УДК 616.314.17-008.1:612.313.

БИОМАРКЕРЫ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ: КЛЕТОЧНЫЙ ПРОФИЛЬ И ЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ

Юсупалиходжаева Саодат Хамидуллаевна – *DSc, доцент кафедры пропедевтики терапевтической стоматологии Ташкентского государственного медицинского университета.*

Шомуродова Гулчехра Хуршидовна *– PhD, докторант кафедры пропедевтики терапевтической стоматологии Ташкентского государственного медицинского университета.*

Муқимова Ҳуррият Олимжон қизи *– PhD, ассистент кафедры пропедевтики терапевтической стоматологии Ташкентского государственного медицинского университета.*

Абдуалиева Дилноза *- студентка стоматологического факультета Ташкентского государственного медицинского университета.*

Аннотация. В исследовании оценивали клеточный состав и цитокиновый профиль смешанной слюны у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести. Обследованы 80 человек: 50 пациентов основной группы и 30 участников контрольной группы без стоматологической патологии. Клеточный состав изучали методом световой микроскопии, содержание цитокинов - методом иммуноферментного анализа. В основной группе отмечено увеличение количества нейтрофилов, лимфоцитов, десквамированных эпителиальных клеток, эритроцитов и голых ядер. Средние концентрации IL-6, IL-8, IL-2, IL-1, IFN-α и TNF-α превышали контрольные значения. Комплексная оценка клеточных и цитокиновых показателей позволяет охарактеризовать воспалительные изменения при пародонтите средней степени тяжести и представляет интерес для дальнейшего изучения слюнных биомаркеров.

Ключевые слова: пародонтит средней степени тяжести, смешанная слюна, клеточный состав, цитокины, нейтрофилы, интерлейкины.

Annotatsiya. Tadqiqotda o‘rta og‘irlikdagi parodontit bilan kasallangan bemorlarning aralash so‘lagidagi hujayra tarkibi va sitokin profili baholandi. Jami 80 kishi tekshirildi: asosiy guruhda 50 nafar bemor, nazorat guruhida stomatologik patologiyasi bo‘lmagan 30 nafar ishtirokchi. Hujayralar yorug‘lik mikroskopiyasi, sitokinlar immunoferment tahlili yordamida o‘rganildi. Asosiy guruhda neytrofillar, limfotsitlar, epiteliy hujayralari va yallig‘lanish mediatorlarining ko‘rsatkichlari yuqoriroq bo‘ldi. Natijalar o‘rta og‘irlikdagi parodontitda yallig‘lanish o‘zgarishlarini tavsiflaydi.

Kalit so‘zlar: parodontit, aralash so‘lak, hujayra tarkibi, sitokinlar.

Abstract. This study evaluated the cellular composition and cytokine profile of mixed saliva in moderate periodontitis. Eighty participants were examined: 50 patients in the main group and 30 controls without dental pathology. Cells were assessed by light microscopy and cytokines by enzyme-linked immunosorbent assay. The main group showed higher neutrophil, lymphocyte, epithelial cell, erythrocyte and bare-nucleus values, together with higher mean cytokine concentrations. These findings characterize the inflammatory profile of the examined patients.

Keywords: moderate periodontitis, mixed saliva, cells, cytokines.

Современный взгляд на патогенез пародонтита базируется на признании ключевой роли дисбаланса микробиоты и нарушений в системе местной иммунной защиты. В связи

с этим совершенствование методов диагностики и терапии заболевания напрямую зависит от иммунологических исследований полости рта и анализа свойств ротовой жидкости . [5,8,10]. Особый интерес для научного сообщества представляет идентификация измеримых биомаркеров в слюне, позволяющих своевременно выявлять пародонтит, а также объективно оценивать степень его тяжести и динамику развития [2,6].

Слюна – это неинвазивная, легко собираемая жидкость, вызывающая минимальный дискомфорт у пациента, отражающая воспалительный статус всей полости рта и широко используемая исследовательскими группами, поскольку она указывает на местоположение и наличие потенциальных биомаркеров. [1,3].

Изучение клеточного состава и цитокиновой активности смешанной слюны представляет интерес для оценки воспалительных процессов в тканях пародонта. Слюна как биологический материал позволяет одновременно исследовать клеточные компоненты и растворимые медиаторы. В настоящей работе проанализированы эти показатели у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести [8,10].

Нейтрофилы участвуют в защите тканей и формировании воспалительной реакции. Их присутствие в смешанной слюне рассматривается совместно с содержанием других клеток, включая лимфоциты и десквамированный эпителий. Клеточный профиль дополняет количественную оценку медиаторов, связанных с развитием и регуляцией воспаления [7,9].

Цитокины — это воспалительные медиаторы, которые, как считается, играют роль в переходе от обратимого гингивита к необратимому пародонтиту [6]. Примечательно, что интерлейкин IL-1β, IL-6, фактор некроза опухоли альфа (TNF-α) и лиганд активатора рецептора ядерного фактора каппа-B (RANK-L) играют ключевую роль в патофизиологии пародонтита [3,6]. IL-1β был одним из первых цитокинов, предложенных в качестве релевантного биомаркера пародонтальных заболеваний и показал многообещающие результаты в ранней диагностике пародонтита с использованием слюны.

