

УДК: 577.175.1 + 616.15 + 616.314.17 - 008.1 + 615.356

Мельничук Г.М.

Івано-Франківський національний медичний університет,
каф. дитячої стоматології (зав. – проф. Г.М. Мельничук)
G.M. Melnychuk

Зміни в цитокіновому спектрі сироватки крові на фоні комплексного лікування генералізованого пародонтиту із застосуванням спіруліни

Changes in Cytokine Spectrum of Blood Serum Against the Background of Complex Treatment of Generalized Periodontitis with the Use of Spirulina

Резюме У 26 хворих на генералізований пародонтит хронічного і 26 загостреного перебігу та 10 здорових досліджували цитокіновий спектр сироватки крові імуноферментним методом до і після комплексного лікування. Встановлено достовірне підвищення вмісту прозапальних цитокінів ФНП- α , ІФН- γ , ІЛ-12 і зниження кількості протизапального ІЛ-4. Після лікування 21 хворого на генералізований пародонтит початкового і I ступеня із використанням Спіруліни відбулася регуляція цих показників, які стали кращими, ніж у здорових. До і після лікування виявлена індивідуальна мінливість показників рівня цитокінів у сироватці крові.

Summary The cytokine spectrum of blood serum was studied by enzyme-linked immuno sorbent assay in 26 patients with chronic generalized periodontitis, 26 patients with exacerbation and 10 healthy people before and after complex treatment. It was detected the reliable increase in pro-inflammatory cytokines TNF- α , IFN- γ , IL-12 and decrease the number of anti-inflammatory IL-4. After treatment of 21 patients with generalized periodontitis of initial and I degree with the use of Spirulina was the regulation of these indexes which become better than in healthy people. The individual variability of cytokine indexes in blood serum had been detected before and after treatment.

Ключові слова генералізований пародонтит, цитокіни, сироватка крові, Спіруліна

Key words generalized periodontitis, cytokines, blood serum, Spirulina

Генералізований пародонтит (ГП), як і будь який інший імунозапальний патологічний процес, супроводжується змінами цитокінового профілю. Провідними прозапальними цитокінами визнано цитокіни першої хвилі – ІЛ-1 і ФНП [4, 11]. Прозапальний цитокін ІФН- γ (ІФН II типу) характеризує хронічне запалення і разом із ІЛ-1 та ФНП- α відіграє центральну роль у його розвитку [12, 13]. Профлогістичний цитокін ІЛ-12 – один із основних прозапальних цитокінів другої хвилі [9, 10]. Стримують деструктивно-запальний процес у пародонті у першу чергу ІЛ-4 та ІЛ-10 [3, 14]. Властивості вищевказаних цитокінів спонукали нас до їх вивчення у такому поєднанні для встановлення деяких патогенетичних механізмів ГП [5-8].

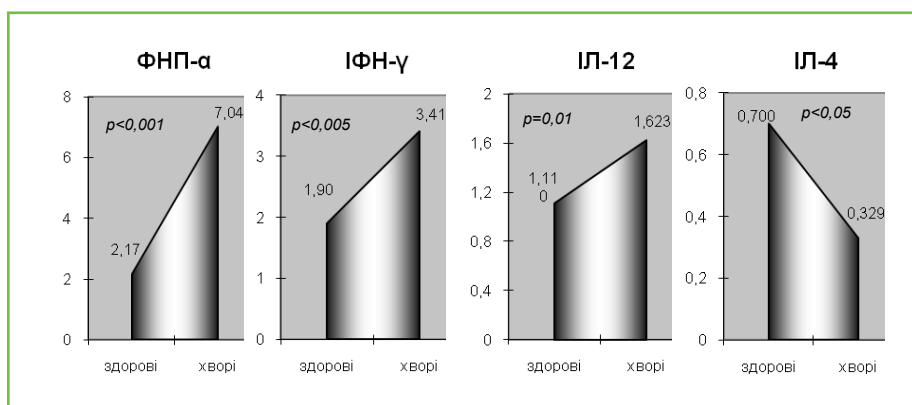
Традиційне протимікробне і протизапальне лікування ГП не забезпечує корекції дистрофічних змін у комірковому відростку, тому дуже актуальним є застосування препаратів, які сприяють нормалізації метаболічних процесів у тканинах пародонту, мають антиоксидантні, адаптогенні та імуномодельючі властивості [1, 2]. У зв'язку з цим метою нашого дослідження є вивчення змін цитокінового профілю крові під впливом комплексного лікування із використанням вітаміно-мікроелементного, антиоксидантного, адаптогенного та імуномодельючого препарату спіруліна.

