
РОЛЬ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ В РАЗВИТИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

**Д.К. Льянова, С.А. Авдольян, В.М. Слонова,
А.И. Галабуева, Л.А. Дзагурова, М.А. Баллаева**

Стоматологический факультет
ГОУ ВПО «Северо-Осетинский государственный университет»
ул. Ватутина, 46, Владикавказ, Республика Северная Осетия Алания, 362025

Ф.Ю. Даурова

Кафедра терапевтической стоматологии РУДН
Медицинский факультет
ул. Миклухо-Макляя, 8, Москва, Россия, 117198

Интенсивное развитие иммунологических методов исследования в последние годы позволило получить убедительные данные, свидетельствующие о роли недостаточности специфических и неспецифических факторов резистентности организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта на фоне сахарного диабета. Наиболее выраженные изменения возникают, как известно, в клеточном звене иммунной системы. В патофизиологии пародонтитов важную роль играет иммуновоспалительная активация, опосредованная провоспалительными цитотоксинами.

Ключевые слова: заболевания пародонта, сахарный диабет, иммуновоспалительная активация.

Как свидетельствуют исследования последнего десятилетия, в патофизиологии пародонтитов важную роль играет иммуновоспалительная активация, опосредованная провоспалительными цитотоксинами. Повышенные уровни циркулирующих провоспалительных цитотоксинов (ФНО-0, ИЛ-6), растворимых рецепторов ФНО-0 являются предикторами активации и хронизации патологического процесса.

Системную воспалительную активацию, проявляющуюся гиперпродукцией цитокинов, рассматривают как важный фактор дестабилизации течения воспаления в тканях пародонта. В связи с этим особый интерес представляет вопрос о соотношении воспалительной активации и тяжести патологии пародонта, а также в какой степени повышение продукции воспалительных медиаторов обусловлено дополнительными эффектами диабетического генеза.

Пародонтит часто протекает на фоне патологии различных органов и систем, что оказывает несомненное влияние на течение и прогноз воспалительно-деструктивных процессов в пародонте. У больных сахарным диабетом распространенность заболеваний пародонта достигает 95%. Интенсивное развитие иммунологических методов исследования в последние годы позволило получить убедительные данные, свидетельствующие о роли недостаточности специфических и неспецифических факторов резистентности организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта на фоне сахарного диабета.

Наиболее выраженные изменения возникают, как известно, в клеточном звене иммунной системы. Отсутствие адекватной оценки иммунного статуса не позволяет достаточно аргументированно выработать критерии для применения иммунокорректирующей терапии в комплексном лечении пародонтита. Наибольшую сложность представляет лечение больных пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести, когда глубина пародонтального кармана достигает 5—6 мм и более.

В прошлом при одновременном упоминании этих заболеваний подчеркивалось влияние диабета на возникновение и течение деструктивного процесса в пародонте. Однако современные наблюдения подтверждают факт, что и пародонтит способен существенно ухудшить прогноз заболевания диабетом. Различные эпидемиологические исследования констатируют, что диабет в 2—3 раза повышает риск возникновения пародонтита, а также в значительной степени влияет на интенсивность и степень деструкции пародонта.

Цель работы — исследование уровней про- и противовоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли, интерлейкина-1b, интерлейкина-6 и интерлейкина-4) у больных с пародонтитами в зависимости от наличия диабетического статуса.

Материал и методы. Обследование 69 больных с пародонтитами в возрасте 43—75 лет. У всех больных диагностирован пародонтит. Больные были разделены на 2 группы: в 1-ю группу вошли 38 пациентов с пародонтитом, во 2-ю — 31 больной с диабетом и пародонтитом. Контрольную группу составили 17 практически здоровых лиц. Уровень цитокинов (ФНО-, ИЛ-1b, ИЛ-6, ИЛ-4) в сыворотке крови исследовали с помощью иммуноферментных тест-систем фирмы «Pro Con» (Россия). Статистический анализ проводили с использованием программы статистической обработки данных Statistika (StatSoft Inc, США).

Результаты и их обсуждение. У больных с пародонтитами по сравнению с лицами контрольной группы наблюдали изменения активности ФНО- в сыворотке крови: достоверное повышение его уровней в 1-й группе ($P < 0,01$) и дальнейший существенный прирост этого показателя во 2-й группе ($P < 0,001$) (табл.). При этом концентрации ФНО- в сыворотке крови больных 2-й группы значимо превышали таковые не только в контрольной, но и в 1-й группе ($P < 0,05$).

Таблица

Величина показателя ($M \pm m$) в группах

| Показатель | Доноры | Пародонтит | Пародонтит + сахарн. диабет |
|--------------|--------------|--------------|-----------------------------|
| ФНО-L, пг/мл | 42,62 ± 5,46 | 68,61 ± 5,20 | 93,21 ± 7,21 |
| ИЛ-1В, пг/мл | 27,70 ± 4,28 | 38,27 ± 4,34 | 49,84 ± 4,34 |
| ИЛ-6, пг/мл | 39,92 ± 5,12 | 46,82 ± 3,88 | 42,37 ± 4,62 |
| ИЛ-4, пг/мл | 43,11 ± 6,24 | 60,21 ± 6,22 | 89,43 ± 6,54 |

Уровни ИЛ-1b у больных обеих групп были выше, чем в группе контроля ($P < 0,005—0,01$), у больных 1-й и 2-й групп эти показатели различались недостоверно.

Характер изменений активности ИЛ-6 в сыворотке крови существенно отличался от динамики ФНО- и ИЛ-1b. Наиболее высокий уровень ИЛ-6 выявлен в 1-й группе, но различия в его содержании у больных 1-й группы по сравнению с контрольной и со 2-й группой не были достоверными. У больных 2-й группы концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови практически не отличалась от таковой в контрольной.

