

ВЫЯВЛЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ, АНТИТЕЛ ПРОТИВ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА И ЦИТОКИНА IL-8 В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Цыбиков Н.Н., Пинелис Ю.И., Малежик М.С.,
Малежик Л.П.

ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», кафедра нормальной физиологии, патологической физиологии и хирургической стоматологии, г. Чита

Резюме. Проведенные исследования выявили в слюне больных с хроническим генерализованным пародонтитом существенное увеличение всех классов изучаемых IgG, M, A, sA и концентрации IL-8, а появление антител к БТШ свидетельствует о патогенетической роли белков-шаперонов в развитии заболеваний пародонта.

Ключевые слова: белки теплового шока (БТШ), иммунитет, иммуноглобулин, пародонтит.

Tsybikov N.N., Pinelis Y.I., Malezik M.S., Malezik L.P.

DETECTION OF IMMUNOGLOBULINS, ANTIBODIES TO HEAT-SHOCK PROTEINS AND IL-8 CYTOKINE IN SALIVA FROM THE PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTAL DISEASES

Abstract. Examination of the patients with chronic generalized periodontitis revealed a sufficient increase in all immunoglobulin classes, i.e., IgG, IgM, IgA, sIgA, as well as increased IL-8 concentration in their salivary samples. Emergence of antibodies to heat-shock proteins suggests a pathogenetic role of chaperon-like proteins in development of periodontal diseases. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 421-424)

Keywords: heat-shock proteins, immunity, immunoglobulin, periodontitis.

Воспалительные заболевания пародонта являются общемедицинской проблемой, решение которой остается одной из наиболее актуальной в современной стоматологии. Патогенез данной патологии определяется многими факторами, включая патогенную микрофлору, наличие зубных отложений, особенности питания, травму пародонта, недостаточную функциональную нагрузку зубочелюстной системы и др. [1, 2, 7, 13].

В настоящее время сформировалась концепция, согласно которой полость рта рассматривается как сбалансированная биологическая система,

а воспалительные заболевания являются результатом нарушения равновесия между бактериальным симбиозом и тканями полости рта [8, 11, 15].

Основное депо патогенной микрофлоры находится в зубной бляшке, примыкающей к эпителию. К ним вырабатывается местная или органная толерантность (МТ). Механизм ее возникновения неизвестен, хотя ведущую роль отводят патернраспознающим рецепторам (PRR) эпителиальных клеток [4, 10].

С этих позиций нам импонирует новый аспект этиопатогенеза болезней пародонта при участии PRR, изложенной в ряде обзорных работ К.А. Лебедева и соавторов [3, 4, 5, 6]. Согласно представленной концепции, воспаление в пародонте начинается со снятия толерантности к нормальной микрофлоре полости рта в результате воздействия на неё неблагоприятных факторов (длительное применение антибиотиков, механическое или химическое воздействия и т.д.). В этих усло-

Адрес для переписки:

Цыбиков Намжил Нанзатович
672007, г. Чита, ул. Горького, 39-а,
Читинская государственная медицинская академия,
кафедра хирургической стоматологии.
Тел.: (302) 235-42-22.
E-mail: pinelism1@mail.ru

виях резистентность микрофлоры к различным факторам защиты определяется белками теплового шока (БТШ). PRR воспринимают микробы с этими новыми белками, как чужие, т.е. толерантность к ним снимается [4]. Toll-рецепторы передают сигнал эпителиальной клетке, которая, являясь антигенпрезентирующей, выделяет хемокины и запускает иммунные реакции с активацией клеток врожденного и приобретенного иммунитета. В результате этого формируется очаг воспаления, который при своевременной терапии может быть ликвидирован, но чаще причина активации Т и В-лимфоцитов остается.

Одновременно выделяются ростовые факторы, вызывающие пролиферацию эпителия [18, 19] и образование остеокластов, разрушающих межальвеолярные перегородки [14, 17]. Воспалительный процесс переходит в хроническое состояние с явлениями деструкции.

