

Д.М. Алимова,
ассистент кафедры факультетской
терапевтической стоматологии

Х.П. Камилов,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
госпитальной терапевтической
стоматологии

О.Е. Бекжанова,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
факультетской терапевтической
стоматологии

Ташкентский государственный
стоматологический институт

Роль про- и противовоспалительных цитокинов в патогенезе рецидивирующих афт полости рта

Резюме. В исследовании изучалось содержание про- и противовоспалительных цитокинов у больных с рецидивирующими афтами (РА) различной степени тяжести как показателей, характеризующих уровень врожденного иммунного ответа. При развитии РА слизистой оболочки рта (СОР) подавляющее большинство цитокинов значительно возрастает во всех исследуемых средах. Динамика и степень изменения концентраций цитокинов определялись изучаемой средой и тяжестью поражения СОР. Так, в ротовой жидкости концентрация провоспалительных медиаторов резко (в 2–9 раз) возрастала уже при РА легкой (I) степени тяжести, а концентрация противовоспалительных снижалась в ротовой жидкости и несколько увеличивалась в сыворотке крови (в 2,02–4,72 раза). У больных РА средней (II) и тяжелой (III) степени наблюдалось компенсаторное увеличение концентрации противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови. При детальном рассмотрении динамики цитокинового профиля установлено, что у больных с РА I степени концентрация ФНО- α в сыворотке крови увеличилась на 80, II степени – на 136, и III – на 201. Рост концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-6 составил 35, 63, 122 и 74, 99 и 138% для I, II и III степени тяжести соответственно. При этом у больных с РА I степени концентрация противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 была увеличена на 23 и 30%, а с РА II и III степени снижена на 6–9 и 44–53% соответственно. Динамика цитокинового профиля ротовой жидкости имела несколько иные характеристики: обнаруживалось лавинообразное увеличение концентрации противовоспалительных цитокинов даже у больных с РА I степени. Так, концентрация ФНО- α у больных с РА I степени была увеличена на 191%, II и III – на 476 и 610%, а ИЛ-1 и ИЛ-4 – на 187%.

Ключевые слова: рецидивирующий афтозный стоматит, провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины, врожденный иммунный ответ

Summary. The study examined the amount of pro- and anti-inflammatory cytokines among patients with recidivating apthae (RA) of varying severity as indicants, characterizing the level of the inborn immune reaction. In case of tunica mucosa of mouth (TMM) RA development the amount of the overwhelming majority of cytokines increases in all tested mediums. Dynamics and rate of the change of concentrations of cytokines were determined by a tested medium and severity of TMM lesion. Thus, the concentration of pro-inflammatory mediators in oral fluid increased abruptly (2–9 times) even in mild (I) RA cases, and the concentration of anti-inflammatory mediators decreased in oral fluid and slightly increased in blood serum (2,02–4,72 times). Medium (II) and severe (III) RA patients had a compensatory increase of anti-inflammatory cytokines concentration in blood serum. During the detailed consideration of the dynamics of cytokine profile it was found out that I severity level RA patients had a TNF-alpha in blood serum increase by 80, II severity level – by 136, and III – by 201. The increase of concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 and IL-6 amounted to 35, 63, 122 and 74, 99, 138% for I, II and III severity level correspondingly. In addition to the above I severity level RA patients had an increase of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 concentration by 23 and 30%, and II and III severity level RA patients had a decrease by 6–9 and 44–53% correspondingly. Dynamics of cytokine profile of oral liquid had somewhat different characteristics: even I severity level RA patients had an avalanche-like increase of anti-inflammatory cytokines concentration. Thus, I severity level RA patients had an increase of TNF-alpha concentration by 191%, II and III – by 476 and 610%, and IL-1 and IL-4 – by 187%.

Key words: recidivating apthous stomatitis, pro-inflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines, inborn immune reaction

В последнее время этиотропные и патогенетические факторы развития рецидивирующих афт (РА) во рту достаточно широко обсуждаются в научной литературе с точки зрения оценки функционирования системы иммунитета на местном и общем уровнях [1, 5–8]. В то же время при РА нарушаются процессы

распознавания, поглощения и уничтожения инфекционных агентов, что делает инфекционный ответ малоэффективным.

