

УДК 616.316 : 612.017.1

Игнатов М.Ю., Доманова Е.Т., Масло Е.Ю.

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ, ЭНДОТЕЛИНА-1 И АУТОАНТИТЕЛ К НИМ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, РОТОВОЙ И ЗУБОДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТЯХ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ (ВОЕННОСЛУЖАЩИХ)

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

ГУЧ 321 Окружной госпиталь СибВо Минобороны РФ (начальник - полковник медицинской службы, к.м.н. В.С. Лим).

Известно, что резистентность полости рта определяется рядом механизмов, в число которых входят как клеточные, так и гуморальные факторы. В ротовой жидкости имеются нейтрофилы, моноциты, лимфоциты [4]. Показано, что через одну зубодесневую бороздку в полость рта мигрируют нейтрофилы в количестве около 100000 в одну минуту, обладающие высокой фагоцитарной активностью [3]. Наряду со сказанным в составе ротовой и зубодесневой жидкости содержатся иммуноглобулины всех классов, особенно много s-IgA [2]. В последние годы появилось достаточное количество работ, указывающих на доминирующую роль цитокинов в кооперативном взаимодействии иммунокомпетентных клеток в регуляции местного иммунитета [1]. Вместе с тем, вероятно, что уровень цитокинов, в том числе в ротовой и зубодесневой жидкостях, может регулироваться аутоантителами к ним. Однако этот вопрос до настоящего времени в литературе не освещен. С другой стороны, очевидно, что резистентность ротовой полости в значительной мере определяется состоянием микроциркуляции. Поэтому нам представляется интересным оценить уровень эндотелина-1 в смешанной слюне и зубодесневой жидкости, как одного из основных вазоконстрикторов, а также уровень аутоантител к нему.

Материалы и методы. Исследования проведены на 15-ти добровольцах в возрасте 18-20 лет, не имеющих соматической патологии и воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. У исследуемых произведен одномоментный забор крови, ротовой и зубодесневой жидкости. Ротовую жидкость получали путем сплевывания в пластиковые пробирки, зубодесневую - с помощью шприц-тюбика с зашлифованной иглой. Полученные субстраты (сыворотка, ротовая и зубодесневая жидкость) центрифугировали при 1500 об/мин. в течение 10 минут и переносили в эп-

пендорфы, которые хранили при температуре 20⁰C в рефрижераторе до момента использования. Уровень цитокинов (ИЛ-1 \square , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- \square) и эндотелина-1 определяли методом ИФА ("Вектор-Бест", г. Новосибирск). Уровень аутоантител к цитокинам и эндотелину-1 исследовали оригинальным методом. Для этого лунки полистероловых планшетов сенсибилизировали соответствующим антигеном в количестве 20 мкг на одну лунку в объеме 200 мкл физиологического раствора и инкубировали в течение 2-х часов при комнатной температуре. Затем лунки трижды отмывали дистиллированной водой и дополнительно вносили глицин в концентрации 20 мкг на лунку в объеме 200 мкл и инкубировали в течение 2-х часов при комнатной температуре. Последняя манипуляция необходима для блокирования реактивоспособных участков полистероловой поверхности лунок. Далее лунки трижды отмывали дистиллированной водой и вносили исследуемый субстрат в объеме 100 мкл. Сыворотку предварительно разводили забуферированным физиологическим раствором (рН-7,34) в соотношении 1:100; ротовую жидкость - в соотношении 1:10; зубодесневую жидкость не разводили. После 30 минут инкубации лунки трижды отмывали дистиллированной водой и вводили в тест-систему для определения IgG ("Вектор-Бест", г. Новосибирск). Полученный раствор спекрофотометрировали при OD-450, результат выражали в единицах оптической плотности. Полученные данные подвергли статистической обработке и анализу с помощью программы Statistica for Windows Version 6,0. Оценку достоверности различий средних величин для независимых переменных осуществляли по критерию Стьюдента. Различия между сравниваемыми вариационными рядами считали достоверными при p<0,05.

Результаты и их обсуждение. Нами показано (табл.), что уровень ИЛ-1 \square в максимальной степени регистрируется в смешанной слюне, в меньшей - в зубодесневой жидкости и является минимальным в сыворотке крови (p<0,01). Полученный факт не должен вызывать удивления. Высокий уровень ИЛ-1 \square в ротовой и зубодесневой жидкостях отражает высокую активность фагоцитарных клеток и перманентный фагоцитоз в полости рта. С другой стороны, низкое содержание этого цитокина в сыворотке крови, вероятно, свидетельствует о достаточно высокой степени селективности гистогематического (гематосаливаторного) барьера в направлении: ротовая жидкость > кровь. Биологический смысл указанной

Таблица
Уровень некоторых цитокинов, эндотелина-1 и аутоантител к ним в сыворотке крови, смешанной слюне и зубодесневой жидкости у здоровых лиц ($M \pm SD$)

