

Миронычева К.В., Кипиани Ш.Г., Макслюкова Е.С.,
Кононенко В.И., Макслюков С.Ю., Проходная В.А., Пилипенко К.Д.

Диагностические возможности лабораторного контроля цитокинового статуса десневой жидкости при воспалительных и остеодеструктивных процессах в пародонте

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Mironycheva K.V., Kipiani Sh.G., Maksyukova E.S., Kononenko V.I., Maksyukov S.Yu., Prohodnaya V.A., Pilipenko K.D.

Diagnostic capabilities of laboratory monitoring of the cytokine status of gingival fluid in inflammatory and osteodestructive processes in periodontium

Резюме

При обследовании 105 больных с воспалительными заболеваниями пародонта разработан лабораторный способ оценки баланса между провоспалительными и остеотропными медиаторами для характеристики тяжести и течения воспалительно-деструктивных изменений при гингивите и хроническом генерализованном пародонтите (ХГП). В зависимости от поражения пародонта формировали три клинические группы: 1 группа (n=40) – пациенты с катаральным и язвенным гингивитом, 2 группа (n=32) - с ХГП легкой и 3 группа (n=33) с ХГП средней степени тяжести. У пациентов в десневой жидкости или в содержимом пародонтальных карманов (ПК) определяли концентрацию фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-α), остеотропных медиаторов – лиганда растворимого активатора фактора нуклеации каппа В (sRANKL) и остеопротегерина (ОПГ) иммуноферментным методом. У пациентов с ХГП легкой и средней степени тяжести установлены тесные связи ($p < 0,0001$) величин пародонтальных индексов, характеризующих остеодеструкцию, с содержанием в жидкости ПК ФНО-α, sRANKL и остеопротегерина. У больных при формировании ХГП, а также при усилении тяжести поражения пародонта в десневой жидкости повышается концентрация ФНО-α, sRANKL и снижается содержание остеопротегерина. Изменение концентрации остеотропных медиаторов в жидкости ПК наступало раньше, чем формировалась остеодеструкция в пародонте. У пациентов с ХГП легкой степени тяжести снижение концентрации ОПГ ($p < 0,05$) и повышение содержания sRANKL ($p < 0,05$) в десневой жидкости относительно нормы требует активного рентгенологического контроля остеорезорбтивных процессов.

Ключевые слова: гингивит, хронический генерализованный пародонтит, фактор некроза опухоли-альфа, остеопротегерин, десневая жидкость

Summary

During the examination of 105 patients with inflammatory periodontal diseases, a laboratory method was developed to assess the balance between proinflammatory and osteotropic mediators to characterize the severity and course of inflammatory-destructive changes in gingivitis and chronic generalized periodontitis (CGP). Depending on the periodontal lesion, three clinical groups were formed: group 1 (n=40) - patients with catarrhal and ulcerative gingivitis, group 2 (n=32) with mild chronic hepatitis C and group 3 (n=33) with moderate CGP. In patients with gingival fluid or in the contents of periodontal pockets (PC), the concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) was determined, osteotropic mediators - ligand of soluble activator of nucleation factor Kappa B (sRANKL) and osteoprotegerin (OPG) by the immunoassay method. In patients with mild to moderate CGP, close links were established ($p < 0,0001$) of the values of periodontal indices characterizing osteodestruction with the content of TNF-α, sRANKL and osteoprotegerin in PC fluids. In patients with formation of CGP, as well as increasing the severity of periodontal lesions in the gingival fluid, the concentration of TNF-α, sRANKL increases and the content of osteoprotegerin decreases. The

change in the concentration of osteotropic mediators in the PC fluid occurred before the osteolysis in the periodontium was formed. In patients with mild CGP, a decrease in the concentration of OPG ($p < 0,05$) and an increase in the content of sRANKL ($p < 0,05$) in the gingival fluid relative to the norm requires active x-ray control of osteoresorption.

