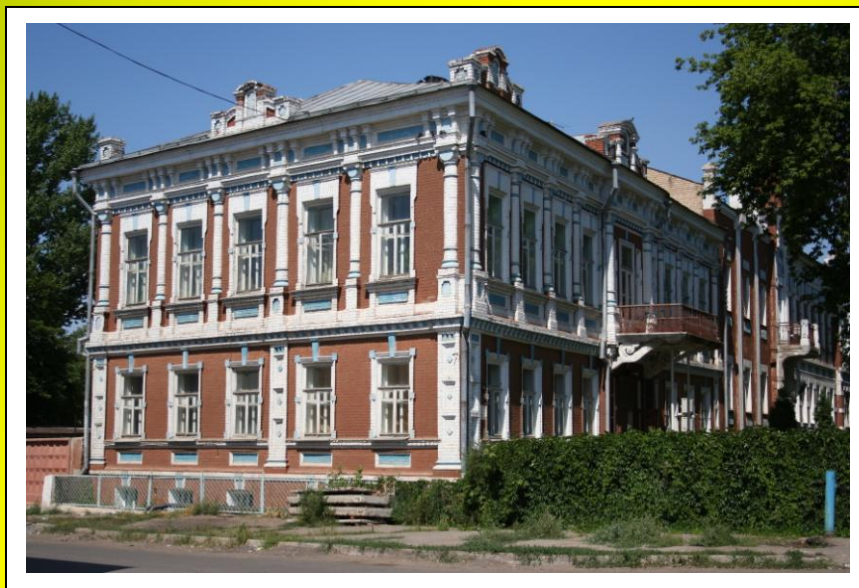


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2013 * № 3

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2013

УДК 571.27-579.61

В.В. Лабис¹, Э.Р. Базикян¹, И.Г. Козлов²

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО ФАКТОРА И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССЕ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Нарушение целостности тканей пародонта как в механизмах пародонтита, так и периимплантита, стоит отнести к иммуноопосредованным заболеваниям. Открытие TLRs, NLRs, а также RIG рецепторов дает возможность в новом ключе рассматривать патогенетические аспекты развития данных нозологических форм. Способность к «ускользанию» патогенной микрофлоры полости рта от механизмов врожденного иммунитета может приводить к возникновению заболеваний в челюстно-лицевой области, а также к развитию хронического воспалительного процесса в костной ткани, например, периодонтиту. Роль дендритных клеток (cDCs-стандартные дендритные клетки) в развитии и регуляции иммунного ответа организма на повреждение костной ткани, а именно BMDCs (дендритных клеток костного мозга), только начинает изучаться. Становится актуальным новый взгляд на межклеточные взаимодействия, происходящие в коллагеново-эластиновой костной матрице. Продолжается поиск молекулярно-биологических маркеров, принимающих участие в репаративном остеогенезе, и уделяется внимание новым аспектам в механизмах регенерации, которые носят регуляторный характер при проведении реконструктивных операций в челюстно-лицевой области.

Ключевые слова: TLRs, NLRs, Th17, TGF- β , Treg, дендритные клетки костной ткани (BMDCs), репаративный остеогенез, плазмоцитоидные дендритные клетки (pDCs), TLRs, цитокины.

V.V. Labis¹, E.R. Bazikyan¹, I.G. Kozlov²

THE ROLE OF BACTERIAL FACTOR AND THE IMMUNE SYSTEM IN THE PROCESS OF REPARATIVE OSTEOGENESIS AND DENTAL IMPLANTOLOGY

¹ Moscow State Medico-stomatological University named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

² The Russian national research medical University named N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Violation of the integrity of the periodontal tissues as in the mechanisms of periodontitis and peri-implantitis, is attributed to immune-mediated diseases. Opening of the TLRs and NLRs receptors enables a new way to consider the pathogenetic aspects of development of these clinical entities. The ability to "escape" the oral pathogenic mechanisms of the innate immune system, can lead to diseases in the oral and maxillofacial region. The role of dendritic cells (cDCs) in the development and regulation of the immune response to the injury of bone tissue, namely BMDCs (dendritic cells in the bone marrow) is just beginning to be studied. Becomes relevant new perspective on cell-cell interactions that occur in the collagen-elastin matrix of bone. The search continues for molecular biological markers involved in reparative osteogenesis, and focuses on new aspects of the mechanisms of regeneration, which are of a regulatory nature during reconstructive surgery in the maxillofacial region.

Key words: TLRs, NLRs, Th17, TGF- α , Treg, dendritic cells of the bone tissue (BMDCs), reparative osteogenesis plasmacytoid dendritic cells (pDCs), TLRs, cytokines.

Врач-философ; ведь нет большой разницы
между мудростью и медициной.

Гиппократ (ок. 460-377 г. до н.э.)

Микробиология и иммунология занимают в медицине промежуточное положение между фундаментальными, теоретическими и клиническими, а также медико-профилактическими дисциплинами. Они проникают буквально во все медицинские дисциплины: хирургию, терапию, онкологию, нервные болезни, урологию, офтальмологию, эндокринологию, эпидемиологию, педиатрию, стоматологию, инфектологию, медико-профилактические науки и др. Трудно назвать какую-либо специальность, в которой не использовались бы методы микробиологии и иммунологии для диагностики, лечения и профилактики инфекционных и неинфекционных болезней. Поэтому врач любой специальности должен знать основы данных научных направлений, умело ими пользоваться в своей практической деятельности [1].

Проблема междисциплинарной разобщенности научных направлений не позволяет в полной мере полноценно развиваться существующей концепции репаративного остеогенеза и внедрять современные технологии в процесс лечения пациентов. Таким образом, объединение новых знаний микробиологии, иммунологии, стоматологии, а также материаловедения позволит нам сформировать новый взгляд на клеточные и молекулярные процессы репаративного остеогенеза, происходящие, в частности, при проведении операций немедленной, ранней и отсроченной дентальной имплантации.

