

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН



2015 * № 1

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

© Коллектив авторов, 2015

УДК 616.314-76/616-06

Лабис В.В.¹, Базикян Э.А.¹, Козлов И.Г.², Гусева О.А.³, Хайдуков С.В.^{3,4}

**ПРОТОЧНАЯ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИЯ В КАЧЕСТВЕ МЕТОДА
ДИАГНОСТИКИ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ «НЕЯСНОГО ГЕНЕЗА»
ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЕРАЦИЙ 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

³ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и
иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Россия

⁴ Технопарк Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва, Россия.

Аллергонепереносимость металлов является актуальной проблемой для пациентов, у которых в качестве метода эстетической и функциональной реабилитации был использован метод дентальной имплантации. В послеоперационном периоде данное состояние характеризуется целым рядом симптомов, как то: ксеростомия, жжение, ощущение металлического или кислого привкуса в полости рта, явления хейлита, кожные высыпания и др. Разработка и внедрение методов профилактики данных осложнений, а именно, своевременное предоперационное выявление пациентов с аллергонепереносимостью металлов, используемых в реконструктивной хирургической стоматологии, становится одной из важнейших задач. Проточная цитофлюориметрия может стать одним из методов диагностики для выявления значимости роли иммунной системы в развитии соматической патологии неясного генеза, что на сегодняшний день носит название «идиопатических состояний».

Ключевые слова: иммунная система, проточная цитофлюориметрия, аллергонепереносимость металлов, идиопатические состояния.

V.V. Labis¹, Э.П. Bazikyan¹, I.G. Kozlov², Guseva O.A.³, Khaidukov S.V.^{3,4}

**FLOW CYTOFLUORIMETRY AS A METHOD DIAGNOSTICS SOMATIC
PATHOLOGY "OF UNKNOWN ORIGIN" AFTER SURGERY DENTAL
IMPLANTATION**

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

² Russian National Research Medical University named N.I. Pirogov, Moscow, Russia

³ Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named
D. Rogachev, Moscow, Russia

⁴ Technopark of Institute of Bioorganic Chemistry named academicians M.M. Shemyakin &
Yu.A. Ovchinnikov, RAS, Moscow, Russia

Allergy to metals is an important problem for patients as a method of aesthetic and functional rehabilitation method was used dental implantation. This condition is characterized by postoperative symptoms such as dry mouth, burning sensation in the oral cavity, sensation of metallic or sour taste in the mouth, cheilitis conditions, skin rash and other symptoms. Flow cytometry can become a routine method of diagnosis and identify the importance of the role of the immune system in the development of somatic diseases of unknown origin, which today is

called the «idiopathic state». Development and implementation of methods for preventing these complications, namely, the timely identification of patients with preoperative allergy to metals which are used in reconstructive surgery may become one of our task.

Key words: immune system, flow cytometry, allergy on metals, idiopathic state.

*«Глубокие идеи похожи на те чистые воды,
прозрачность которых затемнена их же глубиной...»*

К. Гельвеций (1715-1771)

Введение

В научной литературе все чаще встречаются данные о результатах исследований, направленных на изучение воздействия наночастиц металлов, таких как TiO_2 и ZnO , на организм животных [9]. Идентифицированы и прослежены различные изменения со стороны клеток иммунной системы [8, 10, 17], а именно их рецепторного аппарата, на примере активации TLRs (Toll-подобных рецепторов) и других видов клеточных рецепторов [13, 15]. Помимо этого отмечено усиление синтеза белков [23], участвующих в воспалительном ответе, при введении наночастиц металлов, что, в последующем, ведет за собой изменения в периферических органах иммунной системы [21].

Целью настоящего исследования явилась оценка популяционного и субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови пациенток с патологическими проявлениями неясного генеза («идиопатические состояния») после проведения операций дентальной имплантации.

Материалы и методы

Под наблюдением находились три пациентки А, Б и В, две из которых (А и Б) обратились за медицинской помощью после проведения операции дентальной имплантации с «идиопатическими состояниями» и одна (В) с обострением экземы кожи рук.

Пациентка А, 65 лет. *Anamnesis vitae:* экзема кожи рук в течении 30 лет. *Anamnesis morbi:* У пациентки годом ранее проведена операция по поводу перелома верхней конечности и установлена титановая пластина. Через год установлен одиночный дентальный имплантат в области нижней челюсти слева, в проекции ранее удаленного 36 зуба. Через месяц после проведения операции дентальной имплантации впервые в полости рта появились жжение, металлический привкус во рту, сухость слизистой оболочки. На

коже лица и шеи остро появились высыпания в виде пятен с неровными контурами, пузыри размером 0,5-0,7 мм в диаметре, преимущественно в подбородочной области. Через 2 дня после появления высыпаний на коже лица и шеи врачом имплантологом, на основании описанной выше симптоматики и анамнеза, принято решение об удалении имплантата. Через неделю после удаления имплантата пациентка отметила значительное улучшение общего состояния. В дальнейшем у пациентки была взята кровь из вены для проведения расширенного иммунологического исследования с целью выявления причины данного состояния. На сегодняшний день пациентка отмечает значительное улучшение общего состояния, у нее отсутствуют высыпания на коже лица и шеи.

Пациентка Б, 47 лет. *Anamnesis vitae*: отсутствие аллергических реакций в анамнезе. *Anamnesis morbi*: пациентке 9 месяцев назад проведена операция дентальной имплантации, установлено 2 дентальных имплантата в области нижней челюсти, справа и слева, в проекции ранее удаленных 36 и 46 зубов. Через месяц после перенесенного ОРВИ пациентка впервые отметила появление в полости рта жжения и сухости слизистых оболочек, изменение вкуса и ощущение кислого привкуса во рту. При обследовании у специалистов общего профиля исключены: болезнь Шегрена, сахарный диабет и другая эндокринная патология. Пациентка была направлена к аллергологу-иммунологу. Назначен курс противоаллергических препаратов; после приема препаратов пациентка отмечает ухудшение общего состояния. Данные явления наблюдаются на момент обследования пациентки. Дентальные имплантаты до сих пор не удалены. У пациентки Б. произведен забор венозной крови для проведения расширенного иммунологического исследования с целью выяснения причины «идиопатического состояния».

