

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

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Проходная В.А., Гайворонская Т.В.

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

Целью работы явилось изучить у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта различной степени тяжести цитокиновый профиль ротовой жидкости. Оценка цитокинового статуса ротовой жидкости осуществлялась путем определения уровня интерлейкинов 1 β , 4, 6, фактора некроза опухоли- α и интерферона- γ у 165 беременных женщин иммуноферментным методом. Ротовую жидкость у женщин забирали в последнюю неделю перед родами. Установлено, что у беременных женщин при хроническом пародонтите повышение степени заболевания было сопряжено с нарастанием уровня провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости и снижением противовоспалительной гуморальной защиты. Токсическое действие провоспалительных цитокинов на ткани пародонта связано с их неблагоприятным воздействием на тканевую репарацию, особенно — с подавлением нормального процесса ресинтеза соединительной ткани фибробластами, угнетением остеосинтеза, подавлением остеобластного потенциала.

Ключевые слова: беременность, цитокины, ротовая жидкость, пародонтит

CYTOKINE PROFILE OF ORAL FLUID IN PREGNANT WOMEN WITH INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASE

Prohodnaja V.A., Gayvoronskaya T.V.

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

The aim of the work was a study in pregnant women with inflammatory periodontal disease of varying degrees of severity of the cytokine profile of oral fluid. Oral fluid cytokine status assessment was carried out by determining the level of interleukin 1 β , 4, 6, tumor necrosis factor- α and interferon- γ in 165 pregnant women using immune enzymatic method. Oral fluid in women were taken in the last week prior to delivery. Found that pregnant women with chronic periodontitis disease increase with increasing levels of proinflammatory cytokines in oral fluid and lower anti-inflammatory humoral defense. Toxic effect of proinflammatory cytokines in periodontal tissue due to their adverse effects on tissue repair, especially with the suppression of the normal process of resynthesis of connective tissue fibroblasts, inhibition of osteosynthesis, suppression of osteoblast capacity.

Keywords: pregnancy, cytokines, oral liquid, periodontitis

Роль микрофлоры очевидна в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта. Однако характер, выраженность и направленность воспалительной реакции в значительной мере определяется способностью организма в целом противодействовать патогенной микрофлоре в ротовой полости с помощью активации клеточных и гуморальных местных и системных факторов неспецифической и специфической иммунной защиты [8].

Активированные микробным патогеном нейтрофилы в ротовой полости продуцируют ряд цитокинов, запуская и кооперируя между собой ряд иммунокомпетентных клеток [4]. От баланса между секрецией про- и противовоспалительных цитокинов зависит направленность местных реакций при воспалительных заболеваниях пародонта, организация клеточно-опосредованного иммунного ответа, эффективность противоинфекционной защиты [2].

Дерегуляция системы воспалительных медиаторов и иммуноглобулинов в тканях пародонта приводит к деструктивным изменениям, неблагоприятным воздействиям на тканевую репарацию [1,3,5]. Изменения цитокиновой системы регуляции через плацентарные пептиды и стероидные гормоны могут вызвать ряд иммунных реакций в плаценте и тканях плода, сказаться на течении беременности.

Воспалительные медиаторы занимают ведущее патогенетическое звено в развитии и течении заболеваний пародонта. Цитокины продуцируются специфическими и неспецифическими иммунокомпетентными клетками, регулируя процессы воспаления, тканевой репарации, остеорезорбции и остеосинтеза в тканях пародонта [7]. В связи с вышеизложенным, целью работы явилось изучить у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта различной степени тяжести цитокиновый профиль ротовой жидкости.

Материалы и методы исследования

Оценка цитокинового статуса ротовой жидкости осуществлялась путем определения уровня интерлейкинов (ИЛ) 1 β , 4, 6, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерферона- γ (ИФ- γ) у 165 беременных женщин иммуноферментным методом. Ротовую жидкость у женщин забирали в последнюю неделю перед родами. Для исследований содержания цитокинов использовали ротовую жидкость, собранную натошак, утром, без стимуляции, а также венозную кровь пациенток, взятую с 8 до 10 часов утра в пластиковые пробирки BD Vacutainer ("BD Bioscience").

В ротовой жидкости, плазме крови методом иммуноферментного анализа при помощи соответствующих тест-систем (Вектор-Бест, Россия) определяли содержание про- и противовоспалительных цитокинов.