Матеріал і методи дослідження

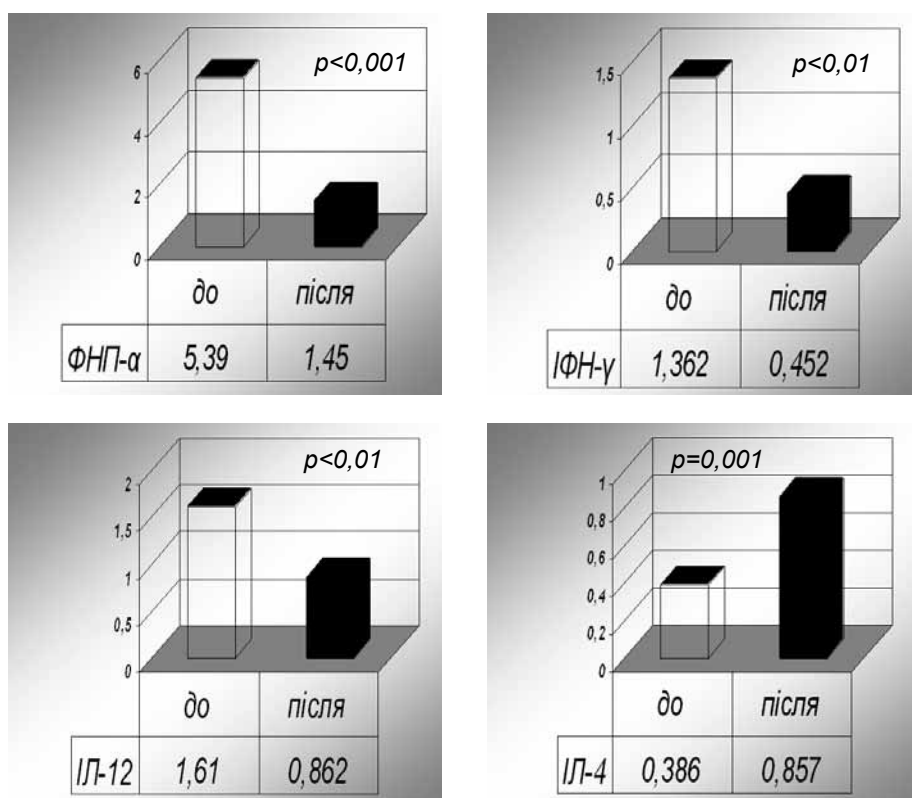
Обстежено 52 хворих на генералізований пародонтит: 26 – із хронічним

і 26 – із загостреним перебігом захворювання всіх ступенів розвитку, а також 10 осіб з інтактним пародонтом віком 18-44 роки, без супутньої патології.

Ротову рідину пацієнтів збирали з 8:00 до 10:00 години ранку, натще, в кількості 0,5 мл. Її поміщали в спеціальні пробірки для кожного цитокіну окремо, заморожували і зберігали в морозильній камері. Після збору всі зразки транспортували в міжкафедральну науково-практичну імуноферментну лабораторію ІФНМУ. Окремо для кожного показника набір зразків одномоментно розморожували. Вміст цитокінів ФНП- α , ІФН- γ , ІЛ-12 та ІЛ-4 у ротовій рідині визначали імуноферментним методом за методиками фірми-виробника «Diabeb» (Франція) з використанням реактивів



Мал. 1. Вміст цитокінів у сироватці крові здорових і хворих на генералізований пародонтит (пг/мл)



Мал. 2. Вплив комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит основної групи на показники вмісту цитокінів у сироватці крові (пг/мл)

її виробництва і аналізатора STAT FAX 303 PLUS.