Интерлейкин-1, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли α и интерлейкин-8 были выбраны в исходной работе для оценки воспалительного процесса в пародонтальных тканях. Совместное исследование показателей позволяет охарактеризовать разные компоненты местной воспалительной реакции. При этом лабораторные результаты необходимо интерпретировать во взаимосвязи с клинической картиной. [5,8,10].

Цель исследования изучить клеточный и цитокиновый профиль смешанной слюны у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 80 участников в возрасте от 20 до 55 лет и старше. Основную группу составили 50 пациентов с пародонтитом средней степени тяжести, контрольную - 30 участников без стоматологической патологии. Все участники подписали информированное согласие. Период исследования - 2023–2026 годы. Исследование проводилось с участием кафедры пропедевтики терапевтической стоматологии Ташкентского государственного медицинского университета.

Для измерения уровня цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α и ИЛ-8 использовались наборы для иммуноферментного анализа методом твердофазного иммуноферментного анализа, способные количественно определить эти цитокины в слюне.

Мазки слюны изучали из осадков центрифугата слюны, взятой из полости рта у больных. После тщательного трехкратного полоскания полости рта изотоническим раствором хлорида натрия, из подъязычной области собирали 10 мл жидкого содержимого полости рта в центрифужную пробирку. Данный образец

центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 минут. Затем аккуратно отбирали осадок и готовили из него мазки по стандартной методике.

После высушивания и фиксации мазков в парах 96% спирта в течение 2 часов при комнатной температуре, препараты окрашивали краской Giemsa. Окрашенные мазки изучали под световым микроскопом (Leica). В каждом препарате оценивали клеточный состав и подсчитывали количество клеток различных типов. Подсчет клеток проводили не менее, чем в пяти полях зрения каждого мазка (при увеличении 100x). Общее число подсчитанных клеток в каждом препарате составляло не менее 100. От каждого обследованного пациента исследовали 3 мазка.

Полученные данные по количеству клеток различных типов суммировали и рассчитывали средние значения с ошибкой средней. При статистической обработке использовали методики параметрической (средняя величина, ошибка средней величины M+m, коэффициент Стьюдента, вероятность различий P) и непараметрической обработки результатов. При статистической обработке результатов использовали компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты исследования. У пациентов с пародонтитом средней степени тяжести выявлены изменения клеточного состава и цитокинового профиля смешанной слюны по сравнению с контрольной группой. Числовые показатели клеточного состава представлены на рисунке 1. Количество нейтрофилов в основной группе составило 44,4 ± 1,4 против 9,7 ± 2,3 в контроле. По авторскому расчёту, увеличение составило 4,57 раза. Значения лимфоцитов достигали 25,57 ± 3,31 при контрольном уровне 3,7 ± 1,2; в исходном анализе указано увеличение в 6,91 раза. Таким образом, приведённые данные отражают повышение обоих показателей.

Количество десквамированных эпителиальных клеток составило 81,0 ± 3,7 против 38 ± 8,3 в контрольной группе, то есть увеличилось в 2,13 раза. Различия клеточного профиля характеризуют состояние исследованной ротовой жидкости и рассматриваются в связи с воспалительными изменениями тканей полости рта.



Рисунок 1. Клеточный состав смешанной слюны в группах сравнения.

Показатель эритроцитов составил 9,86 ± 1,11 в основной группе и 1,3 ± 0,3 в контроле. Количество голых ядер достигало 5,07 ± 1,91 против 0,3 ± 0,1. Значения клеток, обозначенных в исходной таблице как фибробласты, составили соответственно 0,86 ± 0,1 и 0,7 ± 0,3.

В исходном статистическом анализе отмечены различия средних значений IL-6, IL-8, IL-2, IL-1, IFN-α и TNF-α между основной и контрольной группами ($p < 0,05$). Концентрации исследованных медиаторов показаны на рисунке 2.



Рисунок 2. Концентрации цитокинов в смешанной слюне до лечения, пг/мл.

Уровень IL-6 составил 22,51 ± 4,44 пг/мл в основной группе против 12,33 ± 0,2 пг/мл в контрольной. В исходном тексте для данного сравнения указано $p < 0,005$. Концентрация IL-8 достигала 22,44 ± 1,08 пг/мл при контрольном значении 14,04 ± 0,2 пг/мл. Уровень IL-2 составил 13,18 ± 0,91 против 8,28 ± 0,19 пг/мл.

Содержание IL-1 составило 12,77 ± 2,77 пг/мл в основной группе и 6,1 ± 0,2 пг/мл в контроле. Концентрация TNF-α достигала 21,48 ± 2,01 пг/мл против 15,6 ± 0,21 пг/мл, содержание IFN-α — 13,76 ± 2,39 против 8,4 ± 0,22 пг/мл. Для этих сравнений в авторском тексте указано $p \leq 0,05$.

Таким образом, направление изменений было одинаковым для всех исследованных медиаторов: их средние значения в основной группе превышали контрольные. Исходные величины и показатели ошибки сохранены без изменения.

