

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Полушина Л.Г., Светлакова Е.Н., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В.,
Базарный В.В.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Патогенез пародонтита большинство авторов связывают с нарушением микробиоты ротовой полости и механизмов местного иммунитета. Можно полагать, что успехи в развитии концепции патогенеза, диагностики и лечения заболевания могут быть связаны с иммунологическими исследованиями ротовой жидкости. Цель – дать характеристику цитокинового статуса ротовой жидкости у больных хроническим пародонтитом.

Работа основана на исследовании 101 человека, которые на основании ретроспективного анализа были распределены на две группы: основная группа – 69 больных с пародонтитом средней и тяжелой степени, контрольная группа – 32 практически здоровых добровольца.

В контрольной группе уровни цитокинов соответствовали значениям нормы. У больных пародонтитом концентрация IL-2, IL-4 повышалась. Это дает основание предположить, что цитокиновый баланс при пародонтите характеризуется преобладанием Th2 продуцируемых факторов, то есть активация «противовоспалительных» иммуноопосредованных механизмов. Поскольку в патогенезе пародонтита наряду с иммунными сдвигами важны и нарушения микроциркуляторного русла, в ротовой жидкости определяли уровень VEGF. Его содержание в ротовой жидкости также имело тенденцию к повышению. Нами было установлено, что наиболее высокую диагностическую ценность имеет уровень IL-4 в ротовой жидкости при пародонтите: диагностическая чувствительность 88%, диагностическая специфичность 99%, AUC = 0,95.

Получены данные, соответствующие представлениям о том, что развитие хронического пародонтита сопровождается нарушением локальных иммунных механизмов. Это проявляется дисбалансом продукции цитокинов, прежде всего – активацией продукции IL-4. Можно полагать, что данный цитокин реализует свои патогенетические (иммуноопосредованная деструкция тканей) и протективные эффекты (стимуляция противомикробного иммунитета) при пародонтите. Их соотношение определяет, скорее всего, скорость прогрессирования и развития осложнений заболевания. Определение содержания IL-4 в РЖ может рассматриваться как потенциальный инструмент лабораторной диагностики заболеваний тканей пародонта в качестве маркера активности патологического процесса.

Ключевые слова: пародонтит, ротовая жидкость, цитокины, диагностическая эффективность

CLINICO-PATHOGENETIC VALUE OF SOME CYTOKINES IN PERIODONTITIS

Polushina L.G., Svetlakova E.N., Sementsova E.A., Mandra Yu.V.,
Bazarny V.V.

Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Most authors ascribe pathogenesis of parodontitis to alterations of oral microbiota and mechanisms of local immunity. One may therefore assume that of the concepts of pathogenesis, diagnosis and treatment of

Адрес для переписки:

Полушина Лариса Георгиевна
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.
Тел.: 8 (343) 214-85-56.
E-mail: polushina-larisa@bk.ru

Address for correspondence:

Polushina Larisa G.
Ural State Medical University
620028, Russian Federation, Ekaterinburg, Repina str., 3.
Phone: 7 (343) 214-85-56.
E-mail: polushina-larisa@bk.ru

Образец цитирования:

Л.Г. Полушина, Е.Н. Светлакова, Е.А. Семенцова,
Ю.В. Мандра, В.В. Базарный
«Клинико-патогенетическое значение некоторых
цитокинов при пародонтите» // Медицинская
иммунология, 2017. Т. 19, № 6. С. 803–806.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806
© Полушина Л.Г. и соавт., 2017

For citation:

L.G. Polushina, E.N. Svetlakova, E.A. Sementsova,
Yu.V. Mandra, V.V. Bazarny "Clinico-pathogenetic value
of some cytokines in periodontitis", *Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 6,
pp. 803–806.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-6-803-806

the disease may be successfully developed when implementing immunological studies of oral fluid. The aim of present study was to characterize cytokine status of the oral fluid in patients with chronic periodontitis. The study included 101 subjects who were divided into two groups, according to results of retrospective analysis, i.e., study group (69 patients) with moderate or severe periodontitis, and control group (32 virtually healthy volunteers).

In control group of patients, cytokine levels corresponded to normal values. In the patients with periodontitis, we have revealed increased IL-2, IL-4 levels. This finding suggests that the cytokine balance in periodontitis is characterized by predominance of Th2 produced factors, i.e., activation of “anti-inflammatory” immune-mediated mechanisms. We have also determined VEGF levels in oral fluid, since disturbances of microcirculation bed seem to be important in evolving periodontitis, along with immune shifts. The VEGF content in oral fluid also tended to increase in the patients. We have found that the IL-4 level in the oral fluid is of high diagnostic value in periodontitis, with diagnostic sensitivity of 88%, and diagnostic specificity of 99% (AUC = 0.95).