Хорошо известно, что полость рта является нишей для множества разновидностей бактерий. Многие из них принимают активное участие в деструкции костной ткани. Так, в 2011 г. учеными из Германии на животной модели мини-пиггов было начато исследование по созданию патофизиологической модели периимплантита. На первом этапе изучены бактерии нормальной микрофлоры ротовой полости мини-пиггов. Среди грамположительных кокков были выделены *Staphylococcus* и *Streptococcus*, а также встречались представители грамположительных бактерий, такие как *Actinomyces*. Среди анаэробных бактерий, были обнаружены *Fusobacterium*, *Bacteroides* и *Prevotella* [2].

Микробиологический фактор как один из основных в инициации инфекционно-воспалительного процесса в полости рта предполагает взаимо-

действие микроорганизмов с клеточным звеном врожденного и адаптивного иммунитета. Нарушение целостности тканей пародонта встречается как при пародонтите, так и периимплантиты, что позволяет отнести указанную патологию к иммуноопосредованным заболеваниям. Общность клинических проявлений данных нозологических форм может предварительно интерпретироваться схожестью или подобием в механизмах патогенеза обоих заболеваний, результатом которых является деструкция костной ткани.

В 2012 г. группой ученых из Китая с помощью сканирующей электронной микроскопии было продемонстрировано, что такие бактерии, как *Actinomyces sp. oral*, *Propionebacterium*, *Prevotella sp. oral*, *Streptococcus*, *Porphyromonas endodontalis* и *Burkholderia*, – продолжают находиться в костной ткани в области апекса после ранее проведенного лечения по поводу хронического периодонтита у людей. Чаще всего из них высеивались *Actinomyces sp. oral* и *Propionebacterium* – 84,6% и 61,5%, соответственно [3].

В исследованиях, проведенных в 2013 г. учеными М. Tek et al. (2013) продемонстрировано многообразие бактериальных видов, принимающих участие в инфекционно-воспалительной деструкции костной ткани при образовании радикулярных кист, таких как: *Streptococcus milleri Group (SMG)* – 23,8% (*S. constellatus* – 19,1% и *S. anginosus* – 4,7%); *S. sanguis* – 14,3%; *S. mitis* – 4,7%; *S. cremoris* – 4,7%; *Peptostreptococcus pevotii* – 4,7%; *Prevotella buccae* – 4,7%; *P. intermedia* – 4,7%; *Actinomyces meyeri* – 4,7%; *A. viscosus* – 4,7%; *Propionibacterium propionicum* – 4,7%; *Bacteroides capillosus* – 4,7%; *Staphylococcus hominis* – 4,7%; *Rothia denticariosa* – 4,7%; *Gemella haemolysans* – 4,7%; *Fusobacterium nucleatum* – 4,7% и др. Из них 14 было факультативных анаэробов и 7 облигатных анаэробов. Все факультативные анаэробы были грампозитивные. Из облигатных анаэробных бактерий 3 типа были грамм-позитивными, а 4 – грамотрицательными. Эти же авторы отметили и наличие кист со стерильным содержимым [4].

Из этого можно сделать вывод, что бактерии, нарушая тканевой барьер, начинают непосредственно взаимодействовать с клетками костной ткани, вступая в продолжительную борьбу, целью которой является освоение новой ниши для обитания.

Необходимо иметь в виду, что в периодонтальной связке находится множество клеток – фибробласты, цементобласты, одонтокласты, остеобла-

сты, остеокласты, эпителиальные островки Малассе, моноциты, макрофаги, недифференцированные мезенхимальные клетки-предшественники, стволовые клетки и др. Стенки лунки, где располагается зуб, имеют множество отверстий, соединяющих периодонтальную связку с губчатым веществом кости. Через эти отверстия проходят кровеносные и лимфатические сосуды, а также нервные ветви. Кроме того, клетки периодонта продуцируют факторы, участвующие в регуляции механизмов резорбции твердых тканей. Важными регуляторными молекулами являются остеопротегерин и лиганды активатора рецепторов NF- κ B. Не исключено, что именно баланс регуляторных молекул предотвращает резорбцию корня [5].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению факторов, влияющих на остеокластогенез, его индукцию и ингибирование [6]. В данной работе при использовании мышинной модели показано ингибирующее влияние резиквимоуда (лиганда активатора NF- κ B) на клетки-предшественники остеокластогенеза.

Лигандами являются вещества, взаимодействующие с рецепторами на иммунокомпетентных клетках, например, главный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий или LPS – липополисахарид. TLRs (или toll-подобные рецепторы), к которым на сегодняшний день относятся 10 найденных у человека рецепторов, расположенных как на поверхности, так и внутри клеток, необходимы для распознавания так называемых лигандов.

Открытие TLRs, NLRs и RIG рецепторов дало возможность по-новому взглянуть на механизмы возникновения и развития реакций врожденного и адаптивного иммунитета при контакте с различными представителями микробной флоры полости рта.

Важным событием в иммунологии стало присуждение в 2011 г. Нобелевской премии Брюсу Бойтлеру, возглавлявшему иммунологическую лабораторию университета Тафтс в США, за открытие и клонирование TLR 4 рецептора. LPS-является лигандом для TLR4, как на мембране иммунокомпетентных клеток, так и внутри них, на эндосомах, в связи с чем активация данного рецептора может происходить как на поверхности, так и внутри клетки, при попадании бактерий в цитоплазму. Необходимо отметить, что в цитоплазме иммунокомпетентных клеток, вне аппарата Гольджи, возможен синтез белка IL-1 β с помощью белкового кластера, называемого ифламмасо-

мой. Выделяют 4 типа инфламмосом: NLRP1 (NLR содержащая 1 пирин домен, NALP 1), NLRP3 (NLR содержащая 3 пирин домена, NALP3), NLRC4 (NLR содержащий каспаз-рекрутируемый домен 4, IPAF) и AIM2 (отсутствующий в меланоме) [7].

