

УДК: 616.314.17.-008.1-031.81—092-07-612.017.1

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ SLPI ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ

СЕРГЕЕВА И.Е.

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца

В литературе все больше появляется работ, которые свидетельствуют, что при развитии заболеваний пародонта определяются процессы, характеризующиеся накоплением продуктов гидролиза и перексидации, компонентов экстрацеллюлярного комплекса антигенпрезентирующих клеток (АПК). Это сопровождается нарушениями в эндотелии сосудов, клеточного метаболизма, апоптозом клеток соединительной ткани с признаками локального неспецифического воспаления. Изменения микроциркуляции в концевых отделах, экспрессия и накопление провоспалительных цитокинов, объективизируя воспаление, усугубляет дистрофию и деструкцию костной ткани альвеолярных отростков [4–11, 15].

В настоящее время интерес исследований сфокусирован на выявлении влияния антипротеаз на воспалительные процессы в участках «восстановленных тканей». Немногочисленные публикации свидетельствуют, что антипротеазы в качестве индикаторов, идеально фиксируются там, в патологически измененных тканях, корректируя функции иммунокомпетентных клеток и инициирование совместного иммунноспецифического ответа [1, 2, 3, 12].

Вместе с тем, следует отметить недостаточность наличия клинических, информативных комплексных работ, посвященных проблемному изучению механизмов активации Т-клеточного иммунного ответа и параллельных сравниваемых показателей нарушения функционирования иммунной системы как на локальном, так и на системном уровнях при повреждении альвеолярных отростков у больных генерализованным пародонтитом (ГП).

В связи с этим изучая вопрос, что способствует или может вызвать прирост числа антигенспецифических Т-лимфоцитов или повысить их функциональную активность, ускорить процессы дифференцировки или пролиферации Т-клеток, учитывая кислородонезависимые механизмы защиты – влияя на дезактивацию пародонтопатогенной микрофлоры в пародонтальных карманах и на слизистой оболочке полости рта (СОПР), целесообразно обратить внимание на существующую функционирующую систему SLPI (secretary leucocyte protease inhibitor). Это пептиды, секретируемые и преобладающие в слизистых оболочках, проявляют свою актив-

ность при разных состояниях организма; с одной стороны – поддерживая физиологическое равновесие локального гомеостаза, а также способны мобильно активироваться при патологических состояниях, в дальнейшем выполняя важную роль, как адаптационные показатели изменения врожденного иммунитета в ответ на раздражение [12, 13, 14].

Дальнейшее изучение, с точки зрения активно исследуемой многогранной функции SLPI, в ответ на воспаление требует научных уточнений, изысканий. Дискуссия при рассмотрении роли этих протеинов – сериновых антипротеаз, в развитии механизмов врожденного и адаптированного иммунного ответа, в зависимости от характера течения воспалительного процесса в тканях пародонта больных ГП носит правомерный характер. Это связано с функциональной активностью клеток и факторов активации неспецифической защиты тканей пародонта, ингибированием избыточного накопления эластазы, провоспалительных цитокинов, а с другой стороны – с усилением свободнорадикального неферментативного метаболизма, с последующим развитием воспалительных и активированных иммунных реакций.

**Целью** данной работы явилось определение концентрации SLPI в содержимом полости рта и сыворотке крови у пациентов контрольной группы и у больных ГП I-II степени, хронического и обострившегося течения, для изучения особенностей локального и системного иммунного ответа в патогенезе заболевания и дальнейшей коррекции патогенетической терапии.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 69 пациентов, в возрасте от 20 до 44 лет, с диагнозом генерализованный пародонтит I-II степени, хронического или обострившегося течения (использована систематизация болезней пародонта Н.Ф. Данилевского 1994 года).