In our study, we have obtained data corresponding to general view on altered local immune mechanisms in developing chronic periodontitis. This shift manifests as imbalance in cytokine production, especially, by activated IL-4 production. One may assume that this cytokine exerts both pathogenetic effect (immuno-mediated destruction of tissues) and protective action (stimulation of antimicrobial immunity) in periodontitis. Prevalence and ratio of these effects seems to determine progression rates and development of complications in the disease. Determination of IL-4 content in oral fluid can be considered a potential quantitative tool for laboratory diagnosis of periodontal tissue diseases, being a marker of activity in this pathological process.

Keywords: periodontitis, oral fluid, cytokines, diagnostic efficacy

Болезни пародонта характеризуются широкой распространенностью, тяжестью течения, негативным влиянием на здоровье человека и качество его жизни. Несмотря на определенные достижения в разработке методов профилактики и лечения данного заболевания, в настоящее время еще существует проблема в поиске объективных способов диагностики пародонтита, оценки активности процесса и прогноза прогрессирования заболевания. В частности, традиционное инструментальное исследование состояния пародонта не дает возможности выявлять восприимчивых к данной патологии лиц или осуществлять диагностику на ранних этапах ее формирования [5, 14].

Учитывая, что патогенез пародонтита большинство авторов связывают с нарушением микробиоты ротовой полости и механизмов местного иммунитета, можно полагать, что успехи в развитии концепции патогенеза, диагностики и лечения заболевания могут быть связаны с иммунологическими исследованиями иммунологии полости рта и оценкой свойств ротовой жидкости (РЖ) [6, 9]. Это связано с тем, что по мере прогрессирования пародонтита происходит разрушение мягких тканей, деструкция костной ткани и высвобождение биологически активных веществ, которые могут быть определены в РЖ и затем рассматриваться как кандидаты на роль биомаркеров этого заболевания.

К настоящему времени накоплены данные о наличии в РЖ маркеров воспалительного процесса — кальпротектина, С-реактивного белка, макрофагального воспалительного белка (MIP-1a) и других [1, 2, 4, 14]. При воспалении тканей пародонта уровень факторов иммунной защиты в РЖ повышается, например, лактоферрина, секреторного иммуноглобулина А [2, 3]. Огромное число исследований посвящено изучению цитокинового статуса, играющего ключевую

роль в патогенезе пародонтита, но их результаты отличаются крайней противоречивостью [7, 8, 9, 12], что затрудняет применение полученных результатов в дальнейших изысканиях и их внедрение в клиническую практику. Это определило **цель данного исследования** — дать характеристику цитокинового статуса ротовой жидкости у больных хроническим пародонтитом.

Материалы и методы

Работа основана на исследовании 101 человека, которые на основании ретроспективного анализа были распределены на две группы. Основная группа — 69 больных с пародонтитом средней и тяжелой степени. Диагноз хронического пародонтита был установлен на основании стандартных критериев. Клиническое обследование, наряду со стандартным стоматологическим осмотром, включало дополнительные методы: подсчет индекса интенсивности кариеса зубов (КПУ), определение значения упрощенного индекса гигиены (ОHS) и папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА) [5]. Контрольная группа — 32 практически здоровых добровольца.

Нестимулированную ротовую жидкость (РЖ) получали не ранее чем через 3 часа после приема пищи и полоскания полости рта, собирали в пробирки SalivaCapsSet. Пробы замораживали и хранили при температуре -20 °С. Перед исследованием образцы размораживались, хорошо перемешивались и центрифугировались. Содержание интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-17 (IL-17) и васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) определяли методом твердофазного гетерогенного ИФА с использованием тест-систем «Вектор-Бест» и регистрацией на фотометре Multiscan.

Статистическая обработка результатов проводилась на основании принципов вариационной

статистики с использованием программы Gretl. Переменные с непараметрическим распределением сравнивались при помощи критерия Манна–Уитни, данные представлены как медиана ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Для оценки диагностической эффективности лабораторных тестов проводили ROC-анализ [9].

Результаты и обсуждение

Объективными показателями состояния полости рта являются стоматологические индексы КПУ, ОНС, РМА [5]. Все они были повышены у пациентов с пародонтитом, что доказывает адекватность отбора пациентов и отражает тяжесть патологического процесса (табл. 1).