Пациентка В, 42 года. *Anamnesis vitae*: наличие экземы в анамнезе на протяжении 25 лет. *Anamnesis morbi*: В стадию обострения экземы кожи рук у нее взята периферическая кровь из локтевой вены для проведения расширенного иммунологического исследования и проведения сравнительного анализа полученных данных с результатами пациенток А и Б.

Материалом для иммунологического исследования являлась периферическая кровь, полученная из локтевой вены на момент обращения пациенток. Определение абсолютного и относительного количества лимфоцитов в исследуемых образцах осуществляли с использованием

гематологического анализатора UniCel DxH 800 (Beckman Coulter, США). Идентификацию субпопуляций лимфоцитов проводили методом шестицветной проточной цитофлуориметрии. Для окрашивания клеток были использованы моноклональные АТ: CD3, CD4, CD5, CD8, CD16, CD19, CD23, CD25, CD27, CD38, CD45RA, CD45RO, CD56, CD127, CCR7 (CD197), HLA-DR (все Beckman Coulter, США), меченые различными флуорохромами: FITC, PE, ECD, PC5.5, PC7, APC. Окрашенные клетки анализировали на проточном цитофлуориметре Navios (США) как описано в работе [6]. Оценивали следующие субпопуляции лимфоцитов: общие Т-лимфоциты, Th, Tc, T_{reg}, Th-эффекторы, Th_{naev}, T_{active}, общие В-лимфоциты, В1, В2, В_{mem}, В_{пролиф}, НК-клетки, НКТ-клетки, НК-цитолитические, НК-цитокинпродуцирующие, НК_{пролиф}, НК_{reg}. Математическую обработку данных проводили при помощи программы Kaluza v. 1.2 (Beckman Coulter, США).

Результаты и обсуждение

При проведении расширенного иммунологического исследования трех пациенток получены результаты, представленные в таблицах 1 и 2, а также на гистограммах 1-4. Интерпретацию результатов проводили, исходя из клинической ситуации, анамнеза пациента и данных иммунологического исследования.

Пациентка А. У больной отмечается выраженный дисбаланс между Т-хелперами и Т-цитотоксическими лимфоцитами, что может наблюдаться либо при остром инфекционном процессе (но, отмечается нормальное количество НК-клеток), либо при аутоиммунном процессе (но отмечается нормальное количество В1-клеток), либо при реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), при формировании которой возможно повышение уровня Т-хелперов. Предварительный диагноз: гиперчувствительность замедленного типа в стадии разрешения.

Пациентка Б. У больной определяется повышенное содержание Т_{reg} клеток. Низкий индекс соотношения Тх/Тц на фоне клеточного дисбаланса. Такая картина характерна для любого типа воспаления, в данном случае – аллергического (системное неинфекционное воспаление), что подтверждает анализ гистограмм. Предварительный диагноз: IgE- опосредованная аллергическая реакция.

Пациентка В. У женщины с острой фазой экземы отмечается низкое содержание Т_{reg} клеток, содержание Т-лимфоцитов в периферической крови

практически соответствует физиологической норме, что может свидетельствовать о низкой реактивности Т-клеточного звена. Отмечается значительное увеличение количества активированных провоспалительных моноцитов, вероятно, связанное с интенсивностью воспалительного процесса. Количество НК-клеток увеличено, что может указывать на персистенцию вирусной инфекции, на фоне снижения иммунореактивности Т-клеточного звена. Диагноз: экзема в стадии обострения.

Таблица 1. Абсолютные значения количества позитивных клеток в популяциях и субпопуляциях лимфоцитов у обследованных пациенток

Популяции и субпопуляции лимфоцитов	Абсолютные значения количества позитивных клеток, кл/л ($\times 10^6$)			
	Норма	Пациент А	Пациент Б	Пациент В
B-cells (CD45+CD19+)	111-376	501	521	359
B-cells (CD19+CD5+)	22.0-115	55.2	94.9	51.1
CD19+CD5-	81.0-323	449	426	308
Vmem(CD27+CD5-fromCD19+)	150-1180	1450	87.9	519
B-cells(CD27-CD38+fromCD19+)	100-600	189	237	285
CD19+CD23	27.0-168	170	303	155
NK-cells total	123-369	528	470	524
NK-цитолитические	120-347	460	347	333
NK-цит. прод.	30.0-22.0	6.52	4.87	18.5
NK-cells(CD56+CD38+)	34.0-225	286	278	286
Index Th/Tcytotox				
T-reg from CD4+(CD25 hight CD127-)	14.0-103	33.3	153	11.4
T-cells(CD4+CD45RA-CD45R0+)	68.0-702	1270	1000	1570
T-cells (CD4+CD45RA+CD45R0-)	272-1120	1890	1840	1140
T-cells (CD4+CCR)	38.0-219	711	440	731

Цветовые обозначения изменений параметров:

Цветовые обозначения изменений параметров:

- 1** - снижение менее, чем на величину диапазона нормы;
- 1** - снижение на величину диапазона нормы и более;
- 1** - повышение не более, чем на величину диапазона нормы;
- 1** - повышение на величину диапазона нормы и более.

На примере трех пациенток, имевших различную клиническую картину заболевания (в том числе после проведения операции дентальной имплантации), проанализированы основные тенденции изменения субпопуляционного состава клеток иммунной системы.

У всех пациенток определялось снижение в крови относительного количества пролиферирующих В-лимфоцитов. Вероятно, это связано с их миграцией в зону ранее установленного дентального имплантата, поскольку обе пациентки перенесли операцию дентальной имплантации, или в зону обострения экземы. При этом у пациенток А и Б имеются признаки развившейся аллергической реакции, по сравнению с пациенткой В, страдающей экземой в период обострения. Содержание пролиферирующих В-лимфоцитов у больных А и Б было несколько ниже в сравнении с показателями пациентки В.

