

УДК 616.314.18-002.4-031.81-018.74-008.64:612.017

С.П. Ярова, А.Д. Желдакова

## РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ЦИТОКІНОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ В РОЗВИТКУ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНОМУ ПАРОДОНТИТІ

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Сучасні принципи лікування генералізованого пародонтиту базуються на знанні основних ланок його патогенезу [1, 2]. Відомо, що в першу чергу розвиток дистрофічно-запального процесу пов'язують із судинними порушеннями тканин пародонта [3, 4]. Доведено, що провідну роль у регуляції судинного тону, підтриманні структури судинної стінки, судинної проникності, регуляції адгезії тромбоцитів відіграє ендотелій [5]. Ендотелій – це основний компонент інтими судин, який має високу метаболічну і секреторну активність. У нормі на будь-який вплив ендотелій відповідає універсальною реакцією – продукуванням NO. Дисфункція ендотелію є обов'язковим компонентом патогенезу практично будь-якого запального процесу, включаючи хронічний генералізований пародонтит. Установлено, що при ендотеліальній дисфункції формується дисбаланс гіперпродукції факторів, які сприяють вазоконстрикції, над факторами, які ініціюють вазодилатацію. Така дисфункція потенціює вазоспазм, тромбоз, пенетрацію макрофагів та клітинну проліферацію, що по суті є запальним процесом і призводить до розвитку атеросклерозу [6, 7]. З іншого боку, встановлено, що морфофункціональна дезорганізація ендотелію і серйозні розлади мікроциркуляції при запальному процесі, в тому числі в тканинах пародонта, пов'язані з дією цитокінів [8]. Цитокіни секретуються в основному клітинами крові та імунної системи (поліморфоядерними лейкоцитами, макрофагами, лімфоцитами) і виконують аутокринну (на клітині, що їх продукує), паракринну (на клітині в мікрооточенні) та ендокринну (на віддалені клітини) дію. При цьому вони взаємодіють один з одним за антагоністичним і агоністичним принципами і формують у організмі цитокінову сітку [9]. Цитокіни контролюють процес ангиогенезу, процеси регенерації, метаболічні та ін. В останні десятиріччя встановлена роль цитокінів у розвитку імунологічних і запальних реакцій при пародонтиті [10-14]. Неадекватний локальний викид прозапальних цитокінів перетворює захисні механізми в патологічні, некеровані, що викликає ушкодження тканин пародонта і резорбцію кістки [15].

Ураховуючи вищесказане, метою нашого дослідження стало встановлення ролі порушень цитокінової регуляції в розвитку ендотеліальної дисфункції у хворих на генералізований пародонтит шляхом вивчення взаємозв'язку про- і протизапальних цитокінів із показниками системи окису азоту.

### Об'єкт і методи дослідження.

Для вирішення поставлених у роботі завдань обстежено 124 пацієнти віком від 25 до 40 років із діагнозом генералізованого пародонтиту I і II ступенів тяжкості, хронічного перебігу. З метою порівняння досліджуваних параметрів було обстежено 28 пацієнтів того ж віку без соматичної та пародонтологічної патології (здорові). Остаточний діагноз хвороби встановлювали на підставі даних клінічного огляду, рентгенографії, визначення об'єктивних пародонтальних проб за систематикою хвороб пародонта М.Ф. Данилевського (1994). Клінічне обстеження і комплексне лікування хворих проводили в стоматологічному відділенні навчально-науково-лікувального комплексу „Університетська клініка” Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Забір ротової рідини (РР) для лабораторних досліджень проводили вранці натщесерце шляхом спльовування в мірні центрифужні пробірки об'ємом 5 мл.

Стан цитокінової регуляції визначали за вмістом у ротовій рідині ряду інтерлейкінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНО $\alpha$ , ІЛ-4) методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційних наборів реагентів «ProCon ІЛ-1 $\beta$ », «ProCon ІЛ-6», «ProCon ФНО $\alpha$ », «ProCon ІЛ-4» (ООО „Протеиновый контур”, С.-Петербург). За допомогою спектрофотометра вимірювали оптичну щільність за заданою довжиною хвилі. На підставі отриманих даних будували калібрувальні криві для відповідних цитокінів і обчислювали результати за допомогою аналізатора «ELx800 Universal Microplate Reader» («BIO-TEK INSTRUMENTS.INC»).