Известно, что при взаимодействии лигандов с TLRs сигнал о патогене передается на инфламмосому, что приводит к активации каспазы-1. IL-1 β и IL-18 основные цитокины синтезируемые в результате активации данного фермента [8].

Способность микроорганизмов «ускользнуть» от иммунного ответа, может быть одним из факторов специфичности в развитии реакций врожденного иммунитета при взаимодействии с макроорганизмом. Так, например, патогенные бактерии *Porphyromonas gingivalis*, синтезирующие множество разновидностей липида А, действуют по-разному на одни и те же TLR2 и TLR4 рецепторы – или как агонисты (активаторы), или как антагонисты (блокаторы), что препятствует развитию оптимального воспалительного ответа [9].

D. Holzinger (2012) показал в своих исследованиях, что *Staphylococcus aureus* вызывает воспаление через NALP3, что может являться причиной усугубления воспалительного ответа в целом, с точки зрения усиления выработка провоспалительных цитокинов на фоне гибели нейтрофилов [10].

Активно изучается экспрессия TLRs рецепторов при взаимодействии с *Porphyromonas gingivalis*. Так N. Wara-Aswapati в группе с другими исследователями (2012) показали важность активации врожденного звена иммунной системы в патогенезе заболеваний хронического периодонтита, а именно увеличение уровня mRNA TLR2, TLR9, но не TLR4 [11]. В работах H. Davanian et al. (2012) также была показана роль экспрессии TLR2 в фибробластах десны в развитии механизма хронического периодонтита под воздействием TNF- α [12].

Такая тройная защита в виде вне- и внутриклеточно расположенных TLRs, а также NLRs, вроде бы, должна максимально быстро распознавать и инактивировать патогенные штаммы. Но, к сожалению, как было сказано выше, в результате эволюции, микробная флора, заселяющая нас, научилась приспосабливаться и выживать в условиях человеческого организма. Такие адаптивные свойства микроорганизмов закрепились на генетическом уровне, поэтому все сложнее становится борьба с патогенными штаммами бактерий,

вызывающими хронические инфекционно-воспалительные процессы, как в пародонте, так и в области установленных дентальных имплантатов. Генетическая предрасположенность к формированию адекватного по силе врожденного иммунного ответа на антигенные детерминанты все чаще становится определяющим фактором для исхода в лечении того или иного заболевания. Например, известно, что предрасположенность к сепсису в ходе иммунного ответа к инфекции находится под строгим генетическим контролем [13].

Отсюда возникает ряд вопросов. Какие генетические аспекты врожденного и адаптивного иммунного ответа могут быть ключевыми звеньями в развитии как пародонтита, так и периимплантита, в чем их сходство и различие? Каковы сигнальные пути в развитии данных патологий? Какие клетки иммунной системы принимают участие в прогрессировании резорбции костной ткани в области, как собственных зубов, так и дентальных имплантатов? Имеются и многие другие вопросы, ответы на которые важны для решения столь сложной задачи, как поиск основного патогенетического звена в возникновении данных инфекционно-воспалительных заболеваний.

Возвращаясь к теме развития врожденного иммунного ответа после контакта лигандов с TLRs и активации инфламмосомы, необходимо сказать о возникновении внутрицитозольных сигнальных путей, результатом которых является синтез транскрипционных факторов и апрегуляция генов в ядрах клеток, что ведет за собой синтез провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [14]. Направленность в преволирующем синтезе того или иного цитокина может указывать на развитие адаптивного иммунного ответа, возникающего как результат взаимодействия антигенных детерминант с клетками иммунной системы. Так, например, синергизм в работе IL-18 и IL-23, может приводить к развитию Th17 из-за усиления синтеза IL-17 [8].

Классическое представление о том, что приобретенный иммунитет приходит на смену врожденного при его недостаточной эффективности, не совместимо с современным пониманием механизмов инициации приобретенного иммунного ответа. В действительности, резидентные тканевые дендритные клетки (ДК) функционируют в качестве «сенсоров» инвазии патогенов, после контакта с которыми, они созревают и мигрируют в лимфоузлы, где активируют наивные Т-клетки [15].

Сегодня адаптивный иммунный ответ характеризуется четырьмя хоро-

шо изученными направлениями дифференцировки Т-лимфоцитов, исходя из наличия у каждого из них известного транскрипционного фактора: Th-1, Th-2, Th-17, Th-reg-иммунологическая толерантность. Кроме того имеются сообщения о существовании таких субпопуляций Т-лимфоцитов, как: Th-9, Th-10, Th-22, Tfx-связанного с В-клетками памяти [16].

Открытие Th17 полностью изменило концепцию о существовании только двух направлений в дифференцировке Т-лимфоцитов [17]. Теперь иммунорегуляция, защита хозяина от бактерий и грибов и патогенез аутоиммунных заболеваний стал рассматриваться совершенно иначе. Необходимо отметить, что Th17 лимфоциты играют огромную роль во внеклеточном иммунном ответе, а также в патогенезе аутоиммунных заболеваний. В них выделяют такие субпопуляции, как: IL-17A - IL-17F. В последнее время было выявлено, что данный тип клеток индуцирует пролиферацию костномозговых мезенхимальных стволовых клеток человека, а IL-17 не только ускоряет пролиферацию стволовых клеток, но и вызывает их миграцию, увеличивает их подвижность и вызывает дифференцировку остеобластов [18].