В контрольной группе уровни цитокинов соответствовали значениям, которые многие авторы считают нормой [3, 7, 11]. У больных пародонтитом концентрация IL-2 повышалась на 31,1% ($p < 0,05$). У этих же пациентов наблюдалось значительно повышение уровня IL-4 в 26 раз ($p = 0,001$). Это дает основание предположить, что цитокиновый баланс при пародонтите характеризуется преобладанием Th2-продуцируемых факторов, то есть активацией «противовоспалительных» иммуноопосредованных механизмов.

Концентрация IL-17 у пациентов обеих групп существенно не различалась.

Поскольку в патогенезе пародонтита, наряду с иммунными сдвигами, важны и нарушения микроциркуляторного русла, в РЖ определяли уровень VEGF. Его содержание в РЖ имело тенденцию к повышению (в 2,6 раза, $p = 0,08$), что соответствует представлениям о нарушенной реактивности эндотелия при воспалительном процессе [14].

Для оценки диагностических критериев изучаемых показателей использован ROC анализ с определением площади под ROC кривой (AUC – Area Under Curve), которая характеризует диагностическую эффективность лабораторного теста. Он позволил определить, что наиболее высокую диагностическую эффективность имеет уровень IL-4 в РЖ при пародонтите: диагностическая чувствительность 88%, диагностическая специфичность 99%, AUC = 0,95 (табл. 2).

Заключение

В нашем исследовании получены данные, соответствующие представлениям о том, что развитие хронического пародонтита сопровождается нарушением локальных иммунных механизмов [1, 2, 4, 15]. Это проявляется дисбалансом продукции цитокинов, прежде всего – активацией продукции IL-4. Можно полагать, что данный цитокин реализует свои патогенетические (иммуноопосредованная деструкция тканей) и протективные (стимуляция противомикробного иммунитета) эффекты при пародонтите. Их соотношение определяет, скорее всего, скорость прогрессирования и развитие осложнений заболевания.

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЖ ПАЦИЕНТОВ С ПАРОДОНТИТОМ
TABLE 1. CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ORAL FLUID FROM THE PATIENTS WITH PERIODONTITIS

Показатель Index	Группа сравнения Comparison group	Больные пародонтитом Patients with periodontitis
КПУ, усл. ед CFE, conventional units Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	8,0 (9; 14,5)	15,5 (12; 19)*
ОНС Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	1 (0,6; 1)	2 (1,6; 2,4)
РМА Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	10 (2; 15)	48 (38; 69)*
IL-2, пг/мл IL-2, pg/ml Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	10,0 (8,5; 28,5)	14,5 (5,5; 16,5)*
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	2,3 (1; 8,5)	59,7 (19; 71)*
IL-17, пг/мл IL-17, pg/ml Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	2,7 (0; 3,7)	4,0 (0; 7,5)
VEGF, мг/мл Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)	380 (10; 2000)	1000 (230; 2000)

Примечание. * – $p \leq 0,05$.

Note. *, $p \leq 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

TABLE 2. CLINICAL AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CYTOKINES

Показатель Index	Диагностическая чувствительность, % Diagnostic sensitivity, %	Диагностическая специфичность, % Diagnostic specificity, %	AUC
IL-2	48,5	81,8	0,64
IL-4	88,2	99,0	0,95
IL-17	51,4	78,7	0,61
VEGF	63,2	63,6	0,57

Определение содержания IL-4 в РЖ может рассматриваться как потенциальный инструмент лабораторной диагностики заболеваний тканей пародонта в качестве маркера активности патологического процесса.

