

УДК: 616.314.17-008.1+616.833-001+616-092+616-08:615+615.83

## **Изучение иммунологических параметров ротовой полости у больных генерализованным пародонтитом при травматической болезни спинного мозга**

С.М. Горобец

## **Researching immunological parameters oral cavity patients with generalized periodontitis in traumatic spinal cord disease**

S.M. Gorobets

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь*

**Ключевые слова:** иммунологические параметры, ротовая полость, поражения спинного мозга

**З**аболевания пародонта – одна из наиболее актуальных проблем современной стоматологии, что связано с их высокой распространенностью, прогрессирующим характером течения, недостаточной эффективностью используемых методов лечения [1,4].

Все системные заболевания, изменяя реактивность организма, в большей или меньшей степени способствуют возникновению или прогрессированию воспалительных и других заболеваний пародонта [1,2,5].

Перенесенные и сопутствующие заболевания нервной и эндокринной систем, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы и другие создают определенные предпосылки для возникновения патологии тканей пародонта [4]. Травматическая болезнь спинного мозга (ТБСМ), возникающая после травмы позвоночника и спинного мозга, сопровождается нарушениями передачи центральных регуляторных импульсов во внутренних органах и

системах с последующим возникновением каскада функциональных и патоморфологических нарушений.

Иммунная система слизистой оболочки полости рта находится в тесном взаимодействии с эпителиальными, нервными, мышечными и стромальными клетками. Нарушения этих взаимодействий ведут к развитию хронического воспаления [7,8].

В настоящее время состояние гуморального звена защиты полости рта от пародонтальных микроорганизмов и факторов их патогенности, у больных пародонтитом, протекающем на фоне ТБСМ, изучено недостаточно. В частности, отсутствуют данные о местном гуморальном антиэндотоксиновом иммунном статусе ротовой жидкости таких пациентов; не исследованы механизмы патогенетического

---

*1295006, Россия, Симферополь, Крым, бульвар Ленина 5/7, e-mail office@csmu.strace.net*

Табл. 1

**Уровень секреторного иммуноглобулина (SIgA) в ротовой жидкости у больных с генерализованным пародонтитом на фоне травматической болезни спинного мозга, и больных с генерализованным пародонтитом без травматической болезни спинного мозга, г/л**

Группы		SIgA
Группа исследования (n =96)	1	0,105 ±0,005
Группа контроля (n =20)	2	0,118 ±0,06
Интактный пародонт (n=15)	3	0,131 ±0,038
		Pi-2<0,05 Pi-3<0,05 p2-3<0,05

действия на ткани пародонта ЛПС грамотрицательной микрофлоры [1,5,6].

## Материал и методы исследования

В общей сложности было обследовано 130 больных. Пациенты были распределены в зависимости от получаемой терапии. 1 группа – 95 больных с ТПСМ (комплексное лечение, разработанное нами), 2 – 20 больных (традиционное пародонтологическое лечение), 3 группа – 15 – интактный пародонт.

Показатели местного иммунитета полости рта изучали в образцах ротовой жидкости, которую собирали утром натощак в мерные пробирки, центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин, надсадочную жидкость переносили в герметически закрывающиеся пластиковые пробирки и хранили при -20° С.

### Определение SIgA

Секреторный иммуноглобулин А (SIgA) в ротовой жидкости определяли “сэндвич”- вариантом ТИФА.

Для получения слоя иммуносорбента в лунки полистироловых планшетов (Costar 9017, USA) вносили по 100 мкл раствора очищенной фракции IgG, специфичных к SIgA человека (10 мкг/мл) в 0,033 М фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1%-й NaCl

Табл. 2

**Уровень антиэндотоксического секреторного иммуноглобулина (анти-ЛПС-SIgA) в ротовой жидкости у больных с генерализованным пародонтитом на фоне травматической болезни спинного мозга, и больных с генерализованным пародонтитом без травматической болезни спинного мозга, М ± m**

Группы		анти-ЛПС-SIgA
Группа исследования (n =96)	1	0,152 ±0,003
Группа контроля (n =20)	2	0,109 ±0,01
Интактный пародонт (n=15)	3	0,079 ± 0,008
		Pi-2<0,05 Pi-3<0,001 P2-3<0,05

(PBS) и инкубировали в течение 12 часов при комнатной температуре (18-22°С). Затем в лунки последовательно вносили по 100 мкл разведенной в 400 раз ротовой жидкости и конъюгата анти-SIgA\*HRP (1:8000) и инкубировали в течение 60 минут при 37°С. Для разведения реагентов применяли PBS-T. Неспецифически связавшиеся компоненты после каждого этапа отмывали PBS-T (3 раза по 1 мин). Регистрацию пероксидазной активности проводили, как описано выше. Референтные значения SIgA для лиц с интактным пародонтом – 0,06 – 0,260 г/л.