Таблица 2. Относительные показатели субпопуляций лимфоцитов периферической крови у обследованных пациенток.

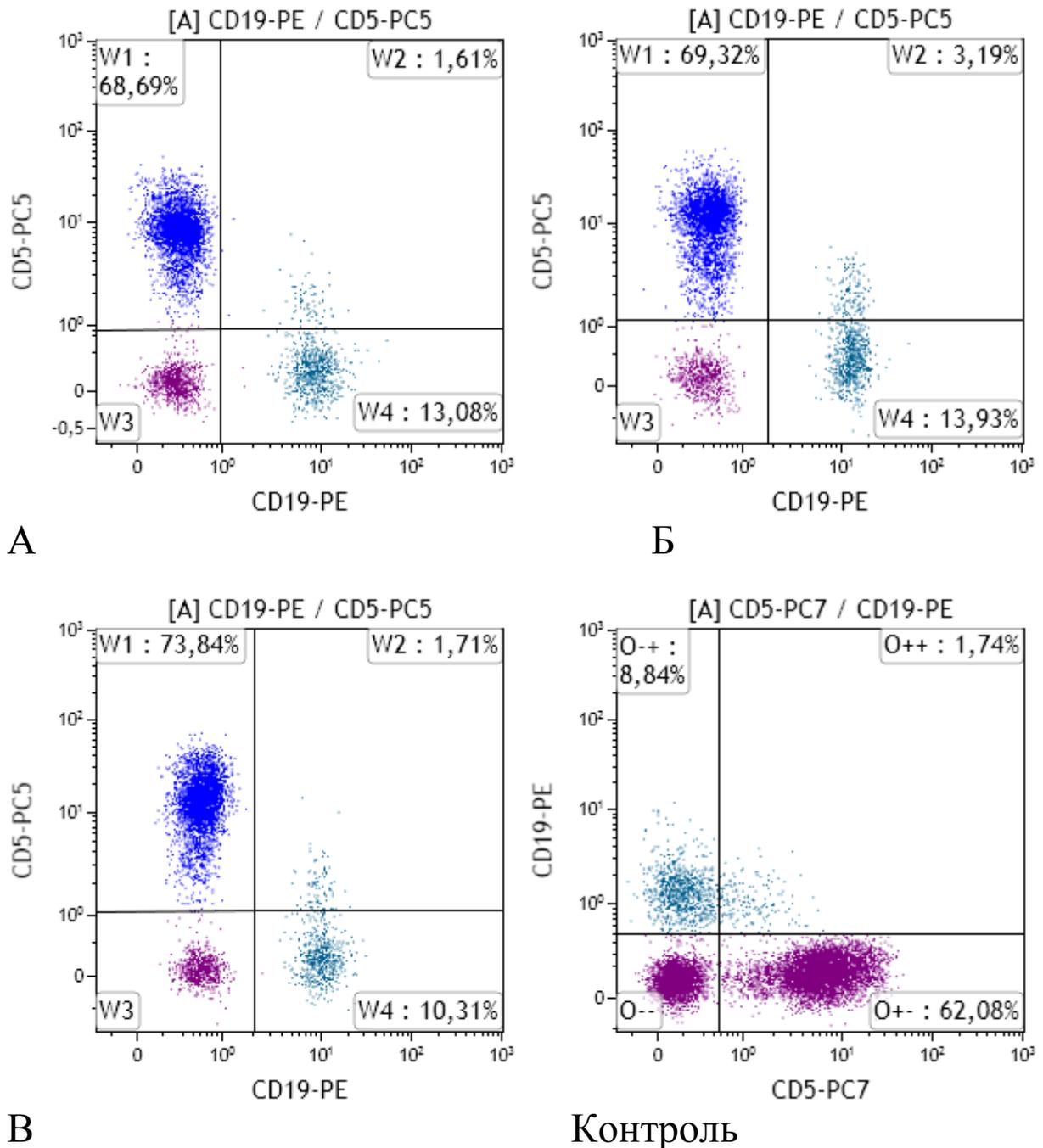
Популяции и субпопуляции лимфоцитов	Количество позитивных клеток (в %)			
	Норма	Пациент А	Пациент Б	Пациент В
B-cells (CD45+CD19+)	7.00-17.0	14.61	17.12	12.02
B-cells (CD19+CD5+)	0.500-2.10	1.61	3.19	1.71
CD19+CD5-	6.50-14.9	13.08	13.99	10.31
Bmem. (CD27+CD5-from CD19+)	11.0-42.0	42.40	2.89	17.39
B-cells (CD27-CD38+fromCD19+)	20.0-65.0	5.52	7.80	9.53
CD19+CD23	2.00-6.00	4.97	9.95	5.20
NK cells total	8.00-17.0	15.40	15.44	17.53
NK-цитолитические	7.80-17.0	13.42	11.40	11.15
NK цит.прод.	0.200-1.00	0.19	0.16	0.62
T-cells (CD45+CD3+)	61.0-85.0	68.25	71.68	76.30
T-helpers (CD4+CD3+)	35.0-55.0	48.45	34.23	47.32
T-cytotoxic (CD8+CD3+)	19.0-35.0	13.95	34.76	28.06
Index Th/Tcytotox	1.50-2.60	3.47	0.98	1.69
T-cells (CD4+CD45RA-CDRO+)	5.00-25.0	36.96	33.00	52.61
T-cells (CD4+CD45RA+CDR-)	20.0-40.0	55.22	60.47	38.10

Цветовые обозначения изменений параметров:

- 1 - снижение менее, чем на величину диапазона нормы;
- 1 - снижение на величину диапазона нормы и более;
- 1 - повышение не более, чем на величину диапазона нормы;
- 1 - повышение на величину диапазона нормы и более.

