

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ И СЛЮННОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ ПОЧЕК

© Малышев М.Е.¹, Бельских О.А.², Сорокина А.А.¹, Зубор О.И.¹

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург;

² Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: muzikinm@gmail.com

В работе проведено сравнительное изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, RAIL) в сыворотке крови и слюне больных с хроническими болезнями почек и практически здоровых мужчин. Выполнена оценка влияния нарушений в системном и местном иммунитете на частоту встречаемости заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта. Результаты проведенного исследования позволили подтвердить важную роль цитокиновых взаимодействий в патогенезе воспаления при хронических болезнях почек, а также констатировать различия цитокинового профиля при разных вариантах этих заболеваний. Установлено, что уровни IL-6 и IL-8 в слюне достоверно коррелируют с развитием заболеваний слизистой оболочки полости рта у больных с хронической почечной недостаточностью.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, цитокиновый профиль, иммунитет, иммунопатологические реакции, заболевания пародонта, слюнная жидкость.

INFORMATION VALUE OF INDICATORS OF SERUM CYTOKINE PROFILE AND SALIVA IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASES

Malyshev M.E.¹, Bel'skikh O.A.², Sorokina A.A.¹, Zubor O.I.¹

¹ Saint-Petersburg I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg;

² S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg

The comparative study of proinflammatory and antiinflammatory cytokine levels (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, RAIL) in blood serum and saliva of patients with chronic kidney diseases and apparently healthy males has been carried out in the work. The influence of systemic and local immunity disturbances on the occurrence of parodontal and oral mucosa diseases has been assessed. The study results confirmed the important role of cytokine interactions in pathogenesis of inflammation in chronic kidney disease, and stated the differences in the cytokine profile in different variants of the diseases. It has been established that the IL-6 and IL-8 levels in saliva reliably correlate with the progression of oral mucosa diseases in patients with chronic renal failure.

Keywords: chronic kidney disease, cytokine profile, immunity, immunopathological reactions, parodont diseases, saliva.

У больных с хронической болезнью почек (ХБП) в 24-60% случаев развиваются инфекционные осложнения, в том числе воспалительные заболевания пародонта и слизистой оболочки рта, что ухудшает как прогноз заболевания, так и реабилитацию больных. Основой инфекционных осложнений является вторичный иммунодефицит, прогрессирующий по мере ухудшения деятельности почек [2, 11, 13, 14]. Эти изменения прогрессируют по мере ухудшения функции почек и достигают максимальной выраженности у больных, находящихся на хроническом гемодиализе. Многие аспекты патогенеза иммунных нарушений при ХБП остаются на сегодняшний день невыясненными. При ХБП наблюдается подавление клеточных и гуморальных факторов иммунитета, а в основе патогенеза, как и при любых инфекционно-воспалительных заболеваниях, лежит запуск реакций цитокинового каскада, который

включает выработку про- и противовоспалительных цитокинов [1, 16].

При этом наряду с изучением концентрации цитокинов в системном кровотоке важное значение имеет исследование содержания цитокинов в других биологических жидкостях (моча, слюнная жидкость). Исследование слюны является ценным неинвазивным методом оценки общего состояния организма и, в особенности, органов полости рта. Сбор слюны удобен и прост, он безболезнен, риск заражения медицинского персонала значительно меньше, чем при работе с кровью, содержание некоторых веществ в слюне (например, гормонов, антител, лекарств и т.д.) отражает их концентрацию в крови [4, 15, 17].

Большинство как про-, так и противовоспалительных цитокинов (такие как IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ) присутствуют не только в периферической крови, но и в слюне [18]. Источниками их продукции являются как встроенные в эпителий слизистых оболочек лимфоциты и макрофаги, так и

эпителий слизистой оболочки и сами слюнные железы. Кроме того, важным источником цитокинов в слюне является сывороточный транссудат. При этом многими исследователями отмечено, что содержание цитокинов в слюне не коррелирует с их уровнем в крови, что косвенно указывает на их местный синтез [19].

К настоящему времени известны лишь единичные исследования места и роли цитокинов при ХБП. Изучение уровней цитокинов позволяет получать информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень, о соотношении процессов активации Т-хелперов 1-го и 2-го типов, что позволяет прогнозировать дальнейшее течение и исход заболевания [1]. Раннее выявление больных с высоким риском осложнений способствует своевременному проведению коррекции терапии, дифференцированию инфекционной и неинфекционной патологии, оценке эффекта терапии [3].

