

УДК 616.314.17/. 18-008.1 : 579.61 : 616-078 (045)

Л.Ю. Островская, А.П. Могила, А.И. Ханина, Г.Д. Бейбулатов, Л.С. Катханова, А.В. Резанов

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ОБСЛЕДОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ
С ПАТОЛОГИЕЙ ПАРОДОНТА**

Проведено изучение местного цитокинового профиля (интерлейкина-6, интерлейкина-10, интерлейкина-12, интерлейкина-18) больных с воспалительными заболеваниями пародонта. Установлено, что у больных пародонтитом развивается местный иммунный ответ, преимущественно по Th2-хелперному пути. Показано, что определение уровня цитокинов в десневой жидкости является информативным неинвазивным методом, позволяющим мониторировать активность воспалительного процесса в тканях пародонта.

Гингивит, пародонтит, цитокины

L.Yu. Ostrovskaya, A.P. Mogila, A.I. Chanina, G.D. Beybulatov, L.S.Kathanova, A.V. Rezanov

**USING MOLECULAR MARKERS FOR PATIENTS
DEVELOPING PERIODONTAL PATHOLOGY**

Analysis of the local cytokine profile (interleukin-6, interleukin-10, interleukin-12, interleukin-18) of the patients developing periodontal disease. It has been found that the patients

with periodontitis develop local immune response mainly through the Th2helper. It has been shown that determination of cytokines in gingival fluid is an informative non-invasive method to monitor intensiveness of the inflammatory process in periodontal tissues.

Gingivitis, periodontitis, cytokines

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) по распространенности, утрате основных функций зубочелюстной системы вследствие потери зубов представляет важную медико-социальную проблему современного общества [3, 8]. Современные представления о патогенезе хронического генерализованного пародонтита определяют его как результирующую взаимодействия микробного фактора и организма больного. При этом нарушение баланса между бактериальной инвазией и резистентностью ротовой полости рассматривается в качестве основного фактора, определяющего клинические проявления поражений тканей пародонта [7, 10].

Анализируя универсальные механизмы повреждения пародонта у пациентов, авторы рассматривают нейроэндокринный дисбаланс, нарушения микроциркуляции, изменения метаболизма соединительной ткани, важная роль придается нарушениям в системе защитных механизмов и, прежде всего, в иммунной системе [6]. Вместе с тем патогенез поражения тканей пародонта до конца не раскрыт.

Ранняя диагностика воспалительных заболеваний пародонта, несмотря на ставшие классическими алгоритмы обследования, остается трудно решаемой проблемой. Клиническая картина и хронического катарального гингивита, и хронического генерализованного пародонтита на ранних стадиях заболевания нередко имеет латентное течение, что затрудняет своевременную диагностику и, следовательно, отдаляет начало адекватных лечебных и реабилитационных мероприятий.

Цель исследования: определение диагностического и прогностического значения изменений цитокинового профиля десневой жидкости у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта на фоне традиционной терапии.

Материалы и методы исследования

В работе использованы материалы, полученные при обследовании 40 больных хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП). Группу сравнения составили 30 больных с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ), контрольную группу – 25 практически здоровых лиц. Средний возраст пациентов составил – $38,55 \pm 0,63$ лет.

Для обеспечения репрезентативности в число обследуемых пациентов не были включены пациенты, страдающие сахарным диабетом, заболеваниями щитовидной железы, злоупотребляющие алкоголем и курением. Также при отборе пациентов исключались лица с хронической патологией гепатобилиарной и мочевыделительной систем.

Оценка стоматологического статуса осуществлялась в соответствии с рекомендациями В.С. Иванова [4]. Формулировка диагноза ХГП проводилась на основании систематики заболеваний пародонта, принятой на XVI Пленуме Всесоюзного общества стоматологов (1983). Материалом для исследования уровня цитокинов служила десневая жидкость. Подлежащую исследованию область осторожно очищали от зубного налета, изолировали от слюны ватными валиками. Для забора десневой жидкости использовали полоски поролонa (10×4 мм), которые вводили в десневой карман (десневую борозду) и оставляли там до полного пропитывания. Предварительные исследования, выполненные с помощью аналитического взвешивания 30 образцов поролонa указанного объема, показали, что после ее полного пропитывания количество получаемой десневой жидкости составляет $5 \pm 0,05$ мг.