Общее количество В-клеток у пациенток А и В соответствовало физиологической норме. Обнаруженная тенденция к их повышению у пациентки Б, по нашему мнению, связана с В1-клетками, на поверхности

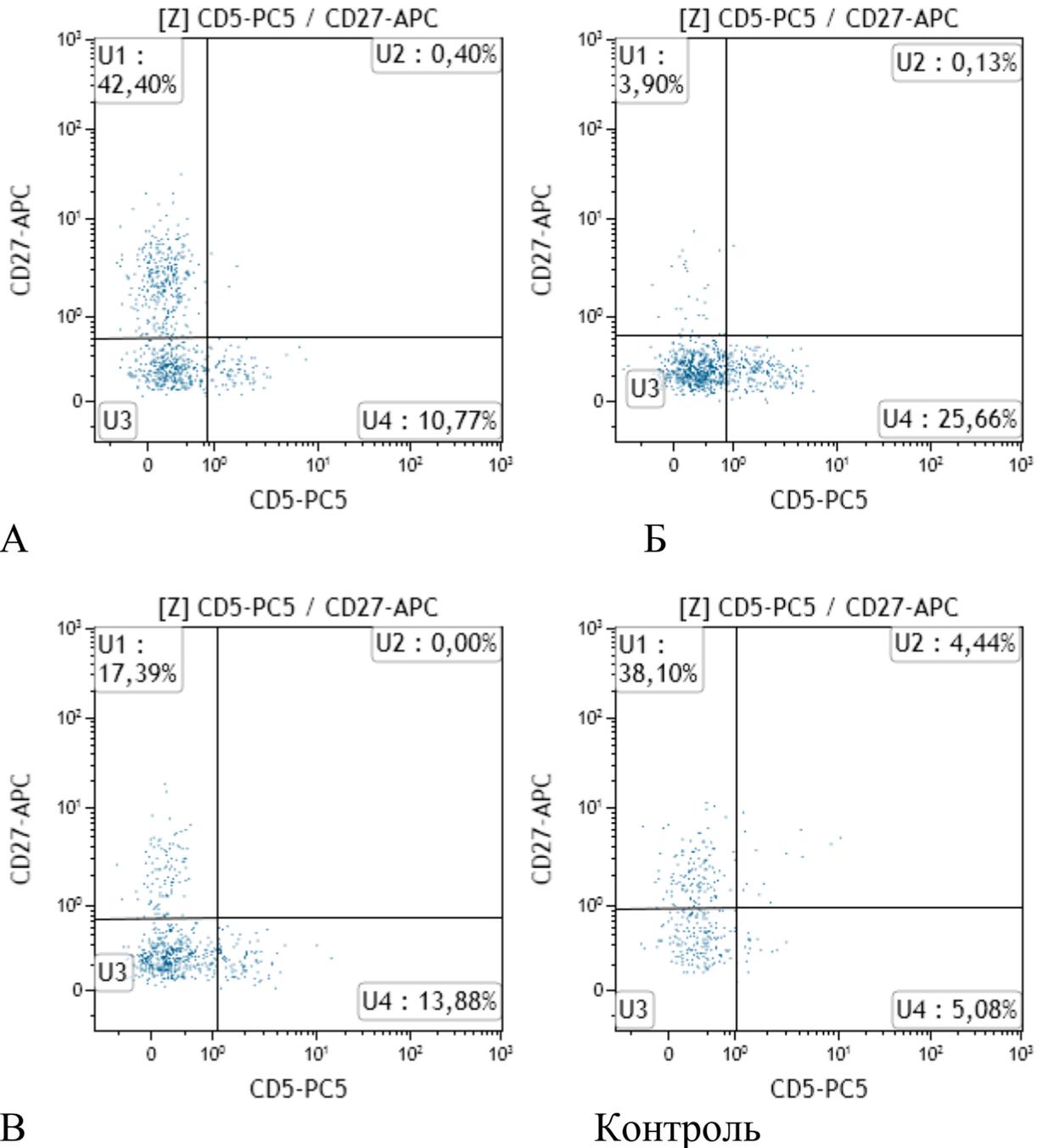
которых, как известно, присутствует молекула CD5 – маркер Т-лимфоцитов (табл. 1 и 2, гист. 1).



Гистограмма 1. Экспрессия CD5 на В-лимфоцитах у обследованных пациенток.

Повышение этих клеток в периферической крови наблюдается при различных патологических состояниях, в том числе и аллергиях различного генеза. Наличие аллергической реакции у пациентки Б подтверждено клинически. Вместе с тем у нее обнаружено выраженное снижение в

