

РОЛЬ ЛОКАЛЬНОГО ЦИТОКИНОВОГО ДИСБАЛАНСА В ПАТОГЕНЕЗЕ КАРИЕСА У ДЕТЕЙ

Маркелова Е.В., Милехина С.А., Шушанян Л.С.

ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»,
Владивосток, e-mail: mail@vgmu.ru

В обследование включены пациенты в возрасте 6–14 лет с установленным диагнозом кариеса (104 чел.) и здоровые дети с интактными зубами (10 чел.). По результату стоматологического осмотра дети были распределены на две основные группы: санированные и не санированные. Интенсивность кариеса оценивалась в соответствии с классификацией Т.Ф. Виноградовой.

Материалом исследования служила слюна. Определение провоспалительного цитокина интерлейкина ИЛ-1 β и противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, ИЛ-13 проводили с помощью реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» USA методом сэндвич-варианта ИФА. Выявлена активация локальной продукции и секреции цитокинов клетками ротовой полости детей с кариесом с увеличением коэффициента соотношения про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β /ИЛ-10). Гиперпродукция ИЛ-10 и ИЛ-13 выполняет защитно-приспособительную роль, усиливая гуморальный иммунитет и ингибируя клеточно-опосредованные реакции.

Увеличение провоспалительного коэффициента ИЛ-1 β /ИЛ-10 более 1,5 может служить дополнительным диагностическим критерием субкомпенсированного течения кариеса.

Ключевые слова: кариес, цитокины в слюне, дети

Кариес является самой распространенной патологией зубов, особенно в детском возрасте. Наряду с изменением формы и размеров зуба происходит изменение его тканей, отмечается тенденция к замедлению созревания эмали, нарушению своевременного полноценного созревания других твердых тканей [3]. Кариес у детей в различные возрастные периоды протекает неодинаково. На течение кариеса молочных зубов влияют анатомо-физиологические особенности, общая сопротивляемость организма ребенка и высокие реактивные свойства детского возраста. Кариесрезистентность определяется не только состоянием тканей зуба, но и в значительной степени факторами полости рта, ротовой жидкости, состав которой зависит от состояния организма и отражает его многочисленные изменения.

В решении проблемы кариеса существенное место отводится важнейшему физиологическому свойству эмали – проницаемости. Это свойство эмали зависит от особенностей ее структуры и химического состава самой

твердой, высокоминерализованной ткани, не способной к регенерации. Уровень проницаемости эмали определяется рН среды. Проницаемость возрастает при кариесе уже в стадии мелового пятна, т.е. на самой ранней стадии патологического процесса (очаговой деминерализации). Проницаемость эмали для неорганических и органических веществ различна. Кальций и фосфор медленно проникают в эмаль и никогда не преодолевают эмалево-дентинное соединение. Органические вещества проникают в твердые ткани зуба значительно быстрее. Проницаемость эмали временных и постоянных несформированных зубов значительно выше, чем проницаемость постоянных сформированных зубов. На самых ранних стадиях кариеса проницаемость эмали резко возрастает (особенно временных зубов). Повышение проницаемости эмали – признак прогрессирующей деминерализации твердых тканей зуба, но благодаря этому свойству развивается и обратный процесс – реминерализация, которая способствует приостановлению кариеса [3].

Слюна играет важную роль в поддержании гомеостаза полости рта. Кариесустойчивость и кариес-восприимчивость в значительной степени зависят от качественных и количественных изменений слюны, характера слюноотделения, рН. Содержащиеся в зубном налете микроорганизмы стимулируют выработку цитокинов, в свою очередь, провоспалительные цитокины усиливают проницаемость тканей ротовой полости, что имеет важное значения в патогенезе кариеса. Однако отсутствует единое мнение о роли про- и противовоспалительных цитокинов в развитии кариеса.

Целью исследования явилось изучить уровень провоспалительного (ИЛ-1 β) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-13) в смешанной слюне детей в зависимости от их стоматологического статуса.

Материалы и методы

В период углубленного осмотра проведено стоматологическое обследование практически здоровых детей, направленных педиатром. В обследование включены пациенты в возрасте 6–14 лет с установленным диагнозом кариеса (основная группа – 104 чел.) и здоровые дети с интактными зубами (контрольная группа – 10 чел.). По результату стоматологического осмотра дети были распределены на две основные группы: санированные (33 человека) и не санированные (71 человек). Интенсивность кариеса оценивалась в соответствии с классификацией Т.Ф. Виноградовой. Состояние зубов детей 1-й группы соответствовало I степени или компенсированной форме кариеса с единичными кариозными поражениями. КПУ, КПУ + кп, кп равны от 1 до 3. У детей 2-й группы (71 человек) имелся множественный кариес (II степень кариеса). КПУ, КПУ + кп*, равны от 10 до 20, что соответствовало субкомпенсированной форме кариеса.