Комплексне лікування генералізованого пародонтиту проведено у 21 хворого на ГП початкового – І ступеня. Усім пацієнтам проводили санацію порожнини рота, усували зубні відкладення, за показанням здійснювали закритий кюретаж. Для антисептичної обробки і полоскання порожнини рота використовували 3% розчин перекису водню та 0,05% розчин хлоргексидину біглюконату. Пацієнтів навчали догляду за порожниною рота. У пародонтальні кишені вводили суміші гранул спіруліни (ХФЗ «Червона Зірка», м. Харків) та порошку ентеросорбенту «Силлард П» (1:1), змішаних на 0,05% розчині хлоргексидину біглюконату, утримували 20-25 хв. Курс лікування становив 6-8 процедур. Пацієнти прийма-

ли гранули спіруліни по 1,0 г 3 рази на добу протягом 4 тижнів.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали в електронних таблицях у форматі Microsoft Excel, використовували t-критерій Ст'юдента, реалізований в пакеті «STATISTICA-6».

Результати досліджень та їх обговорення

Нами встановлено, що кількість ФНП-α, ІФН-γ, ІЛ-12 та ІЛ-4 у сироватці крові хворих на ГП суттєво змінюється (мал. 1). Так, рівень ФНП-α зростав у 3,24 (p<0,001) раза. Подібні зміни спостерігали і стосовно цитокіну ІФН-γ, концентрація якого підвищувалася в 1,79 (p<0,005) раза. Схожі закономірності виявлено нами і щодо ІЛ-12: вихід його у систему циркулюючої крові у хворих на ГП зростав у 1,46

(p=0,01) раза. Обернену закономірність встановлено для ІЛ-4: кількість цього цитокіну знижується в 2,13 (p<0,05) раза.

Комплексна терапія хворих на ГП із використанням спіруліни сприяла змінам у цитокіновій ланці імунітету (мал. 2). Завдяки лікуванню рівень ФНП-α у сироватці крові знижувався у 3,72 (p<0,001) раза. Вміст ІФН-γ зменшувався у 3,01 (p<0,01) раза, а ІЛ-12 – у 1,87 (p<0,01) раза. Позитивна дія лікувальних заходів полягала також у тому, що кількість ІЛ-4 у сироватці крові зростала із 0,386±0,07 до 0,857±0,11 пг/мл, тобто в 2,22 (p=0,001) раза. Таким чином, під впливом розробленого нами медикаментозного комплексу успішно усували дисбаланс у системі цитокінів. Наші попередні дослідження встановили значну розбіжність даних вмісту

цитокінів у сироватці крові усередині вибірки [6]. Це спонукало нас визначити відсоток зсуву вивчених цитокінів у кожного хворого окремо як до, так і після лікування (табл. 1). Так, у одного пацієнта (10%) за ГП хронічного перебігу у сироватці крові він був меншим, ніж у здорових ($2,17 \pm 0,50$ пг/мл), і становив $1,9$ пг/мл. У трьох хворих (30%) рівень ФНП-а був помірно підвищеним (від $2,6$ до $3,7$ пг/мл). У 30% обстежених показник вмісту цього цитокіну коливався в межах $7,0-8,9$ пг/мл, тобто був максимально високим, у решти (30%) – середньо високим (від $5,4$ до $6,6$ пг/мл). Під дією терапії з використанням спіруліни у 90% пацієнтів рівень ФНП-а знизився, а середній відсоток зсуву становив $-61,22\%$. У разі ГП загостреного перебігу низьких і незначно підвищених рівнів ФНП-а у