С клинической точки зрения важно оценивать состояние клеток слизистой оболочки рта (СОР), повреждающие иммуносупрессорные факторы, а также

функционирование иммунокомпетентных клеток, факторов блокады активности фагоцитов, выработки аллергических антител класса IgE, циркулирующих иммунных комплексов. К клиническим маркерам, позволяющим отнести РА к иммунодефицитным (ИД) заболеваниям, относятся:

- затяжной, хронический или часто рецидивирующий характер течения с поражением слизистой оболочки;
- активация условно-патогенной микрофлоры, микстинфекции, смена инфекционного агента в динамике заболевания, вовлечение в процесс других органов и систем;
- устойчивость к антибактериальной терапии, быстрое развитие рецидива после лечения;
- рецидивирующая грибковая инфекция, дисбиоз слизистой оболочки рта;
- заболевания желудочно-кишечного тракта, склонность к простудным заболеваниям и соматическая патология в анамнезе.

ИД может носить временный характер или быть перманентным.

Очевидно, что количественные и качественные функциональные характеристики ИД необходимо сопоставлять с клиническими проявлениями заболевания.

Учитывая актуальность рассматриваемых вопросов, необходимо разработать план диагностического обследования больных с РА с учетом затяжного, рецидивирующего характера заболевания с частыми обострениями с наличием супрессии Т-хелперов 1-го типа, гипореактивного Т-звена.

Направленность иммунного ответа характеризуется цитокинами, которые продуцируются различными типами клеток, что позволяет оценить возможность активации клеток и имеет важное значение для реализации механизмов иммунологической реактивности. Изучение содержания ФНО- α и ИЛ-1 в разных биологических средах у больных с РА представляет клинический интерес, так как, с одной стороны, гиперпродукция этих медиаторов является показателем развития системной воспалительной реакции, а с другой — уровень этих цитокинов характеризует начальную острую фазу воспаления, активацию макрофагов, регулирует развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток, эндотелия сосудов, соединительной ткани и эпителия в ответ на проникновение патогенов, антигенное раздражение или повреждение тканей [10, 11, 15].

Эндотоксины грамотрицательных бактерий стимулируют макрофаги и нейтрофилы к продукции ФНО- α и ИЛ-1, а экзотоксины грамположительных бактерий активизируют Т-клетки и моноциты, побуждая к продукции ФНО- α и ИЛ-1, что в совокупности способствует элиминации патогенов [4, 6, 13].

Таким образом, избыточное количество провоспалительных цитокинов способствует активации движения в очаг инфекции эффекторных клеток нейтрофилов, макрофагов, стимулируя их фагоцитарную,

бактерицидную активность, и активизируют запуск антиген-неспецифического иммунного ответа.

Цитокины регулируют все функции клеток, всю сложность клеточной физиологии и патологии, необходимость постоянного обновления клеток, рост, дифференцировку, продолжительность жизни клеток, управляют процессами апоптоза и другими в нормальных уровнях и в ответ на патологические воздействия. Так, провоспалительный цитокин (ФНО- α), обладая цитотоксической активностью, имеет большое значение в защитных и инфекционно-воспалительных процессах и не влияет на здоровье клетки. В то же время чрезмерная продукция ФНО- α и его высокие концентрации создают условия для образования высокомолекулярных полимеров, оказывающих деструктивное действие.

Очевидно, что определение концентрации только одной группы провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1) без учета других, в том числе противовоспалительных иммунных маркеров, не дает полного представления о нарушениях цитокинового баланса. Одномоментная оценка медиаторов является корректным диагностическим и прогностическим показателем определения состояния иммунологического гомеостаза больных с РА и характера или выраженности системных и локальных иммунных нарушений и их патологической взаимосвязи в формировании тяжести РА.

Необходимо обратить внимание также и на то, что для выяснения тенденции и направленности сдвигов концентрации и функциональной активности цитокинового баланса необходимо учитывать в какой биологической среде они определяются. С клинической точки зрения важно понимать уровни содержания цитокинов в секрете слюнной железы, а также в смешанной ротовой жидкости. Необходимо учитывать, что источником цитокинов в смешанной ротовой жидкости являются лимфоциты, встроенные в эпителий слизистой оболочки, а также может быть сывороточный экссудат или трансудат, проникающий через эрозивно-язвенную поверхность афт.