Стан системи NO оцінювали за вмістом кінцевих продуктів його метаболізму – нітритів (NO $_2$ ) із застосуванням реактиву Грися. Рівень сечовини (продукт розщеплення аргініну, що є попередником NO) в РР визначали за допомогою комерційного набору «Біо-Ла-Тест» (Брно, Чехія) із застосуванням спектрофотометра «Specord 200 PC» при довжині хвилі 540 нм. Радіоімунним методом у ротовій рідині визначали вміст продукту метаболізму NO – циклічного гуанінмонофосфату (сGMP) за допомогою стандартних комерційних наборів реактивів фірми «Amersham Biosciences» (Великобританія).

Отримані цифрові дані обробляли варіаційно-статистичними методами аналізу на персональ-



ному комп'ютері «IBM PC» (ліцензійні програми «Microsoft Excel» і «Statistica 5.5A»). Для кожної вибіркової сукупності спостережень (n) обчислювали середнє арифметичне значення (M), середнє квадратичне (стандартне) відхилення (S), середню квадратичну похибку середнього значення (m), 95% довірливий інтервал істинного середнього значення, використовуючи t-критерій Ст'юдента. Обчислювали рівень значимості відмінностей середніх значень показника в незалежних вибірках (p) за функцією розподілу t-критерію Ст'юдента: при  $p < 0,05$  – відмінності значимі; при

$p > 0,05$  – відмінності незначимі. Лінійний зв'язок між двома змінними оцінювали за допомогою однофакторного кореляційного аналізу з підрахунком коефіцієнта парної кореляції Пірсона.

### Результати дослідження.

Результати дослідження стану цитокинової регуляції за вмістом ряду інтерлейкінів - ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНО $\alpha$ , ІЛ-4 - у ротовій рідині пацієнтів з інтактним пародонтом та у хворих на ГП I і II ступенів тяжкості представлені в табл. 1

Таблиця 1  
Показники стану цитокинової регуляції в ротовій рідині обстежених пацієнтів (M $\pm$ m)

Показники \ Групи	Здорові пацієнти (n=28)	Хворі на ГП (n=124)	Хворі на ГП	
			I ст. тяжкості (n=46)	II ст. тяжкості (n=78)
ІЛ-1 $\beta$ (пкг/мл)	184,8 $\pm$ 10,4	311,6 $\pm$ 12,6*	266,8 $\pm$ 11,0*	356,5 $\pm$ 9,8* <sup>^</sup>
ІЛ-6 (пкг/мл)	6,2 $\pm$ 0,6	18,6 $\pm$ 2,8*	16,6 $\pm$ 1,7*	20,5 $\pm$ 2,0* <sup>^</sup>
ФНО $\alpha$ (пкг/мл)	56,8 $\pm$ 4,3	145,9 $\pm$ 11,0*	121,4 $\pm$ 16,3*	170,5 $\pm$ 14,0* <sup>^</sup>
ІЛ-4 (пкг/мл)	18,9 $\pm$ 1,2	5,6 $\pm$ 0,3*	6,8 $\pm$ 0,9*	4,4 $\pm$ 0,8* <sup>^</sup>

Примітка: \* -  $p < 0,05$  проти відповідних значень показника в здорових пацієнтів;  
<sup>^</sup> -  $p < 0,05$  при порівнянні відповідних значень показника залежно від ступеня тяжкості.

Як видно з таблиці, вміст усіх досліджуваних параметрів вірогідно відрізняється в здорових пацієнтів та у хворих на ГП ( $p < 0,05$ ). При цьому значення ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНО $\alpha$  перевищували відповідні значення в пацієнтів з інтактним пародонтом; значення ІЛ-4 було вірогідно меншим у порівнянні з таким у здорових осіб ( $p < 0,05$ ). Так, рівень у ротовій рідині хворих на ГП прозапального ІЛ-1 $\beta$  перевищував такий у групі порівняння (здорові пацієнти), в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ), що свідчить про ініціацію цитокинового каскаду в тканинах пародонта при дистрофічно-запальному процесі. Підтвердженням цього є значне зростання вмісту в РР хворих на ГП інших прозапальних цитокинів – ІЛ-6 та ФНО $\alpha$  відповідно в 3,0 і 2,57 рази в порівнянні з такими в пацієнтів з інтактним пародонтом ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що вміст ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та ФНО $\alpha$  вірогідно відрізняється залежно від ступеня тяжкості патологічного процесу ( $p < 0,05$ ). При цьому, чим значнішими були дистрофічно-запальні порушення в пародонті, тим значнішими були підвищення прозапальних цитокинів, а саме: при II ступені тяжкості ГП їх вміст у ротовій рідині, в середньому, в 1,3 раз перевищував відповідні значення при I ступені тяжкості захворювання ( $p < 0,05$ ).