Контрольную группу составило 24 человека: студенты-волонтеры стоматологического факультета НМУ имени А.А. Богомольца – 12 человек, и группа – 12 обследованных «здоровых» людей, того же возраста, с вторичной частичной адентией, нуждающиеся в ортопедическом лечении: в восстановлении жевательной системы одиночными коронками или мостовид-

ними протезами. При обстеженні пацієнтів використані стандартні, общеприняті клінічні методи діагностики, визначені пародонтологічні індекси, комп'ютерна ортопантомографія зубочелюстної системи. Всім пацієнтам проведено дослідження крові: загальний аналіз, карта імунологічного обстеження. Визначені – рівень цитокінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-8, ІЛ-10, ФНО –  $\alpha$  в периферическій крові, а також в порожнині рота: в сумішній ротовій рідині (надслизнична фракція після центрифугування) і в секреті слинної залози, для проведення порівняльного аналізу і топическої локалізації активності Т-клітинного імунного відгуку. Використані тест-системи виробництва «Протеїновий Контур» (С-Петербург, Росія), рівень ІЛ-10 – «Diacclone» (Франція); концентрацію SLPI визначали на тест-системах «Nucult biotechnology» Human SLPI (Нідерланди) імуноферментним методом на аналізаторі STAT-Fax 2100 (США) в відповідності з інструкціями

от производителей. Полученные результаты математически обработаны на персональном компьютере – пакет программ «SPSS for Windows», учтены параметрические критерии статистики – тест Стьюдента, достоверность считалась объективной при  $p < 0.05$

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ**

Установлены уровни SLPI в смешанной ротовой жидкости (надслизничная фракция) и в секрете околоушной слюнной железы, в сравнении с показателями в периферической крови пациентов контрольной группы (Рис. 1). Научный интерес представляет сравнительный анализ полученных данных по отношению исследуемого показателя в изучаемых физиологических жидкостях полости рта и периферической крови больных ГП, в зависимости от характера течения заболевания. Содержание SLPI в крови и содержимом полости рта ( смешанной ротовой жидкости и секрете gl. Parotis ) представлены на Рис. 1, Рис. 1'