Результаты исследований последнего десятилетия обусловили необходимость пересмотра представлений о патогенезе РА. В соответствии с современными концепциями ведущую роль в патогенезе заболеваний играет иммуновоспалительная реакция, опосредованная провоспалительными цитокинами [3]. Эти медиаторы способны модулировать иммунные процессы в слизистой оболочке рта, обуславливая ротовые (местные) и периферические (общая токсическая реакция) проявления РА. Неблагоприятными эффектами провоспалительных цитокинов являются цитотоксическое действие на слизистые, нарушения эндотелия, активация апоптоза, нарушения роста и дифференцировки клеток [2, 9, 10].

В изучении цитокин-опосредованных механизмов возникновения и прогрессирования РА особое значение имеет фактор некроза опухоли (ФНО- α). В настоящее время получены убедительные клинические доказательства роли этого цитокина в патогенезе РА [11, 14, 15].

Менее изучены характер и значимость изменений активности других провоспалительных цитокинов, играющих ведущую роль в воспалительном ответе — интерлейкина-1 (ИЛ-1) и интерлейкина-6 (ИЛ-6). Практически не изучены у больных с РА противовоспалительные цитокины.

Целью исследований явилось изучение содержания про- и противовоспалительных цитокинов у больных РА различной степени тяжести как показателей, характеризующих уровень нарушения врожденного иммунного ответа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 116 больных с РА, из них 31 с I (легкой), 68 со II (средней) и 17 с III (тяжелой) степенью тяжести заболевания. Критерием включения в исследование являлось установление у больного РА I—III степени без наличия фоновой патологии или с таковой, но без признаков обострения коморбидной патологии. При включении в исследование учитывали возраст пациентов (от 20 до 69 лет), а также строгое соблюдение назначений и рекомендаций по приему препаратов и гигиене рта.

Определение уровня про- (ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов в ротовой жидкости (РЖ) и сыворотки крови (СК) проводилось с помощью тест-системы производства ООО «Цитокины» (Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа. Минимальная достоверно определяемая концентрация цитокинов в исследуемых образцах не превышает 1 пг/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У здоровых обследованных (группа контроля) содержание всех исследуемых цитокинов оказалось достоверно значительно выше в ротовой жидкости по сравнению с сывороткой. Это, скорее всего, обусловлено тем, что во рту существует постоянная микрофлора, фагоцитоз которой сопровождается генерацией цитокинов.

При развитии РА СОР содержание цитокинов, как правило, значительно возросло во всех исследуемых средах (сыворотка крови, ротовая жидкость). Динамика и степень изменения концентраций цитокинов определялись изучаемой средой и тяжестью поражения СОР. Так, в ротовой жидкости концентрация провоспалительных медиаторов резко, в 2–9 раз, возрастала уже при РА I степени, а концентрация противовоспалительных снижалась в ротовой жидкости и несколько увеличивалась в сыворотке крови. У больных с РА II и III степени компенсаторное увеличение противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови снова снижалось их давлением.

При детальном рассмотрении динамики цитокинового профиля установлено, что у больных с РА концентрация ФНО- α в сыворотке крови достоверно увеличилась на 80–200% в зависимости от тяжести заболевания. Также на 35–120 и 74–138% достоверно выросли концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-6. При этом концентрация противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 была достоверно выше на 23 и 90% у больных с РА I степени, почти не изменилась при РА II степени, но была достоверно выше на 53 и 44% при РА III степени (см. таблицу и рисунок).

Динамика цитокинового профиля ротовой жидкости имела несколько иные характеристики. Обнаруживалось лавинообразное увеличение концентрации противовоспалительных цитокинов уже у больных с РА I степени.

На фоне резкого увеличения провоспалительных цитокинов регистрировалось достоверное снижение концентрации противовоспалительных медиаторов: ИЛ-4 — на 23–68%, а ИЛ-10 — на 39–79% от нормы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные таблицы свидетельствуют, что определяется статистически достоверная разница концентраций цитокинов в сыворотке крови, ротовой жидкости у больных с РА в стадии ремиссии в зависимости от характера

Концентрация цитокинов в сыворотке крови и ротовой жидкости (в пг/мл) у больных с РА