Key words: gingivitis, chronic generalized periodontitis, tumor necrosis factor-alpha, osteoprotegerin, gingival fluid

Введение

Развитие и прогрессирование остеодеструкции при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) обусловлено несколькими факторами, объединяющими наличие болезнетворных бактерий, высокий уровень провоспалительных цитокинов и простагландинов, активацию медиаторов, стимулирующих активность остеокластов [1]. То есть, полимикробная инфекция при поражении пародонта посредством иммунологических реакций приводит к костной резорбции. Иммунокомпетентные клетки и их медиаторы выполняют двойную функцию – защитную и разрушительную. Защитная роль сводится к активации гуморальных противовоспалительных механизмов [2]. Разрушительная функция состоит в том, что иммунные клетки посредством цитокинов и различных протеолитических систем способствуют деградациии соединительной ткани и остеорезорбции за счет остеотропных медиаторов [3-5]. Очевидно, при ХГП остеорезорбция подключается к провоспалительным механизмам раньше и зависит от скорости элиминации микробного фактора [6]. Одновременное изучение активности провоспалительных и остеотропных медиаторов при различных степенях тяжести ХГП, способствует пониманию обозначенных фундаментальных вопросов.

Цель исследования: разработать лабораторный способ оценки баланса между провоспалительными и остеотропными медиаторами для характеристики тяжести и течения воспалительно-деструктивных изменений при гингивите и ХГП.

Материалы и методы

В клиническую группу включили 95 пациентов с катаральным и язвенным гингивитом, ХГП легкой и средней степени тяжести. В зависимости от поражения пародонта формировали три клинические группы: 1 группа ($n=40$) – пациенты страдали катаральным и язвенным гингивитом, во 2 группу объединили 32 пациента с ХГП легкой и в 3 группу ($n=33$) с ХГП средней степени тяжести. Группа здоровых доноров включала 31 человека.

В 1 группе число мужчин составило 27 (67,5%), а число женщин 13 (32,5%). Во 2 группе число мужчин было 14 (43,75%), а число женщин 18 (56,25%), а в 3 группе 13 (39,4%) и 20 (60,6%), соответственно. В группе здоровых доноров число мужчин ($n=15$) и женщин ($n=16$) было практически одинаковым. Возраст пациентов колебался от 18 до 59 лет. Средний возраст в 1 группе составил $46,7 \pm 1,6$ лет, во 2 группе $41,4 \pm 2,1$ года и в 3 группе $48,9 \pm 1,7$ лет. У здоровых доноров средний возраст соответствовал $44,8 \pm 1,3$ лет.

При формировании групп пользовались следующими критериями включения: возраст пациентов старше 18 лет и младше 60 лет; отсутствие постменопаузы у паци-

енток женского пола; хронический гингивит (катаральный, язвенный), ХГП легкой и средней степени тяжести, информационное согласие пациента на участие в клиническом исследовании.

Все пациенты 1, 2 и 3 группы обратились к стоматологу впервые, предварительного специального длительного лечения не получали.

У всех пациентов клинической группы характеризовали пародонтологический статус с помощью соответствующих обратимых и необратимых индексов: индекса гигиены по Федорову Ю.А.- Володкиной В.В., папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), индекса кровоточивости Мюллемана, измеряли глубину пародонтальных карманов, величину потери зубодесневого прикрепления, рентгенологический индекс Фукса.

У пациентов клинических групп в десневой жидкости или в содержимом пародонтальных карманов (ПК) при их наличии определяли концентрацию провоспалительного медиатора фактора некроза опухолей-альфа (ФНО- α), остеотропных медиаторов – лиганда растворимого активатора фактора нуклеации каппа В (sRANKL) и остеопротегерина (ОПГ).

ФНО- α в десневой жидкости определяли методом иммуноферментного анализа с применением диагностического набора «ФНО-ИФА-Бест» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Концентрацию остеотропных медиаторов в биологических жидкостях определяли иммуноферментным методом: концентрацию лиганда растворимого активатора фактора нуклеации каппа В (sRANKL) с помощью диагностикомов Ampli-sRANKL (Biomedica, Vienna, Austria) и остеопротегерина набором Osteoprotegerin (Biomedica, Австрия).