Материалом исследования служила слюна. Смешанную слюну получали натошак, утром после полоскания рта изотоническим (0,9%) раствором хлорида натрия. После

транспортировки слюна была заморожена при $t = -76^{\circ}\text{C}$ до момента исследований.

Определение провоспалительного цитокина интерлейкина ИЛ-1 β , противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, ИЛ-13 проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» USA методом сэндвич-варианта иммуноферментного анализа. Учёт результатов проводили при помощи иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Количество выражали в пг/мл. Статистическая обработка материала проведена с использованием методов описательной статистики. Результаты представлены в виде средней арифметической (M) и доверительного интервала (σ). Достоверность различий между группами рассчитана с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При оценке цитокинового профиля смешанной слюны у детей с кариесом установлено, что уровень всех исследованных цитокинов статистически значимо выше, чем в контрольной группе (табл. 1).

При этом коэффициент соотношения про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β /ИЛ-10) также возрастал более чем в 2 раза ($1,97 \pm 0,60$ против $0,46 \pm 0,13$; $p < 0,005$).

При распределении детей на две основные группы (санированные и нуждающиеся в лечении) зарегистрировано увеличение ИЛ-13 в слюне детей 2-й группы (см. табл. 1). Содержание ИЛ-1 и ИЛ-10 в среднем мало отличалось, однако, при расчете индивидуальных коэффициентов соотношения этих цитокинов выявлено существенное увеличение ИЛ-1 β /ИЛ10 у детей, нуждающихся в лечении кариеса. Это подтверждает мнение большинства исследователей (Симбирцев А.С., 2004; Хаитов Р.М. с соавт., 2010) о необходимости исследования не только уровня цитокинов с разными функциональными свойствами, но и их соотношений, что позволяет оценить относительный дефицит или гиперпродукцию изучаемых медиаторов.

Таблица 1

Цитокиновый профиль смешанной слюны детей с кариесом*

№ п/п	Группы	Исследуемые показатели ($M \pm \sigma$) пг/мл			
		ИЛ-1 β	ИЛ-10	ИЛ-13	ИЛ-1 β /ИЛ10
1	Контрольная группа (здоровые дети с интактными зубами) $n = 10$	$25,27 \pm 5,51$	$167,22 \pm 50,07$	$61,31 \pm 28,09$	$0,46 \pm 0,13$
2	Общая группа детей с кариесом $n = 104$	$61,08 \pm 5,21^{***}$	$457,63 \pm 84,89^{***}$	$144,35 \pm 64,68^{**}$	$1,97 \pm 0,60^{***}$
3	Дети с кариесом (санированы) $n = 33$	$57,11 \pm 8,06^{***}$	$429,77 \pm 149,24^{**}$	$105,08 \pm 77,26^*$	$0,54 \pm 0,16$ $p_2-p_3 < 0,01$
4	Дети с кариесом (не санированы) $n = 71$	$63,53 \pm 6,60^{***}$	$469,65 \pm 103,00^{***}$	$162,34 \pm 18^{**}$ $p_3-p_4 < 0,01$	$2,62 \pm 0,85^{**}$ $p_2-p_4 < 0,01$ $p_3-p_4 < 0,001$

Примечание: статистическая достоверность различий с контрольной группой: $p < 0,05$ – *, $p < 0,01$ – **, $p < 0,001$ – ***, p_1, p_2, p_3, p_4 – сравниваемые группы.

* Индекс интенсивности отражает степень поражаемости зубов кариесом одного ребенка. В постоянном прикусе подсчитывают индекс КПУ, в сменном – КПУ + кп, где, К – кариозные постоянные зубы; П – пломбированные постоянные зубы; У – удаленные постоянные зубы; к- кариозные временные зубы; п – пломбированные временные зубы.

Соответственно, у несанированных детей с кариесом в слюне определена относительная гиперпродукция провоспалительного цитокина ИЛ-1 β . Одним из главных свойств ИЛ-1 является способность стимулировать активность многих типов лейкоцитов и лимфоцитов при воспалении и иммунном ответе. Он усиливает экспрессию контактных молекул на клетках эндотелия (ICAM-1, VCAM-1, E-селектина), активирует остеокласты, что способствует усилению проницаемости и резорбции кости (Назаров П.Г., 2001).