сироватці крові хворих ми не виявили, всі показники були достатньо високими. Лікування сприяло зниженню вмісту ФНП-а у всіх пацієнтів, а відсоток зсуву становив $-78,38\%$. За отриманими даними (табл. 2) відсоток зсуву цитокіну ІФН-γ у впливом комплексної терапії з використанням спіруліни був високим в обох біологічних рідинах. До лікування у 60% хворих на ГП хронічного перебігу рівень сироваткового ІФН-γ був нижчим, ніж у здорових ($0,660 \pm 0,34$ пг/мл), але у 40% – дуже підвищеним (від $1,2$ до $3,7$ пг/мл). Після лікування у 40% хворих даний показник не виявляли взагалі, у 20% пацієнтів він не змінювався, у решти – значно зменшувався. Відсоток зсуву в середньому становив $-63,44\%$. У хворих на ГП загостреного перебігу рівень ІФН-γ, нижчий за показник у здоро-

вих, зафіксовано у чотирьох пацієнтів ($36,36\%$); у всіх інших обстежених він був значно вищим. Після терапії виявили зниження вмісту ІФН-γ у всіх хворих, при цьому в $27,27\%$ його не виявляли взагалі. Зсув даного показника після завершення лікування становив $-71,63\%$. Показник рівня ІЛ-12 у сироватці крові 40% хворих на ГП хронічного перебігу був близьким до аналогічного в осіб з інтактним пародонтом ($1,110 \pm 0,15$ пг/мл), а у 40% пацієнтів був значно підвищеним (табл. 3). Внаслідок лікування вміст ІЛ-12 зменшився у всіх пацієнтів, причому у 60% він був особливо низьким. Загальний відсоток зсуву отриманого рівня ІЛ-12 у середньому становив $-43,10\%$. У випадку загостреного перебігу захворювання лише в одного пацієнта ($9,09\%$) показник ІЛ-12 був нижчим

Таблиця 1. Динаміка зсуву показників ФНП-а у хворих на генералізований пародонтит початкового і I ступеня важкості під впливом комплексного лікування

№ дослідження	Сироватка крові, пг/мл					
	ГП хронічного перебігу		% зсуву	ГП загостреного перебігу		% зсуву
	до	після		до	після	
1	8,9	2,9	-67,42	9,0	1,2	-86,67
2	7,0	2,3	-67,14	5,6	0,3	-94,64
3	3,4	0,2	-94,12	8,7	2,3	-73,56
4	5,4	1,0	-81,48	4,1	1,1	-73,17
5	1,9	2,0	5,26	4,7	1,7	-63,83
6	6,6	1,6	-75,76	3,8	0,6	-84,21
7	5,4	1,1	-79,63	5,1	0,7	-86,27
8	2,6	2,5	-3,85	5,7	2,7	-52,63
9	8,6	3,3	-61,63	4,8	2,4	-50,0
10	3,7	0,5	-86,49	4,6	0	-100,0
11				3,5	0,1	-97,14
Σ	5,35	1,74	-61,22	5,42	1,19	-78,38

Таблиця 2. Динаміка зсуву показників ІФН-γ у хворих на генералізований пародонтит початкового і I ступеня важкості під впливом комплексного лікування

№ дослідження	Сироватка крові, пг/мл					
	ГП хронічного перебігу		% зсуву	ГП загостреного перебігу		% зсуву
	до	після		до	після	
1	0,1	0	-100,0	1,7	0,5	-70,59
2	1,6	0,6	-62,50	0,4	0	-100,0
3	0,4	0	-100,0	4,4	1,8	-59,09
4	0,2	0	-100,0	1,2	0	-100,0
5	0,1	0,1	0	3,2	1,1	-65,63
6	0,2	0,2	0	0,4	0,1	-75,0
7	3,7	1,6	-56,76	1,5	1,0	-33,33
8	0,1	0	-100,0	0,6	0,4	-33,33
9	2,2	1,5	-31,82	2,7	0	-100,0
10	1,2	0,2	-83,33	0,5	0,2	-60,0
11				2,2	0,2	-90,91
Σ	0,980	0,420	-63,44	1,709	0,482	-71,63

за аналогічний у здорових. Завдяки терапії було досягнуто значного зменшення кількості ІЛ-12 в усіх обстежених, а у 72,73% (восьми хворих) ці значення були особливо низькими. Порівняння даних до і після лікування кожного окремого пацієнта виявило, що найвищий відсоток зсуву становив -70,59%, найнижчий – -28,57%, а середнє значення цього показника дорівнювало -47,91%.