Показатель	Среда	Здоровые	В стадии обострения			В стадии ремиссии		
			I	II	III	I	II	III
ФНО- α	СК	23,52 \pm 1,22	42,36 \pm 1,65	55,61 \pm 2,31	70,82 \pm 3,08	24,82 \pm 1,11	40,22 \pm 0,65	50,23 \pm 2,32
	РЖ	45,36 \pm 2,24	132,41 \pm 5,81	261,25 \pm 11,25	322,31 \pm 14,32	48,26 \pm 2,52	120,36 \pm 6,32	152,31 \pm 6,81
ИЛ-1	СК	6,92 \pm 0,30	8,83 \pm 0,37	12,52 \pm 0,48	14,31 \pm 0,62	6,81 \pm 0,25	9,32 \pm 0,44	13,81 \pm 0,60
	РЖ	12,61 \pm 0,52	36,21 \pm 1,22	50,81 \pm 2,90	61,36 \pm 2,33	13,02 \pm 0,61	36,81 \pm 2,13	45,28 \pm 2,33
ИЛ-6	СК	5,92 \pm 0,24	10,32 \pm 0,53	12,81 \pm 0,42	14,11 \pm 0,59	6,01 \pm 0,24	10,61 \pm 0,52	12,85 \pm 0,57
	РЖ	20,81 \pm 1,00	40,32 \pm 1,63	60,41 \pm 1,85	88,42 \pm 3,82	21,00 \pm 0,95	42,36 \pm 2,33	54,32 \pm 1,11
ИЛ-4	СК	5,11 \pm 0,22	6,32 \pm 0,30	4,61 \pm 0,21	2,36 \pm 0,09	5,01 \pm 0,30	5,22 \pm 0,26	2,52 \pm 0,11
	РЖ	10,92 \pm 0,61	8,32 \pm 0,40	7,00 \pm 0,33	3,45 \pm 0,40	9,89 \pm 0,42	7,83 \pm 0,31	4,45 \pm 0,55
ИЛ-10	СК	1,23 \pm 0,04	1,61 \pm 0,08	1,12 \pm 0,04	0,68 \pm 0,02	1,22 \pm 0,04	1,32 \pm 0,06	0,71 \pm 0,03
	РЖ	4,51 \pm 0,27	2,72 \pm 0,11	1,25 \pm 0,00	0,91 \pm 0,03	4,62 \pm 0,20	2,44 \pm 0,05	1,31 \pm 0,04

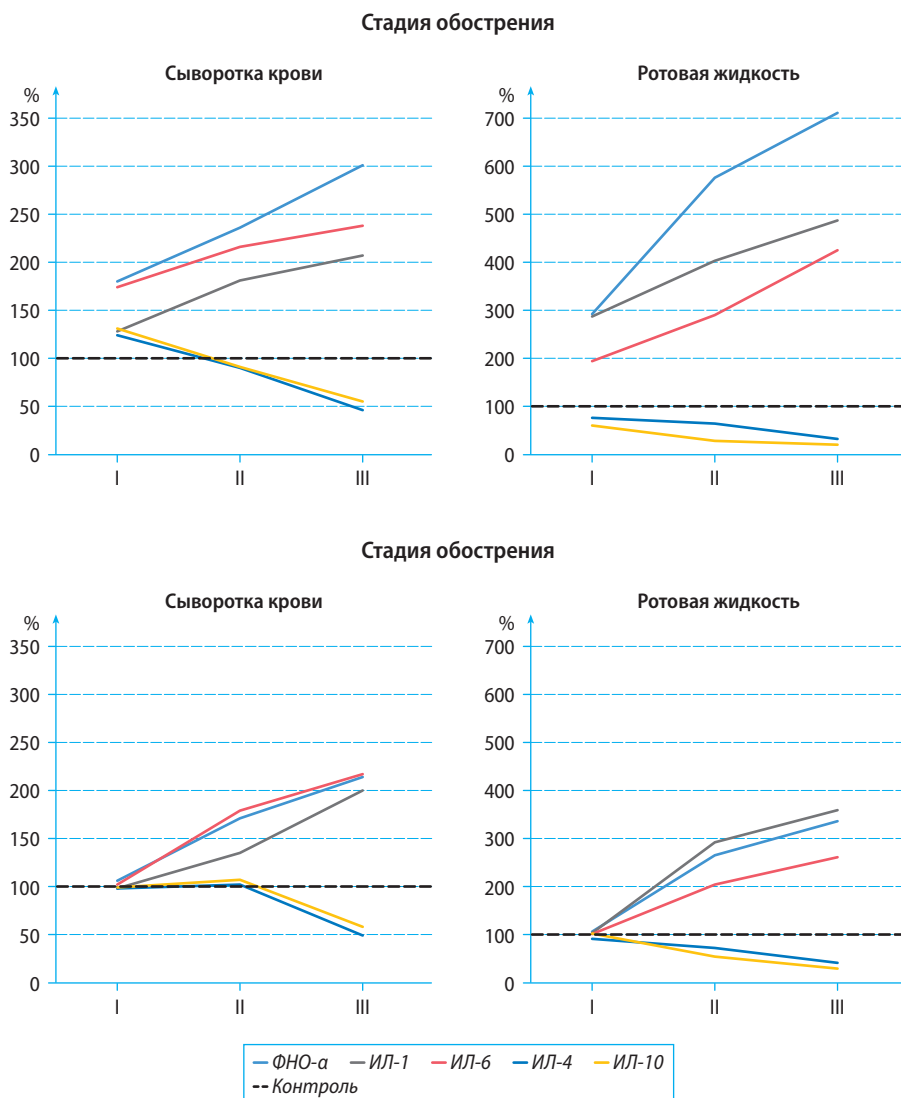
течения заболевания. Выявлено увеличение провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6) в сыворотке крови, ротовой жидкости у больных с РА II и III степени, на этом фоне установлено четкое снижение концентрации противовоспалительных медиаторов в изучаемых секретах у больных с РА III степени. У больных с РА II степени в период ремиссии концентрации провоспалительных медиаторов в сыворотке крови не имели значимых различий с контролем, а в ротовой жидкости регистрировались на уровнях, достоверно превышающих контрольные значения.