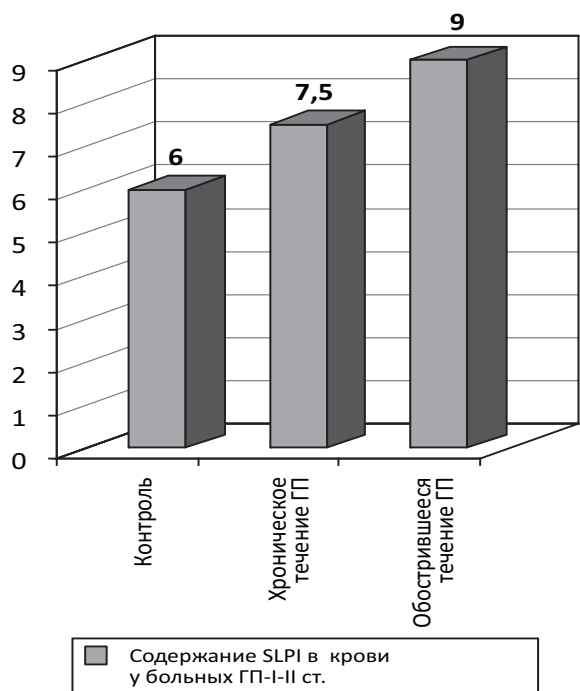


Рис .1. Содержание SLPI в периферической крови у больных ГП-I-IIст

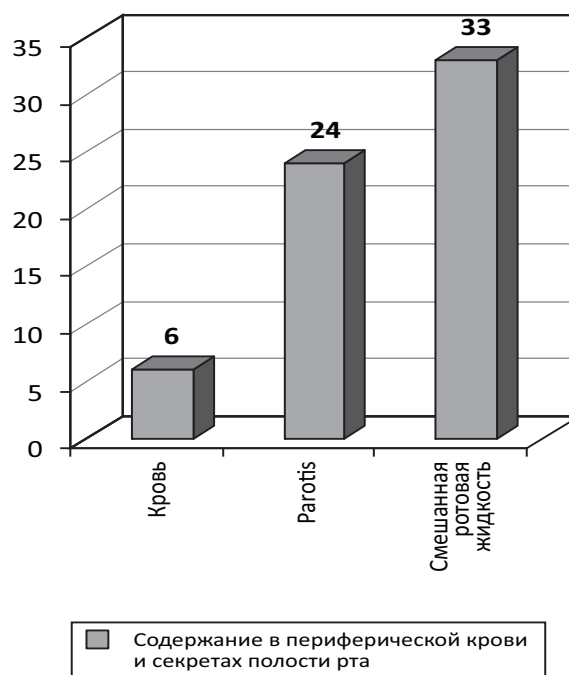


Рис. 1'. Содержание SLPI в периферической крови и секретах полости рта

Проведенные исследования показали, что у пациентов контрольной группы периферической крови уровень SLPI составляет  $5.9 \pm 0,22$  пкг/мл,  $p < 0.05$ , а в надслизничной фракции, смешанной ротовой жидкости –  $33,4 \pm 1,77$  пкг/мл,  $p < 0,05$ , и в секрете околоушной слюнной железы –  $24,8 \pm 1,19$  пкг/мл,  $p < 0,05$ . Концентра-

ция провоспалительных цитокінів ФНО $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-8 в сыворотке крови обследуемых контрольной группы не превышало общепринятые показатели нормы, что свидетельствовало об адекватности и достоверности проводимых исследований.

Исследования концентрации SLPI в периферической крови определяли у больных ГП в зависимости от степени тяжести заболевания и характера течения. Выявлено, что разница установленного уровня SLPI у пациентов ГП I или II степени заболевания, обострившегося течения не имеет достоверной статистической разницы ( $P > 0,05$ ), для определения степени развития ГП. Можно констатировать лишь тенденцию – вектор статистического изменения, в зависимости от тяжести клинических проявлений заболевания. Показатели концентрации SLPI в сыворотке крови у пациентов ГП - I степени, обострившегося течения составило  $8,99 \pm 0,41$  пкг/мл, соответственно у пациентов ГП – II степени -  $9,5 \pm 0,47$  пкг/мл  $p < 0.05$ ; что не имеет диагностической статистически достоверной разницы.

Разница концентрации SLPI в сыворотке крови у больных ГП хронического течения, в зависимости от степени дистрофически-воспалительного процесса (I или II ст.), была менее существенна, по сравнению с гомологичными данными пациентов обострившегося течения.

Установлено, что концентрация содержания SLPI в сыворотке крови у пациентов ГП I степени хронического течения составляет  $7,11 \pm 0,37$  пкг/мл, и соответственно при II ст. хронического течения –  $7,87 \pm 0,38$  пкг/мл,  $p < 0.05$ . Необходимо отметить, что разница содержания SLPI и концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови контрольной группы, по сравнению с тождественными показателями у пациентов ГП обострившегося течения, имела минимальные статистически достоверные уровни, что свидетельствовало о наличии воспалительного процесса, сопровождающегося ферментативными метаболическими проявлениями. Однако, при дифференцированном статистическом анализе полученных данных, выявить существенные различия диагностических, как избранных сравниваемых показателей, в зависимости лишь от тяжести ГП - по количеству SLPI и концентрации провоспалительных цитокинов, определяемых в периферической крови, статистически достоверно мы не выявили.

Определенная закономерность представленных данных отмечается по содержанию SLPI в периферической крови пациентов ГП и данных контрольной группы.

Достоверно статистически определяемые различия уровня провоспалительных цитокинов в периферической крови обследованных выявлены также в зависимости от характера течения заболевания: хронического или обострившегося и данными контрольной группы.