Далее путем описательной статистики, дисперсионного анализа, корреляционного анализа оценивали связь между развитием и выраженностью воспалительных и остеодеструктивных изменений пародонта. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Statistica 12,0 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Значения обратимых и необратимых индексов пародонтологического статуса пациентов трех групп соответствовали заболеванию гингивита, ХГП легкой и средней степени тяжести.

Концентрация ФНО- α в десневой жидкости и жидкости ПК у пациентов клинических групп и здоровых доноров представлена в таблице 1.

У пациентов 1 группы концентрация ФНО- α статистически значимо повышалась на 62% ($p=0,029$). Во 2 группе концентрация ФНО- α в содержимом пародонтальных карманов ($54,6 \pm 3,65$ пг/мл) возросла по сравнению со здоровыми донорами в 2,2 раза ($p < 0,001$), а в

Таблица 1. Концентрация ФНО-α в десневой жидкости и жидкости ПК у пациентов клинических групп и здоровых доноров

Группа	ФНО-α [M±m], пг/мл	p*		
		1	2	3
1 (гингивит) (n=40)	40,7±1,43			
2 (ХГП ЛСТ) (n=32)	54,6±3,65	0,026		
3 (ХГП ССТ) (n=33)	86,3±4,56	<0,001	<0,001	
Здоровые доноры (n=31)	25,2±3,89	0,029	<0,001	<0,001

Примечание: * - уровень значимости p определяли по критерию Манна-Уитни

Таблица 2. Концентрация ОПГ в десневой жидкости и жидкости ПК у пациентов клинических групп и здоровых доноров

Группа	ОПГ, пг/мл [M±m]	sRANKL, нг/мл [M±m]
1 (гингивит) (n=40)	472,9±8,36	11,3±0,41
2 (ХГП ЛСТ) (n=32)	402,3±9,99	12,3±0,11
3 (ХГП ССТ) (n=33)	199,8±4,56	31,9±0,78
Здоровые доноры (n=31)	483,5±8,19	8,9±0,23
p	p мн.ср.<0,001 p ₁₋₂ =0,02 p ₁₋₃ =0,84 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₃₋₃ <0,001	p мн.ср.<0,001 p ₁₋₂ =0,40 p ₁₋₃ =0,003 p ₁₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₂₋₃ <0,001 p ₃₋₃ <0,001

Примечание: p мн.ср. – уровень значимости p по результатам множественного сравнения при дисперсионном анализе и использовании критерия Крускала-Уолиса, попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни.

Таблица 3. Коэффициенты корреляции стоматологических индексов и концентрации ФНО-α в содержимом десневого желобка у пациентов клинических групп

Показатели	Связь с ФНО-α	Связь с ОПГ	Связь с sRANKL
Индекс гигиены	R=0,42, p=0,52	R=-0,36, p=0,08	R=0,26, p=0,53
РМА	R=0,51, p=0,004	R=-0,45, p=0,05	R=0,32, p=0,14
Индекс кровоточивости	R=0,57, p=0,002	R=-0,52, p=0,03	R=0,34, p=0,08
Глубина пародонтальных карманов	R=0,79, p<0,0001	R=-0,57, p=0,004	R=0,75, p<0,0001
Величина потери зубодесневого прикрепления	R=0,83, p<0,0001	R=-0,64, p<0,0001	R=0,87, p<0,0001
Рентгенологический индекс Фукса	R=-0,62, p=0,006	R=0,85, p<0,0001	R=-0,93, p<0,0001

