оболочки.

С другой стороны, при I степени тяжести хронического генерализованного пародонтита, количественные показатели CD8+ и CD3+ клеток (4-5 и 4-6, соответственно) и характер их локализации (базальный слой эпителия, редкие скопления в участках нарушения целостности эпителия) совпадали. При II и III степенях тяжести пародонтита количество CD8+ клеток (3-6 и 1-4 соответственно) в эпителии значительно преобладало над количеством CD3+ клеток. На основании этого материала, предположено, что при некоторых условиях, CD3-молекула может не быть экспрессирована на поверхности интраэпителиальных Т-лимфоцитов.

Т-лимфоциты-хелперы выявляли по их способности экспрессировать CD4-молекулы на высоком уровне. Однако, как известно, CD4-молекулу способны экспрессировать также моноциты, макрофаги, дендритные клетки [2,8].

CD4+ клетки внутриэпителиально размещались в шиповидном слое, в количестве 1-3, что отображает уменьшение их количества по сравнению со здоровой десной, и большинство из них имело отростчатое строение. Клетки постоянно присутствовали в собственной пластинке слизистой, типично локализуясь под базальной мембраной, иногда контактируя с ней, а также по центру сосочков. CD4+ клетки присутствовали в составе воспалительных клеточных инфильтратов собственной пластинки, однако их численность сильно варьировала. Эти показатели, не отличались при разных степенях пародонтита. Локализация CD4+ клеток совпадала с  $\gamma$ -,  $\delta$ + клетками под базальной мембраной в собственной пластинке.

Для идентификации цитотоксических Т-лимфоцитов использовали моноклональные антитела к CD8. Характерным было уменьшенное количество CD8+ клеток в пределах эпителия десны при хроническом генерализованном пародонтите, по сравнению с нормальной слизистой оболочкой. Число CD8+ клеток составляло при I степени тяжести - 4-6 на 100 эпителиоцитов, при II степени - 2-5, при III - 1-3 на 100 эпителиоцитов. При III степени тяжести пародонтита в 20% больных отмечено увеличение численности CD8+ клеток в пределах эпителия до 8-10 на 100 эпителиальных, эти показатели соответствовали эпителию десневого кармана, а не вестибулярной поверхности десны, обычно представленной на исследованных нами препа-



Рис. 3. HLA-DR+ клетки слизистой оболочки шейки матки при *ovulae naboti*. x 60. Доокрашивание - Гемалаун Маера

ратах. При указанном увеличении числа *CDB+* клеток в пределах эпителия, наблюдалось группирование клеток в базальном и шиповидном слоях. Скоплению клеток в эпителии обычно соответствовало скопление в собственно слизистой, под базальной мембраной. Результаты исследований позволили установить, что типичной локализацией *CD8+* клеток в десне является **базальный слой эпителия, реже, примыкающие отделы шиповидного слоя.** Эта закономерность наблюдалась как в здоровой ткани, так и при охарактеризованных патологических процессах. В собственной пластинке слизистой оболочки определялось незначительное число *CD8+* клеток, которые местами примыкали к базальной мембране. *CD8+* клетки были наиболее многочисленными представителями инфильтратов в собственно слизистой в большинстве случаев. Полученные результаты позволяют сделать заключение о снижении уровня цитотоксической защиты эпителия слизистой оболочки десны по мере утяжеления пародонтита. При I степени пародонтита отмечено совместную локализацию под базальной мембраной *CD3+*, *CD4+*, *CD8+* и  $\gamma$ -,  $\delta$ -клеток, что может свидетельствовать об активации  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоцитов и приобретении *CD4+* либо *CD8+* фенотипа. Стабильно малое число  $\gamma$ -,  $\delta$ -клеток в составе инфильтратов свидетельствует о преобладании в нем Т-лимфоцитов, несущих  $\alpha$ -,  $\beta$ -ТКР и привлеченных из периферической циркуляции. Постоянное преобладание в той или иной степени *CD8+* клеток в пределах эпителия при почти полном отсутствии  $\gamma$ -,  $\delta$ -клеток, также говорит о том, что ТКР этих клеток представлен  $\alpha$ -,  $\beta$ -цепями.

Для исследования слизистой оболочки шейки матки при эрозии использовали моноклональные антитела к *CD8*, HLA-DR.

Отмечено высокое количество *CD8+*клеток (7-9 на 100 эпителиоцитов) и локализация в базальном отделе эпителия (рис. 3).