Сразу после получения полоски поролонa, пропитанной десневой жидкостью, ее переносили в пробирку «Эппендорф», содержащую 1000 мкл 0,155М раствора хлорида натрия; пробирку встряхивали с помощью микроцентрифуги Elmi (SkyLine, Латвия) в течение 10 мин и получали разведение десневой жидкости 1:200; полученную десневую жидкость замораживали при -20°C и хранили до проведения анализа. Размораживание производили в день анализа.

Определение содержания цитокинов (интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерлейкина-12 (ИЛ-12), интерлейкина-18 (ИЛ-18)) в десневой жидкости проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием автоматического вошера StatWash 2600 (StatFax, USA) орбитального типа с частотой оборотов 400-700 RPM. Результаты анализа учитывались спектрофотометрически с помощью микропланшетного фотометра StatFax 2100 (StatFax, USA) при длине волны 450 нм. Измерения проводили не позднее 10-15 мин после остановки реакции. Для определения уровня цитокинов использовали реактивы фирмы «Вектор Бест» (г. Новосибирск).

Всем больным проводили комплексное лечение заболеваний пародонта, включающее на первом этапе профессиональную гигиену полости рта. Назначали антибактериальную и противовоспалительную терапию.

тельную терапию. Пациентам с хроническим катаральным гингивитом и хроническим пародонтитом рекомендовали полоскание полости рта 0,05%-м раствором хлоргексидина биглюконата 2 раза в день после чистки зубов. Больным хроническим гингивитом проводили аппликации метронидазола («Метрогил-дента гель») по 30 минут, пациентам с хроническим пародонтитом метронидазол вводили в пародонтальный карман. Кратность антибактериальной обработки предполагала 3 посещения с интервалом 2 дня [2]. По показаниям производилось хирургическое устранение пародонтального кармана.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программ STATISTICA, определяли среднее значение и ошибку среднего, с использованием критериев достоверности Стьюдента и Манна-Уитни.

Результаты исследования

У обследованных лиц контрольной группы среднее значение индекса гигиены полости рта по УИГР составило $1,47 \pm 0,06$.

Показатели уровня цитокинов в десневой жидкости были следующими: ИЛ-6 – $12,60 \pm 1,51$ пг/мл, ИЛ-10 – $7,20 \pm 1,02$ пг/мл, ИЛ-12 – $18,52 \pm 1,43$ пг/мл и ИЛ-18 – $11,32 \pm 1,26$ пг/мл.

Больные с воспалительными заболеваниями пародонта предъявляли жалобы на кровоточивость во время чистки зубов, неприятный запах изо рта, зуд в области десен. При объективном осмотре больных обнаружены отеки, цианотичность десны. У всех больных выявлены зубные отложения. Показатели индексной оценки состояния пародонта приведены в табл. 1.

Таблица 1

Основные клинические показатели состояния пародонта у больных воспалительными заболеваниями пародонта

Показатель	Группа пациентов		
	Пациенты с ХГКГ, n=30	Пациенты с ХГП легкой степени, n=20	Пациенты с ХГП, сред. и тяж. степени, n=20
Индекс гигиены (УИГР)	$2,18 \pm 0,04$	$2,37 \pm 0,03^*$	$2,55 \pm 0,03^{* \#}$
Степень кровоточивости десны	$1,69 \pm 0,05$	$2,18 \pm 0,08^*$	$2,47 \pm 0,11^{* \#}$
РМА	$28,19 \pm 1,45$	$47,38 \pm 2,20^*$	$58,47 \pm 2,15^{* \#}$
ПИ	$1,38 \pm 0,07$	$2,89 \pm 0,08^*$	$5,16 \pm 0,12^{* \#}$
Глубина пародонтальных карманов	-	$2,85 \pm 0,15$	$5,28 \pm 0,26^{\#}$

Примечание: * – показатели имеют достоверные различия со значениями в группе пациентов с гингивитом ($p < 0,05$); # – показатели имеют достоверные различия со значениями в группе пациентов с пародонтитом легкой степени ($p < 0,05$).

На ортопантограмме отмечалась деструкция костной ткани межзубных перегородок различной величины в зависимости от степени тяжести пародонтита: исчезновение компактной пластинки, резорбция межальвеолярных перегородок от 1/3 до 2/3 их высоты, явление остеопороза (рис. 1).

При гингивите наблюдали в одинаковой мере повышение уровня в десневой жидкости как про- (ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18), так и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов (рис. 2). Таким образом, формируется местный интегрированный ответ со стороны иммунной системы, который характеризуется повышением содержания как про-, так и противовоспалительных цитокинов и направлен на быстрое купирование воспалительного процесса в пародонте.

