

16. Page R. C. Periodontitis and respiratory diseases: Discussion, conclusions, and recom. J. Periodontol. 2001; 6: 1: 87-91.
17. Колпаков В. В., Бабакин Е. А., Брагин А. В. Конституционный подход в оценке привычной двигательной активности человека. Матер. научн. конф. — Основные направления формирования здоровья человека на Севере — Красноярск, 1999; 143-146.
18. Леонтьев В. К., Колпаков В. В., Брагин А. В. Концепция типовой вариабельности физиологической индивидуальности — фонд. основа системной профилактики и комплексной терапии в стоматологии. Стоматология. 2005; 5: 4-8.
19. Рединова Т. Л., Поздеев А. Р. Клинические методы исследования слюны при кариесе зубов (методические рекомендации). Ижевск, 1994; 24 с.
20. Барер Г. М., Лемецкая Т. И. Болезни пародонта. Клиника, диагностика и лечение. Учебное пособие. М.: ВУНМЦ, 1996; 86.
21. Ронь Г. И., Еловикова Т. М. Заболевания пародонта. Особенности течения и лечения. Юбилейный сборник работ, посв. 60-летию кафедры хирург. стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Ч. II. ММСИ. М., 1998; 127-128.
22. Lange Andersen K., Rutenfranz J., Masironi R., Seliger V. Habitual Physical Activity and Health. Copenhagen. WHO Reg. Publ. Europ. 1982; Series 6: 199p.
23. Баевский Р. М. Концепция физиологической нормы и критерии здоровья. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2003; 89: 4: 473-487.
24. Гребнева Н. Н., Соловьев В. С. Методы оценки функционального состояния кардиореспираторной системы человека. Учебное пособие. Тюмень: ТГУ. 19974 25с.
25. Крылов А. А., Маничев С. А. Практикум по общей, экспериментальной и прикладной психологии. СПб.: Питер. 2000; 560 с.
26. Куман О. А. Физическая работоспособность и адаптационные возможности младших школьников с различным уровнем привычной двигательной активности и разной степенью кариесрезистентности. Медицинская наука и образование Урала. 2008; 4: 59-62.
27. Мамчиц Е. В. Клинико-физиологические подходы и комплексная оценка эффективности применения имплантатов в стоматологической практике. Медицинская наука и образование Урала. 2004; 3-4: 219-220.

## Диагностические возможности определения цитокинового профиля в сыворотке крови и ротовой жидкости у больных с синдромом Шегрена

<sup>1</sup> С. С. Григорьев, <sup>3</sup> Я. Б. Бейкин

<sup>1</sup> Кафедра профилактики стоматологических заболеваний и физиотерапии;

<sup>2</sup> Кафедра терапевтической стоматологии, ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрова»;

<sup>3</sup> МУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург

### Резюме

*Целью исследования явилось изучение цитокинового профиля общей циркуляции и секрета ротовой полости у пациентов с синдромом Шегрена с учетом тяжести и стадии заболевания. Анализировали содержание цитокинов: Th1 типа — INF- $\gamma$  и Th2 типа — IL-4. Оценивали провоспалительные цитокины — INF- $\alpha$  и IL-8, а также аутоиммунные антитела к INF- $\alpha$ .*

**Ключевые слова:** цитокины, ротовая жидкость, синдром Шегрена.

Наряду с используемыми на сегодняшний день методами диагностики заболеваний слюнных желез (забор венозной и капиллярной крови, рентгеноконтрастная сиалография, биопсия малых слюнных желез в области слизистой нижней губы) значительное место занимает исследование местных факторов иммунитета ротовой полости. Что дает возможность подтвердить или опровергнуть диагноз, оценить остроту течения заболевания и правильность тактики выбранного лечения.

Важную роль в межклеточном взаимодействии всех звеньев иммунной системы, нервной и эндокринной систем играют цитокины.