Цель работы: сравнительное изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, RAIL) в сыворотке крови и слюне больных с хроническими болезнями почек и оценка влияния нарушений в системном и местном иммунитете на частоту встречаемости заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования служила сыворотка периферической крови и слюна 120 практически здоровых мужчин (контрольная группа) и 173 мужчин среднего возраста (возраст от 35 до 59 лет), которые в течение трех лет и более страдали хронической болезнью почек.

Забор слюны проводили утром с 9.00 до 10.00. Перед сбором слюны пациент полоскал ротовую полость 100 мл теплого, бледно-розового раствора марганцовокислого калия. После этого в течение последующих 10-15 минут больной собирал слюну в сухую пробирку в количестве около 7 мл.

Для изучения частоты встречаемости и интенсивности течения заболеваний пародонта, а также слизистой оболочки полости рта у взрослых людей, страдающих хронической болезнью почек, был проведен осмотр полости рта, а также ортопантомографическое обследование.

Среди обследованных больных, страдающих ХБП, 46 были больны хроническим пиелонефритом, 37 – хроническим гломерулонефритом, 49 – хронической почечной недостаточностью (ХПН), но не находились на гемодиализе и 41 человек – больны ХПН и находились на гемодиализной терапии (рис. 1).

Людей осматривали с использованием стоматологического зеркала и пародонтального зонда. Частоту встречаемости патологии пародонта и слизистой оболочки полости рта выражали в процентах. Для уточнения состояния и подтверждения степени тяжести течения воспалительной патологии пародонта использовали заключения врачей-рентгенологов, которые выполняли их на основании изучения ортопантомограмм.

Содержание провоспалительных (интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8), фактора некроза опухоли- α (TNF α)) и противовоспалительных (рецепторного антагониста интерлейкина-1 (RAIL), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10)) цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы «Вектор Бест» (Россия).



Рис. 1. Распределение людей, страдающих хронической болезнью почек, по нозологическим формам (%).

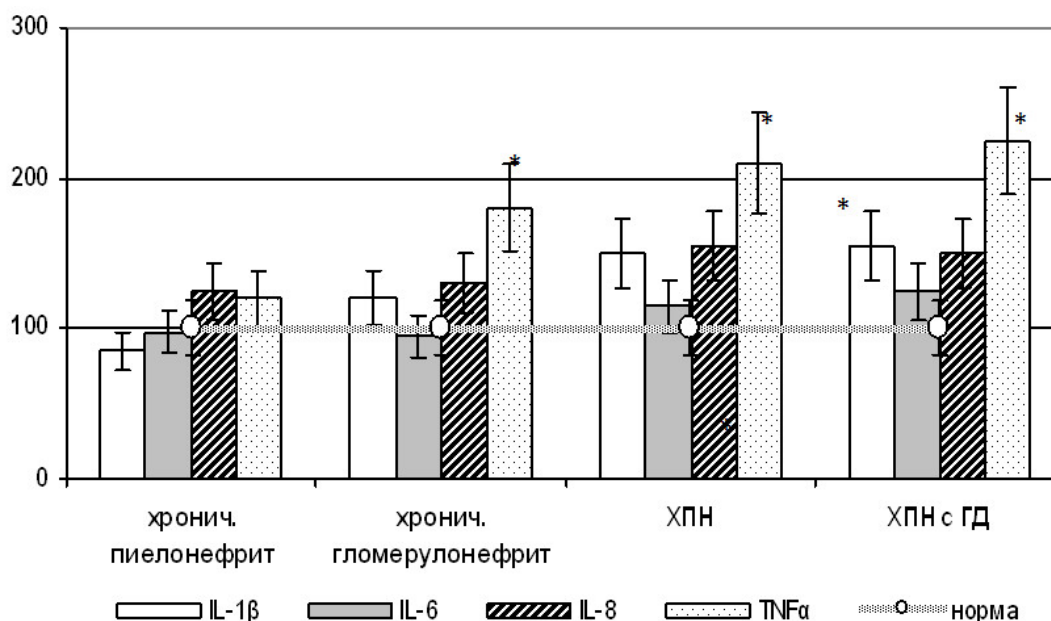


Рис. 2. Содержание IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α (% от нормы) в крови пострадавших с ХБП; * – $p < 0,05$ – по сравнению с нормой.