В ходе ИФА использовались термощейкер ST3 (Латвия) и аппарат для промывания планшетов Elisa Washer Human (США), оценку полученных результатов проводили на фотометре Multilabel Counter 1420 Victor (Финляндия).

Результаты исследований и их обсуждение

В таблице 1 представлено содержание цитокинов в ротовой жидкости у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта и у здоровых доноров.

Таблица 1

Содержание цитокинов в ротовой жидкости у больных 2 группы и у здоровых доноров

Показатель	2 группа, n=165	Здоровые доноры, n=32	Здоровые беременные женщины, n=31
ИЛ-1 β , пг/мл	186,4 $\pm$ 3,8*	23,2 $\pm$ 2,74	25,6 $\pm$ 0,23
ИЛ-4, пг/мл	42,8 $\pm$ 1,3*	15,2 $\pm$ 1,5	26,5 $\pm$ 1,7*
ИЛ-6, пг/мл	18,7 $\pm$ 1,4*	0,89 $\pm$ 0,06	3,05 $\pm$ 0,08*
ФНО- α , пг/мл	82,3 $\pm$ 2,4*	33,4 $\pm$ 1,6	35,4 $\pm$ 1,1
ИФ- γ , пг/мл	18,9 $\pm$ 1,2*	23,8 $\pm$ 1,5	27,4 $\pm$ 2,3*

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

У беременных женщин с физиологически протекающей беременностью по сравнению со здоровыми донорами вне этого состояния содержание провоспалительных медиаторов ИЛ-1 β и ФНО- α в ротовой жидкости не отличалось ($p > 0,05$). При беременности имело место повышение концентрации в слюне провоспалительного медиатора ИЛ-6

в 3,4 раза ($p < 0,05$) и противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 на 74,3% ($p < 0,05$) и ИФ- γ на 15,1% ($p < 0,05$).

У беременных женщин с заболеваниями пародонта происходило резкое повышение содержания в слюне ИЛ-1 β : по сравнению со здоровыми донорами в 8,4 раза ($p < 0,001$), а по сравнению с беременными женщинами –

в 7,3 раза ($p < 0,001$). Высокий уровень ИЛ-1 β в слюне у беременных женщин с заболеваниями пародонта свидетельствовал о генерализации воспалительно-деструктивных реакций в тканях пародонта. Этот провоспалительный медиатор после прикрепления к специфическим рецепторам на поверхности местных тканей способствует продукции эндотелиальными клетками адгезивных молекул, которые привлекают в регион воспаления полиморфно-ядерные гранулоциты и моноциты. При соединении с рецепторами, локализованными на фибробластах, ИЛ-1 β вызывает индукцию синтеза коллагеназы, что задерживает образование коллагена и кости, угнетает остеосинтез [4]. Кроме того, ИЛ-1 β стимулирует костную резорбцию. По сведениям Барер Г. с соавт. [1] при прогрессировании хронического генерализованного пародонтита в слюне уровень ИЛ-1 β возрастает десятикратно.

У беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта по сравнению со здоровыми волонтерами концентрация ИЛ-6 в слюне была повышена в 21 раз ($p < 0,001$). ИЛ-6 отвечает за активацию дифференцировки В-лимфоцитов, их трансформацию в плазматические клетки с последующим синтезом иммуноглобулинов, фиксацией комплемента и секрецией хемотоксических веществ [6]. ФНО- α в слюне пациенток 2 группы по сравнению со здоровыми волонтерами возрастал в 2,5 раза, что имело неблагоприятное значение, поскольку ФНО- α активирует процессы остеорезорбции за счет стимуляции остеокластов. Длительное и выраженное повышение ФНО- α вносит дисбаланс между остеобразующей функцией остеобластов и остеоразрушающей функцией остеокластов в сторону гиперактивации последних [9].

Итак, повышенное содержание провоспалительных медиаторов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в ротовой жидкости у беременных женщин с гингивитом и хроническим пародонтитом активирует разрушающие пародонт воспалительно-деструктивные процессы.