Вихідний рівень ІЛ-4 у сироватці крові був значно зниженим у восьми (80%) із десяти пацієнтів за ГП хронічного перебігу, а в одного хворого не визначався взагалі (табл. 4). Завдяки комплексній терапії абсолютно у всіх пацієнтів він підвищувався, причому у 60% хворих цей показник ставав більшим, ніж у здорових. Відсоток зсуву був у межах +36,36% – +300%, а в середньому – +142,37%.

Подібні зміни виявлено відносно вмісту ІЛ-4 у сироватці крові хворих на ГП загостреного перебігу до лікування (в одного пацієнта ІЛ-4 був істотно збільшеним порівняно зі здоровими, а ще в одного не визначався взагалі). Використання спіруліни сприяло зростанню даного показника у всіх пацієнтів, найбільше – у 45,45% хворих. Проте індивідуальний діапазон зсуву рівня ІЛ-4 мав ще більший, ніж у разі ГП хронічного перебігу розмах і коливався від +20,0% до +500,0%, а в середньому становив +166,05%.

Аналізуючи отримані дані, бачимо, що порушення цитокінового балансу, виявлене у сироватці крові хворих на ГП, успішно корегується запропонованим нами способом лікування із використанням спіруліни, сорбенту і антисептика. Індивідуальна відмінність показників вмісту цитокінів у

сироватці крові, встановлена нами до лікування, зберігалася і після комплексної терапії ГП.

Висновки

1. У сироватці крові хворих на ГП достовірно підвищується вміст прозапальних цитокінів ФНП- α , ІФН- γ , ІЛ-12 і знижується кількість протизапального ІЛ-4.

2. Під впливом лікування із застосуванням спіруліни різко зменшується експресія профлогістичних цитокінів і підвищується утворення антифлогістичного ІЛ-4. Показники вмісту цитокінів після лікування ставали кращими, ніж у здорових.

3. Вивчаючи зміни рівня цитокінів у хворих на ГП, необхідно аналізувати відсоток зсуву даних, отриманих завдяки комплексному впливу, не лише

№ дослідження	Сироватка крові, пг/мл					
	ГП хронічного перебігу		% зсуву	ГП загостреного перебігу		% зсуву
	до	після		до	після	
1	1,0	0,4	-60,0	1,3	0,6	-53,85
2	1,1	0,8	-27,27	1,5	0,7	-53,33
3	1,1	0,8	-27,27	2,0	1,3	-35,0
4	2,0	1,2	-40,0	1,4	1,0	-28,57
5	1,4	0,7	-50,0	1,2	0,7	-41,67
6	1,1	0,9	-18,18	1,4	0,6	-57,14
7	2,5	1,2	-52,0	0,9	0,3	-66,67
8	2,9	1,2	-58,62	2,8	1,3	-53,57
9	2,1	1,4	-33,33	1,5	1,2	-20,0
10	1,4	0,5	-64,29	1,5	0,8	-46,67
11				1,7	0,5	-70,59
Σ	1,66	0,91	-43,10	1,56	0,82	-47,91

Таблиця 3. Динаміка зсуву показників ІЛ-12 у хворих на генералізований пародонтит початкового і I ступеня важкості під впливом комплексного лікування

№ дослідження	Сироватка крові, пг/мл					
	ГП хронічного перебігу		% зсуву	ГП загостреного перебігу		% зсуву
	до	після		до	після	
1	0,1	0,4	+300,0	0	0,3	–
2	0,3	0,9	+200,0	0,3	0,8	+166,67
3	0,1	0,4	+300,0	0,3	1,8	+500,0
4	0,5	0,7	+40,0	0,3	1,6	+433,33
5	0,5	0,9	+80,0	0,3	0,4	+33,33
6	0,6	0,9	+50,0	0,3	0,7	+133,33
7	1,1	1,5	+36,36	0,2	0,3	+50,0
8	0,4	1,0	+150,0	1,4	2,2	+57,14
9	0	0,6	–	0,5	0,6	+20,0
10	0,4	0,9	+125,0	0,3	0,5	+66,67
11				0,2	0,6	+200,0
Σ	0,4	0,82	+142,37	0,37	0,89	+166,05