Число HLA-DR+ клеток в слизистой оболочке шейки матки составило 9- 11 на 100 эпителио-

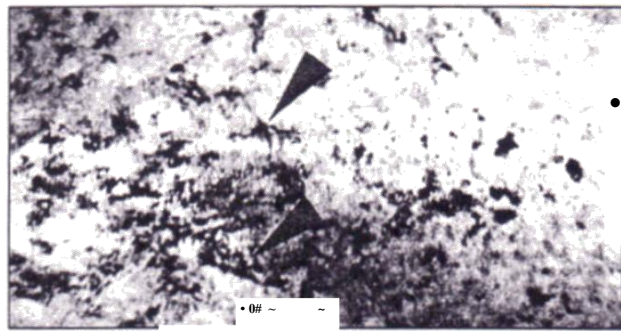


Рис. 4. *CD8+* клетки слизистой оболочки шейки матки при *ovulae naboti*. x60. Доокрашивание - Гемалаун Маера

цитов. Клетки локализовались преимущественно в базальном отделе в виде скоплений и в шиповидном слое эпителия (рис. 4).

Таким образом, иммуногистохимический метод исследования иммуноцитов позволил установить специфические изменения локального иммунитета слизистых оболочек. Характерные изменения со стороны локального иммунитета слизистой десны сопровождаются дентальную имплантацию. На роль одного из ведущих показателей стабильности имплантата предложены HLA-DR+ клетки [15]. При хроническом катаральном гингивите выявлен интенсивный приток HLA-DR+ клеток в слизистую оболочку десны. Результаты исследования показали, что преобладающими и постоянными популяциями интраэпителиальных иммуноцитов при хроническом генерализованном пародонтите являются HLA-DR+, *CD3+* и *CD8+* клетки. Воспалительный инфильтрат в слизистой оболочке формируют преимущественно HLA-DR+ клетки и  $\alpha$ -,  $\beta$ -Т-лимфоциты. При этом  $\gamma$ -,  $\delta$ -Т-лимфоциты отсутствуют в пределах эпителия, но типично локализованы под базальной мембраной в сосочках собственно слизистой. Наиболее многочисленные популяции эпителия слизистой оболочки шейки матки при эрозии были представлены HLA-DR+ и *CD8+* клетками. Указанные результаты характеризуют использованный метод как высокоинформативный, позволяющий проанализировать состояние иммунной системы слизистой оболочки на глубоком структурном уровне, выявить его специфическую реакцию в ответ на патологический процесс, проследить роль иммунных механизмов в патогенезе заболеваний, обосновать применение иммунокорректоров, а также проводить мониторинг терапии.

## ВЫВОДЫ

1. Иммуногистохимический метод выявления иммуноцитов, несущих HLA-DR, *CD3*, *CD4*, *CDB*, *CD20* и  $\gamma$ -,  $\delta$ -ТКР является информативным методом оценки локального клеточного иммунитета слизистых оболочек.

2. При дентальной имплантации, хроническом катаральном гингивите, хроническом генерализованном пародонтите, при эрозии шейки матки наблюдаются специфические изменения локального клеточного иммунитета слизистых оболочек десны и шейки матки.

3. Для оценки локального клеточного иммунитета слизистых оболочек информативными критериями являются: количество иммуноцитов, их локализация в эпителиальном слое и собственной пластинке слизистой, расположение относительно базальной мембраны и другая, изменение формы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дж. Полак, С. Ван Норден. Введение в иммуноцитохимию: Современные методы и проблемы / Перевод с англ. М.А. Глухой, под ред. Н.Г. Хруцова. - М.: Мир. - 1987. - 74 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - Одесса: АстроПринт, 1999. - 603 с.
3. Иммунокомпетентность краевого эпителия целевого дефекта у детей с врожденными несращениями неба / п.и. Ткаченко, И.П. Кайдашев, О.А. Баитовенко, В.И. Шинкевич, В.В. Рябенко, О.А. Карасюнок // Современная стоматология. -2002. - N 2. - С. 104-107.
4. Карасюнок О.О. Особливості лікування дітей із зубо-щелепними аномаліями в сполученні з мілким при-синком порожнини рота: Дис. - канд. мед. наук: 14.01.22. -Полтава, 2001. - 220с.
5. Макаренко В.П., Кост Н.В., Шурип М.Р. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета и в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний // Иммунология. -2002. - N2. - С. 68-76.
6. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Петрова. -М.: Медицина, 1996. - 544с.
7. Пат. 2001096503 Украина, МПК7 А61 С17/00. Спосіб оцінки функціонального стану слизової оболонки порожнини рота: Пат. 2001096503 Украина, МПК 7 А61 С17/00 / І.П. Кайдашев, П.І. Ткаченко, В.Д. Куроєдова, О.О. Карасюнок, В.І. Шинкевич, О.А. Баитовенко (Украина); №41428; Заявл.24.09.2001; Опубл. 10.06.2002. - 3 с.
8. Роль дендритных клеток в обеспечении локального иммунитета полости рта / И.П. Кайдашев, Л.И. Волюшица, В.И. Шинкевич, О.А. Карасюнок, В.В. Рябенко, О.А. Ножинова, О.А. Баитовенко // Український стоматологічний альманах. - 2001. -N5. - С. 80-87.
9. Роль цитокинов в механизмах развития хронического воспаления в ткани пародонта /Л. В. Ковальчук, Л.В. Ганковская М.А. Рогова, Т.П. Иванюшко, Е.В. Буданова, Н.А. Шабанова // Иммунология. - 2000. - N 6. - С. 24-26.
10. Самойленко А.В., Макарович А.Ю. Локальна патогенетична терапія генералізованого пародонтиту // Новини стоматології. - 2002. - №1. - С. 27-28.
11. Состояние иммунологического аппарата у детей с хроническим катаральным гингивитом / П. И. Ткаченко, И.П. Кайдашев, Н.М. Лохматова, В.В. Рябенко, В. И. Шинкевич // Современная стоматология. - 2002. - N4. - С. 39-42.
12. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека / А.А. Топольян, И.А. Балдуева, Л.Н. Бубнова, А.В. Закревская, Е.Е. Зуева // Клиническая лабораторная диа-