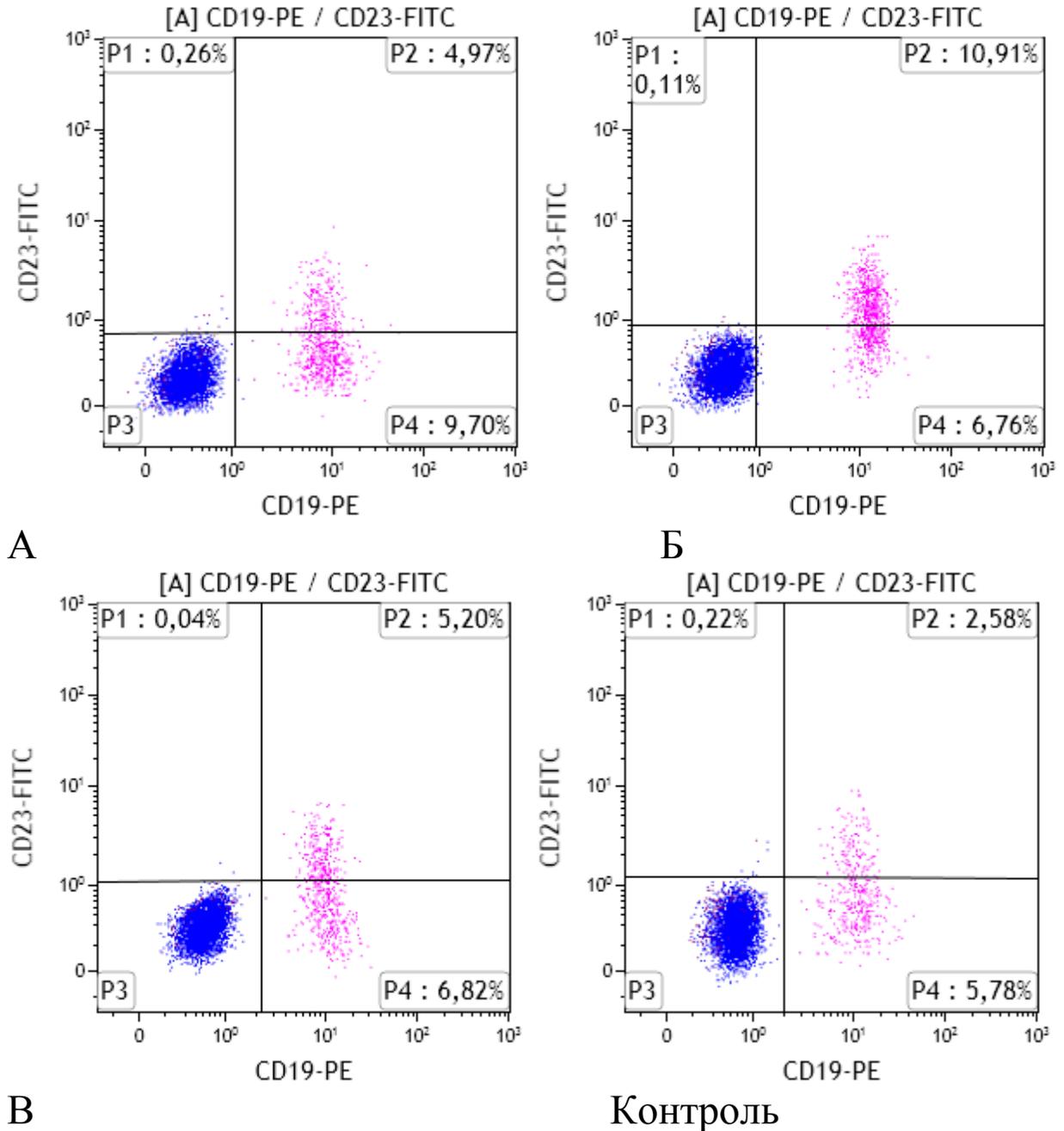
периферической крови В-клеток памяти, по сравнению с пациентками А и В, и одновременное увеличение количества В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD23 (гист. 2 и 3).



Гистограмма 2. В-клетки памяти у обследованных пациенток.

Поскольку CD23-позитивные В-клетки экспрессируют так же рецептор к IgE, можно предположить, что у данной пациентки развившаяся аллергическая реакция носит IgE-опосредованный характер. В то же время нельзя исключить, что это могло быть связано с нарушением антителообразующей функции В-лимфоцитов, то есть синтеза, прежде всего,

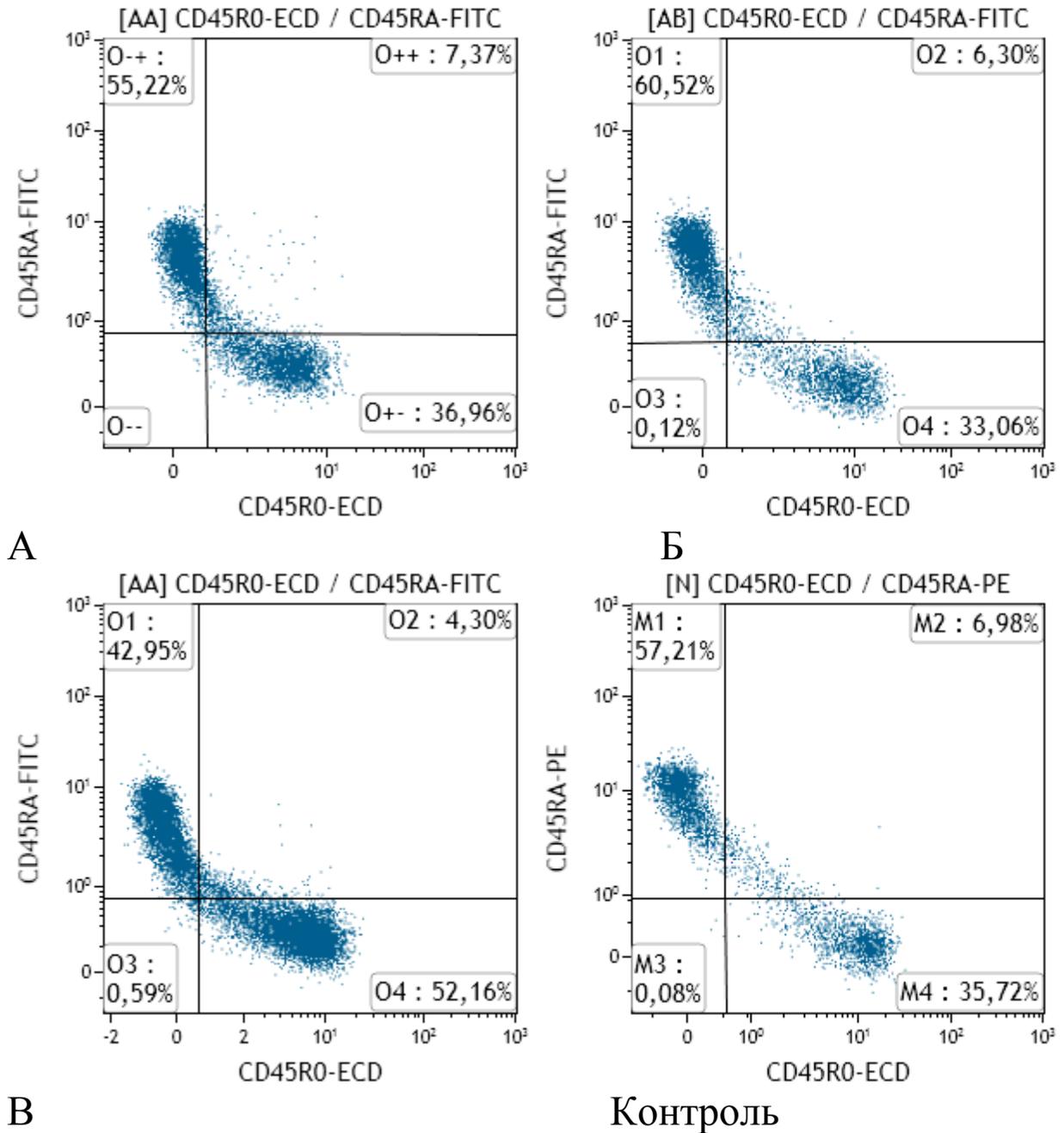
иммуноглобулинов класса G. В этом случае существует риск развития бактериальных инфекций, а следовательно, при проведении дентальной имплантации необходимо учитывать возможность возникновения у больной постоперационных осложнений инфекционного генеза.