Изучение уровней цитокинов позволяет получить информацию о функциональной актив-

ности различных типов иммунокомпетентных клеток; о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе; о соотношении процессов активации Th1 и Th2 го типов, что очень важно при дифференциальной диагностике ряда инфекционных и иммунопатологических процессов; о стадии развития ряда аллергических и аутоиммунных заболеваний, когда, например, повышение уровня IL-1,6,8 в плазме крови опережает клинические проявления при ревматоидном артрите и системной красной волчанке и других аутоиммунных заболеваниях (1). Клиническое изучение слюварного уровня цитокинов проводилось в ряде работ, связанных с патологией слизистой оболочки ротовой полости [2, 3, 4, 5, 6, 7].

**Целью** настоящего исследования было изучение цитокинового профиля общей цир-

Таблица Показатели уровней цитокинов в ротовой жидкости и сыворотке крови

Параметр	1 группа		2 группа		Группа сравнения	
	сыворотка крови	ротовая жидкость	сыворотка крови	ротовая жидкость	сыворотка крови	ротовая жидкость
	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ
INF-α	102,29±42,1*	115,94±43,8*	79,45±23,6*	137,47±30,0*	16,2±0,74	2,4±0,09
IL-4	6,22±2,1	32,34±17,1*	6,63±0,87*	50,61±3,36*	6,1±0,74	1,9±0,09
IL-8	16,61±1,77*	787,07±97,0*	17,74±2,6*	784,71±77,6*	14,2±0,89	7,8±0,1
INF-γ	15,8±4,35*	23,13±6,13*	22,4±6,35	52,15±9,72*	22,1±1,99	14,4±0,14
а/л INF-γ	10,25±2,19*	20,08±3,36*	8,65±0,77*	16,57±2,86*	7,7±0,61	4,9±0,26

Примечание. \* — статистически значимые различия с группой сравнения,  $p < 0,05$

куляции и секрета ротовой полости у пациентов с синдромом Шегрена (СШ) с учетом тяжести и стадии заболевания. Анализировали содержание цитокинов: Th1 типа — INF-γ и Th2 типа — IL-4. Оценивали провоспалительные цитокины — INF-α и IL-8, а также аутоиммунные антитела к INF-α.

### Материалы и методы

Под наблюдением находилось 54 пациента с СШ, из них 32 пациента с начальной стадией заболевания (средний возраст — 41,3 года) и 22 пациента в стадии выраженных клинических проявлений (средний возраст — 47,9 лет). Группу сравнения составили 25 пациентов в возрасте 47,5 лет, обратившихся в нашу клинику с целью профилактического осмотра.

Секрет ротовой полости (слюна) и кровь для получения сыворотки забирали утром натощак. Слюну центрифугировали при 5000 об./мин на холоде. Проводили осаждение муцина, применяя 6 ЕД лидазы на 1,0 мл ротовой жидкости. Содержание цитокинов INF-γ (пг/мл), IL-4 (пг/мл), INF-α (пг/мл), IL-8 (пг/мл) и аутоиммунные антитела к INF-α (нг/мл) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «Вектор-бест» (г. Новосибирск) на иммуноферментном анализаторе «Multiscan» (Labsystems, Финляндия). Статистическую обработку проводили с использованием Microsoft® Excel для Office XP и программы Statistica-6.0.

### Результаты и обсуждение

Содержание INF-γ в сыворотке крови у пациентов с СШ составило 102,29 и 79,45 в исследуемых группах соответственно и было достоверно выше показателей группы сравнения (16,2,  $p < 0,0001$ ). Повышенные показатели отмечены у всех пациентов, как в 1-й, так и во 2-й группе, из них у 11 пациентов (34,4%) в 1-й группе и у 21 пациента (65,6%) во 2-й группе — с выраженным повышением (таблица).