Таким образом, проведенные исследования концентрации SLPI в периферической кро-

ви пациентов ГП– I-II степени хронического и обострившегося течения, контрольной группы позволили выявить уровень секреторных лейкоцитарных ингибиторов протеаз и определить статистическую разницу содержания SLPI в зависимости, главным образом, лишь от течения заболевания, что представлено на рис. 1.

Учитывая, что протеазы SLPI имеют первоначальное и важное значение в инициации неспецифического местного иммунного ответа [13,14], существует целесообразность и необходимость изучения этого иммунологического маркера в содержимых секретах полости рта, как показателя противовоспалительных факторов активности нейтрофилов, а с другой стороны – как активатора врожденного иммунитета, а возможно приобретенного иммунного ответа.

В результате проведенного исследования установлена концентрация SLPI в секретах ротовой полости у пациентов генерализованным пародонтитом.

Состояние антипротеаз SLPI у пациентов контрольной группы составило  $33,42 \pm 1,57$  пкг/мл в смешанной ротовой жидкости (надосадочная фракция), а в секрете околоушной слюнной железы  $24,81 \pm 1,09$  пкг/мл,  $p < 0.05$ . При обострившемся течении ГП достоверно определяется снижение в 4 раза концентрации SLPI, что составляет  $8,33 \pm 2,28$  пкг/мл в смешанной ротовой жидкости, и свидетельствует об активном, деструктивном, а возможно и агрессивном, воспалительном процессе в эпителии СОПР и пародонтальных карманах, что, очевидно связано, с накоплением нейтрофильной эластазы и провоспалительных цитокинов на местном уровне. Интересны в научном плане исследования содержания SLPI в секрете околоушной слюнной железы, когда показатели концентрации антипротеаз увеличены на 10%, по сравнению с контролем, что свидетельствует о компенсаторной активации системного иммунного ответа с участием сигнальных антипротеаз, и активном их синтезом гепатоцитами.

Интересные данные зарегистрированы у пациентов с хроническим течением ГП. Так, в смешанной ротовой жидкости у ГП пациентов отмечается снижение уровня SLPI в 2 раза, по сравнению с показателями контрольной группы, что свидетельствуют о наличии и превалировании местных воспалительных ферментативных процессов; а в секрете околоушной слюнной железы – компенсаторное увеличение концентрации на 20%, что составляет  $30,7 \pm 1,6$  пкг/мл,  $p < 0,05$ . Динамика уровня SLPI в смешанной ротовой жидкости и секрете gl.Parotis у пациентов контрольной группы и больных ГП I и II степени, хронического и обострившегося течения представлены схематично на Рис. 2, Рис. 3.

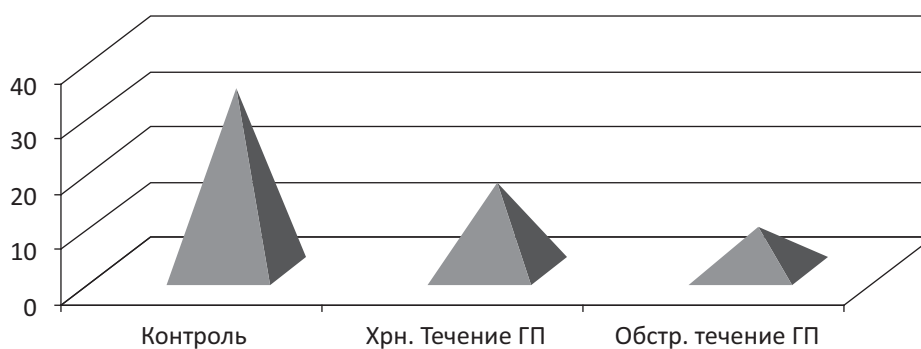


Рис.2. Содержание SLPI в смешанной ротовой жидкости у больных ГП-I-II ст.