Изучаемые показатели	Сыворотка крови (n=15)	Смешанная слюна (n=15)	Зубодесневая жидкость (n=15)
ИЛ-1b, пг/мл	5,16±1,31	199,83±38,01 $p<0,01$	31,25±4,16 $p<0,01$; $p_1>0,01$
ИЛ-4, пг/мл	5,11±1,12	10,69±4,04 $p>0,01$	1,53±0,61 $p<0,01$; $p_1>0,01$
ИЛ-6, пг/мл	5,86±1,32	49,59±16,84 $p<0,01$	4,36±1,59 $p<0,01$; $p_1>0,01$
ИЛ-10, пг/мл	1,00±0,1	4,38±1,79 $p<0,01$	1,2±0,12 $p<0,01$; $p_1>0,01$
ФНО-а, пг/мл	11,96±3,17	7,77±2,25 $p<0,01$	9,08±2,99 $p<0,01$; $p_1>0,01$
Эндотелин-1, фмоль/мл	4,05±1,23	0,39±0,15 $p<0,01$	0,24±0,07 $p<0,01$; $p_1>0,01$
Аутоантитела IgG к ИЛ-6, OD450	0,23±0,04	0,11±0,02 $p<0,01$	0,13±0,07 $p<0,01$; $p_1>0,01$
Аутоантитела IgG к ИЛ-10, OD450	0,15±0,02	0,13±0,05 $p>0,01$	0,14±0,04 $p<0,01$; $p_1>0,01$
Аутоантитела IgG к ИЛ-8, OD450	0,22±0,04	0,11±0,02 $p<0,01$	0,12±0,07 $p<0,01$; $p_1<0,01$
Аутоантитела IgG к эндотелину-1, OD450	0,15±0,01	0,08±0,02 $p<0,01$	0,09±0,03 $p<0,01$; $p_1>0,01$

Примечание: p - уровень значимости достоверных отличий по сравнению с контролем; p_1 - уровень значимости достоверных отличий между слюной и зубодесневой жидкостью. закономерности вполне объясним. Отсутствие селективности гематосаливаторного барьера привело бы к избыточному накоплению этого цитокина в системном кровотоке и развитию генерализованного воспаления. Примерно аналогичная закономерность зарегистрирована и у других интерлейкинов. Так, концентрация ИЛ-6 и ИЛ-10 выше в смешанной слюне, чем в сыворотке и несколько меньше в зубодесневой жидкости. Это явление, на наш взгляд, также отражает высокую функциональную активность фагоцитов в ротовой полости. Вместе с тем, уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в смешанной слюне не отличается от его содержания в сыворотке ($p>0,01$), а в зубодесневой жидкости меньше, чем в сыворотке и смешанной слюне ($p<0,01$). Данный факт может отражать "потребление" этого цитокина в полости рта.

Содержание ФНО-а в ротовой жидкости оказалось ниже, чем в сыворотке ($p<0,01$). В зубодесневой жидкости концентрация ФНО-а не отличается от его уровня в сыворотке и в слюне.

При исследовании уровня эндотелина-1 установлено, что его концентрация значительно ниже в смешанной слюне и зубодесневой жидкостью по сравнению с сывороткой ($p<0,01$). Это обстоятельство опять же свидетельствует в пользу селективности гистогематического барьера в обратном направлении: кровь > ротовая жидкость.

Наконец в специальном исследовании изучалось содержание аутоантител к ИЛ-6, ИЛ-10 и эндотелину-1. Нами установлено, что уровень аутоантител класса IgG к ИЛ-6 значительно ниже в ротовой и зубодесневой жидкости, чем в сыворотке крови. Вместе с тем, уровень аутоантител к ИЛ-10 оказался одинаков в исследуемых жидкостях. Данный факт опять же может свидетельствовать в пользу связывания аутоантител с повышенной концентрацией ИЛ-6 в смешанной слюне. Уровень аутоантител к эндотелину-1, согласно полученным результатам, оказался значительно ниже в ротовой и зубодесневой жидкости, нежели чем в сыворотке крови.

Таким образом, полученные данные могут свидетельствовать в пользу достаточно высокой функциональной активности фагоцитов в ротовой полости и возможности селективности гистогематического (гематосаливаторного) барьера ротовой полости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cytokine profiles in parotid saliva from HIV-1-infected individuals: changes associated with opportunistic infections in the oral cavity / K.P Black [et al.] // Oral Microbiol. Immunol. - 2000. - v. 15. - № 2. - P. 74 - 81.
2. Hidalgo M. Immune response of patients with dental trauma and consequent replacement resorption / M. Hidalgo, E. Ilano, A. Consolaro // Dent traumaton. - 2005. - v. 21. - № 4. - P. 218 - 221.
3. Ruwanpura S. Prostaglandin E2 regulates interleukin-1-induced matrix metalloproteinase-3 production in human gingival fibroblasts / S. Ruwanpura, K. Naguchi // J. Dent res. - 2004. - v. 83. - № 3. - P. 260 - 265.
4. The oral ecosystem: implications for education / H. Eriksen [et al.] // Dent educ. - 2006. - v. 10. - № 4. - P. 192 - 196.