Снижение концентрации INF-γ в сыворотке крови в стадии выраженных клинических

проявлений по сравнению с начальной стадией мы связываем с тем, что пациенты в начальной стадии заболевания получают базовую терапию нестероидными противовоспалительными препаратами и гормонозаместительную терапию короткими курсами. Пациенты в стадии выраженных клинических проявлений постоянно находятся на гормонозаместительной терапии и препаратах цитостатического ряда, которые оказывают иммуносупрессивное действие.

Уровень слюварной концентрации INF-γ составил 115,94 в 1-й группе и 137,47 во 2-й группе и значительно превысил показатели группы сравнения (16,2,  $p < 0,0001$ ).

Наличие высоких значений в полости рта содержания INF-γ, даже на фоне относительного снижения в сыворотке крови в стадии выраженных клинических проявлений, свидетельствует о поддержании воспалительного процесса и активации пролиферативных и деструктивных изменений в эндотелиальной и соединительной ткани ротовой полости, а также о снижении адаптационных механизмов, т.е. о процессах декомпенсации, что проявилось развитием и прогрессированием дистрофических процессов.

Содержание IL-4 в исследуемых группах в сыворотке крови составило 6,22 и 6,63 соответственно и достоверно не отличалось от показателей группы сравнения (6,1) (таблица). Уровень IL-4 в ротовой жидкости в обеих группах (32,34 и 50,61 соответственно) достоверно превысил значения в группе сравнения 1,9 ( $p < 0,001$ ). Повышенные показатели в ротовой жидкости отмечены у всех пациентов в обеих группах.

Показатели IL-4 в ротовой жидкости у пациентов в начальной стадии заболевания значительно превысили показатели группы сравнения и имели тенденцию к увеличению в стадии выраженных клинических проявлений. Повышенные показатели слюварной концентрации IL-4 свидетельствуют об активации лимфоцитов Th-2 типа, стимулирующих синтез иммуноглобулинов, которые принимают участие в формировании аллергических и аутоиммунных реакций.

Уровень IL-8 в ротовой жидкости в 1-й группе составил 787,0, во 2-й группе — 784,71, и более чем в 100 раз превысил показатели группы сравнения (7,8,  $p < 0,0001$ ) (таблица). Повышенные показатели слюварной концентрации отмечены в 100% случаев в обеих группах. Количество IL-8 в сыворотке крови у пациентов с СШ в исследуемых группах составило 16,61 и 17,74 соответственно и не имело достоверных отличий от показателей группы сравнения (14,2).

Усиленная продукция IL-8 в ротовой жидкости способствует не только хемоаттракции нейтрофилов, но и активирует иммунокомпетентные клетки в очаге воспаления, поддерживает развитие хронического воспалительного процесса и способствует непрекращающемуся процессу деструктивных изменений (хроническая лейкоцитарная инфильтрация, завершающаяся фиброзом) в больших и малых слюнных железах.

Уровень INF- $\alpha$  в сыворотке крови в 1-й группе составил 15,8 против 22,1 в группе сравнения ( $p < 0,01$ ), во 2-й группе значения INF- $\alpha$  не отличались от показателей группы сравнения (таблица). В ротовой жидкости выявлено статистически достоверное увеличение INF- $\alpha$ , которое составило в 1-й группе 23,13 и 52,15 во 2-й группе, относительно показателей группы сравнения (14,4,  $p < 0,001$  в обеих группах). Повышенные показатели слюварной концентрации отмечены у всех пациентов, как в 1-й, так и во 2-й группе, из них у 5 (15,6%) — в 1 группе и у 22 (100%) — во 2 гр. — с выраженным повышением.

Количество аутоиммунных антител к INF- $\alpha$  в сыворотке крови в 1-й группе составило 10,25 и достоверно превысило данные группы сравнения (7,7,  $p < 0,05$ ), во 2-й группе уровень аутоиммунных антител к INF- $\alpha$  не отличался от показателей группы сравнения (таблица). Количество аутоиммунных антител к INF- $\alpha$  в ротовой жидкости в 1-й группе 20,08, во 2-й группе — 16,57 достоверно выше показателей группы сравнения (4,9 нг/мл,  $p < 0,001$  в обеих группах).