### Определение антиэндотоксического SIgA.

Секреторный антиэндотоксический иммуноглобулин А (анти-ЛПС-SIgA) в ротовой жидкости определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА).

Для получения слоя иммуносорбента в лунки полистироловых планшетов (Costar 9017, USA) вносили по 100 мкл раствора ЛПС (10 мкг/мл) в 0,05 М карбонатном буфере (рН 9,6), содержащем 70% сульфат аммония и инкубировали в течение 18 час при температуре 37°С. Для регистрации пероксидазной активности в лунки вносили по 100 мкл субстратно-буферной смеси (30 ммоль фосфатно-цитратный буфер (рН 5,0), содержащий 0,33 мг/мл о-фенилендиамина и 0,02% H2O2) и инкубировали 60 мин при температуре 37°С. Оптическую плотность конечного продукта ферментативной реакции определяли с помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 2100 (Awareness Tech. Inc., USA) при длине волны 492 нм. Результаты измерений выражали в условных единицах.

Референтные значения для анти-ЛПС-SIgA в ротовой жидкости у здоровых лиц составляет 0,08 – 0,103 усл. ед. опт. плотн.

### Определение интерлейкинов IL-1B и IL-4

Концентрацию цитокинов в ротовой жидкости и в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов (ООО «Цитокины»).

Референтные значения в сыворотке крови для лиц с интактным пародонтом составляли для ИЛ-1(3 – 39,77 ± 2,53 пкг/мл (14,5 – 55,4) пкг/мл., для ИЛ-4 6,51 ± 0,58 пкг/мл, (5,5 – 13,1 пкг/мл). В ротовой жидкости – соответственно – 186,00 ± 11,40 пкг/мл (545 – 112 пкг/мл) и для ИЛ-4 – 2,10 ± 0,3 пкг/мл, (0 – 7,5 пкг/мл).

## Результаты исследования

Известно, что секреторный иммуноглобулин класса А (SIgA) играет важнейшую роль в реализации эффекторных функций системы местного иммунитета; в частности, SIgA препятствует проникновению сквозь слизистую оболочку различных антигенов, усиливает действие факторов неспецифической защиты, а также обеспечивает колониза-

ционную резистентность слизистых по отношению к вирусам и бактериям, причем опосредуемый SIgA механизм блокирования адгезии этих патогенов не является строго специфичным. Сниженная активность системного иммунитета предопределяет снижение активности местного иммунитета.

Результаты исследования уровня SIgA в ротовой жидкости у больных представлены в табл. 1.

Результаты исследования секреторного иммуноглобулина ротовой жидкости свидетельствуют, что у больных группы исследования достоверно больше снижение содержания SIgA до  $0,105 \pm 0,005$  г/л, что на 13,56% ниже в сравнении с показателями в группе контроля (ГП без ТБСМ) –  $(0,118 \pm 0,060$  г/л) и на 22,14%, в сравнении с показателями у лиц с интактным пародонтом ( $0,131 \pm 0,038$  г/л,  $p < 0,05$ ).

Можно полагать, что выявленное снижение уровня SIgA (г/л) в ротовой жидкости у больных носит защитно-компенсаторный характер в ответ на персистенцию патогенной микрофлоры зубной бляшки и свидетельствует о напряженности местного иммунитета ротовой полости.

Индивидуальное содержание SIgA в ротовой жидкости у обследованных больных колебалось в довольно широких пределах (от 0,029 г/л до 0,312 г/л у пациентов группы контроля, и от 0,016 г/л до 0,212 г/л у пациентов группы исследования).

Многочисленными исследованиями показано, что в пародонтальной микрофлоре присутствуют различные виды грамотрицательных бактерий [8, 29, 228, 230]. Основным фактором патогенности грамотрицательных бактерий является липополисахарид (ЛПС) или эндотоксин (ЭТ) – облигатный компонент их клеточной стенки. Патофизиологические проявления действия ЛПС на ткани пародонта крайне разнообразны. ЛПС может прямо либо опосредованно участвовать в инициации и поддержании локального воспаления [8, 9, 19, 249].