Гистограмма 3. Экспрессия CD23 на В-лимфоцитах у обследованных пациенток.

Следующий показатель, на который следует обращать внимание стоматологу-имплантологу при планировании проведения операции дентальной имплантации – это соотношение CD45RA⁺ и CD45R0⁺ Т-клеток.

Первые представляют собой популяцию наивных Т-хелперов, вторые объединяют ряд минорных популяций Т-хелперов, включая эффекторные Т-хелперы памяти. В отличие от наивных Т-хелперов, Т-хелперы памяти способны к быстрому и интенсивному ответу на специфический антиген [7].



Гистограмма 4. Распределение CD45RA и CD45RO на Т-хелперах у обследованных пациенток.

Как правило, преобладание CD45R0-позитивных клеток имеет место при активном воспалительном процессе с выраженными клиническими проявлениями. Среди обследованных больных такая картина наблюдалась у пациентки В. У пациенток А и Б повышение CD45R0-позитивных клеток

имело умеренно выраженный характер. С другой стороны, повышенный уровень CD45RA-позитивных клеток отмечался у пациентки Б, а у пациентки А повышение CD45RA-позитивных клеток носило умеренный характер, тогда как у пациентки В количество этих клеток в периферической крови соответствовало физиологической норме (гист. 4).

Анализ всех представленных данных, позволил предположить, что если у пациента при планировании операции дентальной имплантации обнаруживается выраженное повышение уровня CD45R0-позитивных клеток, оперативное вмешательство может усугубить уже имеющийся воспалительный процесс. Причем, чем более выраженный разрыв между этими субпопуляциями Т-хелперов, тем более вероятны серьезные постоперационные осложнения воспалительного характера.

Высокий или повышенный уровень CD45RA-позитивных клеток увеличивает риск возникновения, постоперационных осложнений, связанных с проявлением аллергической реакции. Данный тезис, который, безусловно, требует дополнительной проверки, подтверждается тем, что у пациенток А и Б количество CD45RA-позитивных клеток в значительной степени превышало норму и их количество у пациентки В (табл. 1 и 2).

Заключение

Представление о «биоинертности металлов» все чаще стало подвергаться сомнению. В зарубежных публикациях появились сведения, указывающие на возможность проявления реакции гиперчувствительности замедленного типа на TiO₂. Такое явление при физиологическом течении репаративных процессов после дентальной имплантации авторы связывают с синтезом IL-10, способного подавлять провоспалительный иммунный ответ, ассоциированный с выработкой IL-1β, IL-6, ФНО-α [19].

Известно, что любая травма приводит к развитию реакций как врожденного, так и адаптивного иммунитета. При асептическом воспалении тканевое повреждение наблюдается вовлечение клеток врожденного иммунитета в развитие так называемого системного воспаления – SIRS (Systemic Inflammatory Responses Syndrome). При этом ведущую роль в развитии иммунного ответа играют DAMPs (danger-associated molecular patterns). С другой стороны, основными цитокинами, участвующими в медиаторном ответе на клеточное повреждение и некроз, являются HMGB1, IL-1α и IL-33 [11].

Еще в 1999 г. международной группой ученых показана роль альвеолярных макрофагов (AMs) в процессе опсонизации микрочастиц различных типов, в том числе TiO_2 , ассоциированная с скавенджер-рецептором MARCO (SRs) [16]. На мышинной модели установлено, что такие частицы, как TiO_2 , Fe_2O_3 , SiO_2 могут подвергаться непосредственному фагоцитозу при помощи распознающих рецепторов, экспрессированных на поверхности фагоцитов, или при участии опсопинов. В 2010 г. продемонстрировано, что непосредственное взаимодействие Ni с распознающим рецептором TLR4 приводит к развитию гиперчувствительности замедленного типа [15].

Группой ученых, под руководством Kenneth T. Thurn, с помощью проточной цитометрии, флюоресцентной микроскопии и масспектрометрии показано, что ряд параметров наночастиц TiO_2 и наноконъюгатов ассоциируется с клатрин- и кавеолин-зависимым эндоцитозом, а также макропиноцитозом [20]. Amir S. Yasidi с соавт. на мышинной модели в 2010 г., продемонстрировали, что NLRP3 является основным типом инфламмосом - внутрицитозольного белкового кластера, формирующегося при попадании наночастиц TiO_2 непосредственно внутрь макрофага при легочном воспалении [22].

Уже в 2011 г. в результате совместных исследований группы ученых, под руководством A.F. Malik [14], было обнаружено, что при попадании инородного материала в мягкие ткани происходит развитие иммунного ответа, направленного на организацию FBR (foreign body response – иммунный ответ на инородное тело), что в дальнейшем приводит к образованию соединительнотканной оболочки. При развитии острой воспалительной реакции происходит формирование NLRP3 и ASC (разные типы инфламмосом), а также активация каспазы-1 и других участников иммунного ответа. При этом авторы отмечают, что в развитии фиброзной капсулы приоритетную роль играют каспаза-1 и ASC, но не NLRP3. Аспирин, по их мнению, может быть препаратом выбора для снижения вероятности формирования соединительнотканной капсулы.