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка функциональных характеристик нейтрофилов и макрофагов при моделировании пародонтита путем локального многократного введения ЛПС.

Нейтрофилы выделяли из периферической крови кроликов и здоровых доноров на 2-слойном градиенте фиккола-верографина. После этого клетки дважды отмывали фосфатным буфером, pH 7,4 (PBS). Для регистрации апоптоза клетки культивировали в среде RPMI-1640 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой («Sigma»), 1% L-глутамина, 1% пенициллина и стрептомицина (культурная среда) при 37 °C в атмосфере, содержащей 5% CO₂ (концентрация клеток 1 × 10⁶/мл) в течение 9 часов. Процент апоптозных и живых клеток определяли методом проточной цитометрии (с использованием флуоресцентного зонда Hoechst-33258). Реакцию адгезии ставили в 24-луночных плоскодонных планшетах (Nunc). В опытную лунку вносили 1 × 10⁶/мл нейтрофилов и растворы дексаметазона и рокалтрола различной концентрации в физрастворе. Во всех экспериментах использовали планшеты, покрытые фибриногеном (нейтрофилы прилипают к фибриногену CD11/CD18 рецепторами). Клетки культивировали в культуральной среде 60 минут при 37 °C в атмосфере, содержащей 5% CO₂. После окончания адгезии планшеты 3 раза тщательно ополаскивали теплым раствором Хенкса (37 °C) с кальцием и магнием. Адгезию нейтрофилов определяли по количеству прилипших нейтрофилов с использованием метода Лоури (метод количественного определения белка; калибровочную зависимость получали, используя в качестве источника белка выделенные нейтрофилы, предварительно лизированные детергентом — холатом натрия). Генерацию активных форм кислорода (АФК) нейтрофилами определяли хемилюминесцентным методом. Нейтрофилы (в концентрации 0,2 × 10⁶/мл) помещали в эппендорфы в среду Хенкса с ионами Ca²⁺, люминолом (3,5 × 10⁻⁴ М), 10 мкМ NaN₃ в термостатируемую ячейку люминометра 1250 LKB (Швеция). В качестве активатора генерации активных форм кислорода нейтрофилами использовали Fmlp.

Степень увеличения активности противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в группах больных была аналогична нарастанию уровней ФНО-: концентрация ИЛ-4 в сыворотке крови достоверно повышалась у больных 1-й группы (P < 0,05, по отношению к контролю); у больных 2-й группы активность ИЛ-4 была достоверно выше по сравнению с таковой и в контрольной (P < 0,001), и во 2—1 группах (P < 0,01).

При корреляционном анализе у больных 1-й группы установлена положительная корреляция между уровнями провоспалительного ИЛ-1b и противовоспалительным ИЛ-4 (r = 0,53, P < 0,01). У больных 2-й группы выявленные взаимосвязи существенно отличались. Во-первых, выявлена положительная корреля-

ционная связь между концентрацией ФНО- и уровнем ИЛ-1b ($r = 0,51$, $P < 0,05$). Во-вторых, уровни обоих этих цитокинов положительно коррелировали с уровнем ИЛ-4: соответственно $r = 0,61$ ($P < 0,05$) и $r = 0,69$ ($P < 0,01$). Эти данные могут свидетельствовать о существенной не только количественной, но и качественной перестройке сети цитокинов при развитии воспалительного процесса в тканях пародонта.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Орехова Л.Ю., Оганян Э.С., Левин М.Я. Комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта при диабете // *Стоматология нового тысячелетия: Сб. тезисов.* — М.: Авиаиздат, 2002. — С. 183—184.
- [2] *Современные вопросы клинической пародонтологии* / Под ред. Л.А. Дмитриевой. — М.: МЕДпресс, 2001. — 128 с.
- [3] Тарасенко Л.М., Воскресенский О.М. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе повреждений пародонта при стрессе // *Патол. физиология и эксперим. терапия.* — 1986. — № 6. — С. 12—14.
- [4] Calkins C.C., Platt K., Potempa J., Travis J.I. (1998). Inactivation of tumor necrosis factor- α by proteinases (gingipains) from the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. Implications of immune evasion // *J. Biol. Chem.* — 273. — P. 6611—6614.
- [5] Canete J.D., Martinez S.E., Farres J., Sanmarti R., Blay M., Gomez A. et al. (2000). Differential Th1/Th2 cytokine patterns in chronic arthritis: interferon gamma is highly expressed in synovium of rheumatoid arthritis compared with seronegative spondyloarthropathies // *Ann. Rheum. Dis.* — 59. — P. 263—268.

IMMUNINFLAMMATORY ACTIVATION IN DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY DISEASES PERIODONTIUM AT PATIENTS WITH A DIABETES

D.K. Lianova, V.M. Slonova, A.I. Galabueva,
M.F. Ballaeva, L.A. Dzagyrova

Department of Stomatology
North-Osetian state university
Vatutina str., 46, Vladikavkaz, Republic North-Osetia-Alania, 362025

F.Yu. Daurova

Medical faculty
Peoples' Friendship University of Russia
Mikluho-Maklaia str., 8, Moscow, Russia, 117198

Intensive development of immunological methods of research last years has allowed to obtain the convincing data testifying to a role of insufficiency of specific and nonspecific factors of resistency of an organism in pathogenesis of inflammatory diseases of periodontium on a background of a diabetes. The most expressed changes arise, as is known, in a cellular part of immune system in pathophysiology of periodontitis the important role is played immunoinflammatory activation with the mediated proinflammatory cytotoxins.

Keywords: diseases of periodontium, a diabetes, immunoinflammatory activation.