Різноманітною була динаміка протизапального цитокину – ІЛ-4- у бік вірогідно нижчих значень у хворих на ГП у порівнянні з такими в пацієнтів з інтактним пародонтом, що є несприятливою ознакою, бо призводить до неконтрольованого продукування прозапальних цитокинів. Так, у хворих на ГП цей показник був нижчим за такий у здорових у 3,4 рази ( $p < 0,05$ ). Це свідчить про по-

рушення в системі цитокинової регуляції при дистрофічно-запальному процесі в тканинах пародонта. Слід зазначити, що вміст ІЛ-4 вірогідно відрізняється залежно від ступеня тяжкості патологічного процесу ( $p < 0,05$ ). При цьому, чим більш значними були дистрофічно-запальні порушення в пародонті, тим більш значними були порушення цього показника, а саме: при II ступені тяжкості ГП вміст ІЛ-4 в ротовій рідині був нижчим за такий при I ступені тяжкості захворювання в 1,5 рази ( $p < 0,05$ ).

Отже, порівняльний аналіз вмісту в ротовій рідині про- (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та ФНО $\alpha$ ) і протизапального (ІЛ-4) цитокинів у пацієнтів з інтактним пародонтом та у хворих на ГП I і II ступенів тяжкості вказує на порушення системи цитокинової регуляції за рахунок недостатньої функції протизапальних інтерлейкінів при дистрофічно-запальному процесі в пародонті, що призводить до неконтрольованої продукції ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 і ФНО $\alpha$  та інших прозапальних цитокинів.

Результати дослідження стану системи NO за рівнем у ротовій рідині окису азоту (NO $_2$ ), сечовини і циклічного гуанінмонофосфату (сGMP) у пацієнтів з інтактним пародонтом та у хворих на ГП I і II ступенів тяжкості представлені в табл. 2. Як видно з таблиці, вміст усіх досліджуваних продуктів метаболізму NO вірогідно відрізняється в здорових пацієнтів та у хворих на ГП ( $p < 0,05$ ). Так, рівень у ротовій рідині окису азоту NO $_2$  перевищує такий у групі порівняння в 1,3 раз, рівень сечовини та сGMP – в 1,2 раз ( $p < 0,05$ ), що свідчить про порушення стану системи NO при дистрофічно-запальному процесі в тканинах пародонта. Крім



того, слід зазначити, що досліджувані параметри вірогідно відрізняються залежно від ступеня тяжкості патологічного процесу ( $p < 0,05$ ). При цьому, чим більш значні порушення в пародонті, тим значніші порушення показників системи NO, а саме:

при II ступені тяжкості ГП рівень NO<sub>2</sub>, сечовини та циклічного гуанінмонофосфату в ротовій рідині, в середньому, в 1,2 раз вищий відповідного значення при I ступені тяжкості захворювання.

Таблиця 2  
Показники системи окису азоту в ротовій рідині обстежених пацієнтів (M±m)

Показники	Групи	Здорові пацієнти (n=28)	Хворі на ГП (n=124)	Хворі на ГП	
				I ст. тяжкості (n=46)	II ст. тяжкості (n=78)
NO <sub>2</sub> (мкмоль/л)		4,8±0,11	6,1±0,07*	5,6±0,10*	6,5±0,09* <sup>^</sup>
Сечовина (пмоль/л)		50,1±1,21	60,3±0,62*	55,4±1,14*	65,1±1,19* <sup>^</sup>
cGMP (мкмоль/л)		4,5±0,09	5,4±0,05*	4,8±0,07*	5,9±0,06* <sup>^</sup>

Примітка: \* -  $p < 0,05$  проти відповідних значень показника в здорових пацієнтів;  
<sup>^</sup> -  $p < 0,05$  при порівнянні відповідних значень показника залежно від ступеня тяжкості.

Кореляційний аналіз, що включає коефіцієнти кореляції Пірсона (r) та рівні їх значимості (p) для всіх пар змінних, указує на те, що між показниками системи NO (окисом азоту (NO<sub>2</sub>), сечовиною та циклічним гуанінмонофосфатом (cGMP) і показниками системи регуляції про- (ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП<sup>α</sup>) та протизапальних (ІЛ-4) цитокінів у досліджуваних групах визначається прямий і зворотний кореляційний зв'язок від помірного (рівень сечовини та cGMP з ІЛ-1β) до сильного (рівень NO<sub>2</sub> з прозапальними цитокінами ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП<sup>α</sup>). Найсильніший зворотний кореляційний зв'язок установлений між окисом азоту (NO<sub>2</sub>) і рівнем протизапального цитокіну ІЛ-4 ( $r = -0,889$  при  $p < 0,05$ ).