Статистическую обработку провели стандартными методами вариационной статистики. Сравнение средних показателей проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время появляется много сообщений о роли иммунологических изменений в организме при хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях мочевых путей, в т.ч. при ХБП. Результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют о том, что у больных ХБП имеют место ассоциативная связь с иммуногенетическими параметрами, расстройство местного и системного иммунитета, иммунопатологические реакции [12]. В основе патогенеза ХБП, как и при любых инфекционно-воспалительных заболеваниях, лежит запуск реакций цитокинового каскада, который включает выработку про- (IL-1 β , TNF α , IL-6) и противовоспалительных цитокинов (IL-10, RAIF, TGF β). Так, работами отечественных исследователей установлено, что при хроническом пиелонефрите интерлейкины синтезируются в ответ на воспаление уроэпителиоцитами проксимального отдела тубулярной части нефрона [5, 6].

Одним из факторов генерализации воспаления при хронических болезнях почек является активация продукции и секреции различных цитокинов и увеличение их

содержания в крови. При этом активированные моноциты и тканевые макрофаги синтезируют как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины [7, 20]. Результаты исследования концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α) в крови пострадавших с ХБП приведены на рисунке 3.

Достоверных отличий от нормальных значений при исследовании концентрации IL-6 и IL-8 в сыворотке крови больных с ХБП отмечено не было. В группе пациентов с хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе, наблюдали увеличение содержания IL-1 β в сыворотке крови (в 1,5 раза) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Также было установлено достоверное повышение уровня TNF α (в 1,8-2,3 раза) в крови пациентов с гломерулонефритами, ХПН и ХПН с гемодиализом ($p < 0,05$).

Провоспалительные цитокины играют защитную роль, поскольку обеспечивают рекрутирование в очаг воспаления эффекторных клеток (нейтрофилов, макрофагов), стимулируют их фагоцитарную, бактерицидную активность и индуцируют запуск антигенспецифического иммунного ответа. Важно отметить, что защитная роль провоспалительных цитокинов проявляется тогда, когда эти медиаторы работают локально, в очаге воспаления, однако избыточная и генерализованная продукция провоспалительных цитокинов приводит к развитию органических дисфункций.

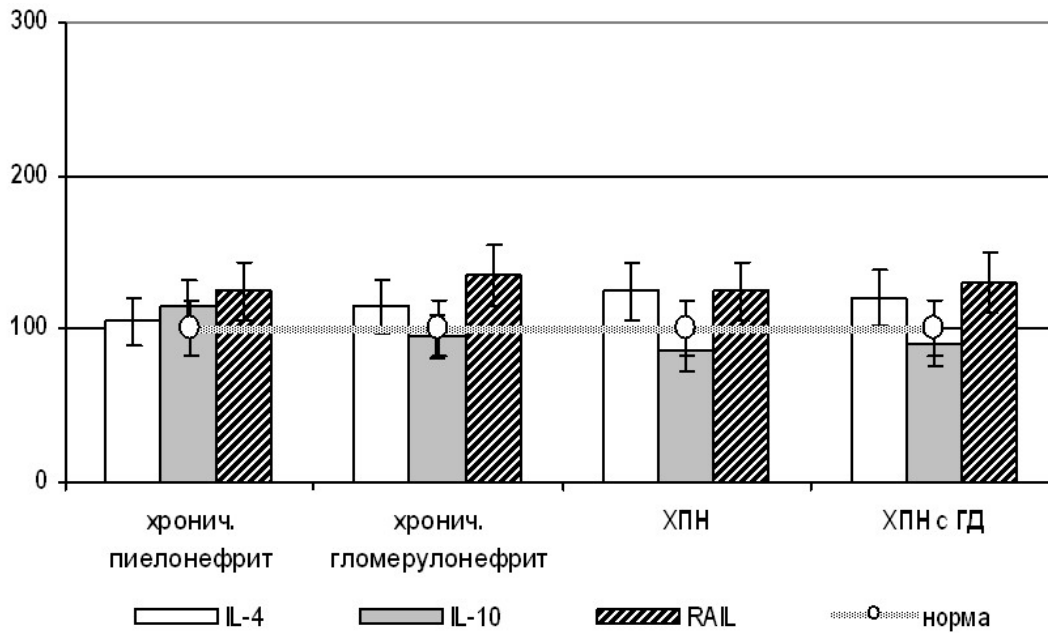


Рис. 3. Содержание IL-4, IL-10, RAIL (% от нормы) в крови пострадавших с ХБП; * – $p < 0,05$ – по сравнению с нормой.