В ходе наших исследований установлено, что при пародонтите наиболее значительно была увеличена концентрация ИЛ-6 (в 6-7,2 раз), ИЛ-18 (в 5,2-7 раз) и противовоспалительного медиатора ИЛ-10 (в 9,7-13,7 раз), тогда как содержание ИЛ-12 было не изменено при пародонтите легкой степени и понижено при пародонтите средней степени. Это можно объяснить преимущественно T_2 -хелперным ответом при ХГП, отмеченным и другими исследователями [1].

В результате происходит активация В-лимфоцитарного пула, сопровождающаяся избыточным синтезом иммуноглобулинов. Этот путь малоэффективен в реализации иммунной защиты, но позволяет ослабить деструктивные процессы в пародонте и перевести острое воспаление в хроническое [5].

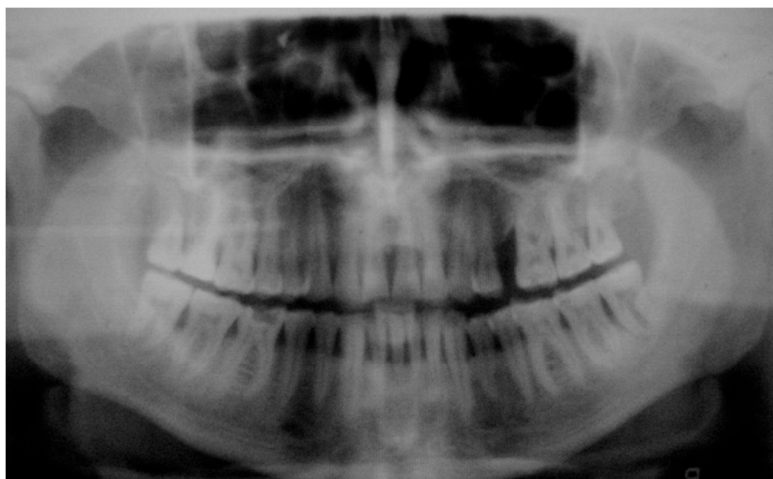


Рис. 1. Ортопантомограмма 6-го О., 45 лет. Диагноз: хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. Определяются резорбция костной ткани межзубных перегородок до 1/2 высоты корня, остеопороз альвеолярной части челюсти

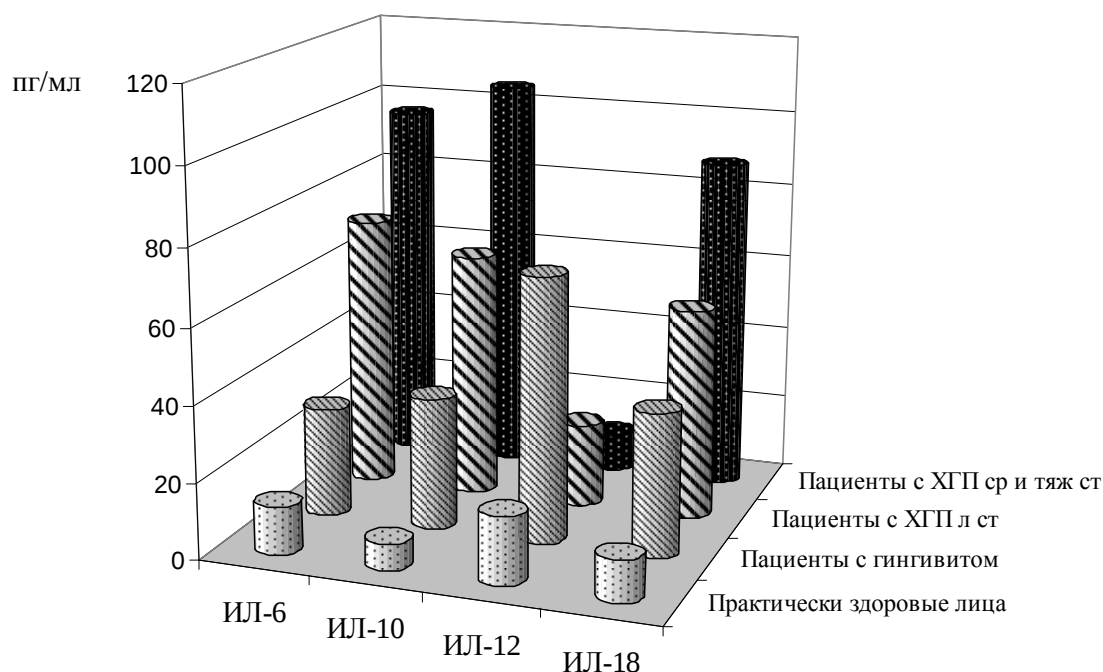


Рис. 2. Содержание интерлейкина-6,10,12,18 в десневой жидкости у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта

