

Колотова Н.Н.<sup>1</sup>, Ронь Г.И.<sup>1</sup>, Колотова Г.Б.<sup>2</sup>, Лазерева Ю.Г.<sup>3,4</sup>, Бейкин Я.Б.<sup>3,4</sup>

## Иммунологические показатели ротовой жидкости у больных ревматоидным артритом

1 – ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России, кафедра терапевтической стоматологии, г. Екатеринбург; 2 – МАУ «Городская клиническая больница №40», г. Екатеринбург; 3 – МУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург; 4 – Институт Иммунологии и Физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

*Kolotova N.N., Ron G.I., Kolotova G.B., Lagereva Yu.G. Bejkin Ya.B.*

### Immunological parameters of oral liquid of patients with rheumatoid arthritis

#### Резюме

Целью исследования является оценка иммунологических показателей ротовой жидкости у больных ревматоидным артритом и их взаимосвязей с особенностями течения заболевания. Представлены результаты исследования ротовой жидкости 52 пациентов с РА в сопоставлении с 42 здоровыми лицами (группа сравнения). Установлено, что у пациентов с РА по сравнению с контрольной группой снижено содержание секреторного IgA и повышено содержание лизоцима, что свидетельствует об изменении защитных свойств ротовой жидкости. Указанные изменения нарастают по мере увеличения активности РА. Статистически значимых изменений в иммунологических показателях ротовой жидкости в зависимости от пола, проводимой терапии не выявлено. Особенности состава ротовой жидкости у пациентов с РА целесообразно учитывать при проведении профилактических и лечебных стоматологических мероприятий.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ротовая жидкость, секреторный иммуноглобулин А, лизоцим

#### Summary

The aim of this study was to evaluate the immunological parameters of the oral liquid of patients with rheumatoid arthritis and their relationship with features of the disease. The results of study of oral liquid of 52 patients with RA compared with 42 healthy individuals (control group). It was found that patients with RA compared with the control group had reduced content of secretory IgA, and increased content of lysozyme, which indicates changes in protective properties of oral liquid. These changes grow with the increase of the activity of RA. No statistically significant changes in immunological terms of saliva based on gender and therapy were found. Features of oral liquid of patients with RA should be considered during preventive and therapeutic dental treatment.

**Key words:** rheumatoid arthritis, oral liquid, secretory immunoglobulin A and lysozyme

#### Введение

Ревматоидный артрит (РА) – самое распространенное аутоиммунное заболевание, частота которого в популяции достигает 1% и колеблется в разных странах от 0,6 до 1,6% [1]. Помимо поражения суставов и внутренних органов, в воспалительный процесс при данном заболевании могут вовлекаться ткани пародонта [2]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению клеточного и гуморального иммунитета при РА, механизмы, лежащие в основе развития и поддержания хронического воспаления и повреждения тканей, включая мягкие и твердые ткани ротовой полости, остаются не до конца понятными [3,4,5,6]. В литературе представлены лишь единичные исследования с различными методологическими подходами и противоречивыми результатами по изучению ротовой жидкости больных РА [7,8].

Между тем, знание особенностей состава ротовой жидкости у больных РА позволит оптимизировать подходы к профилактике и лечению стоматологических заболеваний.

**Цель исследования** - оценить иммунологические показатели ротовой жидкости у больных РА и взаимосвязи с особенностями течения заболевания.

#### Материалы и методы

Настоящая работа выполнена в период с 2009 по 2012 гг. на базе городского ревматологического отделения МУ «ЦГКБ №6» и городского ревматологического центра МАУ «ГКБ №40», где осуществляли набор пациентов с ревматоидным артритом в соответствии с критериями включения в исследование. Клиническую оценку полости рта проводили на базе терапевтического отделения

№1 МПСП Уральской Государственной Медицинской Академии. Иммунологические исследования слюны выполняли в МУ «Клинико-диагностический центр» (главный врач - проф. д.м.н. Бейкин Я.Б.).

Критериями включения пациентов с РА в исследование являлись: достоверный диагноз ревматоидного артрита, возраст до 55 лет (включительно), длительность заболевания не менее 1 года, отсутствие указаний в анамнезе и клинических проявлений тяжелой хронической соматической патологии, согласие пациента на принятие участия в исследовании.

Критерии исключения: пациенты с анамнестическими указаниями и клиническими проявлениями тяжелой хронической соматической патологии, наличие заболеваний, связанных с нарушением функций слюнных желез, курение, отказ больного участвовать в исследовании на любом из этапов.