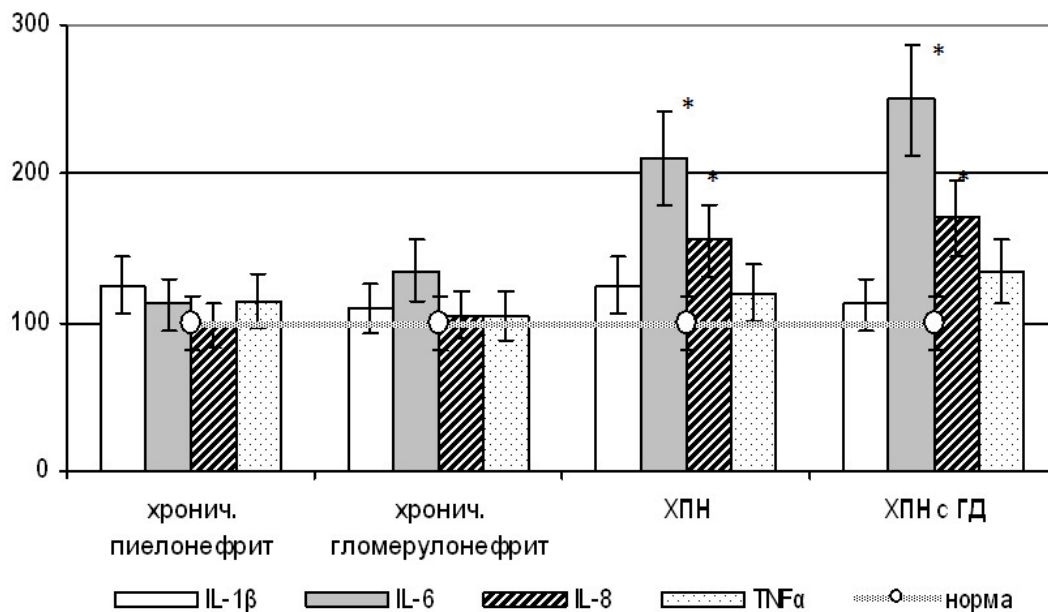


Рис. 4. Содержание IL-1β, IL-6, IL-8, TNFα (% от нормы) в слюне пострадавших с ХБП; * – $p < 0,05$ – по сравнению с нормой.

Для избежания избыточных проявлений воспалительного процесса в организме включаются механизмы негативного контроля, опосредованные продукцией противовоспалительных цитокинов и растворимых ингибиторов провоспалительных цитокинов [7].

При оценке содержания противовоспалительных цитокинов сыворотки у больных ХБП (рис. 4) не было отмечено достоверных отличий от контрольных значений всех

исследуемых показателей во всех группах больных. Таким образом, дисбаланс цитокинов при ХБП при развитии хронической почечной недостаточности связан с активацией провоспалительных цитокинов при неизменной продукции противовоспалительных, что подтверждается данными других авторов [8, 10].

В последнее время проводятся исследования влияния биохимического и иммунологического состава слюнной жидкости на развитие воспаления при заболеваниях пародонта при

хронических болезней почек [9, 19]. Изменение показателей цитокинового профиля слюны при различных заболеваниях может считаться важным диагностическим показателем, выявляющим развитие воспаления [15]. Преобладание про- или противовоспалительных цитокинов приводит к снижению эффективности воспаления, развитию гнойных осложнений или аутоиммунной патологии, развитию заболеваний пародонта или слизистой рта [17, 18].

При исследовании содержания цитокинов в слюнной жидкости больных с ХБП были получены следующие результаты (рис. 4).

Содержание IL-1 β и TNF α в слюне не отличалось от показателей контрольной группы у всех больных с ХБП. Однако было установлено достоверное повышение концентрации IL-6 и IL-8 в группах больных с хронической почечной недостаточностью (с применением гемодиализа и без). IL-8 является основным хемотаксическим фактором для нейтрофилов, вызывая экспрессию молекул адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам, способствуя активации местного иммунитета [13]. При этом усиление секреции ИЛ-8 приводит к рекрутированию в очаг воспаления нейтрофилов, высвобождающих продукты окислительного взрыва, оказывающих повреждающее действие на слизистую оболочку ротовой полости, подавлению процессов репарации и прогрессированию воспаления.