Открытие Т-reg лимфоцитов, истинных иммуносупрессоров, дало основание говорить, о том, что данный вид иммунного ответа может являться завершающим звеном в развитии инфекционно-воспалительных процессов. Не исключено его участие и в репаративном остеогенезе. Синтез TGF- β является продуктом данного вида иммунного ответа. Известно, что в присутствии TGF- β и IL-6 некоторые популяции Th17 клеток экспрессируют наряду с IL-17 и IL-10, являющийся противовоспалительным цитокином, который помогает контролировать Th1 и Th2-зависимые процессы [19].

В своих исследованиях D. Mucida et al. (2007) показали, что ретиноидная кислота (RA) может модулировать дифференцировку Т-клеток между Th17 и Treg популяцией, стимулируя развитие Treg лимфоцитов и уходя, тем самым, от дифференцировки в Th17 направлении [20].

Важно отметить, что сегодня пародонтит рассматривается с позиции формирования Th17 адаптивного иммунного ответа как реакция иммунной системы на *Porphyromonas gingivalis* [21].

Таким образом, изучение иммунологических параметров врожденного и адаптивного иммунитета, совместно с генетической опосредованностью к распознаванию микробного фактора и возможности его элиминации, в каче-

стве патогенетического звена инфекционно-воспалительных заболеваний, может открыть новые представления о механизмах возникновения и развития как пародонтита, так и периимплантита.

Иммунологию, как и имплантологию, можно отнести к стремительно развивающимся научным направлениям, что является предпосылкой к их дальнейшему совместному развитию. Необходимо отметить, что за последние годы Нобелевскими лауреатами стали ученые, посвятившие себя изучению нормальной физиологии и иммунологии, такие как: Брюс Бетлер (2011), Ральф Стайнман (2011), Жюль Хоффман (2011); Джон Гердон (2012), Синъя Яманака (2012). Новые данные, полученные этими учеными, позволяют совершенно с другого ракурса посмотреть на регуляцию репаративных процессов, происходящих в костной ткани, и продолжить дальнейшие поиски в таком «относительно молодом» направлении, как иммуноимплантология.

Достоверно известно, что гормоны и, в частности, эстрогены играют фундаментальную роль в развитии скелета и костного гомеостаза [22-24].

Продолжаются исследования, направленные на изучение генов, регулирующих метаболизм костной ткани. Так, среди новых кандидатов выделяют гены, связанные с Wnt-сигнализацией (AXIN1, LRP5, CTNNA1, DKK1, FOXO3, HOXC6, LRP4, MEF2C и др.); с развитием костной ткани: оссификации (CLCN7, CSF1, MEF2C, RUNX2, SOX4, SOX9 и др.); дифференцировкой мезенхимальных стволовых клеток (FAM3C, MEF2C, SOX4, SOX9, RUNX2, SP7 и др.); остеокластической дифференцировкой (JAG1, RUNX2); TGF-сигнализацией (FOXL1, SPTBN1, TGFBR3) [25].

Способность к регенерации утраченных тканей зависит от трех основных составляющих тканевой инженерии – структурной матрицы, сигнальных молекул и клеток [26]. Течение и завершение репаративной регенерации во многом определяется условиями протекания регенераторных процессов, связанных, прежде всего, с трофическим обеспечением, которое, в свою очередь, зависит от степени кровоснабжения зоны регенерации.

В настоящее время, существует большой арсенал способов воздействия (факторов влияния) на различные патогенетические звенья репаративной костной регенерации [27]:

1. Непосредственное воздействие (стимуляция) факторами роста и BMPs на клетки-предшественники остеобластов в периосте и эндоосте и

плюрипотентные стволовые соединительно-тканые клетки костного мозга;

2. Трансплантация аутоклеток костного дифферона после культивирования и помещения на соответствующие носители;

3. Имплантация остеокондуктивных матриц;

4. Имплантация фрагментированной незрелой костной ткани, выступающей в роли остеокондуктивной матрицы и носителя (источника) факторов роста и BMPs;

5. Интенсификация ангиогенеза и микроциркуляции в зоне регенерации.

Открытие Ральфом и Стайнманом (2011) дендритных клеток (cDCs) позволяет по-новому интерпретировать механизм регуляции тканевой репарации и, в частности, репаративного остеогенеза. Любое оперативное вмешательство в челюстно-лицевой области ведет за собой активацию иммунной системы. Сегодня активно изучаются BMDC (дендритные клетки костной ткани) с точки зрения их непосредственного участия в процессе остеогенеза. Известно, что миграция дендритных клеток в нелимфоидную ткань связана с одним из ключевых ростовых факторов, таким, как GM-CSF. Такая миграция возможна при возникновении воспаления с последующей активацией врожденного и адаптивного иммунитета в месте взаимодействия с антигенными детерминантами или нарушения целостности тканей организма. С помощью специфических веществ, называемых лигандами, происходит опосредованное взаимодействие антигенных структур с клетками иммунной системы через TLRs (Toll подобные рецепторы), NLRs (NOD подобные рецепторы) и RIG (РНК подобные рецепторы). Взаимодействие лигандов с данными рецепторами, в зависимости от их специфичности, приводит к синтезу цитокинов. Так, например, взаимодействие TLRs с определенными лигандами на поверхности cDCs клеток вызывает продукцию IL-12 и IL-23, двух цитокинов принимающих участие в дифференцировке наивных Т-клеток в эффекторные. После того, как cDCs идентифицировали патогены в тканях с помощью рецепторного аппарата, происходит активация главного комплекса гистосовместимости и ко-стимуляторных молекул. Сигналы с TLRs также поступают на дендритные клетки, что приводит к их миграции в Т-клеточную зону вторичных иммунных органов. Там же происходит презентация процессированных антигенов наивным Т-клеткам [28].