Такое представление о патогенезе болезней пародонта нам кажется перспективным и мы провели собственные исследования в этом направлении.

В нашем исследовании были поставлены 3 задачи.

1. Оценить роль белков теплового шока в развитии хронических заболеваний пародонта.
2. Определить уровень IL-8 (хемокина) в слюне у больных хроническим пародонтитом.
3. Исследовать динамику Ig (A, M, G и sIgA) в слюне и плазме крови у больных с хроническим пародонтитом.

Материалы и методы

Исследования проведены у 50 больных с хроническим генерализованным пародонтитом в возрасте от 60 до 90 лет. Контрольную группу составили 15 здоровых людей без патологии в полости рта.

При оценке стоматологического статуса определяли уровень гигиены полости рта по упрощенному индексу Greene–Vermillion, состояние зубов по индексу КПУ, тканей пародонта – по индексу РМА по С. Parma [20].

В крови и слюне определяли концентрацию IgA, M, G, sIgA («Вектор-бест», Новосибирск), а также уровень антител к БТШ-70 иммуноферментным методом («Sigma», США). В слюне дополнительно исследовали содержание IL-8 ИФА («Вектор-бест», Новосибирск).

Результаты и обсуждение

Изучение стоматологического статуса выявило низкий уровень гигиены полости рта у 82% больных. У всех больных обнаружен хронический пародонтит, в 92% случаев – кариес и его осложнения (пульпит, периодонтит), потеря жевательной эффективности в среднем составила 79%. В 100% наблюдений выявлена кровоточивость десен, подвижность зубов 1-2 ст., наличие патологических зубодесневых карманов.

Полученные данные свидетельствовали о том, что в слюне здоровых людей без поражения тканей пародонта антител к БТШ нет. Между тем, в крови антитела к БТШ встречались в различной концентрации, возможно, из-за наличия скрытой органной патологии, в результате которой стрессированные клетки экспрессируют БТШ (табл. 1).

В связи с тем, что мы исследовали больных, длительно страдающих хроническим пародонтитом, источником БТШ могли быть не только микроорганизмы, но и клетки поврежденного пародонта.

БТШ, действуя на Toll-рецепторы эпителиальных клеток, вызывают выброс хемокинов, привлекающих в данный регион клетки естественного иммунитета (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, тучные клетки) [21].

Для доказательства роли хемокинов в развитии болезней пародонта, нами проведена серия исследований, связанная с определением концентрации IL-8 при хроническом процессе (табл. 2). Полученные данные показали, что у больных с хроническим пародонтитом концентрация IL-8 в слюне увеличивается в 9 раз ($225,68 \pm 15,3$ кг/мл) по сравнению со здоровыми ($20,74 \pm 2,8$ кг/мл).

После проведенного курса лечения хронического пародонтита и сопутствующей патологии (гипертензия, стойкая стенокардия на фоне ИБС) содержание IL-8 существенно уменьшилось ($116,78 \pm 18,7$ кг/мл), но все же не достигло референтных значений.

Известно, что лимфоциты в области воспаленного пародонта, секретируют цитокины, плазмоциты, которые активируют клетки адаптивного иммунитета, находящиеся в пародонте продуцируют различные АТ, но преимущественно ими является sIgA [9, 22].

Наши исследования показали, что в полости рта таких больных отмечено существенное увеличение всех классов изучаемых иммуноглобулинов, но особенно это отразилось на концентрации IgA (табл. 3).

Повышение уровня иммуноглобулинов в слюне является свидетельством высокой активности воспалительного процесса в полости рта. После проведенного курса терапии содержание sIgA и IgA в ротовой жидкости уменьшается, не достигая референтных значений. Концентрация IgM не меняется, а уровень IgG продолжает нарастать.

Многие авторы связывают высокую продукцию иммуноглобулинов в слюне с гиперактивностью В-лимфоцитов в воспаленных тканях десны [12], не исключая и их поступление из кровотока. Мы отметили их существенное нарастание в крови в период обострения. После проведенного стандартного лечения в уровень IgM и IgA не изменился, а концентрация IgG снизилась (табл. 4).