В начальной стадии заболевания в сыворотке крови было выявлено что, уровень INF- $\alpha$  соответствует норме с увеличением аутоиммунных антител к нему. Это свидетельствует о наличии индукторов INF- $\alpha$  и адекватной реакции организма — выработки аутоиммунных а/т к INF- $\alpha$ , которые препятствуют активации клеток организма, т.е. ограничивают воспалительный процесс. Длительное поддержание индукции выработки INF- $\alpha$  приводит к его увеличению и снижению уровня аутоиммунных антител к INF- $\alpha$ , что мы видим в стадию выраженных клинических проявлений, что свидетельствует о механизмах декомпенсации.

В ротовой жидкости пациентов с СШ отмечаем увеличение INF- $\alpha$  в обе стадии заболе-

вания. Следовательно, мы можем говорить о наличии постоянной индукции данного цитокина, прогрессивном течении заболевания, поддержании воспалительного процесса и развития деструктивных изменений, как в больших, так и в малых слюнных железах.

## Выводы

1. При синдроме Шегрена выявили достоверное увеличение показателей уровней цитокинов INF- $\gamma$ , IL-4, INF- $\alpha$ , IL-8, а также аутоиммунных антител к INF- $\alpha$  в сыворотке крови и ротовой жидкости.

2. В период ремиссии установлено увеличение уровня INF- $\gamma$  как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости, что позволяет говорить о хронической активации клеточного иммунного ответа с поддержанием аутоиммунного процесса.

3. Значительное увеличение провоспалительных цитокинов IL-8, INF- $\alpha$  в ротовой жидкости, без изменения этих показателей в сыворотке крови, может быть следствием неоднородности патогенеза и фазности заболевания.

4. Повышенное содержание IL-4 в ротовой жидкости свидетельствует об активации лимфоцитов Th-2 типа и возможном их участии в формировании аллерго- и аутоиммунной патологии.

5. Полученные результаты подтверждают необходимость использования в клинической практике иммуноферментных диагностических тест-систем для первичной диагностики уровней цитокинов в сыворотке крови и ротовой жидкости, что дает возможность по-новому оценить состояние иммунной системы организма при синдроме Шегрена.

## Литература

1. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исслед уровней цитокинов в клин практике. Демьянов А. В., Котов А. Ю., Симбирцев А. С. Цитокины и воспаление. 2003; 2 (3): 20-35.
2. Абаджиди М. А. Уровень цитокинов в секрете ротовой полости у детей с бронхиальной астмой. Абаджиди М. А., Лукушкина Е. Ф., Маянская И. В. Цитокины и воспаление. 2002; 1 (3): 9-14.
3. Азнабаева Л. Ф. Интерлейкин 1b и функциональное состояние иммунной системы при хроническом риносинусите. Азнабаева Л. Ф., Сибирцев А. С., Арефьева Н. А. Цитокины и воспаление. 2002; Т 1 (2): 60.
4. Булгакова А. И. Местные факторы иммунитета ротовой полости больных хроническим пародонтитом при лечении с использованием лейкоцитарного интерферона. Булгакова А. И., Медведев Ю. А., Алсынбаев М. М. Цитокины и воспаление. 2002; Т 1 (2): 61.
5. Беляева О. В. Влиянием комплексной терапии на пок местного иммунитета больных пародонтитом. Беляева О. В., Кеворков Н. Н. Цитокины и восп. 2002; Т 1. (4): 34-37.
6. Black K.P. Cytokine profiles in parptid saliva from HIV-1-ingected individuals: change associated wiTh opprtunistic infections in the oral cavity. Black K.P., Merril K.W., Jackson S., Kats J. Oral Microbiol. Immunol. 2000.15. 2; 74-81.
7. Kagami H. Salivary growThfactors in healThand disease. Kagami H., Hiramatsu Y., Hichida S. Adv. Dent Res. 2000. 14.5; 99-102.