Для оценки клинической значимости уровня цитокинов в десневой жидкости в оценке тяжести поражения пародонта были проанализированы взаимосвязи между основными клиническими и индексными характеристиками пародонта, с одной стороны, и концентрацией цитокинов в десневой жидкости – с другой. При проведении корреляционного анализа выявлено, что увеличение содержания в десневой жидкости изучаемых цитокинов коррелировало с тяжестью пародонтита ($r_{\text{ИЛ-6}} = 0,645$; $r_{\text{ИЛ-10}} = 0,622$; $r_{\text{ИЛ-18}} = 0,574$). Выявлена прямая корреляция между повышением уровня провоспалительного ИЛ-6 и глубиной пародонтальных карманов ($r = 0,623$), индексом РМА ($r = 0,677$) и индексом ПИ ($r = 0,618$). Следовательно, содержание ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-18 в десневой жидкости можно рассматривать как параметры, объективизирующие оценку тяжести пародонтита.

Проведение стоматологических мероприятий привело к снижению микробной нагрузки на зубодесневое соединение и восстановлению структуры пародонта у обследованных пациентов. У пациентов с ХГП клиническая ремиссия достигалась в течение 8-14 дней, в среднем – через $10,59 \pm 0,33$. Нами выявлено значительное снижение концентрации всех анализируемых цитокинов, показатели соответствовали аналогичным значениям в группе контроля (табл. 2).

Увеличение содержания каждого из интерлейкинов в десневой жидкости связано не только с изменениями активности воспалительных процессов на уровне зубодесневого соединения, но и с подъемом образования ИЛ-18 в процессах остеокластогенеза, то есть с участием каждого в регуляции локальных процессов разрушения и синтеза костной ткани альвеолярного отростка в процессе лечения воспалительных заболеваний пародонта.

Таблица 2

Содержание цитокинов в десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями пародонта

Группа пациентов		ИЛ-6, пг/мл	ИЛ-10, пг/мл	ИЛ-12, пг/мл	ИЛ-18, пг/мл
Практически здоровые лица, n=25		12,60±1,51	7,20±1,02	18,52±1,43	11,32±1,26
Пациенты с гингивитом, n=30	до лечения	31,25±2,39*	38,57±2,27*	63,57±2,63*	32,50±2,31*
	после лечения	17,65±2,11	10,63±2,13	22,66±2,70	16,56±2,58
Пациенты с пародонтитом легкой ст., n=20	до лечения	73,33±3,43*	68,61±3,32*	25,28±2,79	59,40±3,38*
	после лечения	16,82±1,57	6,37±0,94	23,47±2,59	12,40±1,43
Пациенты с пародонтитом сред.и тяж. ст., n=20	до лечения	87,28±5,10*	96,43±4,90*	10,78±2,24*	80,36±5,20*
	после лечения	10,36±2,20	10,73±1,52	22,29±2,18	15,64±2,46

Примечание: *— показатели имеют достоверные различия по сравнению со значениями в группе практически здоровых лиц ($p < 0,05$).

Обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о клинически значимом изменении цитокинового баланса у больных ХГП, что проявляется увеличением уровня как провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-18), так и противовоспалительных медиаторов (ИЛ-10). Оценка соотношения содержания цитокинов в десневой жидкости больных четко показывает преобладание факторов с иммуносупрессорными свойствами на фоне недостаточности содержания ИЛ-12, что предопределяет глубокий дефект клеточно-опосредованного иммунитета.

Установлено, что приоритетным для пародонтита является Т2-хелперный ответ иммунитета. У пациентов с хроническим пародонтитом в десневой жидкости отмечен цитокиновый дисбаланс, характеризующийся преимущественным повышением содержания ИЛ-10, ИЛ-6 и уменьшением концентрации ИЛ-12 соответственно тяжести пародонтита. Следовательно, характер изменения цитокинового баланса десневой полости отражает степень местных нарушений.

Очевидно, что длительное сохранение повышенного содержания ИЛ-18 в десневой жидкости у пациентов с пародонтитом средней и тяжелой степеней способствует пролонгации воспалительно-деструктивных изменений в пародонте, резорбции костной ткани и прогрессированию процесса [9].