Среди являющихся иммуноглобулинов существуют разнообразные антитела (АТ) к антигенам (АГ) микроорганизмов тканям пародонта,

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ АНТИТЕЛ К БЕЛКАМ ТЕПЛООВОГО ШОКА В СЛЮНЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ ($M \pm m$)

Показатели	Слюна		Плазма крови	
	здоровые	больные	здоровые	больные
Количество антител к белкам теплового шока, пкг/мл	–	155,72±24	45±5,8	210,48±30

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ IL-8 В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые	Больные	
		до лечения	после лечения
IL-8, пкг/мл	20,74±2,8	225,7±15,3	116,8±18,7
p_1		< 0,001	< 0,001
p_2			< 0,001

Примечание. p_1 – достоверность различий в показателях больных и здоровых людей. p_2 – достоверность различий до и после лечения.

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ($M \pm m$)

Показатели	Статистические показатели	Здоровые	Больные	
			до лечения	после лечения
sIgA, мг/л		207,5±12,2	367±20,4	313,8±7,3
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2			< 0,001
IgM, мг/л		20±1,2	32±2,3	40±2,7
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2			< 0,001
IgA, мг/л		380±15,9	550±17,1	450±16,3
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2			< 0,001
IgG, мг/л		60±1,5	75±2,3	89±3,3
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2			< 0,001

Примечание. p_1 – достоверность различий в показателях больных и здоровых людей. p_2 – достоверность различий до и после лечения.

ТАБЛИЦА 4. СОДЕРЖАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ($M \pm m$)

Показатели	Статистические показатели	Здоровые	Больные	
			до лечения	после лечения
IgM, г/л		1,46±0,05	4,08±1	4,7±1,63
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2		> 0,05	> 0,05
IgA, г/л		2,34±0,09	5,7±0,54	5,4±0,47
	p_1		< 0,001	< 0,001
	p_2			> 0,05
IgG, г/л		13,1±0,3	14,5±0,4	11,5±0,2
	p_1		< 0,05	< 0,001
	p_2			< 0,001

Примечание. p_1 – достоверность различий в показателях больных и здоровых людей. p_2 – достоверность различий до и после лечения.

к БТШ и в этом усматривается защитная роль системы иммунитета. Появившиеся АТ к БТШ нейтрализуют их и ограничивают раздражение Toll-рецепторов иммунокомпетентных клеток. Это естественная защитная реакция, и она исследуется в экспериментальных моделях лечения пародонтита введением вакцины из БТШ или антисыворотки к ним [16].

Таким образом, проведенные исследования являются подтверждением патогенетической роли иммунного ответа и БТШ в развитии заболеваний пародонта и хронизации этого процесса. В настоящее время для лечения болезней пародонта применяют иммуномодуляторы, которые ограничивают гиперактивность иммунокомпетентных клеток, чрезмерную выработку Ig, провоспалительных цитокинов и образование иммунных комплексов. Между тем, возможно, в будущем станет реальным блокировать Toll-рецепторы, путем использования АТ к БТШ, что значительно повысит эффективность лечения воспалительных заболеваний тканей пародонта.