Межклеточные взаимодействия в костной коллагеново-эластиновой

матрице могут, по нашему мнению, приводить к развитию адаптивного иммунного ответа, являющегося в данном случае основным регуляторным звеном, направляющим клеточную дифференцировку в тканях.

Что же позволяет сDC дифференцироваться в костной ткани до BMDC, и чем они характеризуются? Является ли переключение в синтезе транскрипционных факторов единственным способом переключения клеточных субпопуляций в условиях костной репарации? Кто же такие остеокласты и остеобласты сегодня? Какие клетки являются их истинными предшественниками? На все эти вопросы еще предстоит ответить в будущем.

Существует гипотеза, что моноциты имеют потенциал к дифференцировке или в макрофаги, или в дендритные клетки, или в остеокласты. Клеточное окружение клеток, в частности цитокины, участвует в дифференцировке моноцитов. Рецепторы сигнального пути NF- κ B (RANK), лиганды, TNF- α и IL-8, могут рассматриваться в качестве индукторов остеокластогенеза, а другие факторы – например, IL-10 или TGF- β – наоборот, ингибируют остеокласты или индуцируют их переключение на формирование дендритных клеток. Предположительно, BMP7 ингибирует дифференцировку CD14⁺ моноцитов в остеокласты. В присутствии BMP7 транскрипционный фактор c-Fos и NFATc1, через ап-регуляцию и транслокацию в ядре, в ответ или на RANKL, или на IL-8, не определяется. Параллельно, MafB, транскрипционный фактор экспрессируемый моноцитами и необходимый для дифференцировки в макрофаги, но ингибирующий остеокластогенез, был сохранен. Так как наличие одновременно NFATc1 и даун-регуляция MafB критичны для остеокластогенеза [29], мы пришли к выводу, что BMP7/OP-1, ингибирует остеокластическую генерацию путем взаимодействия с сигнальными путями.

Можно сказать, что в настоящее время идет активное формирование научных взглядов на происхождение остеокластов, их участие в иммунных реакциях и способность к переключениям в другие типы клеток в зависимости от условий микроокружения.

Наше внимание привлекла так называемая малая клеточная субпопуляция – pDCs (plasma cell like - плазмоцитоидные дендритные клетки). Сегодня ее рассматривают в качестве со-предшественника дендритным клеткам, что может быть интересным с позиции использования PRF (бедной тромбоцитами плазмы) в костной пластике. pDCs выполняют роль, как лимфоцитов, так

и классических дендритных клеток, участвуя в антигенной презентации и вырабатывая INF. Не исключено, что они, являясь со-предшественниками дендритных клеток, выступают в качестве «дирижера» в развитии врожденного и адаптивного иммунитета, принимая участие как в Т-клеточном иммунном ответе, противовирусной защите, так и в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Было выдвинуто предположение [30] о способности pDCs к переходу в cDCs в условиях воспаления благодаря такому свойству, как пластичность. pDCs начинают свое развитие в костном мозге, находясь в периферической крови в незначительном количестве. Основная их масса обнаруживается в месте воспалительного процесса или реактивных лимфатических узлах, подверженных воспалению [31]. Необходимо отметить, что наличие высоко дифференцированных pDCs ассоциируют с увеличением синтеза транскрипционного фактора Runx2 [32]. Они напрямую активируют CD4+ Т-клетки в лимфатических узлах, вызывая Th1 тип адаптивного иммунного ответа, а также участвуют в индукции и перекрестном взаимодействии, запуске CD8+ Т-клеточного иммунного ответа. Это говорит об их непосредственном участии в противовирусном инфекционном иммунитете. Также следует упомянуть, что pDCs вызывают толерантность в полости рта с помощью Т-клеточного клонального подавления. Кроме того эти клетки ассоциируются с хроническим воспалением [32], что важно подчеркнуть в связи с использованием аутокостных трансплантатов в практике реконструктивной хирургической стоматологии.

Продолжается поиск биологических маркеров репаративного остеогенеза, для использования их в качестве основных биологических компонентов при разработке новых лекарственных форм. В работе Н. Ochiai с коллегами (2012) была продемонстрирована возможность использования IGF-1 (insulin-like growth factor-1) инсулино-подобного фактора роста с целью репарации костной ткани в очагах хронического воспалительного процесса [33].

Механизм образования и резорбции костной ткани при остеоинтеграции дентальных имплантатов, в настоящий момент рассматривается как генетически-опосредованный без учета главенствующей роли иммунологической составляющей [34]. Такой односторонний подход к изучению многофакторного процесса репаративного остеогенеза стал основанием к пересмотру обоснованности выводов об отсутствии иммунореактивности со сто-

роны процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов, а также построения костной ткани в целом. Основной целью будущих исследований в этой области может стать изучение роли макрофагов и дендритных клеток костного мозга, являющихся основоположниками иммунореактивности.

За способность к распознаванию антигенов отвечает иммунная система. Роль иммунной системы в механизме репаративного остеогенеза остается недооцененной как при положительном исходе остеоинтеграции дентальных имплантатов, так и для профилактики ранних и поздних воспалительных осложнений, связанных с дезинтеграцией дентальных имплантатов.