Последующий анализ, при котором каждая группа детей была распределена по степени поражения зубов на 2 подгруппы: с компенсированным и субкомпенсированным кариесом, позволил установить ряд закономерностей. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Нами не было выявлено статистически значимых различий уровня ИЛ-1 β в слюне детей сравниваемых групп. Тогда как содержание ИЛ-10 существенно различалось. Его

уровень в слюне был выше при компенсированном течении кариеса как в группе санированных детей, так и в группе, нуждающихся в лечении (табл. 2). У санированных детей с субкомпенсированным кариесом содержание ИЛ-10 в слюне не отличалось от его уровня в контрольной группе ($p > 0,05$). Гиперпродукция ИЛ-10, с уровнем около 1000 пг/мл зафиксирована у детей с нелеченным компенсированным кариесом. ИЛ-10 вырабатывается макрофагами и регуляторными Т-клетками (Хаитов Р.М. с соавт., 2010), угнетает функции моноцитов/макрофагов, секрецию провоспалительных цитокинов ИЛ-1,6,8,12, ФНО α , ИФН γ различными клетками. В эксперименте было показано, что ИЛ-10 подавляет костную резорбцию в культуре костномозговых клеток (Owens J.M. et al., 1996). Это подтверждено оценкой коэффициента соотношения ИЛ-1 β /ИЛ-10. При компенсированном кариесе соотношение их было близко к контрольным величинам (см. табл. 2). При субкомпенсированном кариесе как у

санированных, так и особенно, у несанированных детей его показатель возрастал, что статистически значимо подтверждает роль нарушений цитокиновой регуляции в патогенез кариеса. Для оценки сопряженности прогрессирующего течения кариеса и

коэффициента соотношения ИЛ-1β/ИЛ-10 был использован χ^2 . Проведенный анализ позволил установить, что увеличение коэффициента более 1,58 может служить дополнительным иммунологическим критерием субкомпенсированного течения кариеса.

Таблица 2

Показатели цитокинового профиля смешанной слюны в зависимости от интенсивности кариеса

№ п/п	Исследованные цитокины (M ± σ)	Группы детей с кариесом			
		санированные (n = 33)		несанированные (n = 71)	
		компенсированный n = 26 (p ₁)	субкомпенсированный n = 7(p ₂)	компенсированный n = 29 (p ₃)	субкомпенсированный n = 42 (p ₄)
1	ИЛ-1β пг/мл	53,50 ± 9,58***	65,72 ± 11,50*	68,95 ± 12,54**	63,51 ± 7,93**
2	ИЛ-10 пг/мл	439,31 ± 186,53** <i>p₁-p₂ < 0,05</i>	166,82 ± 63,33 <i>p₂-p₃ < 0,001</i>	1011,91 ± 258,85*** <i>p₁-p₃ < 0,05</i> <i>p₃-p₄ < 0,001</i>	288,90 ± 86,35* <i>p₁-p₄ < 0,05</i> <i>p₂-p₄ < 0,05</i>
3	ИЛ-13 пг/мл	115,34 ± 93,64* <i>p₁-p₂ < 0,05</i>	58,11 ± 40,65 <i>p₂-p₃ < 0,05</i>	276,12 ± 232,74** <i>p₁-p₃ < 0,05</i> <i>p₃-p₄ < 0,05</i>	105,45 ± 54,32* <i>p₁-p₄ < 0,05</i> <i>p₂-p₄ < 0,01</i>
4	ИЛ-1β/ИЛ-13	0,40 ± 0,13 <i>p₁-p₂ < 0,05</i>	0,95±0,44* <i>p₂-p₃ < 0,05</i>	0,51 ± 0,30 <i>p₁-p₃ < 0,1</i> <i>p₃-p₄ < 0,001</i>	3,36 ± 1,12*** <i>p₁-p₄ < 0,001</i> <i>p₂-p₄ < 0,01</i>

Примечание: статистическая достоверность различий с контрольной группой: *p* < 0,05 – *, *p* < 0,01 – **, *p* < 0,001 – ***,

*p*₁ – дети санированные с компенсированным кариесом;

*p*₂ – дети санированные с субкомпенсированным кариесом;

*p*₃ – дети не санированные с компенсированным кариесом;

*p*₄ – дети не санированные с субкомпенсированным кариесом.