Сбор смешанной слюны (нестимулированной) в состоянии покоя проводили с утра натощак в сухие стерильные пробирки, общее время сбора составило 10 минут. Далее образцы транспортировали в лабораторию.

Количественное определение секреторного IgA (sIgA), лизоцима в ротовой жидкости проводили методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем sIgA ELISA («ImmunDiagnostik»), Lysozym ELISA («ImmunDiagnostik») на ИФА-ридере Multiscan EX («Thermo Labsystems»).

В ротовой жидкости определяли содержание секретированных цитокинов TNF $\alpha$ , IL10 методом иммуноферментного анализа с использованием наборов интерлейкин-10-ИФА-Бест (ЗАО «Вектор-Бест» и альфа-ФНО-ИФА-Бест (ЗАО «Вектор-Бест») на ИФА-ридере Multiscan EX («Thermo Labsystems»). Количественное содержание С-реактивного протеина определяли методом иммунонефелометрии с использованием тест-систем Turbox C-reactive protein («Orion Diagnostica Oy») на нефелометре Turbox plus («Orion Diagnostica Oy»).

Стоматологическое обследование пациентов проводили по общепринятым методикам, включавшие клинические и рентгенологические методы.

В работу были включены 52 пациента с достоверным ревматоидным артритом, средний возраст которых составил 41,71 $\pm$ 1,09 лет, из них 39 женщин (75%) и 13 мужчин (25%). Длительность заболевания у пациентов составляла в среднем 7,19 $\pm$ 0,89 лет.

Группу сравнения составили 42 человека, средний возраст 39,43  $\pm$  1,19 года (от 24 до 55 лет), из них 30 женщин (71,4 %) и 12 мужчин (28,6%). Пациенты с ревматоидным артритом не отличались по полу и возрасту от контрольной группы.

Статистическую и математическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Данные представлены в виде средних арифметических величин и стандартной ошибки среднего (M $\pm$ m). Отсутствие достоверных отличий распределения от нормального, установленное при помощи теста Колмогорова-Смирнова, позволило использовать t-критерий Стьюдента

для определения достоверности различий. Различия считали достоверными при p<0,05. Для выявления взаимосвязей между переменными вычислялся коэффициент парной корреляции Пирсона, характеризующий степень линейной взаимосвязи между переменными в выборке.

## Результаты и обсуждение

Содержание sIgA в ротовой жидкости у пациентов основной группы (таблица 1) снижено по сравнению с контрольной, составляя в среднем 69,18 $\pm$ 8,94 и 296,02 $\pm$ 11,79 соответственно (p<0,001). Известно, что секреторному IgA в системе местного иммунитета отводится ведущая роль [9]. Снижение уровня секреторного IgA у пациентов с РА может свидетельствовать об ослаблении гуморального иммунитета и защитных свойств ротовой жидкости.

Представляет интерес выявленное статистически достоверное повышение уровня лизоцима в ротовой жидкости больных РА по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы (p<0,001). Можно предположить, что увеличение содержания лизоцима в смешанной слюне является компенсаторным процессом. Кроме того, в литературе имеются единичные указания, что активность лизоцима в десневой жидкости увеличивается при воспалительных заболеваниях пародонта [10]. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Содержание TNF-а в ротовой жидкости пациентов с РА по сравнению с группой контроля снижено (p<0,01). Аналогичную тенденцию в содержании TNF-а в ротовой жидкости у пациентов с РА отмечали Mirtlees J. et al., Han J.Y. et al. [11,12]. Возможно, одной из причин снижения TNF-а в ротовой жидкости является активная иммуносупрессивная терапия, проводимая пациентами РА.

На следующем этапе исследования мы провели анализ показателей ротовой жидкости в зависимости от особенностей течения РА и проводимой терапии. Для оценки возможного влияния длительности течения РА на показатели ротовой жидкости пациенты основной группы были разделены на 2 подгруппы: 1-ю составили 24 больных РА с давностью заболевания до 5 лет (включительно), 2-ю – 28 больных, история заболевания у которых была более 5 лет (Таблица 2).

Содержание IL 10 в ротовой жидкости у пациентов первой подгруппы превышает аналогичный показатель 2-й подгруппы (p<0,05). Средний показатель sIgA в сравнимых подгруппах также статистически значимо выше в подгруппе пациентов с давностью заболевания менее 5-ти лет (p=0,03). Снижение уровня sIgA по мере нарастания длительности РА может свидетельствовать об ослаблении защитного фактора ротовой жидкости и, соответственно, повышении риска бактериальной адгезии в ротовой полости.