По-видимому, при внедрении дентального имплантата подобная реакция на инородное тело берет свое начало уже в момент оперативного вмешательства. Формирующаяся при этом иммунная реакция может быть направлена как на контроль физиологической репарации костной ткани, так и на образование соединительнотканного прикрепления, именуемого

фиброостеинтеграцией или фиброинтеграцией. В свою очередь, развитие иммунного ответа, ассоциированного с иммунопатологической реакцией на компоненты сплава металлов, используемого при дентальной имплантации, может стать в последующем симптоматикой «идиопатических состояний», связанных с индивидуальной непереносимостью того или иного металла.

Очевидно, особенности распознавания сплава металлов и реактогенность организма, реализуемые посредством клеток иммунной системы, индивидуальны и зависят от свойств наночастиц металлов. В частности, формирующиеся на поверхности дентальных имплантатов в окисном слое, наночастицы металлов могут отличаться размерами и конфигурацией в зависимости от выбранного типа обработки поверхности дентального имплантата. Возможно, с этим связаны различия в непосредственной способности к остеоинтеграции и ее качеству.

Исходя из вышеизложенного, становится очевидной необходимость персонафицированного подхода к планированию проведения дентальной имплантации для каждого обратившегося пациента. Выявленные с помощью метода многоцветной проточной цитометрии различия в клеточном звене иммунитета у пациентов с «идиопатическим состоянием» помогли понять суть симптоматических проявлений, выявить определенные закономерности и установить окончательный диагноз. Применение в стоматологической практике этого метода исследования позволит обеспечить оценку состояния здоровья пациента до проведения оперативного вмешательства и определиться с тактикой дальнейшего ведения больного.

На основе представленных данных можно сделать следующие предварительные выводы:

1. Определены иммунологические показатели, с помощью которых возможно выявление аллергических компонентов после дентальной имплантации, а именно: В1-лимфоциты, повышение количества которых наблюдается при различных патологиях, в том числе при аллергии; присутствие на В-клетках CD23, являющегося рецептором IgE и растворимая форма которого повышается в сыворотке крови.

2. Выявлены иммунологические показатели, посредством которых можно оценить вероятность возникновения инфекционных осложнений после проведении операции дентальной имплантации. Так, высокое содержание в периферической крови CD45R0-позитивных клеток зачастую

является показателем активного воспалительного процесса. Чем выше разрыв между CD45R0-позитивными и CD45RA-позитивными клетками, тем интенсивнее проявляет себя воспаление и тем вероятнее возникновение инфекционных осложнений после проведения оперативного вмешательства. При этом повышение CD45RA-позитивных клеток может служить критерием вероятности развития аллергической реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базилян Э.А., Лабис В.В. Прошлое и будущее в понимании механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2012. 2: 57-61.
2. Базилян Э.А., Лабис В.В. Иммунореактивность и остеоинтеграция дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2012. 3: 29-32.
3. Базилян Э.А., Лабис В.В. Иммунологические аспекты механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2013. 2: 59-63.
4. Лабис В.В. Новый взгляд на биоинертность дентальных имплантатов. Медицинская иммунология. 2011. Т. 13 (4-5): 485-486.
5. Лабис В.В., Базилян Э.А., Козлов И.Г., Гусева О.А., Хайдуков С.В. Проточная цитофлюориметрия как метод прогноза возникновения осложнений при дентальной имплантации. Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17). № 2(1): 93-96.
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тоголян Арег А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (проект). Медицинская иммунология. 2012. 14(3): 255-268.
7. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тоголян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа). Медицинская Иммунология. 2009. Т. 11 (2-3): 227-238.
8. Auttachoat W1, McLoughlin CE, White KL Jr, Smith MJ. Route-dependent systemic and local immune effects following exposure to solutions prepared from titanium dioxide nanoparticles. J Immunotoxicol. 2014. 11(3): 273-282.
9. Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R. et al., Nanostructured surfaces of dental implants. Int J Mol Sci. 2013. 14(1): 1918-1931.
10. Andersson-Willman B., Gerhmann U., Cansu Z. et al. Effects of subtoxic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. Toxicology and Applied Pharmacology. 2012. 264: 94-103.
11. Claude L., Lobagiu C., Genin C. Enumeration of peripheral lymphocyte subsets using 6 vs. 4 color staining: a clinical evaluation of new flowcytometry. Cytometry. Pt B (Clinic. Cytom.). 2005. V. 70B: 29-38.
12. Hirsiger S., Simmen H.P., Werner C.M. et al. Danger signals activating the immune response after trauma. Mediators Inflamm. 2012. doi: 10.1155/2012/315941.
13. Pajarinen J., Mackiewicz Z., Pollanen R. et al. Titanium particles modulate expression of Toll-like receptor proteins. Wiley Inter Science. 2009. Doi: 10.1002 / jmb.a.32495.
14. Malik A.F., Hoque R., Ouyang X. et al. Inflammasome components Asc and caspase-1 mediate biomaterial-induced inflammation and foreign body response. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011. 108(50): 20095-20100. doi: 10.1073/pnas.1105152108.
15. Schmidt M., Raghavan B., Muller V. et al. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nature America, Nature IMMUNOLOGY. 2010. 11: 814-820.
16. Palecanda A., Paulauskis J., Al-Mutairi E. et al. Role of the scavenger receptor MARCO in

- alveolar macrophage binding of unopsonized environmental particles. *J Exp Med.* 1999. 189(9): 1497-1506.
17. Peng Meng Kou, Schwartz Z., Boyanetal B.D. Dendritic cell responses to surface properties of clinical titanium surfaces // *Acta. Biomaterialian.* – 2011. – 7. – P. 1354-1363.
 18. Schmidt M., Raghavan B., Müller V. et al., Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. *Nat Immunol.* 2010. 11(9): 814-819.
 19. Thomas P., Iglhaut G., Wollenberg A. et al. Allergy or tolerance: reduced inflammatory cytokine response and concomitant IL-10 production of lymphocytes and monocytes in symptom-free titanium dental implant patients. *Biomed Res Int.* 2013: 539834.
 20. Thurn K.T., Arora H., Paunesku T. et al. Endocytosis of titanium dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells. *Nanomedicine.* 2011. 7(2): 123-30.
 21. Wang N., Li H., Lü W. et al. Effects of TiO₂ nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs. *Biomaterials.* 2011. 32(29): 6900-6911.
 22. Yazdi A.S., Guarda G., Riteau N. et al. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 α and IL-1 β . *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. 107(45): 19449-19454.
 23. Yuan Gao, Gopee N.V., Howardet P.C. al. Proteomic Analysis of Early Response Lymph Node Proteins in Mice Treated with Titanium Dioxide Nanoparticles. *J Proteomics.* 2011. 74(12): 2745-2759.