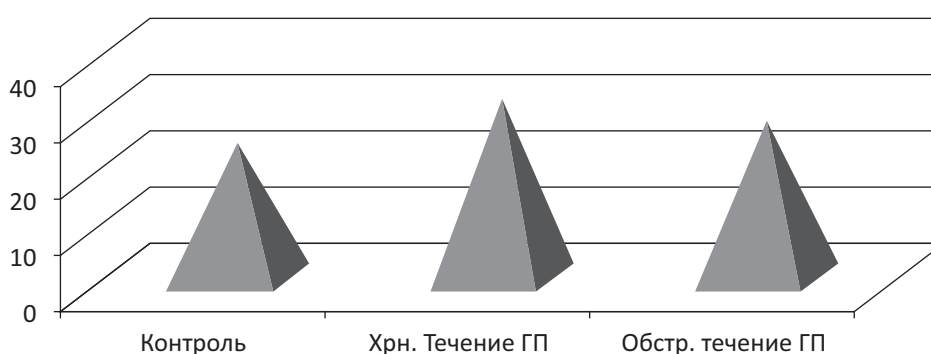


Рис.3. Содержание SLPI в секрете *gl.Parotis* у больных ГП-I-II ст.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, исследование уровня сигнальных антипротеаз SLPI, которые экспрессируются локальными клетками в ответ на присутствующее воспаление, так же как и первичные провоспалительные цитокины, являются мобильными индикаторами в функциональном отношении, фиксированного воспалительного процесса и показателями корригирующей функции системного адаптированного иммунного ответа.

Представленные исследования позволяют установить уровень SLPI у «стоматологически» здоровых пациентов и у больных ГП I-II степени, хронического и обострившегося течения. Существенные различия концентрации SLPI в изучаемых разных биологических, физиологических средах дают возможность оценить систему, ингибирующую активность ферментивного апоптоза клеток и нарушения тканей на местном уровне субстанций; определить роль и участие SLPI в поддержании функционального врожденного иммунного ответа, и контролирования локального и системного адаптированного иммунного ответа.

1. Определена статистически достоверная разница концентрации SLPI в сыворотке крови, содержимом смешанной ротовой жидкости и секрете околоушной слюнной железы пациентов генерализованным пародонтитом, в зависимости от характера течения заболевания. Это позволяет охарактеризовать систему SLPI, как достоверный информативный иммунологический маркер и может быть рекомендовано для использования в качестве диагностического и прогностического критерия характера течения воспалительно-деструктивных процессов в тканях пародонта и критерия коррекции патогенетической терапии.
2. Снижение содержания SLPI в смешанной ротовой жидкости в 4 раза у пациентов ГП I –II степени обострившегося течения и до 2 раз у пациентов ГП I –II степени хронического течения, при сохранившейся концентрации SLPI в секрете околоушной слюнной железы и ее компенсаторном повышении от 10-20%, свидетельствует об активных протеолитических процессах в пародонте, а также возмож-