Результаты корреляционного анализа показали существование статистически значимых (p<0,05) корреляционных связей между уровнем СРП, РФ в сыворотке крови и секреторным IgA в ротовой жидкости у пациентов с РА (диаграмма 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень sIgA в слюне снижается при нарастании активности воспалительного процесса и высоких титрах РФ в крови.

Таблица 1. Иммунологические показатели ротовой жидкости у больных РА (M ±m)

Показатель	Группа РА (n=52)	Группа контроля (n=42)	p
СРП, мг/л	4,25±0,20	4,59±0,22	> 0,05
TNF-а, пг/мл	2,06±0,40	4,29±0,73	< 0,01
IL 10, пг/мл	11,08±2,01	16,2±3,01	> 0,05
SlgA, нг/мл	69,18±8,94	296,02±11,79	< 0,001
Лизоцим, нг/мл	302,16±12,08	89,82±13,83	< 0,001

Таблица 2. Иммунологические показатели ротовой жидкости при длительности РА до- и более 5 лет (M ±m)

Показатель	Больные РА с давностью болезни < 5 лет n= 24	Группа РА с давностью болезни более 5 лет n=28	p
СРП, мг/л	4,21 ± 0,29	4,29±0,28	>0,05
TNF-а, пг/мл	2,69±0,79	1,54±0,33	>0,05
IL 10, пг/мл	15,94 ± 3,63	6,92±1,76	=0,03
SlgA, нг/мл	83,87±11,93	53,91±6,46	=0,03
Лизоцим, нг/мл	296,66±19,63	305,82±16,15	>0,05

Таблица 3. Показатели ротовой жидкости в зависимости от активности РА (M ±m)

Показатель	DAS 28 3,2-5,1 n=33	DAS 28 >5,1 n=19	p
СРП, мг/л	3,75±0,23	4,64±0,25	= 0,01
TNF-а, пг/мл	2,48±0,81	1,75±0,38	>0,05
IL 10, пг/мл	12,73±3,51	10,52±2,38	>0,05
SlgA, нг/мл	81,52±7,87	62,05±5,94	<0,05
Лизоцим, нг/мл	269,63±18,58	322,16±14,77	<0,05

Таблица 4. Иммунологические показатели ротовой жидкости у больных РА в зависимости от проводимой терапии (M ±m)

Показатель	ГКС n=18	Метотрексат n=29	p
СРП, мг/л	4,47±0,34	4,18±0,24	>0,05
TNF-а, пг/мл	1,82±0,50	2,09±0,52	>0,05
IL 10, пг/мл	14,21±4,95	10,08±1,98	>0,05
SlgA, нг/мл	2,30±0,53	2,47±0,35	>0,05
Лизоцим, нг/мл	78,90±17,53	65,62±10,19	>0,05
лизоцим	290,57±13,21	303,72±14,86	>0,05

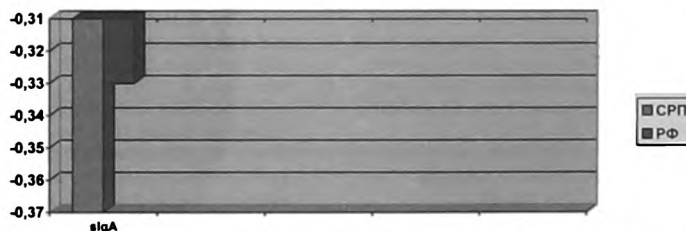


Диаграмма 1. Коэффициенты корреляции между slgA ротовой жидкости и уровнем СРП, РФ в сыворотке крови

Примечание: \* - коэффициент корреляции достоверен (p<0,05)

Для оценки активности РА был использован комбинированный индекс DAS28. В исследование включены пациенты РА с умеренной (DAS28 3,2-5,1)- 33 человека и высокой степенью активности (DAS28 >5,1) – 19 человек (Таблица 3).

Уровень СРП в ротовой жидкости статистически значимо выше у пациентов с высокой активностью за-

болевания (p=0,01). Аналогично значимо возрастает и уровень лизоцима: от 269,63±18,58 в подгруппе с умеренной активностью до 322,16±14,77 в подгруппе с высокой активностью (p<0,05). Среднестатистический показатель slgA имеет противоположную тенденцию и достоверно снижается при нарастании активности РА (p<0,05).