Поступила 27.01.2015

(Контактная информация: Лабис Варвара Владимировна - к.м.н., докторант кафедры пропедевтической стоматологии и материаловедения 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.bazikjan@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;

Гусева Ольга Андриановна - к.б.н., ст. научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Минздрава России; адрес: 117198, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1;

Хайдуков Сергей Валерьевич – д.б.н, заведующий лабораторией клеточной иммунологии ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Минздрава России; адрес: 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1; старший научный сотрудник Технопарка ФГБУ Институт биоорганической химии им. Акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; E-mail: khsergey54@mail.ru

LITERATURA

1. Bazikjan Je.A., Labis V.V. Proshloe i budushhee v ponimanii mehanizma osteointegracii dental'nyh implantatov. *Medicina katastrof.* 2012. 2: 57-61.
2. BazikjanJe.A., Labis V.V. Immunoreaktivnost' i osteointegracija dental'nyh implantatov. *Medicina katastrof.* 2012. 3: 29-32.
3. Bazikjan Je.A., Labis V.V. Immunologicheskie aspekty mehanizma osteointegracii dental'nyh implantatov. *Medicina katastrof.* 2013. 2: 59-63.
4. Labis V.V. Novyj vzgljad na bioinertnost' dental'nyh implantatov. *Medicinskaja immunologija.* 2011. T. 13 (4-5): 485-486.

5. Labis V.V., Bazikjan Je.A., Kozlov I.G., Guseva O.A., Hajdukov S.V. Protochnaja citofluorimetrija kak metod prognoza vozniknovenija oslozhnenij pri dental'noj implantacii. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2014. T. 8 (17). № 2(1): 93-96.
6. Hajdukov S.V., Bajdun L.V., Zurochka A.V., Totoljan Areg A. Standartizovannaja tehnologija «issledovanie subpopuljacionnogo sostava limfocitov perifericheskoj krovi s primeneniem protochnyh citofluorimetrov–analizatorov» (proekt). Medicinskaja immunologija. 2012. 14(3): 255-268.
7. Hajdukov S.V., Zurochka A.V., Totoljan Areg A., Chereshev V.A. Osnovnye i malye populjaczii limfocitov perifericheskoj krovi cheloveka i ih normativnye znachenija (metodom mnogocvetnogo citometriceskogo analiza). Medicinskaja Immunologija. 2009. T. 11 (2-3): 227-238.
8. Auttachoat W1, McLoughlin CE, White KL Jr, Smith MJ. Route-dependent systemic and local immune effects following exposure to solutions prepared from titanium dioxide nanoparticles. J Immunotoxicol. 2014. 11(3): 273-282.
9. Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R. et al., Nanostructured surfaces of dental implants. Int J Mol Sci. 2013. 14(1): 1918-1931.
10. Andersson-Willman B., Gerhmann U., Cansu Z. et al. Effects of subtoxic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. Toxicology and Applied Pharmacology. 2012. 264: 94-103.
11. Claude L., Lobagiu C., Genin C. Enumeration of peripheral lymphocyte subsets using 6 vs. 4 color staining: a clinical evaluation of new flowcytometr. Cytometry. Pt B (Clinic. Cytom.). 2005. V. 70B: 29-38.
12. Hirsiger S., Simmen H.P., Werner C.M. et al. Danger signals activating the immune response after trauma. Mediators Inflamm. 2012. doi: 10.1155/2012/315941.
13. Pajarinen J., Mackiewicz Z., Pollanen R. et al. Titanium particles modulate expression of Toll-like receptor proteins. Wiley Inter Science. 2009. Doi: 10.1002 / jmb.a.32495.
14. Malik A.F., Hoque R., Ouyang X. et al. Inflammasome components Asc and caspase-1 mediate biomaterial-induced inflammation and foreign body response. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011. 108(50): 20095-20100. doi: 10.1073/pnas.1105152108.
15. Schmidt M., Raghavan B., Muller V. et al. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nature America, Nature IMMUNOLOGY. 2010. 11: 814-820.
16. Palecanda A., Paulauskis J., Al-Mutairi E. et al. Role of the scavenger receptor MARCO in alveolar macrophage binding of unopsonized environmental particles. J Exp Med. 1999. 189(9): 1497-1506.
17. Peng Meng Kou, Schwartz Z., Boyanetal B.D. Dendritic cell responses to surface properties of clinical titanium surfaces // Acta. Biomaterialian. – 2011. – 7. – P. 1354-1363.
18. Schmidt M., Raghavan B., Müller V. et al., Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nat Immunol. 2010. 11(9): 814-819.
19. Thomas P., Iglhaut G., Wollenberg A. et al. Allergy or tolerance: reduced inflammatory cytokine response and concomitant IL-10 production of lymphocytes and monocytes in symptom-free titanium dental implant patients. Biomed Res Int. 2013: 539834.
20. Thurn K.T., Arora H., Paunesku T. et al. Endocytosis of titanium dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells. Nanomedicine. 2011. 7(2): 123-30.
21. Wang N., Li H., Lü W. et al. Effects of TiO₂ nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs. Biomaterials. 2011. 32(29): 6900-6911.
22. Yazdi A.S., Guarda G., Riteau N. et al. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 α and IL-1 β . Proc Natl Acad Sci U S A. 2010. 107(45): 19449-19454.
23. Yuan Gao, Gopee N.V., Howardet P.C. al. Proteomic Analysis of Early Response Lymph Node Proteins in Mice Treated with Titanium Dioxide Nanoparticles. J Proteomics. 2011. 74(12): 2745-2759.