ном дисбалансе клеток Th-1/Th-2 иммунного ответа в патогенезе этого заболевания.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Zadeh H.H. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis / H.H.Zadeh, F.C. Nichols // Periodontol. – 2000 1999. – 20. – P. 239-88.
2. Vitkov L. Fimbria-mediated bacterial adhesion to human oral epithelium / L.Vitkov, W.D.Krautgartner, M.Hannig // FEMS Microbiol Lett. – 2001. – 202. – P.25-30.
3. Kantarzi A. Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis / A.Kantarzi, T.E.Van Dyke // J Periodontal. – 2003. – 74. – P.66-75.
4. Gemmall E. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases / E.Gemmall, G.J.Seymour // J. Dent Res. – 1998. – 77. – P.16-26.
5. Gemmall E. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal diseases / E.Gemmall, R.I.Marshall, G.J.Seymour // Periodontal. – 2000 1997. – 14. – P.112-43.
6. Mosmann T.R. The expanding universe of T cell subsets – Th1, Th2, and more / T.R.Mosmann, S.Sad // Immunol Today. – 1996. – 17. – P.138-46.
7. Zhang J. Evidents for the earlier onset of gingival inflammation following short-term plaque accumulation / J.Zhang, S.Kashket, P.Lingstrom // J Clin Periodontal. – 2002. – 29. – P.1082-85.
8. Yomoto H. Interleukin – 6 (IL–6), and IL–8 are induced in human oral epithelial cells in response to exposure to periodontopathic *Eikenella corrodens* / H.Yomoto, H.Nakae, et al. // Infect Immun. – 1999. – 67. – P.384-394.
9. Ikeda K. Clinical significance of antibodies to TSI-RNA in patients with mixed connective tissue disease / K.Ikeda, Y.Takasaka et al. // J Rheumatol. – 2003. – 30(5). – P.998-1005.
10. Hemestra P.S. Antimicrobial peptides: mediators of innate immunity as templates for the development of novel anti-infective and immune therapeutics / P.S.Hemestra, P.J.Lachmann, et al // Curr. Pharm. Des. – 2004. – 10. – P.2891-2905.
11. Pfundt R. TNF- $\alpha$  and serum induce SKALP in human keratinocytes / R.Pfundt, M.Wingens, M.Bergers, M.Zweers, et al. // Arch. Dermatol. Res. – 2000. – 292. – P.180-87.
12. Fernie King B.A. Streptococcal inhibitor of complement inhibits two additional components of the mucosal innate immune system: secretory leukocyte proteinase inhibitor and lysozyme / B.A.Fernie King, D.J.Seilly, A.Davies // Infect. Immun. – 2002. – 70. – P.4908-16.
13. Sumi Y. Secretory leukocyte protease inhibitor is a novel inhibitor of fibroblast-mediated collagen gel contraction / Y.Sumi, K.Hata, M.Ueda, et al. // Exp. Cell Res. – 2000. – 256. – P. 203-12.
14. Yang D. The neutrophil granule and epithelial cell-derived cathelicidin, FPRL1 as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes and T cells / D.Yang, Q.Chen., et al // J Exp.Med. – 2000. – 192. – P.1069-74.
15. Мащенко И.С. Интерлейкины при генерализованном пародонтите / И.С.Мащенко // Вісник стоматології.– 2002.–№1.–С.15-18.

### РЕЗЮМЕ

#### ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ SLPI ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОМУ ПАРОДОНТИТІ

Сергеева І.Є.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

У роботі представлені результати комплексно-го клініко-імунологічного обстеження 69 пацієнтів генералізованим пародонтитом I, II ст. тяжкості хронічного і загострення перебігу, і 21 – контрольної групи. Встановлено рівні SLPI в різних біологічних рідинах-сироватці крові, змішаній ротовій рідині і секреті гл. Parotis здорових людей, і у хворих генералізованим пародонтитом. Виявлено, що концентрація SLPI в змішаній ротовій рідині має диференціально-діагностичне значення в залежності від характеру перебігу ГП, при “відносній” стабілізації змісту цього показника в секреті привушної слинної залози.

### SUMMARY

#### REGARDING DIAGNOSTICS OF SLPI IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS

Sergeeva I. E.

National medical university ac. A. A. Bogomoltsa

The article has presented the results of complex immunological evaluation of 69 patients with generalized periodontitis disease, acute and chronic inflammatory flowing and 21 conventionally healthy people. It's established the concentration and levels of SLPI in physiological liquid in blood serum, mix oral secrete, saliva and secrete of glandula Parotis, in control group and patients with generalized periodontitis. As a result, the researches allowed exposing characteristic changes of level SLPI in mix oral secrete among patients with different chronic and acute flowing disease. It's expedient to draw on got results at determination of activity of flowing disease as diagnostics and differential response of immune activity. The manifestation of SLPI in secrete of glandula Parotis hasn't characteristic, distinctive changes according to stage and flowing generalized periodontitis.