Результаты исследования уровня антиэндотоксинового анти-ЛПС-SIgA в ротовой жидкости у больных представлены в табл. 2.

Анализ представленного в табл. 2 цифрового материала свидетельствует, что уровень анти-ЛПС-SIgA в ротовой жидкости у больных у больных группы исследования на 39,45% ( $p < 0,05$ ) выше, чем у больных группы контроля (ГП, но без спинальной травмы).

Таким образом, у больных ГП, протекающем на фоне ТБСМ, выявлено повышенное содержание секреторного иммуноглобулина SIgA, специфичного к различным функциональным частям молекулы ЛПС.

Вследствие неперенного присутствия грамотрицательных бактерий в составе микробиоценозов открытых естественных полостей организма ЛПС является облигатным компонентом нормального антигенного окружения человека.

Поскольку, любое изменение интенсивности антигенного воздействия или/и поломки в иммунной системе, повлекут за собой изменение уровней

антиэндотоксиновых антител, полученные результаты указывают на то, что у больных ГП, протекающем на фоне ТБСМ, имеет место выраженная активация местного гуморального антиэндотоксинового иммунитета, что, очевидно, обусловлено антигенной стимуляцией вследствие избыточного поступления ЛПС во внутренние среды организма.

При этом плазмациты, дифференцирующиеся из В-1-лимфоцитов, образуют низкоаффинные IgA, способные перекрестно реагировать с широким спектром бактериальных антигенов.

## Выводы

- Выявлено, что в патогенезе генерализованного пародонтита, хронического течения у больных с травматической болезнью спинного мозга имеются достоверные ( $p < 0,05$ ) изменения со стороны местного иммунитета полости рта.

- Отмечается снижение SIgA ( $0,105 \pm 0,005$  г/л) и повышение антиЛПС – SIgA ( $0,152 \pm 0,03$  усл. ед. опт. плотн.) и ИЛ-1В ( $873,88 \pm 16,13$  пкг/мл) в сравнении с аналогичными показателями у больных ГП без ТБСМ: SIgA –  $0,118 \pm 0,06$  г/л, ИЛ-4 –  $4,02 \pm 2,60$  пкг/мл, анти-ЛПС- SIgA –  $0,109 \pm 0,01$  усл. ед. опт. плотн. и ИЛ-1В –  $641,28 \pm 78$  пкг/мл, что приводит к развитию дистрофически-воспалительного процесса в тканях пародонта.

## Литература

1. Абрамов В.В. Возможные принципы интеграции иммунной и нейроэндокринной систем // Иммунология. – 1996. – № 1. – С. 60-61.
2. Алексеев Г.В. Клиника, лечение и аспекты профилактики пародонтита у больных невралгией: Автореф. дис... канд. мед. наук. – К., 2006. 17 с.
3. Белоключая Г. Ф. Клинико-патогенетическое обоснование дифференцированной патогенетической фармакотерапии генерализованного пародонтита: Автореф. дис... д-ра мед. наук. – К., 2007. – 32 с.
4. Борисенко А.В. Нарушения белкового обмена в тканях пародонта при эндокринной патологии и их коррекция в комплексном лечении: Автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.01.22 / Нац. мед. ун-т им. А.А. Богомольца. – К., 2002. – 29 с.
5. Вітковський А.М. Комплексне лікування трофічних порушень м'яких тканин у хворих з ускладненою травмою хребта: Автореф. дис... канд. мед. наук. – К., 2007. – 18 с.
6. Горбачева П.А., Кирсанов А.П., Орехова Л.Ю. Общесоматические аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита // Стomatол. – 2011. – № 1. – С. 26-35.
7. Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта. – К.: Здоров'я, 2010. – 462 с.
8. Зайко Н.Н., Заярная А.П., Михнев В.А. Особенности метаболизма де-нервированных тканей и их реакции на гормональные влияния. – В кн.: Нарушения механизмов регуляции и их коррекция. – М., 2009. – С. 21-57.
9. Зиновьев А. С., Кононов А.В. Хроническое воспаление слизистых оболочек: интеграция иммунитета и регенерации // Архив патологии. – Т.59, № 3. – С. 18-24.