Нами проведен анализ показателей ротовой жидкости у больных РА в зависимости от проводимой терапии. Из 52 обследованных больных РА 18 человек (1-я подгруппа) в течение последнего года постоянно принимали глюкокортикостероиды (ГКС) в дозе не более 7,5 мг в день (из расчета на преднизолон), 29 человек (2-я подгруппа) в течение последнего года в постоянном режиме принимали метотрексат в дозе от 7,5 до 15 мг в неделю. 5 пациентов в течение последних 12 месяцев базисной терапии не получали, принимали только нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), данная подгруппа в связи с малочисленностью в сопоставление нами не включена.

При анализе полученных данных статистически значимых различий в иммунологических показателях ротовой жидкости у пациентов с РА в зависимости от принимаемой терапии нами не выявлено ( $p > 0,05$ ). Можно предположить, что глюкокортикостероиды и метотрексат, оказывая иммуносупрессивное и противовоспалительное действие, односторонне влияют на состав ротовой жидкости.

## Выводы

Состав ротовой жидкости у больных РА отличается от группы сравнения снижением уровня sIgA и повышением содержание лизоцима, что свидетельствует об изме-

нении защитных свойств ротовой жидкости. Указанные изменения нарастают по мере увеличения активности РА. ■

*Калотова Н.Н. – стоматолог-терапевт, заочный аспирант кафедры терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО «УГМА Минздравоохранения России», г. Екатеринбург; Ронь Г.И. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО «УГМА Минздравоохранения России»; Колотова Г.Б. – д.м.н., профессор кафедры терапии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «УГМА Минздравоохранения России», заместитель главного врача МАУ «ГКБ№40» по медицинской помощи; Лагерев Ю.Г. – к.м.н., заведующая иммунологической лабораторией МУ «Клинико-диагностический центр», лаборатория иммунопатофизиологии УрО РАН, г. Екатеринбург; Бейкин Я.Б. – д.м.н., профессор, главный врач МУ «Клинико-диагностический центр», лаборатория иммунопатофизиологии УрО РАН, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку- Колотова Наталья Николаевна, 620109 г. Екатеринбург, ул. Токарей 29-а, 89049813817; e-mail: stomatolog.kn@gmail.com*

## Литература:

1. Насонов Е.Л., Насонова В.А. Ревматология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР – Медиа; 2008.
2. Dissick A., Redman R.S., Jones M. et al. Association of periodontitis with rheumatoid arthritis: a pilot study. J Periodontol. 2010; 81(2): 223-30.
3. Detert J., Pischon N., Burmester G.R., Buttgerit F. Pathogenesis of parodontitis in rheumatic diseases. Z Rheumatol. 2010; 69(2): 109-12, 114-6.
4. Mangat P., Wegner N., Venables P. J., Potempa J. Bacterial and human peptidylarginine deiminases: targets for inhibiting the autoimmune response in rheumatoid arthritis? Arthritis Research & Therapy 2010; 12(3): 209.
5. Smolik I., Robinson D., El-Gabalawy H.S. Periodontitis and rheumatoid arthritis: epidemiologic, clinical, and immunologic associations. Compend Contin Educ Dent. 2009; 30(4): 188-90.
6. Scardina G.A., Messina P. A possible relationship between periodontitis and rheumatoid arthritis. Clin Hemorheol Microcirc. 2007; 37(3): 229-35.
7. Chopra M., Jadhav S., Venugopalan A., Hegde V., Chopra A. Salivary immunoglobulin A in rheumatoid arthritis (RA) with focus on dental caries: a cross-sectional study. Clin Rheumatol. 2012; 31(2): 247-50.
8. Zalewska A., Waszkiewicz N., Szajda S.D., Waszkiel D. Impact of salivary flow and lysozyme content and output on the oral health of rheumatoid arthritis patients. Postepy Hig Med Dosw (Online) 2011; 65: 40-5.
9. Ламонт Р. Дж., Лантц М.С., Берне Р.А., Лебланка Д. Дж.; пер. с англ. под ред. Леонтьева В.К. Микробиология и иммунология для стоматологов. М.: Практическая медицина; 2010.
10. Surna A., Kubilius R., Sakalauskiene J. et al. Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. Med Sci Monit. 2009; 15(2): 66-73.
11. Mirrieles J., Crofford L.J., Lin Y., Kryscio R.J. et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. J Clin Periodontol. 2010; 37(12): 1068-74.
12. Han J.-Y., Reynolds M.A. Effect of anti-rheumatic agents on periodontal parameters and biomarkers of inflammation: a systematic review and meta-analysis. J Periodontal Implant Sci. 2012; 42(1): 3-12.