Таблиця 4. Динаміка зсуву показників ІЛ-4 у хворих на генералізований пародонтит початкового і I ступеня важкості під впливом комплексного лікування

у всієї групи загалом, але й у кожного пацієнта зокрема.

4. Антиоксидант, адаптоген та імунomodulatory спіруліна може успішно

використовуватися для терапії ГП, оскільки має патогенетичний вплив як на дистрофічний, так і на запальний компонент захворювання.

Перспективою подальших досліджень є вивчення впливу комплексного лікування на регуляцію цитокінового спектра ротової рідини.

Література

1. Биологически активные добавки и биопродукты / Глав. ред. П.А. Карпенко; ред. А.С. Лесник, С.В. Фус. — К.: Нора-Принт, 2000. — 165 с.
2. Карпенко П.А. Загальні принципи використання біологічно активних добавок в профілактичній та клінічній медицині / А.П. Карпенко // Журн. практ. лікаря. — 2001. — №6. — С. 84-86.
3. Комплексное изучение механизмов развития хронического воспаления при пародонтите / Т.П. Иванюшко, Л.В. Ганковская, Л.В. Ковальчук [и др.] // Стоматология. — 2000. — №4. — С. 13-16.
4. Машенко И.С. Цитокиновый статус больных генерализованным пародонтитом и его связь с состоянием процессов метаболизма костной ткани / И.С. Машенко, А.А. Гударьян // Укр. стомат. альманах. — 2005. — №2. — С. 5-8.
5. Мельничук Г.М. Патогенетическое значение цитокинов крови в развитии генерализованного пародонтита / Г.М. Мельничук // Соврем. стомат. — 2006. — №1. — С. 55-57.
6. Мельничук Г.М. Рівень цитокінів у сироватці крові у хворих на генералізований пародонтит / Г.М. Мельничук // Укр. мед. часопис. — 2005. — №3/47. — С. 104-106.
7. Політун А.М. Комплексне вивчення про- та протизапальних цитокінів слини при генералізованому пародонтиті / А.М. Політун, Г.М. Мельничук // Дентальні технології. — 2006. — №1-2 (26-27). — С. 4-6.
8. Політун А.М. Особливості цитокінової ланки імунітету у хворих на генералізований пародонтит / А.М. Політун, Г.М. Мельничук // Інноваційні технології – в стоматологічну практику: Матер. III(X) з'їзду Асоціації стоматологів України. — Полтава: Дивосвіт. — 2008. — С.211-212.
9. Система цитокинов, комплемента и современные методы иммунного анализа / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская, М.В. Хорева, Е.В. Соколова. — М.: Медицина, 2001. — 158 с.
10. Фрейдлин И.С. Интерлейкин-12 — ключевой цитокин иммунорегуляции / И.С. Фрейдлин // Иммунология. — 1999. — №4. — С. 5-9.
11. Deschner J. Полиморфизм интерлейкина-1. Его значение и определение в пародонтологии / J. Deschner // Квинтэссенция. — 2003. — №4. — С. 51-58.
12. Graves D.T. The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression / D.T. Graves // Clin. Infect. Dis. — 1999. — Vol. 28, №3. — P. 482-490.
13. Interleukin-1 α , Interleukin-8, Interferon- α levels in gingival crevicular fluid / A. Mathur, B. Michalowich, A. Castillo, D. Aeppli // J. of Periodontal Research. — 1996. — Vol.31, №1. — P. 489-495.
14. Markovic D. Current knowledge on resorption of the edentulous alveolar ridge / D. Markovic, M. Krstic // Med. Pregl. — 1999. — Vol.52, №9-10. — P. 357-361.