У больных с РА I степени тяжести в период ремиссии не установлено значимых различий про- и противовоспалительных медиаторов в изучаемых биологических средах организма.

Аутоагрессивный потенциал, индуцируемый иммунокомпетентными клетками и системами, необходим, чтобы воспалительная реакция, как защитная реакция организма, протекала в определенном объеме соответственно тяжести повреждения СОР [3, 7]. Дизрегуляция медиаторов воспаления является фактором, способствующим развитию аутоагрессивного воспаления, активации деструктивных процессов и прогрессирования эрозивно-язвенных поражений СОР у больных с РА II и III степени.

Проведенные исследования показали роль про- и противовоспалительных цитокинов как диагностических и прогностических показателей состояния иммунного ответа у больных РА различной степени тяжести в различные клинические периоды.

Причины повышения уровня циркулирующих цитокинов при РА окончательно не выявлены. Можно предположить, что повышение системной продукции цитокинов при РА может инициировать возникновение системного воспаления. Существует гипотеза, согласно которой причиной повышения концентрации провоспалительных цитокинов, прочих цитокинов являются бактериальные эндотоксины, проникающие в организм через отечную стенку кишечника [4, 12]. Повышения уровней провоспалительных цитокинов, продуцируемых мононуклеарами периферической крови, и неадекватная иммуносупрессия при РА могут обеспечивать избыточно интенсивный иммунный ответ на антигены



Концентрация цитокинов в биологических средах организма у больных с РА различной степени тяжести (в % по отношению к контролю)

в полости рта, обеспечивая клинику РА. Повышенная экспрессия ФНО- α и ИЛ-6 в ротовой жидкости может играть специфическую роль в процессе развития язвенных СОР либо активироваться как результат воспалительного ответа. Ни одна из гипотез в полной мере не объясняет механизма нарушения цитокинового баланса в биологических средах организма.

Мы предполагаем, что начальное повышение системной продукции провоспалительных медиаторов может быть непосредственно связано с патогенезом заболеваний, обуславливающих РА (заболевания ЖКТ, воспалительные процессы, стресс, авитаминоз). На последующих этапах течения РА включаются один или несколько перечисленных механизмов. Об этом свидетельствуют полученные нами данные о различной степени активации как про-, так и противовоспалительных цитокинов у больных с РА различной степени тяжести.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительный анализ показал:

- различные уровни содержания про- и противовоспалительных цитокинов у больных с РА различной степени тяжести в стадии обострения и ремиссии в периферической крови и секретах полости рта, что позволило обосновать методические подходы к выбору исследуемых показателей в зависимости от функциональной активности изученных биологических сред;
- изменение цитокинового баланса в сторону увеличения концентрации провоспалительных медиаторов в секретах полости рта — адекватный показатель