- гностика. - 2002. - N 1. - С. 44-50.
13. Структурные изменения слизистой оболочки анормально прикрепленных мягких тканей полости рта / И.П. Кайдашев, В.Д. Куроєдова, П.И. Ткаченко, О.А. Карасюнок, В.И. Шинкевич // Вісник стоматології. - 2000. - № 1. - С. 35-36.
  14. Фрейдлин И.С. Интерлейкин-12 - ключевой цитокин иммунорегуляции // Иммунология. - 1999. - N4. - С. 5-9; Симбирцев А.С. Интерлейкин-8 и другие хемокины // Иммунология. - 1999. - N4. - С. 9-14.
  15. Характеристика состояния локального иммунитета слизистой оболочки десны при Установленном дентальном имплантате / Д.М. Король, В.В. Рябенко, В.И. Шинкевич, И.П. Кайдашев // Современная стоматология. - 2003. - N 1. - С.79-82.
  16. Boismenu R., Havran W.L.  $\gamma$ -,  $\delta$ -T-cells in Host Defense and Epithelial cell Biology // Clin. Immunol and Immunopathol. -1998. -Vol.86. -N2. - P.121-133.
  17. Drakesmith H., Chein B., Beverley P. How can dendritic cells caus autoimmune disease? // Immunogy Today. - 2000. - Vol. 21, P. 214-217.
  18. Gaston J.S.H Heat shock proteins and innate immunity // Clin. Exp. Immunol. -2002. - Vol. 127, P. 1-3.
  19. Gemml E., Seymour G.J.  $\gamma$ -,  $\delta$ -T-Lymphocytes in Human Periodontal Disease Tissue // J. Periodontology. -1995. - P.780-785.
  20. Kawahara K., Fukunaga M., Takata M., Kawamura M., Morishita M., Iwamura Y. Immunohistochemical study of  $\gamma$ -,  $\delta$ -T-cells in human gingival tissues // J. Periodontology. - 1995. - P. 775-779.
  21. Rook G., Lydyard P., Stanford J. Mycobacteria and rheumatoid arthritis // Arthr. Rheuma. -1990. - Vol. 33. - P.431-435.
  22. Soderstrom K., Bucht A., Halapi E. Et al. High expression of V $\beta$ 8 is a shared feature of human  $\gamma$ -,  $\delta$ -T-cells in the epithelium of gut and in the inflamad synovial tissue // J. Immunol. -1994. - Vol. 152, P.6017-6027.
  23. Svensson L., Lilliehook B., Larsson R., Bucht A.  $\gamma$ -,  $\delta$ -T-cells contribute to the systemic immunoglobulin E response and local B-cell reactivity in allergic eosinophillic airway inflammation // Immunology -2003. - Vol. 108, P.98-108.

## ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК

І.П. Кайдашев, В.І. Шинкевич, В.В. Рябенко, Д.М. Король, І.М. Ткаченко, Е.І. Крутікова  
В роботі представлено результати імуногістохімічних досліджень біопатів слизової оболонки при деяких стоматологічних захворюваннях: гінгівіті, пародонтиті; при встановленому дентальному титановому імплантаті, з також при ерозії шийки матки. Показано новий підхід щодо вивчення імунологічних показників в оцінці стану слизових оболонок. Використаний метод охарактеризовано як високоінформативний.

## IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF MUCOUS MEMBRANES

I.P. Kaydashev, V.I. Shinkevich, V. V. Ryabenko, D. M. Korol, I. M. Tkachenko, E.I. Krutlikova  
The article presents the results of immunohistochemical investigations of mucous membrane biopates in certain stomatological diseases such as gingivitis, periodontitis; with a dental titanium implant inserted, and with the womb neck eroded. A new approach to studying some immunological indices in evaluating mucous membrane states is shown. The method used is characterized as a highly informative one.