Вместе с тем, не стоит забывать, что воспаление – это патофизиологическая реакция организма на повреждение. Развитие процесса воспаления, связанного с проведением оперативного вмешательства, сопровождается одномоментной активацией систем врожденного и адаптивного иммунитета. Регуляция течения и завершения воспалительного процесса обеспечивается за счет взаимодействий клеток иммунной системы. Иммунная система выполняет «функцию дирижера» и обеспечивает переход фазы альтерации в фазу пролиферации, направленную на репарацию поврежденной ткани. Так, при взаимодействии Т-клеточного звена иммунной системы происходит стимуляция фибробластов к выработке коллагена 3 и 1 типа [35].

Необходимо отметить, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) характеризуются как клетки, подобные фибробластам. Пока не найдено никаких маркеров, специфических для МСК. По мнению Б.В. Попова (2010), тканевое повреждение, вероятно, создает благоприятные условия для трансдифференцировки МСК в клетки с фенотипом поврежденной ткани. Возможно, что при повреждении ткани выделяют цитокины, молекулы внеклеточного матрикса, которые способствуют их трансдифференцировке в клетки нового фенотипа [36]. Данные взаимодействия, видимо, могут происходить за счет рецепторов, расположенных на поверхности клеток, с помощью которых и происходит передача информационного сигнала от клетки к клетке, закодированного в виде белка – продукта внутриклеточной сигнализации.

Понятие «биоинертность» было впервые применено по отношению к дентальным имплантатам из титана в 1961-1965 гг., что стало стартом к использованию данного свойства металла в качестве обоснования процесса остеоинтеграции, происходящего в костной ткани. С тех пор, несмотря на раз-

витие современной науки, данное понятие продолжало интерпретироваться как невосприимчивость организма к титану, что, в свою очередь, являлось гарантом успешной остеоинтеграции дентальных имплантатов для практической стоматологии.

«Остеоинтеграция» – это такой вид фиксации имплантата в кости, при котором, в пространстве между поверхностью имплантата и костной тканью не образуется фиброзная или хрящевая ткань» [37].

Первая и наиболее важная фаза остеоинтеграции – остеокондукция, которая заключается в привлечении и миграции остеобластов на поверхность имплантата, через остаток кровяного сгустка, сформированного вокруг имплантата. Вторая фаза – непосредственное костное образование, при котором остеогенные клетки, достигнув поверхности имплантата, инициируют формирование костного матрикса. Третья фаза – фаза ремоделирования кости, характеризуется как длительный, состоящий из циклов резорбции и образования кости, процесс, стабилизация которого достигается приблизительно через 18 месяцев после операции дентальной имплантации.

На сегодняшний день, процесс образования костной ткани можно разделить на 2 вида остеогенеза: дистантный и контактный [38]. При дистантном остеогенезе, образование костной ткани происходит со стороны поверхностных слоев костного ложа по направлению к дентальному имплантату. Дистантный остеогенез чаще всего наблюдается при репаративных процессах в кортикальном слое костной ткани. Гибель костной субстанции кортикального слоя вокруг имплантата сопровождается миграцией остеокластов из подлежащего костномозгового компартмента, что приводит к инициации процессов ремоделирования, которые, однако, происходят довольно медленно. Контактный остеогенез характеризуется началом образования костной ткани в направлении от дентального имплантата в сторону поверхностных слоев костного ложа. Зона одномоментной репарации и резорбции костной структуры у дентального имплантата в процессе остеоинтеграции составляет 1 мм краевой зоны вновь образованной костной ткани.

Общепризнанной теорией образования костной ткани, при остеоинтеграции дентальных имплантатов, является теория ретракции кровяного сгустка – «Blood clot retraction theory» [38]. В результате изучения зарубежных литературных источников последних лет, нами сделано предположение, что

процессы остеоинтеграции дентальных имплантатов, а, следовательно, и репаративный остеогенез регулируются иммунной системой, распознающей наночастицы TiO_2 . На чем основано данное предположение, безусловно, требующее проведения специальных исследований?

Способность титана образовывать стабильные наночастицы в воде при комнатной температуре путем жидкофазной преципитации было показано в работе L. Chen и K. Rahme в 2012 г. Полученные частицы: их размер, кристаллическая структура, взаимоотношения с лигандами, - были идентифицированы с помощью комбинирования методов рентгеновской дифракции и трансмиссионного электронного микроскопа, ультра-фиолетовой спектроскопии и фотолюминисценции. Было показано, что начало синтеза наночастиц наступает через 1 час контакта с водой комнатной температуры, к 2 часам достигает своего пика и к 4 часам завершается. А в исследованиях A.M. Scherbart et al. (2011) установлено, что наночастицы TiO_2 при попадании в легкие крыс проникали в альвеолярные макрофаги путем актин-зависимого фагоцитоза, а также макропиноцитоза, вызывая усиление выработки ROS (reactive oxygen species), экспрессию mRNA TNF-а и др. [39]. При изучении влияния наночастиц TiO_2 на белки, используя сепарационную хроматографию, а также масс спектрометрию, группой ученых из США было доказано изменение mRNA 33 белков ($p < 0.05$), принимающих участие в иммунном ответе (воспалении) на мышинной модели [40].