Отже, виявлені закономірності підтверджують роль цитокінів у розвитку судинних порушень при дистрофічно-запальному процесі в пародонті та вказують на перспективність розробки методів відновлення повноцінної функції протизапальних цитокінів у комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит.

### Література

1. Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко. – К. : Здоров'я, 2000. – 141 с.
2. Косенко К. М. Епідеміологія основних стоматологічних захворювань у населення України і шляхи їх профілактики : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматологія» / К. М. Косенко. - К., 1994. – 45 с.
3. Грудянов А. И. Поддерживающая терапия. Ее роль при лечении заболеваний пародонта (обзор литературы) / А. И. Грудянов, Н. А. Стариков, С. Ф. Бякова // Пародонтология. – 2001. – № 1-2 (19-20). – С. 24 - 27.
4. Мельничук Г. М. Сучасні підходи до лікування і вибору медикаментозної терапії при хворобах пародонту / Г. М. Мельничук // Галицький лікарський вісник. – 2004. – № 1. – С. 8 - 12.

5. Новикова Н. Дисфункция эндотелия – новая мишень медикаментозного воздействия при сердечно-сосудистых заболеваниях / Н. Новикова // Новое в медицине. - 2005. - № 8. - С. 51 - 53.
6. Endothelial dysfunction in patients with chronic periodontitis and its improvement after initial periodontal therapy / F. Mercanoglu [et al.] // J. Periodontol. - 2004. - Vol. 75, N 12. - P. 1694 - 1700.
7. Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with periodontitis / G. Seinost [et al.] // Am. Heart J. – 2005. - Vol. 149, N 6. - P. 1050 - 1054.
8. Ярилин А. А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А. А. Ярилин // Иммунология. - 1997. - № 5. - С. 7 - 14.
9. Ковальчук Л.В. Иммуноцитокينات и локальная иммунокоррекция / Л. В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // Иммунология. - 2005. - № 1. - С.4- 7.
10. Самойленко А. В. Дисбаланс в системе цитокинов больных генерализованным пародонтитом и его коррекция цитокинотерапией / А. В. Самойленко, И. С. Мащенко, А. Ю. Макаревич // Современная стоматология. - 2001. - № 1. - С. 41 - 43.
11. Delaleu N. Interleukin-1β and of interleukin-18 regulation and activity in local inflammation / N. Delaleu, M. Bickel // Periodontol. - 2004. - Vol. 35. - P. 42 - 52.
12. Okada H. Cytokine expression in periodontal health and disease / H. Okada, S. Murakami // Crit. Rev. Oral Biol. Med. - 2008. - Vol. 9, № 3. - P. 248 - 266.
13. Seumour G. J. Cytokines in periodontal disease where to from here? / G. J. Seumour, E. Gemmell // Acta Odontol.Scand. - 2001.- Vol. 59. - P. 167 - 173.
14. The relationship between concentration of proinflammatory cytokines with in gingiva and the adjacent sulcular depth / S. M. McGree [et al.] // J. Periodontol. - 2008. - Vol. 69, № 8. - P. 865 - 871 .
15. Gemmell E. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases / E. Gemmell, G. J. Seymour // J. Dent. Res. - 2008. - Vol. 77. - P. 16 - 26.

Стаття надійшла  
29.05.2013 р.

### Резюме

Досліджено роль цитокінів у розвитку судинних порушень при пародонтиті. Доведена перспективність розробки методів відновлення повноцінної функції протизапальних цитокінів у комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит.

**Ключові слова:** цитокіни, ендотеліальна дисфункція, генералізований пародонтит.

### Резюме

Изучено роль цитокинов в развитии сосудистых нарушений при пародонтите. Доказана перспективность разработки методов восстановления полноценной функции противовоспалительных цитокинов в комплексном лечении больных генерализованным пародонтитом.

**Ключевые слова:** цитокины, эндотелиальная дисфункция, генерализованный пародонтит.

### Summary

The role of cytokines in the development of vascular disorders in periodontitis are has been studied. The promising outlook of developing the methods for restoring full function of anti-inflammatory cytokines in the complex treatment of patients with generalized periodontitis has been proved.

**Key words:** cytokines, endothelial dysfunction, generalized periodontitis.