У пациенток 2 группы в ротовой жидкости наблюдалось возрастание ИЛ-4 в 2,8 раз ($p < 0,001$). ИЛ-4 можно рассматривать как противовоспалительный медиатор, который стимулирует В-лимфоциты и угнетает Т-хелперы 1 клон [6]. Таким образом, у беременных пациенток с патологией пародонта активность местной гуморальной противовоспалительной защиты за счет возросшего уровня ИЛ-4 поддерживается высокой.

Возросшие уровни ИЛ-4 и ИЛ-6 обеспечивают активацию гуморального иммунитета, ограничивая значимость клеточно-обусловленных иммунных реакций [2]. ИЛ-4 является своеобразным маркером интенсивности протекания реакций гуморального иммунитета.

Содержание в слюне ИФ- γ , как еще одного противовоспалительного медиатора, у беременных женщин с воспалительными заболеваниями пародонта было сниженным на 20,6% ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми донорами. Данное обстоятельство свидетельствовало о низкой активности иммунной и противовирусной защиты в полости рта у беременных 2 группы, что способствовало затяжному характеру имеющихся клинических проявлений воспалительных заболеваний пародонта, вторичному иммунодефициту по Т-хелперному и Т-супрессорному типу, особенно при активном течении пародонтита [1].

Содержание цитокинов в ротовой жидкости у беременных женщин в зависимости от типа поражения пародонта отражено в таблице 2.

Таблица 2

Содержание цитокинов в ротовой жидкости у беременных женщин с гингивитом и пародонтитом и у здоровых доноров

Показатель	Гингивит	Хронический пародонтит легкой и средней степени тяжести	Здоровые доноры, n=32
ИЛ-1 β , пг/мл	155,9 $\pm$ 1,5*	244,5 $\pm$ 4,2* [°]	23,2 $\pm$ 2,74
ИЛ-4, пг/мл	37,6 $\pm$ 1,9*	54,4 $\pm$ 2,7* [°]	15,2 $\pm$ 1,5
ИЛ-6, пг/мл	12,4 $\pm$ 1,1*	25,7 $\pm$ 1,6* [°]	0,89 $\pm$ 0,06
ФНО- α , пг/мл	56,4 $\pm$ 3,8*	112,5 $\pm$ 4,2* [°]	33,4 $\pm$ 1,6
ИФ- γ , пг/мл	12,7 $\pm$ 5,3*	24,1 $\pm$ 4,9 [°]	23,8 $\pm$ 1,5

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

[°] - достоверные отличия при хроническом пародонтите по сравнению с беременными женщинами с гингивитом

У беременных с катаральным гингивитом по сравнению со здоровыми донорами наблюдалось возрастание содержания провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости, прежде всего ИЛ-6 (в 14 раз), ФНО- α (в 1,7 раз). При этом, содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в ротовой жидкости в 2,5 раз ($p < 0,05$), что можно считать как адаптивное явление, ограничивающее воспаление. Однако, другой противовоспалительный медиатор ИФ- γ снижался на 46,6% ($p < 0,05$), что

свидетельствовало о дисбалансе в противовоспалительной иммунной защите и ее несовершенстве.

У беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени было установлено, что уровень провоспалительных цитокинов был резко повышен как по сравнению со здоровыми донорами, так и беременными пациентками с катаральным гингивитом (рис. 1).