Основной «триадой антигенных детерминант» для распознавания рецепторами клеток врожденного иммунитета, при проведении операции дентальной имплантации, на наш взгляд, являются: бактериальная составляющая (PAMPs), продукты тканевого повреждения (DAMPs), а также дентальный имплантат, покрытый окисной пленкой, высвобождающей наночастицы TiO_2 (NaMePAMPs) [41]. Наша гипотеза состоит в том, что оксиды металлов, в частности TiO_2 , попадающие в условия острого воспаления, образуют конъюгаты с белками плазмы, меняя их конформацию (фибронектин, витронектин) [42]. В условиях воспаления, белок с измененной конформацией в качестве NaMePAMPs-комплекса, может являться лигандом (наночастицы металла – конформационно измененный белок), участвующим в презентации TLRs-рецепторам, активируя тем самым NLRs. При взаимодействии с поверхностными и внутриклеточными TLRs таких стимуляторов, как PAMPs, DAMPs и

комплексов TiO_2 -белок, возникает активация сигнальных путей, приводящая к синтезу транскрипционных факторов, основным из которых является NF- κ B. Результатом является синтез провоспалительных и противовоспалительных цитокинов за счет активации соответствующих генов в ядрах клеток. По нашему мнению, в процессе остеоинтеграции титана «заложено» образование адаптивного иммунного ответа по типу Th17, что может быть связано с острым повреждением как эпителиальной, так и костной ткани. Учитывая координированность работы врожденного и адаптивного иммунного ответа (через систему межклеточных рецепторных взаимодействий иммунокомпетентных клеток) при снижении антигенной нагрузки может увеличиваться синтез IL-10. Вероятно, усиление синтеза данного цитокина может говорить о формировании местной иммуносупрессии. Переключение в синтезе субпопуляций T-лимфоцитов с Th17 на Treg, обеспечиваемой BMDCs, а также транскрипционными факторами, в свою очередь, приводит к регуляции в дифференцировке остеокластов и остеобластов. Очевидно, образование Treg лимфоцитов, синтезирующих TGF- β , может быть связано с привлечением и дальнейшей дифференцировкой по пути остеобластов мультипотентных мезенхимальных стромальных стволовых клеток (МСК). Как известно, МСК обладают иммуносупрессивной активностью и продуцируют TGF- β . Дальнейшие исследования клеточных и молекулярных параметров врожденного и адаптивного иммунитета в процессе остеоинтеграции дентальных имплантов может стать определяющим в изучении и обосновании значимости иммунной системы как основного регуляторного звена репаративного остеогенеза. Положительный исход операции дентальной имплантации, может быть обеспечен окончательным формированием адаптивного иммунного ответа в виде T-reg лимфоцитов [43]. Результатом развития толерантности может являться взаимодействие клеток иммунной системы с МСК, что ведет за собой активацию пролиферативной функции и обеспечение репарации поврежденных тканей, исходя из ее видоспецифичности и генетической клеточной памяти. Срыв толерантности иммунной системы, при проведении второго хирургического этапа дентальной имплантации, может быть связан с началом возникновения периимплантита, то есть формирование очага хронического воспаления, связанного с повторным индуцированием клеток иммунной системы агонистами TLRs, например, липополисахаридом бактериальной стенки

бактерий, персистирующих в полости рта.

При подтверждении нашей гипотезы открывается перспектива разработки и использования в качестве агонистов направленной тканевой регенерации рекомбинантных форм цитокинов. Цитокины, участвующие в остеointеграции дентальных имплантатов и инициирующие физиологическую репарацию костной ткани, в виде рекомбинантных форм в комплексе с МСК могут быть использованы для оптимизации клеточной терапии, в том числе при лечении периимплантитов [44].

Опираясь на иммунологические знания, полученные в мире за последние годы, мы считаем, что результат реконструктивных операций, направленных на восстановление костного объема челюстей, регулируется с помощью взаимодействий клеток иммунной системы [45]. По нашему мнению, дифференцировка моноцитов и стволовых клеток в дефекте костной ткани, а соответственно остеокластов и остеобластов, может быть управляема дендритными клетками. Приживление как синтетических материалов на основе гидроксиапатита, коллагена, СаР керамики, так и собственной аутологичной костной ткани, зависит от регулирующей функции иммунной системы, направленной на восстановление целостности организма, а рост числа Т-reg лимфоцитов, являющихся истинными иммуносупрессорами, может рассматриваться в качестве персонифицированного критерия успешности лечения при проведении операций по направленной тканевой регенерации.

Результаты дальнейших исследований в этом направлении покажут насколько адекватна сформулированная нами гипотеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 27-28.
2. Becker S.T., Dorfer C. et al. A pilot study: microbiological conditions of the oral cavity in minipigs for peri-implant models. *Lab. Anim.* 2011. 45 (3): 179-83.
3. Wang J., Jiang I. et al. Bacterial flora and extraradicular biofilm associated with the apical segment of teeth with post-treatment apical periodontitis. *J. Endod.* 2012. 38 (7): 954-959.
4. Tek M., Metin M. et al. The predominant bacteria isolated from radicular cysts. *Head Face Med.* 2013. 9 (1):25. (Epub. ahead of print).
5. Sculelean A. Periodontal regenerative therapy. Quintessence publishing. 2012: 13-15.
6. Miyamoto A., Takami M., Matsumoto A. et al. R848, a toll-like receptor 7 agonist, inhibits osteoclast differentiation but not survival or bone-resorbing function of mature osteoclasts. *Cytotechnology.* 2012. 64 (3): 331-339.
7. Schroder K., Tschopp J. The inflammasomes. *Cell.* 2010. 140: 821-832.