Список литературы / References

1. Базарный В.В., Ваневская Е.А., Полушина Л.Г., Мандра Ю.В., Цвиренко С.В. Характеристика секреторного иммунитета при герпетическом стоматите // Клиническая лабораторная диагностика, 2013. № 9. С. 72. [Bazarny V.V., Vanevskaya E.A., Polyshina L.G., Mandra Yu.V., Tsvirenko S.V. Characteristics of secretory immunity in herpetic stomatitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2013, no. 9, p. 72. (In Russ.)]
2. Базарный В.В., Журавлев В.П., Мандра Ю.В., Николаева А.А., Ваневская Е.А., Полушина Л.Г. Иммунологические особенности ротовой жидкости у пациентов с герпетической инфекцией // Уральский медицинский журнал, 2013. № 5 (110). С. 5-8. [Bazarny V.V., Zhuravlev V.P., Mandra Yu.V., Nikolaeva A.A., Vanevskaya E.A., Polyshina L.G. Immunological features of oral fluid of patients with herpes virus infection. *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*, 2013, no. 5 (110). pp. 5-8. (In Russ.)]
3. Базарный В.В., Журавлев В.П., Мандра Ю.В., Николаева А.А., Ваневская Е.А., Полушина Л.Г. Лактоферрин в ротовой жидкости пациентов с герпесвирусной инфекцией // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2014. № 1. С. 48-49. [Bazarny V.V., Zhuravlev V.P., Mandra Yu.V., Nikolaeva A.A., Vanevskaya E.A., Polyshina L.G. Lactoferrin in the oral fluid of patients with herpes virus infection. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2014, no. 1, pp. 48-49. (In Russ.)]
4. Базарный В.В., Полушина Л.Г., Ваневская Е.А. Иммунологический анализ ротовой жидкости как потенциальный диагностический инструмент // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 3. С. 769-771. [Bazarny V.V., Vanevskaya E.A., Polyshina L.G. Immunological assay oral fluid as potential diagnostic tool. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 3, pp. 769-771. (In Russ.)]
5. Дмитриева Л.А., Максимовский Ю.М. Терапевтическая стоматология: национальное руководство. М: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 125-128. [Dmitrieva L.A., Maksimovskiy Yu.M. Therapeutic dentistry: national leadership]. Moscow: GEOTAR-Media, 2009, pp. 125-128.
6. Лепилин А.В., Дубровская М.В. Иммунологические нарушения в формировании заболеваний пародонта у беременных // Саратовский научно-медицинский журнал, 2010. Т. 6, № 2. С. 392-396. [Lepilin A.V., Dubrovskaya M.V. Immunological disorders in formation of periodontal diseases at pregnant women. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Saratov Journal of Medical Scientific Research*, 2010, Vol. 6, no. 2, pp. 392-396. (In Russ.)]
7. AlMoharib H.S., Mubarak A.A., Rowis R.A., Geevarghese A., Preethanath R.S. Oral Fluid Based Biomarkers in Periodontal Disease: Part 1. Saliva. *J. Int. Oral Health*, 2014, no. 6 (4), pp. 95-103.
8. Ertugrul A.S., Sahin H., Dikilitas A., Alpaslan N., Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *J. Periodontal Res.*, 2013, no. 48 (1), pp. 44-51.
9. de Campos B.O., Fischer R.G., Gustafsson A., Figueredo C.M. Effectiveness of non-surgical treatment to reduce il-18 levels in the gingival crevicular fluid of patients with periodontal disease. *J. Braz. Dent.*, 2012, no. 23 (4), pp. 428-432.
10. Fawcett T. ROC graphs: Notes and practical considerations for researchers. Kluwer Academic Publishers, 2004, pp. 2-7.
11. Polepalle T., Moogala S., Boggarapu S., Pesala D.S., Palagi F.B. Acute phase proteins and their role in periodontitis: a review. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2015, no. 9 (11), ZE01-ZE05. doi: 10.7860/JCDR/2015/15692.6728
12. Maney P., Leigh J. Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: a literature review. *J. Indian Soc. Periodontol.*, 2015, no. 19 (2), pp. 131-141.
13. Suk J., Youngnim C. Point-of-care diagnosis of periodontitis using saliva: technically feasible but still a challenge. *J. List Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2015, Vol. 5.
14. Taylor J. Protein biomarkers of periodontitis in saliva. *ISRN Inflamm.*, 2014, p.18.
15. Yoshizawa J.M., Schafer C.A., Schafer J.J., Farrell J.J., Paster B.J., Wong D.T. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin. Microbiol.*, 2013, no. 26 (4), pp. 781-791.

Авторы:

Полушина Л.Г. — научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Светлакова Е.Н. — к.м.н., ассистент кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Семенцова Е.А. — к.м.н., ассистент кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Мандра Ю.В. — д.м.н., профессор, проректор по науке и инновациям, заведующая кафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Базарный В.В. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Поступила 06.04.2017

Отправлена на доработку 02.05.2017

Принята к печати 20.06.2017

Authors:

Polushina L.G., Research Associate, Central Research Laboratory, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Svetlakova E.N., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department for Dental Propedeutics and Physiotherapy, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Sementsova E.A., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department for Dental Propedeutics and Physiotherapy, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Mandra Yu.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Rector for Science and Innovation, Head, Department for Dental Propedeutics and Physiotherapy, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Bazarnyi V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Central research laboratory, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Received 06.04.2017

Revision received 02.05.2017

Accepted 20.06.2017