Примечание: R - коэффициент корреляции Спирмена, p – уровень значимости

отличие от аналогичного показателя в 1 группе на 34% (p<0,001). В 3 группе концентрация ФНО-α в содержимом пародонтальных карманов имела наиболее высокое значение (86,3±4,56 пг/мл) и возрастала по сравнению со здоровыми донорами в 3,4 раза (p<0,001), 1 группой в 2,1 раза (p<0,001) и 2 группой на 58% (p<0,001). Таким образом, по мере усиления воспалительных изменений в пародонте и развитии остеодеструктивных процессов у пациентов в экссудате пародонтальных карманов концентрация ФНО-α прогрессивно возрастала. ФНО-α, накапливаясь локально в тканевом экссудате, выполнял роль как провоспалительного, так и остеотропного медиатора, поскольку повышался как при усилении воспалительных изменений в пародонте, так и при формировании остеодеструктивных процессов.

Концентрация остеотропных медиаторов в клинических группах представлена в таблице 2.

У здоровых доноров в десневой жидкости в среднем содержание остеопротегерина составило 483,5±8,19 пг/мл, медиана была 490 пг/мл, межквартильный интервал

от 476 до 504 пг/мл. У пациентов с гингивитом содержание остеопротегерина в десневой жидкости не изменялось (p=0,84) и соответствовало 472,9±8,36 пг/мл. При формировании ХГП легкой степени тяжести концентрация остеопротегерина снижалась незначительно: по сравнению со здоровыми донорами на 17% (p<0,001), а в отличие от 1 группы на 15% (p=0,02). Выраженное снижение концентрации остеопротегерина в содержимом пародонтальных карманов произошло у пациентов 3 группы: по сравнению со здоровыми донорами на 59% (p<0,001), а в отличие от 1 группы на 58% (p<0,001) и 2 группы на 50% (p<0,001). Поскольку остеопротегерин синтезируется остеобластами, то при ХГП средней степени тяжести можно говорить о снижении функциональной активности остеобластов.

У здоровых доноров в десневой жидкости в среднем содержание sRANKL составило 8,9±0,23 нг/мл, медиана была 8,9 нг/мл, межквартильный интервал от 8,5 до 9,2 нг/мл. У пациентов с гингивитом по сравнению со здоровыми донорами содержание sRANKL в десне-

вой жидкости повысилось на 27% ($p=0,003$). Между 1 и 2 группами различия между концентрацией sRANKL в десневом экссудате не наблюдалось ($p=0,40$). Резкий скачок концентрации sRANKL в содержимом пародонтальных карманов произошел в 3 группе ($31,9 \pm 0,78$ нг/мл): по сравнению со здоровыми донорами в 3,6 раза ($p<0,001$), а в отличие от 1 группы в 2,8 раза ($p<0,001$) и 2 группы в 2,6 раза ($p<0,001$).

Таким образом, концентрация остеотропных медиаторов локально в тканевом экссудате изменялась раньше, чем формировалась остеодеструкция в пародонте. При гингивите в жидкости десневого желобка повышалось содержание sRANKL, а при ХГП легкой степени тяжести наблюдалось одновременное снижение остеопротегерина и повышение концентрации sRANKL в содержимом пародонтальных карманов. При ХГП средней степени тяжести формирование остеодеструктивных изменений сопровождалось резким снижением остеопротегерина и повышением концентрации sRANKL в содержимом пародонтальных карманов.

Исследование связи провоспалительных и остеотропных медиаторов в жидкости десневого желобка у пациентов с гингивитом и ХГП легкой и средней степени тяжести проводили путем корреляционного анализа.

Наиболее широкий спектр статистически значимых корреляционных связей с пародонтологическими индексами был установлен для концентрации ФНО- α в содержимом десневого желобка (табл. 3) и sRANKL (табл. 3). Прямые корреляционные связи концентрации ФНО- α в содержимом десневого желобка имели место как с индексами, отражающими выраженность воспаления, так и с индексами, характеризующими деструктивные изменения в пародонте.

Несмотря на широкий спектр установленных взаимосвязей, наиболее тесная связь была установлена с необратимыми индексами – глубиной пародонтальных карманов ($R=0,79$; $p<0,0001$), величиной потери зубодесневого прикрепления ($R=0,83$; $p<0,0001$).