Таким образом, комплексный анализ содержания цитокинов в десневой жидкости пациентов с ХГП позволяет прогнозировать характер течения заболевания, оценить эффективность лечения и при необходимости наметить пути коррекции. Является актуальной диагностика донозологических состояний, непосредственно предшествующих манифестации заболеваний пародонта, при которых еще возможны обратимые изменения.

Выводы

1. Хронический генерализованный пародонтит у обследованных пациентов сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов (интерлейкина-6, интерлейкина-18) и противовоспалительных медиаторов (интерлейкина-10) в сочетании с уменьшением содержания интерлейкина-12 в десневой жидкости.

2. Применение пародонтологического лечения у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта способствует купированию клинических проявлений и восстановлению цитокинового баланса в десневой жидкости.

3. Определение уровня цитокинов в десневой жидкости является информативным неинвазивным методом, позволяющим мониторировать активность воспалительного процесса в тканях пародонта, деструкцию костной ткани, и, следовательно, прогнозировать развитие и течение хронического пародонтита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева О.В. Влияние комплексной терапии на показатели местного иммунитета больных пародонтитом / О.В. Беляева, Н.Н. Кеворков // Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1, № 4. С. 34-37.
2. Булкина Н.В. Новые возможности местной антибактериальной терапии воспалительных заболеваний пародонта на фоне патологии органов пищеварения / Н.В. Булкина, Л.Ю. Островская // Рус. мед. журнал. 2007. Т. 15. № 4. С. 230-233.
3. Вейсгейм Л.Д. Организация стоматологической помощи как социальная проблема / Л.Д. Вейсгейм, Е.В. Люмкис // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2006. № 1. С. 8-11.
4. Иванов В.С. Заболевания пародонта / В.С. Иванов. М.: Медицинское информационное агентство, 2001. 300 с.
5. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. М.: Мир, 2000. С. 169-175.
6. Цепов Л.М. Межсистемные связи при болезнях пародонта / Л.М. Цепов, А.И. Николаев // Пародонтология. 2003. № 2(27). С. 19-24.
7. Цепов Л.М. Диагностика и лечение заболеваний пародонта / Л.М. Цепов, А.И. Николаев. М.: «МЕДпресс-информ», 2004. 200 с.
8. Цепов Л.М. Факторы агрессии и факторы защиты в патологии пародонта воспалительного характера / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Е.А. Михеева // Пародонтология. 2004. №1 (30). С. 3-7.
9. Borrell L.N. Analytical epidemiology of periodontitis / L.N. Borrell, P.N. Papapanou // J. Clin. Periodontol. 2005. Vol. 32, Suppl. 6. P. 132-158.
10. Kinane D.F. Clinical relevance of the host responses of periodontitis / D.F. Kinane, P. Mark Bartold // Periodontol. 2000. 2007. Vol. 43. P. 278-293.

Островская Лариса Юрьевна –
доктор медицинских наук, доцент кафедры
«Стоматология терапевтическая» Саратовского
государственного медицинского университета
имени В.И. Разумовского Минздрава России

Larisa Yu. Ostrovskaya –
Dr.Sc., Associate Professor
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Могила Анастасия Петровна –
аспирант кафедры «Стоматология
терапевтическая» Саратовского
государственного медицинского университета
имени В.И. Разумовского Минздрава России

Anastasia P. Mogila –
Postgraduate
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Ханина Анастасия Игоревна –
соискатель кафедры «Стоматология
терапевтическая» Саратовского
государственного медицинского университета
имени В.И. Разумовского Минздрава России

Anastasia I. Khanina –
Postgraduate
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Бейбулатов Георгий Джамалутдинович –
аспирант кафедры «Стоматология
терапевтическая» Саратовского
государственного медицинского университета
имени В.И. Разумовского Минздрава России

Georgy D. Beibulatov –
Postgraduate
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Катханова Лилия Султановна –
соискатель кафедры «Стоматология
терапевтическая» Саратовского
государственного медицинского университета
имени В.И. Разумовского Минздрава России

Lilia S. Katkhanova –
Postgraduate
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Резанов Александр Джамалутдинович –
студент стоматологического факультета
Саратовского государственного медицинского
университета имени В.И. Разумовского
Минздрава России

Alexander D. Rezanov –
Undergraduate
Department of Dental Therapy
Saratov State Medical University

Статья поступила в редакцию 20.01.13, принята к опубликованию 20.05.13