При этом отмечено, что в группах с развившейся хронической почечной недостаточностью содержание в слюне

рецепторного антагониста IL-1 достоверно превышало значение нормы ($p < 0,05$) (рис. 5).

Пародонтальный статус людей, страдающих хроническим пиелонефритом и хроническим гломерулонефритом, существенно не отличался от пародонтального статуса лиц, составлявших контрольную группу. Существенное различие в пародонтологическом статусе, в отличие от контрольной группы, отмечено у больных, страдающих ХПН, независимо от нахождения их на диализной терапии. Так, у лиц, которым не была показана диализная терапия частота встречаемости гингивита и пародонтита составила, соответственно, 12,24% и 85,71% ($p \leq 0,05$). В группе больных, страдающих ХПН, без диализной терапии, в удалении отложений зубного камня нуждались 97,96% пациентов ($p \geq 0,05$), а заболевания слизистой оболочки полости рта, губ и языка были диагностированы в 16,33% случаев ($p \leq 0,05$), то есть у 8 человек. У мужчин среднего возраста, которые страдали ХПН, на фоне проведения диализной терапии частота встречаемости гингивита и пародонтита составила соответственно 44,88% и 95,12% ($p \leq 0,05$). В этой группе больных нуждаемость в удалении отложений зубного камня составила 100%, а заболевания слизистой оболочки полости рта, губ и языка встречались в 39,02% случаев ($p \leq 0,05$), то есть у 16 человек.

При проведении корреляционного анализа не было отмечено взаимосвязи между частотой встречаемости заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта у больных с ХБП и содержанием цитокинов в сыворотке крови. Однако была отмечена достоверная корреляция

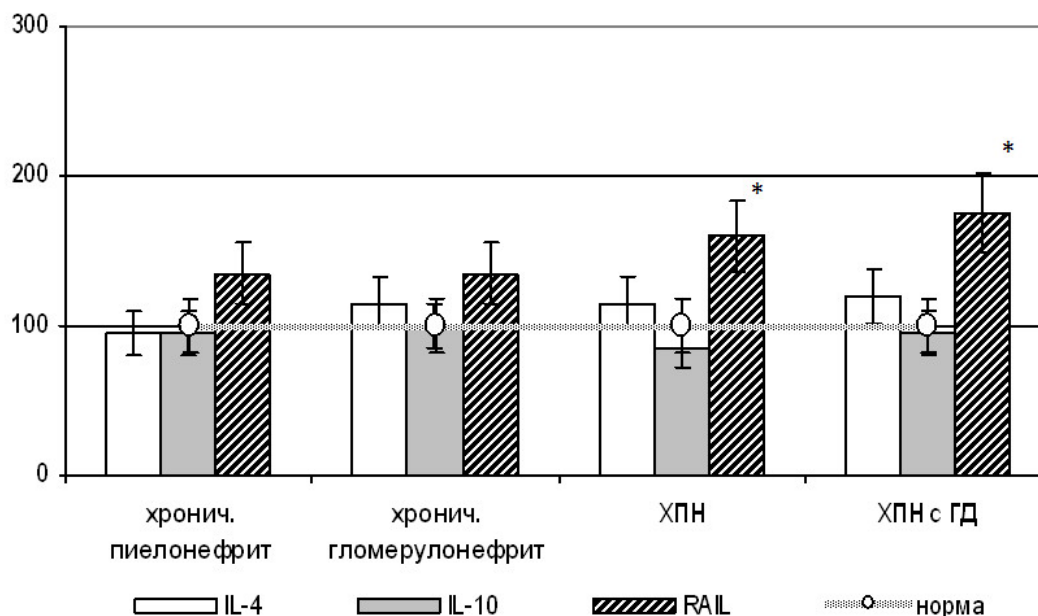


Рис. 5. Содержание IL-4, IL-10, RAIL (% от нормы) в слюне пострадавших с ХБП; * – $p < 0,05$ – по сравнению с нормой.

между содержанием провоспалительных цитокинов в слюне больных с ХБП и развитием заболеваний пародонта. Так, уровни IL-6 и IL-8 в слюне коррелировали ($p < 0,05$) с развитием заболеваний слизистой оболочки ($r = 0,69$ и $r = 0,59$ соответственно).