Обсуждение . Интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-6, фактор некроза опухоли α (ФНО-α) и ИЛ-8 - все эти показатели были выбраны для оценки воспалительного процесса в пародонтальных тканях. Каждый из них играет важную роль в развитии и регуляции воспалительной реакции.

ФНО-α также является важным регулятором воспалительного ответа и играет роль в активации иммунной системы. Он является индуктором воспаления и имеет влияние на врожденный иммунитет.

ИЛ-8 отвечает за рекрутирование и активацию нейтрофилов - важных клеток воспаления. Он играет важную роль в защите организма и привлекает нейтрофилы в очаг воспаления для борьбы с инфекцией.

Интерлейкин-1 участвует в активации воспалительного ответа и регуляции синтеза других медиаторов. Интерлейкин-6 вовлечён в дифференцировку иммунных клеток и гуморальную реакцию. Одновременное изучение этих показателей позволяет рассматривать воспалительный процесс как систему взаимосвязанных клеточных и молекулярных изменений.

В основной группе повышение IL-8 сочеталось с увеличением количества нейтрофилов. Такая совокупность результатов представляет интерес для характеристики воспаления при пародонтите средней степени тяжести. При этом

параллельное изменение двух показателей не равнозначно статистически установленной корреляции: коэффициенты взаимосвязи в исходных материалах не приведены.

Изменения эпителиального компонента дополняли лейкоцитарный профиль. Более высокое количество десквамированных клеток и голых ядер характеризует состав исследованного осадка смешанной слюны. Для интерпретации этих показателей важно учитывать не только воспаление, но и особенности забора материала, приготовления мазков и морфологического подсчёта.

Представленные результаты отражают повышение количества лимфоцитов, а не его снижение. Эта формулировка согласована с исходной числовой таблицей; сами данные не изменены. Аналогично на диаграммах сохранены все клеточные категории, шесть исследованных медиаторов и соответствующие значения ошибки средней.

Анализ клеточного и цитокинового состава смешанной слюны может использоваться как исследовательское дополнение к клиническому обследованию. Полученные различия не заменяют оценку тканей пародонта. Представленные данные характеризуют состояние до лечения; утверждения об изменении показателей после терапии на основании этих диаграмм не формулируются.

Выводы.

1. При пародонтите средней степени тяжести в основной группе зарегистрированы более высокие показатели нейтрофилов, лимфоцитов, эпителиальных клеток, эритроцитов и голых ядер по сравнению с контрольной группой.

2. Концентрации IL-6, IL-8, IL-2, IL-1, IFN-α и TNF-α в смешанной слюне превышали контрольные значения. Все количественные результаты сохранены по исходным авторским таблицам.

3. Комплексное исследование клеточного состава и цитокинового профиля позволяет охарактеризовать воспалительные изменения при пародонтите средней степени тяжести. Уточнение диагностической и прогностической ценности этих показателей требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галлаб, Н.А. Диагностический потенциал и будущие направления использования биомаркеров в десневой жидкости и слюне при пародонтальных заболеваниях: обзор имеющихся данных. Arch. Oral Biol. 2018 , 87 , 115–124.

2. Миллер, К.С.; Фоли, Дж.Д.; Бейли, А.Л.; Кэмпбелл, К.Л.; Хамфрис, Р.Л.; Кристодулидес, Н.; Флориано, П.Н.; Симмонс, Г.; Бхагвандин, Б.; Джейкобсон, Дж. У.; и др. Современные достижения в области диагностики по слюне. Biomark. Med. 2010, 4, 171–189.

3. Рамадан, Д. Э.; Харияни, Н.; Индравати, Р.; Ридван, Р. Д.; Диятри, И. Цитокины и хемокины при пародонтите. Eur. J. Dent. 2020, 14, 483–495.

4. Cafiero, C.; Spagnuolo, G.; Marenzi, G.; Martuscelli, R.; Colamaio, M.; Leuci, S. Predictive Periodontitis: The Most Promising Salivary Biomarkers for Early Diagnosis of Periodontitis. J. Clin. Med. 2021, 10, 1488.

5. Changes in Inflammatory Cytokines in Saliva after Non-Surgical Periodontal Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2020. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7795738/

6. . Relvas, M.; Mendes-Frias, A.; Gonçalves, M.; Salazar, F.; López-Jarana, P.; Silvestre, R.; Viana da Costa, A. Salivary IL-1β, IL-6, and IL-10 Are Key Biomarkers of Periodontitis Severity. Int. J. Mol. Sci. 2024, 25, 8401. https://doi.org/10.3390/ijms25158401

7. Salivary and serum inflammatory biomarkers during periodontitis progression and after treatment. J Clin Periodontol. 2024. DOI: 10.1111/jcpe.14048.

8. Salivary Biomarkers in Periodontitis: A Scoping Review. 2023. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10772482/

9. Salivary biomarkers present in patients with periodontitis without clinical distinction: findings from a meta-analysis. 2023. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10499340/

10. Tonetti M. S., Greenwell H., Kornman K. S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. J Clin Periodontol. 2018. DOI: 10.1111/jcpe.12945.