Полученные данные свидетельствуют о важной защитной роли противовоспалительного цитокина в предупреждении усиления активности кариеса. ИЛ-13 является противовоспалительным цитокином, который вырабатывается активированными Т-лимфоцитами. Он оказывает индуцирующее действие на экспрессию МНС II класса, CD23, CD71, CD72 на В – лимфоцитах, активирует экспрессию на моноцитах МНС II, CD11b, CD18, CD29, CD49, стимулирует антиген – презентующую функцию макрофагов. ИЛ-13 способствует переключению синтеза иммуноглобулинов с IgM на IgG4 или IgE, ингибирует экспрессию на моноци-

тах FcγR I, II, III и продукцию макрофагами провоспалительных ИЛ-1, ИЛ-6, ФНОα, Г-КСФ, ГМ-КСФ, индуцирует синтез ИФНγ естественными киллерными клетками, но ингибирует их ответ на ИЛ-2 [Clore G.M. et al., 2004; Luis A. et al.,2006; Srefan Fichtner-Feigl et al., 2005]. При оценке его уровня в слюне детей с кариесом установлено его снижение при субкомпенсированном течении как у санированных, так и нуждающихся в лечении детей (см. табл. 2). Это, вероятно, отражает активацию клеточно-опосредованного компонента иммунитета в ротовой полости детей с субкомпенсированным кариесом.

Таким образом, выявлена активация локальной продукции и секреции цитокинов клетками ротовой полости детей с кариесом с увеличением коэффициента соотношения про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β /ИЛ-10). Гиперпродукция ИЛ-10 и ИЛ-13 выполняет защитно-приспособительную роль, усиливая гуморальный иммунитет и ингибируя клеточно-опосредованные реакции.

Увеличение провоспалительного коэффициента ИЛ-1 β /ИЛ-10 более 1,5 может служить дополнительным диагностическим критерием субкомпенсированного течения кариеса.

Список литературы

1. Кузьмина Э.М. Профилактика стоматологических заболеваний: учебное пособие. – М.: МГМСУ, 2003.
2. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. – СПб.: Наука, 2010. – 423 с.
3. Сайфуллина Х.М. Кариес зубов у детей и подростков: учебное пособие. – М.: МЕДпресс, 2001. – 96 с.
4. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, №2. – С. 16–22.
5. Сунцов В.Г. Стоматологическая профилактика у детей. – М.: Мед. Книга; Н. Новгород: Изд-во НГМД, 2001. – 344 с.
6. Хаитов Р.П., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунопатология. Норма и патология: учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2010. – 752 с.
7. Owen C.A. Biochemical aspects of Copper: Copper Proteins, Ceruloplasmin and Copper Protein Binding. – Park ridge, 1982
8. Clore, G.M., Appella, E., Yamada, M., Matsushima, K., and Gronenborn, The general characteristic of the cytokines // Biochemistry. – 2004 – Vol. 29. – P. 1689–1696.
9. Luis A. Socha, John Gowardman, Diego Silva, Manuel Correcha, Nikolay Petrosky. Elevation in interleukin 13 levels in patients diagnosed with systemic inflammatory response syndrome // Intensive Care Medicine. – 2006. – Vol. 32, №2. – P. 244.
10. Stefan Fichtner-Feigl, Warren Strober, Koji Kawakami, Ray K Puri, Atsushi Kitani. IL-13 signaling through the IL-13 α 2 receptor is involved in induction of TGF- β 1 production and fibrosis // Nature Medicine. – 2005.– №12. – P. 99–106.

Рецензенты:

Просекова Е.В., д.м.н., профессор, руководитель Дальневосточного филиала НИИ клинической иммунологии СО РАМН Дальневосточного научного центра, Владивосток;

Беседнова Н.Н., д.м.н., профессор, академик РАМН, ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Сибирского отделения РАМН, Владивосток.

ROLE OF LOCAL CYTOKINES DISBALANCE IN PATHOGENESIS OF CARIES AT CHILDREN

Markelova E.V., Milekhina S.A., Shushanyan L.S.

Vladivostok state medical university, Vladivostok, e-mail: mail@vsgmu.ru

The 104 patients of 6-14 years with caries were included in research. The 10 healthy children were as a control. By the stomatologic examination the children were distributed on two basic groups: sanified and not sanified. Intensity of caries was estimated according to T.F. Vinogradovoj's classification.

The saliva was as a material of research. The proinflammatory cytokine IL-1 and anti-inflammatory cytokines: IL-10, IL-13 were estimated by the method of immune-enzyme assay using reactants of firm «R&D Diagnostics Inc.» USA. The patients with caries had activated local production and cells secretion of cytokines in mouth. The proinflammatory/anti-inflammatory coefficient (IL-1 β /IL-10) had increased. Hyperproduction of IL-10 and IL-13 were as a protectively-adaptive role, strengthening of humoral immunity and inhibiting of cellular reactions.

The proinflammatory coefficient IL-1 β /IL-10 was more than 1,5. It was as additional diagnostic criterion of the subcompensated caries.

Keywords: caries, cytokines in a saliva, children