Результаты проведенного исследования позволили подтвердить важную роль цитокиновых взаимодействий в патогенезе воспаления при хроническом заболевании почек, а также констатировать различия цитокинового профиля при разных вариантах ХБП. При исследовании содержания цитокинов в крови в группах пациентов с развитием хронической почечной недостаточности отмечено преобладание провоспалительных цитокинов над противовоспалительными. В слюнной жидкости пострадавших с ХПН также отмечен дисбаланс в сторону увеличения концентрации провоспалительных цитокинов. Данные изменения могут приводить к дисбалансу в местном иммунном ответе слизистых оболочек и развитию как аутоиммунных, так и воспалительных заболеваний полости рта. Уровни IL-6 и IL-8 в слюне достоверно коррелировали с развитием заболеваний слизистой оболочки рта у больных с хронической почечной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 2(3). – С. 20-35.
2. Емец В.И., Герасимова Т.Н., Васильева Л.Л. Специфические и неспецифические показатели гуморального иммунитета у больных хронической почечной недостаточностью // Иммунология. – 1980. – № 6. – С. 64-67.
3. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций // Цитокины и воспаление. – 2009. – № 8(1). – С. 10-17.
4. Иорданишвили А.К., Бельских О.А., Тишков Д.С., Карев Ф.А., Музыкин М.И., Либих Д.А. Особенности функционирования слизистой оболочки полости рта и языка при хронических заболеваниях почек, кишечника и эндокринной патологии // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 4. – С. 30-36.
5. Картамышева Н.Н., Чумакова О.В., Кучеренко А.Г. Факторы прогрессирования хронического пиелонефрита и хронического интерстициального нефрита // Педиатрия. – 2004. – № 5. – С. 50-53.
6. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины / СПб : Издательство Фолиант, 2008. – 552 с.
7. Кудряшова И.П., Оспельникова Т.П., Еришов Ф.И. Динамика показателей цитокинового профиля при хроническом пиелонефрите. // Клиническая нефрология. – 2012. – № 3. – С. 39-41.
8. Мальшиев М.Е., Лобейко В.В., Иорданишвили А.К. Показатели секреторного иммунитета слюны у пациентов с различными заболеваниями слюнных желез // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 1. – С. 40-48.
9. Маянский А.Н. Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевыводящей системы // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 4 – С. 3-9.
10. Рагимова Р.Р., Азизова Г.И., Эфендиев И.М. Изучение некоторых цитокинов и иммунных параметров при хронической недостаточности // Цитокины и воспаление. – 2009. – № 8(3). – С. 46-49.
11. Amore A., Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis // Nephrol Dial Transplant. – 2002. – Vol. 17, Suppl 8. – P. 16-24.
12. Ariyamuthu V., Nolph K., Ringdahl B. Periodontal Disease in Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease Patients: A Review // Cardiorenal Med. – 2013. – Vol. 3, N 1. – P. 71-78.
13. Kaysen G.A. Inflammation: cause of vascular disease and malnutrition in dialysis patients // Semin Nephrol. – 2004. – Vol. 24, N 5. – P. 431-436.
14. Stenvinkel P., Ketteler M., Johnson R.J., Lindholm B., Pecoits-Filho R., Riella M., Heimbürger O., Cederholm T., Girndt M. IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly // Kidney Int. – 2005. – Vol. 67, N 4. – P. 1216-1233.
15. Malamud D., Rodriguez-Chavez I. Saliva as a Diagnostic Fluid // Dent Clin North Am. – 2011. – Vol. 55, N 1. – P. 159-178.
16. Malathi N., Mythili S., Vasanthi H.R. Salivary diagnostics: a brief review. // ISRN Dent. – 2014. – Article 158786. – 8 p. – doi: 10.1155/2014/158786.
17. Lee Y.H., Wong D.T. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases // Am J Dent. – 2009. – Vol. 22, N 4. – P. 241-248.
18. Kaufman E., Lamster I.B. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review // J Clin Periodontol. – 2000. – Vol. 27, N 7. – P. 453-465.
19. Stringer S, Sharma P., Dutton M., Jesky M., Ng K., Kaur O., Chapple I., Dietrich T., Ferro C., Cockwell P. The natural history of, and risk factors for progressive Chronic Kidney Disease (CKD): the Renal Impairment in Secondary care (RIISC) study; rationale and protocol // BMC Nephrology. – 2013. – 1495 p. – doi: 10.1186/1471-2369-14-95.
20. Seymour G.J., Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? // Acta Odontol Scand. – 2001. – Vol. 59, N 3. – P. 167-173.