Для остеотропного медиатора sRANKL наиболее тесная прямая связь была установлена также с необратимыми индексами – глубиной пародонтальных карманов ($R=0,75$; $p<0,0001$), величиной потери зубодесневого прикрепления ($R=0,87$; $p<0,0001$), рентгенологическим индексом Фукса ($R=0,93$; $p<0,0001$).

Между провоспалительными и остеотропными медиаторами у пациентов с воспалительными изменениями пародонта сформировался тесный паттерн взаимосвязи. Таким образом, провоспалительные медиаторы способствовали накоплению в местных биологических средах остеотропных медиаторов. То есть, воспалительные изменения в пародонте патогенетически связаны с остеодеструктивными изменениями. Как провоспалительные, так и остеотропные медиаторы отражали выраженность клинических симптомов гингивита и ХГП легкой и средней степени тяжести, что имело диагностическую значимость. Лабораторные изменения осте-

отропных маркеров в жидкости пародонтальных карманов по срокам опережали клинко-рентгенологические признаки остеорезорбции альвеолярного отростка челюстей.

Выводы

1. У пациентов с гингивитом и ХГП легкой степени тяжести для прогнозирования развития и прогрессирования остеодеструктивных изменений пародонта в десневой жидкости рекомендуется измерять концентрацию ФНО- α , sRANKL и остеопротегерина.

2. У пациентов с ХГП легкой и средней степени тяжести тесные связи ($p<0,0001$) величин пародонтальных индексов, характеризующих остеодеструкцию, установлены с содержанием в жидкости пародонтальных карманов ФНО- α , sRANKL и остеопротегерина.

3. У пациентов с ХГП легкой степени тяжести снижение концентрации ОПГ ($p<0,05$) и повышение содержания sRANKL ($p<0,05$) в десневой жидкости относительно нормы требует активного рентгенологического контроля остеорезорбтивных процессов. ■

Конфликт интереса по представленной статье отсутствует.

Миронычева К.В. – аспирант кафедры стоматологии №2 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Кициани Ш.Г.* – аспирант кафедры стоматологии №3 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Максюкова Е.С.* – аспирант кафедры стоматологии №2 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Конonenko В.И.* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой стоматологии №3 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Максюков С.Ю.* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой стоматологии №2 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Проходная В.А.* – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры стоматологии №1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Аватор, ответственный за переписку: Проходная Виктория Александровна* - 344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29. e-mail: alald@inbox.ru, тел. +7(863)-222-0425, +79885557444

Литература:

1. Ушаков Р.В., Герасимова Р.В. Механизмы тканевой деструкции при пародонтите. *Стоматология*. 2017;4:63-6. DOI: 10.17116/stomat201796463-66
2. Ошинок А.К., Брагин Е.А., Барычева Л.Ю. Диагностическое и прогностическое значение определения цитокинов в десневой жидкости при хроническом пародонтите. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016;4:550-3. DOI: 10.14300/мпмс.2016.11131
3. Мухамеджанова Л.Р., Ильина Р. Изменения маркеров резорбции костной ткани на фоне хронического генерализованного пародонтита. *Остеопороз и остеопатии*. 2016;2:66.
4. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Timofeev Y.S. Osteoprotegerin (OPG) – receptor activator of NF- κ B (RANK) – RANK ligand (RANKL) signaling system components and pro-inflammatory cytokines in blood serum of patients with primary bone neoplasms. *J. of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*. 2015;2:71.
5. Герштейн Е.С., Тимофеев Ю.С., Зуев А.А., Кушлинский Н.Е. Лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/OPG и ее роль при первичных новообразованиях костей (анализ литературы и собственные результаты). *Успехи молекулярной онкологии*. 2015;3:52. DOI: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-51-59
6. Hienz S.A., Paliwal S., Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *Journal of Immunology Research*. 2015; 10. Article ID 615486. DOI: 10.1155/2015/615486.