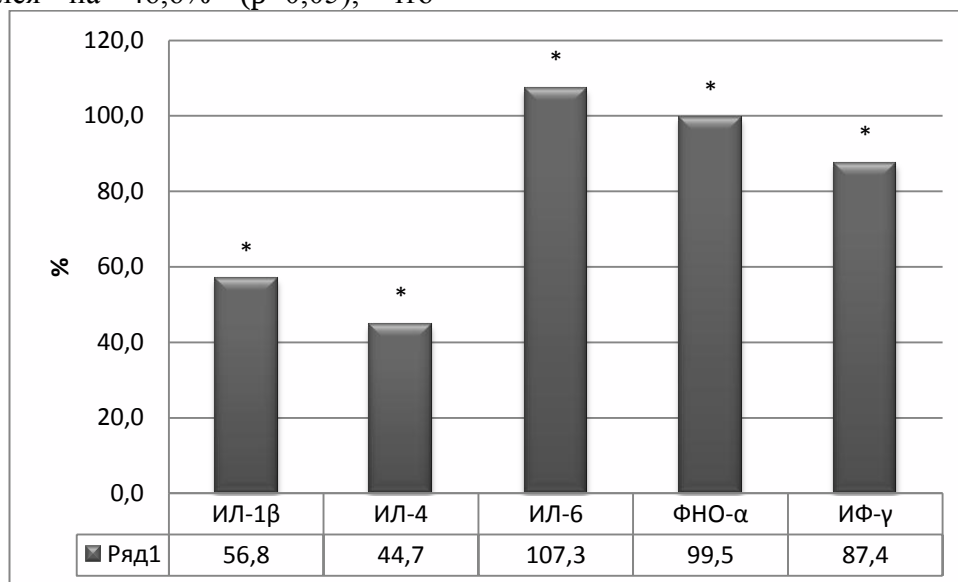


Рис. 1. Повышение содержания цитокинов у беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести по сравнению с пациентками с гингивитом, * - достоверные отличия между группами при $p < 0,05$.

Концентрация ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α у больных с хроническим пародонтитом легкой и средней степени в ротовой

жидкости превышала уровни аналогичных показателей у пациенток с катаральным гингивитом, соответственно, на 56,8%

($p<0,05$), в 2,1 ($p<0,001$) и 2 раза ($p<0,001$). При этом, уровень противовоспалительных цитокинов - ИЛ-4 и ИФ- γ - у беременных женщин с хроническим пародонтитом был также повышен на 44,7% и 87,4% ($p<0,05$)

по сравнению с беременными пациентками с гингивитом. Тяжесть пародонтита играла ключевую роль в изменении содержания цитокинов ротовой жидкости (табл. 3).

Таблица 3

Содержание цитокинов в ротовой жидкости у беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести и у здоровых доноров

Показатель	Хронический пародонтит легкой степени	Хронический пародонтит средней степени	Здоровые доноры, n=32
ИЛ-1 β , пг/мл	167,4 $\pm$ 3,2*	233,1 $\pm$ 3,1* ^о	23,2 $\pm$ 2,7
ИЛ-4, пг/мл	69,8 $\pm$ 2,3*	45,8 $\pm$ 2,9* ^о	15,2 $\pm$ 1,5
ИЛ-6, пг/мл	17,3 $\pm$ 1,4*	22,0 $\pm$ 1,9* ^о	0,89 $\pm$ 0,06
ФНО- α , пг/мл	64,5 $\pm$ 1,8*	100,3 $\pm$ 2,1* ^о	33,4 $\pm$ 1,6
ИФ- γ , пг/мл	34,8 $\pm$ 1,1*	22,9 $\pm$ 1,3 ^о	23,8 $\pm$ 1,5

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

^о - достоверные отличия по сравнению с беременными женщинами с хроническим пародонтитом легкой степени тяжести

У беременных женщин при хроническом пародонтите с повышением степени заболевания с легкой до средней провоспалительные цитокины ИЛ-1 β , ИЛ-6 и

ФНО- α в ротовой жидкости повышались, а противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИФ- γ снижались (рис. 2).