Список литературы

1. Безрукова И.В. Микробиологические и иммунологические аспекты этиопатогенеза быстро прогрессирующего пародонтита // Пародонтология. – 2000. – № 3. – С. 3-8.
2. Горбачева И.А. Общесоматические аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита // Стоматология. – 2001. – № 1. – С. 26-34.
3. Лебедев К.А., Максимовский Ю.М., Митронин А.В., Понякина И.Д. Новое понимание патогенеза болезней пародонта в свете работ о роли образраспознающих рецепторов // Стоматология для всех. – 2006. – № 2. – С. 24-29.
4. Лебедев К.А., Максимовский Ю.М., Митронин А.В., Понякина И.Д. Образраспознающие рецепторы и их регуляторная роль в иммунных реакциях организма и контроле микробного биоценоза в ротовой полости // Стоматология для всех. 2007, № 1, С. 46-49.
5. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Новый этап развития иммунологии // Природа. – 2006. – № 4. – С. 3-10.
6. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунофизиология эпителиальных клеток и образраспознающие рецепторы // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, № 2. – С. 114-126.
7. Иванюшко Т.П., Тер-Асагуров Г.П., Буданова Е.В., Хорошилова Н.В. Особенности микрофлоры полости рта и локальные факторы иммунитета у больных хроническим пародонтитом // и др. // Стоматология. – 2000. – № 3. – С. 26-27.
8. Цепов Л.М. К вопросу об этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта. // Пародонтология. – 2000. – № 2. – С. 9-13.
9. Цепов Л.М., Орехова Л.Ю., Николаев А.И., Михеева Е.А. Факторы местной резистентности и иммунологической реактивности полости рта. Способы их клиничко-лабораторной оценки. // Пародонтология. – 2005. – № 3 – С. 3-9.
10. Cohen N., Morisset J., Emilie D. Induction of tolerance by porphyromonas gingivalis on APC // J. Dent. Res. – 2004. – Vol. 83, № 5. – P. 429-433.
11. Flemmig F. Parodontologie. – Stuttgart-New-York, 1993. – 284 p.
12. Homayounfar A., Bergstrom J., Hammarstrom L. Activation of human B-lymphocytes by prevotella intermedia // Swed. Dent. J. – 1999. – Vol. 23 (1). – P. 11-5.
13. Kinane D.F. Etiology and pathogenesis of periodontal disease // Ann. R. Australas. Coll. Dent. Surg. – 2000. – Oct., N 15. – P. 42-50.
14. Khapli S.M., Mangashetti L.S., Yogesha S.D., Il-3 acts directly on osteoclast precursors and irreversibly inhibits receptor activator of NFB ligand – induced osteoclast differentiation by diverting the cells to macrophage lineage // J. Immund. – 2003. – Vol. 171, N 1. – P. 142-151.
15. Kinane D.F, Lappin D.F. Clinical, pathological and immunological aspects of periodontal disease // Acta Odontol. Scand. – 2001 – Jun N 59 (3) – P. 154-160.
16. Lee J.Y., Yi N.N., Kim U.S. Porphyromonas gingivalis heat shock protein vaccine reduces the alveolar bone loss induced by multiple periodontopathogenic bacteria // Periodontal. Res. – 2006. – Vol. 41, N 1. – P. 10-14.
17. Li H., Cuartas E., Cui W. Il-1 receptor – associated kinase m. is a central regulator of osteoclast differentiation and activation // JEM. – 2005. – Vol. 201, N 7. – P. 1169-1177.
18. Putnins E.E., Sanaie A., Wu Q., Firth J.D. Induction of keratinocyte growth factor1 expression by lipopolysaccharide is regulated by CD-14 and Toll-like receptors 2 and 4 infection and immunity // Infection and immunity – 2002. – Vol. 70, N 12. – P. 6541-6548.
19. Sanale A.R., Firth J.D., Vitto V.J. Keratinocyte growth factor (KYF) - 1 and 2 protein and gene expression in human gingival fibroblasts // J. Periodontal Res. – 2002. – Vol. 37, N 1. – P. 66-74.
20. WNO: Epidemiology, etiology and prevention of periodontal disease // Technical. Repot. Series. Geneva. – 1978. – N 62. – P. 60.
21. Yasuyuki A., Takayoshi J. and Tomohiko O. Oral Treponemes and their outer membrane extracts activate human gingival epithelial cells through toll-like receptor 2 // Infection and Immunity. – 2003. – Vol. 71, N 2. – P. 717-725.
22. Yen-Tung A. Role of acquired immunity and periodontal disease progression // Crit. Rev. Oral. Biol. Med. – 2003. – Vol. 14, N 4. – P. 237-252.

поступила в редакцию 22.04.2008

отправление на доработку 10.05.2008

принята к печати 23.03.2010