местного воспаления СОР, характеристика тяжести течения заболевания и активации Th1-лимфоцитов;

- определение цитокинового профиля в биологических жидкостях у больных с РА является интегральным показателем, характеризующим вектор направленности сохранения гомеостаза врожденного иммунитета: увеличение про- и снижение противовоспалительных медиаторов у больных с РА тяжелого течения при концентрации цитокинов в пределах нормы у больных с РА легкого течения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Вахрушина Е.В. Особенности иммунологического статуса больных рецидивирующим афтозным стоматитом. Современные технологии в экспериментальной клинической стоматологии. — Материалы II научно-практической конференции молодых ученых. — М., 2011. — 23 с.
2. Вахрушина Е.В. Клинико-лабораторное обоснование иммунокорректирующей терапии больных рецидивирующим афтозным стоматитом: автореф. дис. ... к.м.н. — М., 2012. — 25 с.
3. Кайдашев И.П., Иленкевич В.И., Король Д.М. Очерки иммунологии слизистой оболочки полости рта. — Полтава: Полимет, 2008. — 306 с.
4. Мамаев С.Н., Заглиева С.С., Заглиева С.Г. Состояние микрофлоры кишечника и система цитокинов у больных хронической сердечной недостаточностью. — Известия высших учебных заведений Северо-Кавказского региона. Проблемы гастроэнтерологии юга России. — Ростов-на-Дону, 2007. — С. 98—99.
5. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Бабиченко И.И., Ковязин В.А., Вахрушина Е.В. Особенности иммуноморфологического статуса больных с рецидивирующим афтозным стоматитом. — *Клиническая стоматология*. — 2011; 2: 20—2.
6. Рабинович О.Ф., Бабиченко И.И., Рабинович И.М., Ковязин В.А., Вахрушина Е.В. Иммуноморфология рецидивирующего афтозного стоматита. — *Архив патологии*. — 2012; 74 (2): 35—9.
7. Спицина В.И. Иммунные нарушения и патогенетическое обоснование их коррекции у больных хроническими заболеваниями слизистой оболочки полости рта: автореф. дис. ... д.м.н. — М., 2004. — 47 с.
8. Цветкова А.А. Сравнительное изучение показателей цитокинов ротовой жидкости у здоровых и лиц с заболеваниями слизистой оболочки полости рта. — Сб.тр. XXX итоговой научной конференции молодых ученых МГМСУ. — М., 2008. — С. 362—363.
9. Цветкова А.А. Иммунокорректирующая терапия заболеваний слизистой оболочки полости рта: автореф. дис. ... к.м.н. — М., 2008. — 23 с.
10. Albanidou-Farmaki E., Markopoulos A.K., Kalogerakou F., Antoniadou D.Z. Detection, enumeration and characterization of T helper cells secreting type 1 and 2 cytokines in patients with recurrent aphthous stomatitis. — *Tohoku J Exp Med*. — 2007; 212 (2): 101—5.
11. Boras V.V., Brailo V., Lukas J. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with burning mouth syndrome. — *Oral Dis*. — 2006; 12 (3): 353—5.
12. Koybasi S., Parlak A.H., Serin E. Recurrent aphthous stomatitis: investigation of possible etiologic factors. — *Am J Otolaryngol*. — 2006; 27: 4: 229—32.
13. Lewkowicz N., Lewkowicz P., Banasik M. Predominance of Type I cytokines and decreased number of CD 4(+) CD 25 (+high) T regulatory cells in peripheral blood of patient with recurrent aphthous ulceration. — *Immunol Lett*. — 2005; 99 (1): 57—62.
14. Lewkowicz N., Lewkowicz P., Dzitko K. Dysfunction of CD4(+) CD 25 (high) T regulatory cells in patients with recurrent aphthous stomatitis. — *J Oral Pathol Med*. — 2008; 3: 88—94.
15. Sun A., Wang J.T., Chia J.S., Chiang C.P. Levamisole can modulate the serum tumor necrosis factor-alpha level in patients with recurrent aphthous ulcerations. — *J Oral Pathol Med*. — 2006; 35 (2): 111—6.