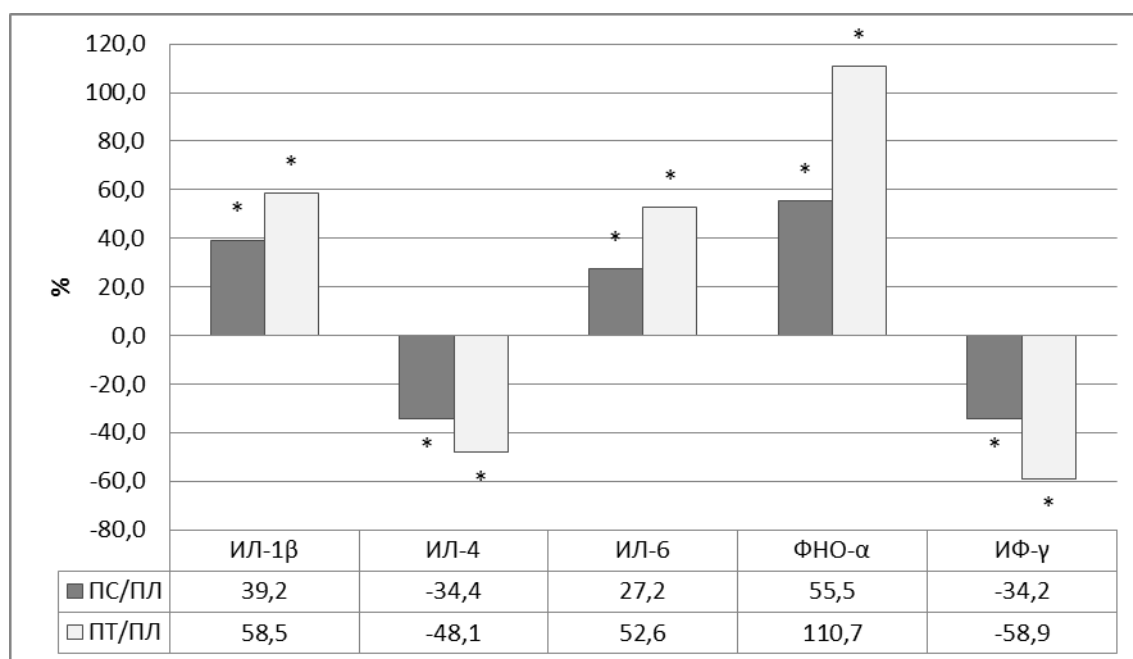


Рис. 2. Процентное изменение цитокинов в ротовой жидкости у беременных женщин с хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести. * - достоверные отличия при сравнении при $p<0,05$. ПЛ – хронический пародонтит легкой степени, ПС – хронический пародонтит средней степени тяжести.

У беременных женщин при хроническом пародонтите средней степени по сравнению

с пациентками с хроническим пародонтитом легкой степени тяжести содержание ИЛ-1 β ,

ИЛ-6 и ФНО- α в слюне достоверно повышалось, соответственно на 39,2%, 27,2% и 55,5% ($p < 0,05$), а противовоспалительные медиаторы ИЛ-4 и ИФ- γ снижались на 34,4% и 34,2% ($p < 0,05$).

Таким образом, у беременных женщин при хроническом пародонтите повышение степени заболевания было сопряжено с нарастанием уровня провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости и снижением противовоспалительной гуморальной защиты. Токсическое действие провоспалительных цитокинов на ткани пародонта связано с их неблагоприятным воздействием на тканевую репарацию, особенно — с подавлением нормального процесса ресинтеза соединительной ткани фибробластами, угнетением остеосинтеза, подавлением остеобразующего потенциала.

Заключение

Цитокиновый профиль ротовой жидкости характеризует местный гуморальный статус регуляции состояния тканей пародонта. Развитие хронического катарального гингивита и хронического пародонтита у беременных сопровождалось существенными изменениями иммунных механизмов защиты ротовой полости. В ротовой жидкости накапливаются цитокины как системного происхождения, так и секретируемые местно клеточными элементами тканей, привлекаемых в область воспаления.

Список литературы

1. Барер Г.М., Григорян С.С., Постнова Н.В. Роль интерферона и других цитокинов в

возникновении и развитии заболеваний пародонта. // Cathedra. – 2006. – №5. – С.54-60.

2. Булгакова А.И. Изменения показателей местного иммунитета десны и ротовой полости больных при лечении хронического пародонтита. // Пародонтология. – 2002. – №1. – С. 55-59.

3. Быков И.М., Басов А.А., Еремина Т.В., Хвостова Т.С., Быкова Н.И. Особенности продукции иммуноглобулинов и состояния антирадикальной защиты в ротовой жидкости и крови при ишемической болезни сердца с нарушенным углеводным обменом // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 2. – С. 41-44.

4. Кулаков А.А., Зорина О.А., Борискина О.А. Роль защитных факторов организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта. // Стоматология. – 2010. – №6. – С.72-77.

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

6. Berdeli A., Emingil G., Gurkan A. et al. Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases. // Clin Biochem. – 2006. – Vol.39. – P.357-362.

7. Donati M., Berglundh T., Hytonen A.M. et al. Association of the -159 CD14 gene polymorphism and lack of association of the -308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. // J Clin Periodontol. – 2005. – Vol.32. – P.474-479.

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

9. Ruwanpura S., Naguchi K., Ishikawa I. Prostaglandin E2 regulates Interleukin-1b-induced matrix metalloproteinase-3 production in human gingival fibroblasts. // J Dent Res. – 2004. – Vol.83: 3. – P.260-265.