## Изучение иммунологических параметров ротовой полости у больных генерализованным пародонтитом при травматической болезни спинного мозга

*С.М. Горобец*

Исследовали иммунологическую активность слюны пациентов с травматической болезнью спинного мозга. Аналогичные данные освещены в литературе недостаточно хорошо. Установили, что в патогенезе генерализованного пародонтита, хронического течения у больных с травматической болезнью спинного мозга имеются достоверные ( $p < 0,05$ ) изменения со стороны местного иммунитета полости рта. Отмечается снижение SIgA ( $0,105 \pm 0,005$  г/л) и повышение антиЛПС – SIgA ( $0,152 \pm 0,03$  уел. Ед. Опт. Плотный.) И ИЛ – 1В ( $873,88 \pm 16,13$  пг/мл) по сравнению с аналогичными показателями у больных ГП без ТБСМ: SIgA –  $0,118 \pm 0,06$  г/л, ИЛ 4 –  $4,02 \pm 2,60$  пг/мл, анти ЛПС – SIgA –  $0,109 \pm 0,01$  уел. ед. опт. плотн. и ИЛ -1В –  $641,28 \pm 78$  пг/мл, что приводит к развитию дистрофически – воспалительного процесса в тканях пародонта.

## Researching immunological parameters oral cavity patients with generalized periodontitis in traumatic spinal cord disease

*S.M. Gorobets*

A total of 130 patients were screened. Patients were categorized based on the received therapy. Group 1 – 95 patients with TSPM (integrated treatment, developed by us), 2 – 20 patients (Traditional periodontal treatment), group 3 – 15 – intact periodontium. liquid which is collected in the morning on an empty stomach in measuring tubes centrifuged for 20 min at 3000 rev / min, the supernatant was transferred into a hermetically closed plastic tubes and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Results of the study of secretory immunoglobulin oral fluid indicate that the study group patients significantly greater reduction of SIgA to  $0,105 \pm 0,005$  g / l, which is 13.56% lower compared with those in the control group (without G.P. TBSM) – ( $0,118 \pm 0,060$  g / l) and 22.14%, compared with the index telyami patients with intact periodontium ( $0,131 \pm 0,038$  g / l,  $p < 0.05$ ). One can assume that the detected decrease in SIgA (g / l) in the oral fluid of patients wearing protective compensatory response to the persistence of pathogenic microorganisms and dental plaque indicates tension local immunity of the oral cavity. Individual content of SIgA in oral fluid in the patients examined ranged quite widely (from 0.029 g / L. to 0.312 g / l in control subjects, and 0.016 g / L. to 0.212 g / l in patients at study). Numerous studies have shown that periodontal microflora present various kinds of gram negative bacteria. The main factor is the pathogenicity of Gram-negative bacteria, lipopolysaccharide (LPS) or endotoxin (ET) – obligate component of their cell wall. Pathophysiological manifestations of L.P.S. action on periodontal tissues are extremely diverse. L.P.S. may directly or indirectly participate in the initiation and maintenance of local inflammation. The anti -L.P.S. -SIgA in the oral fluid of patients in the group of patients studies 39.45% ( $p < 0.05$ ) higher than in patients of the control group (G.P., but without spinal injury). Thus, in patients with G.P. occurring against the backdrop TBS.M. revealed high content of secretory immunoglobulin SIgA, specific to different functional parts of L.P.S. molecules. Indispensable due to the presence of Gram-negative bacteria comprising microbiocenoses open natural body cavities L.P.S. is an obligate component of normal human antigenic environment.

Investigated the immunological activity of the saliva of patients with traumatic spinal cord disease. Similar data have been sanctified in the literature is not well. Found that found that, in the pathogenesis of generalized periodontitis, chronic course in patients with traumatic spinal cord disease are significant ( $p < 0.05$ ) changes in the local immunity of the oral cavity. A reduction in SIgA ( $0,105 \pm 0,005$  g / l) and increased antiLPS – SIgA ( $0,152 \pm 0,03$  Uel. Units. Wholesale. Tighter.) And IL- 1B ( $873,88 \pm 16,13$  pg / ml) compared to similar rates in patients without TBSM GP: SIgA –  $0,118 \pm 0,06$  g / l, IL -4 –  $4,02 \pm 2,60$  pg / ml, anti -LPS -SIgA –  $0,109 \pm 0,01$  Uel. u wholesale. tighter. and IL – 1B –  $641,28 \pm 78$  pg / ml, which leads to the development of degenerative inflammatory process in the periodontal tissues.