8. Lamkanfi M. Emerging inflammasome effector mechanisms. *Nature reviews. Immunology*. 2011. 11: 213-220.
9. Гариб Ф.Ю. Взаимодействие патогенов с врожденным иммунитетом. М.: Издательство Московского университета, 2013. 48 с.
10. Holzinger D., Gieldon L., Mysore V. et al. Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin induces an inflammatory response in human phagocytes via the NLRP3 inflammasome. *J. Leukoc. Biol.* 2012. 925: 1069-1081.
11. Wara-Aswapati N., Chayasadam A., Surarit R. et al. Induction of Toll-like Receptor Expression by Porphyromonas Gingivalis. *J. Periodontal.* 2012. 47: 62-73.
12. Davanian H. et al. Signaling pathways involved in the regulation of TNF- α –induced toll-like receptor 2 expression in human gingival fibroblasts. *Cytokine*. 2012. 57 (3): 406-416.
13. Russel J.A. Management of sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2011. 355: 1699-1713.
14. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997. 388: 394-397.
15. Фрейдлин И.С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (Ревизия классических догм). *Инфекция и иммунитет*. 2011. 1 (3): 199-206.
16. Ярилин А.А. Иммунология. М.: «ГЕОТАР-МЕДИА», 2010: 89.
17. Кетлинский С.А. Th-17-новая линия дифференцировки Т-хелперов: обзор данных. *Цитокины и воспаление*. 2009. 8 (2): 3-15.
18. Huang H. et al. IL-17 stimulates the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells: implications for bone remodeling. *Cell Death and Differentiation*. 2009. 16: 1332-1343.
19. McGarchy M.J. et al. TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T-cells and restrain T(H)-17 mediated pathology. *Nat. Immunol.* 2007. 8: 1390-1397.
20. Mucida D. et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science*. 2007. 317: 256-260.
21. Moutsopoulos N.M. et al. Porphyromonas gingivalis promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J. Autoimmun.* 2012. 39 (4): 294-303.
22. Canpolat S. et al. Effects of raloxifene and estradiol on bone turnover parameters in intact and ovariectomized rats. *J. Physiol Biochem.* 2010. 66: 23-28.
23. Ferretti M., et al. Influence of ferutinin on bone metabolism in ovariectomised rats. Role in recovering osteoporosis. *J. Anat.* 2010. 217: 48-56.
24. Kim T.H. et al. The effects of luteolin on osteoclast differentiation, function in vitro and ovariectomy – induced bone loss. *J. Nutr. Biochem.* 2011. 22: 8-15.
25. Hsu Y.H., Kiel D.P. Genome-wide association studies of skeletal phenotypes: what we have learned and where we are headed. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012. 97 (10): E1958-1977.
26. Nakashima M., Reddi A.H. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nature Biotechnology*. 2003. 21: 1025-1032.
27. Денисов-Никольский Ю.И. и др. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартралогии. М.: ОАО Типография «Новости», 2005. 270 с.
28. Malissen B., Ewbank J.J. Tailoring the response of dendritic cells to pathogens. *Nature Immunology*. 2005. 6 (8): 749-750.
29. Maurer T. et al. Inhibition of osteoclast Generation: A Novel Function of the Bone Morphogenetic protein 7 / Osteogenic Protein 1. Hindawi Publishing Corporation. *Mediators of Inflammation*. 2012. Article ID 171209, 9 pages. Doi:10.1155/2012/171209.
30. Reizis B. et al. Plasmacytoid Dendritic Cells: Recent Progress and Open Questions. *Annu. Rev. Immunology*. 2011. 29: 163-183.
31. Grouard G. et al. The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL-3) and CD40-ligand. *F. Exp. Med.* 1997. 185: 1101-1111.
32. Crozat K., Guiton R., Guillems M. et al. Comparative genomics as a tool to reveal functional equivalences between human and mouse dendritic cell subsets. *Immunol. Rev.* 2010. 234: 177-198.

33. Ochiai H. et al. Inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression by prolonged transforming growth factor-b1 (TGF-b1) administration suppresses osteoblast differentiation. J. Biol. Chem. Japan. 2012. 287 (27): 22654-22661.
34. Conforti-Andreoni C. et al. The inflammasomes in health and disease: from genetics to molecular mechanisms of autoinflammation and beyond. Cellular & Molecular Immunology. 2011. 8: 135-145.
35. Козлов И.Г. Коллаген как фактор функционального микроокружения клеток иммунной системы. Дисс. ... д.м.н. Москва, 2000. 226 с.
36. Попов Б.В. Введение в клеточную биологию стволовых клеток. Учебно-методическое пособие. СПб., 2010: 289-290.
37. Dorlands Medical Dictionary. Toronto. Canada, 1994.
38. Davies J.E., Understanding peri-implant endosseous healing. J. Dent. Educ. 2003. 67 (8): 932-949.
39. Scherbart A.M., Langer J. et al. Contrasting macrophage activation by fine and ultrafine titanium dioxide particles is associated with different uptake mechanisms. Part. Fibre. Toxicol. 2011. 8: 31.
40. Gao Y., Gopee N.V. et al. Proteomic analysis of early response lymph node proteins in mice treated with titanium dioxide nanoparticles. J. Proteomics. 2011. 74 (12): 2745-2759.
41. Лабис В.В., Базикян Э.А., Козлов И.Г. Роль PAMPs, DAMPs и RAMPs в механизме остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицинский Академический Журнал. 2012. Приложение: 391-392.
42. Лабис В.В. Новый взгляд на биоинертность дентальных имплантатов. Медицинская иммунология. 2011. 13 (4-5): 484-485.
43. Daniel V. et al. CD4+CD25+Foxp3+INFγ+CD178+ human induced Treg (iTreg) contribute to suppression of alloresponses by apoptosis of responder cells. Hum. Immunology. 2013. 74 (2): 151-162.
44. Базикян Э.А., Лабис В.В. Иммунологические аспекты механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2013. 2: 59-63.
45. Базикян Э.А., Лабис В.В. Прошлое и будущее в понимании механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2012. 2: 57-61.

Поступила 30.09.2013

(Контактная информация: Лабис Варвара Владимировна - к.м.н., докторант кафедры пропедевтической стоматологии Московского Государственного медико-стоматологического Университета имени А.И. Евдокимова; E-mail: varvara2001@mail.ru; Базикян Эрнест Арамович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова; E-mail: prof.bazikian@gmail.com; Козлов Иван Генрихович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова; E-mail: immunopharmacology@yandex.ru).