Шкарин Владимир Вячеславович, кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения; тел.: (8442)730426; e-mail: pk.volgmed@mail.ru

Дмитриенко Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии; тел.: (8793)324474; e-mail: s.v.dmitrienko@pmedpharm.ru

Вейсгейм Людмила Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии факультета усовершенствования врачей; тел.: (8442)385005; e-mail: pk.volgmed@mail.ru

Коннов Валерий Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой ортопедической стоматологии; тел.: (8452)669826; e-mail: sgmu@mail.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 611.31-079:618.2

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13020>

ISSN – 2073-8137

ИЗМЕНЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ЗАЩИТНЫХ ИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В ДИНАМИКЕ ГЕСТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

В. А. Проходная¹, И. М. Быков², Т. В. Гайворонская², Н. В. Лапина²,
С. О. Сурменева¹, Е. Х. Чибичян¹

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

CHANGES OF CONGENITAL PROTECTIVE IMMUNE MECHANISMS OF THE MOUTH IN PREGNANT WOMEN IN THE DYNAMICS OF THE GESTATION PERIOD

Prokhnodnaya V. A.¹, Bykov I. M.², Gayvoronskaya T. V.², Lapina N. V.²,
Surmeneva S. O.¹, Chibichyan E. Kh.¹

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Изучены особенности антимикробного профиля ротовой и десневой жидкости у беременных женщин без стоматологической патологии и осложнений гестационного периода по сравнению со здоровыми донорами.

Обследована 31 беременная женщина (клиническая группа). Контрольную группу составили 32 небеременные женщины. В группе беременных последовательно во все три триметра иммуноферментным методом определяли содержание кателицидина LL-37 и α -дефензина в ротовой и десневой жидкостях.

У женщин при физиологической беременности без стоматологической патологии концентрация α -дефензинов 1–3 и кателицидина LL-37 по сравнению со здоровыми донорами была выше в десневой жидкости при отсутствии активации врожденных иммунных реакций в ротовой жидкости. В течение беременности антимикробная защита ротовой полости усиливалась в основном за счет активизации секреции кателицидина LL-37 и значительного прироста его в десневой жидкости.

Исследование антимикробных пептидов в десневой жидкости при беременности имеет большую диагностическую ценность, чем в ротовой.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, ротовая жидкость, десневая жидкость, беременность

To study the characteristics of the antimicrobial profile of the oral and gingival fluid of pregnant women without dental pathology and complications of gestational age compared to healthy donors.

The study involved 31 pregnant women (clinical group). The control group consisted of 32 non-pregnant women. In the group of pregnant women consistently across all three trimesters ELISA determined the content of cathelicidin LL-37 and α -defensin in the oral and gingival fluid.

In women with normal pregnancy without dental pathology concentration of α -defensins 1–3 and cathelicidin LL-37 compared with healthy donors was higher in the gingival fluid in the absence of activation of innate immune responses in oral fluid. During pregnancy, the antimicrobial protection of oral cavity was intensified mainly due to increased secretion of cathelicidin LL-37 and its significant increase in gingival fluid.

The study of antimicrobial peptides in gingival fluid during pregnancy has a higher diagnostic value than in the oral fluid.

Keywords: antimicrobial peptides, oral fluid, gingival fluid, pregnancy

Факторы врожденного иммунитета обеспечивают противомикробную резистентность, определяют скорость течения репаративных процессов в полости рта, тем самым играя протективную роль в предотвращении развития стоматологических заболеваний [4]. Важнейшую роль в реализации врожденных иммунных реакций играют противомикробные пептиды, к которым относятся катионные белки – дефензины и кателицидины [5], имеющие широкий спектр противомикробной активности, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибы [1].

Физиологическая беременность характеризуется снижением выраженности материнского клеточно-опосредованного иммунитета против чужеродных (отцовских) антигенов плода, что является условием успешного вынашивания плода [3, 6]. При этом гуморальный иммунный ответ на инфекционные антигены в организме беременных сохраняется без изменений [10]. Поскольку изучение врожденных иммунных механизмов в полости рта вызвало научный интерес с недавних пор, неясным остается вопрос, как изменяется активность антимикробных пептидов в биологических средах ротовой полости при депрессии клеточно-опосредованного адаптивного иммунитета при беременности. Не отводится ли антимикробным пептидам ротовой полости в организме беременных заместительная роль, компенсирующая функциональную клеточную недостаточность иммунного ответа против бактериальной инфекции?

Сравнительные исследования антимикробного профиля ротовой и десневой жидкости у беременных женщин по сравнению со здоровыми донорами в литературе отсутствуют. Ротовая жидкость представляет собой продукты секреции слюнных и слизистых желез оболочки полости рта в совокупности с клетками слущенного эпителия, лейкоцитами, микроорганизмами, остатками пищи, а также с десневой жидкостью, трансудатом сыворотки крови из десневого желобка, включающим лейкоциты, эпителиальные клетки, микроорганизмы, электролиты, белковые компоненты, ферменты [8]. Десневая жидкость является основным поставщиком лейкоцитов в ротовую жидкость [9]. Исследование иммунных факторов двух сред ротовой полости поможет пониманию особенностей механизмов мукозального иммунитета в динамике гестационного периода.

Целью работы явилось изучение особенностей антимикробного профиля ротовой и десневой жидкости у беременных женщин без стоматологической патологии и осложнений гестационного периода в сравнении с таковым у здоровых доноров.

Материал и методы. Была обследована 31 беременная женщина (клиническая группа), наблюдавшаяся на базе стоматологических кабинетов женских консультаций и стоматологических поликлиник. Беременность протекала физиологически с отсутствием стоматологической патологии. Контрольную группу составили 32 небеременные женщины (здоровые доноры) в возрасте от 18 до 30 лет. Средний возраст беременных женщин был 26,4±1,7 лет, женщин контрольной группы – 25,9±2,1 лет.

В группе беременных последовательно во все три триместра беременности: первый – 8–12 недель, второй – 13–27 недель, третий – 28–40 недель, – изучали состояние антимикробного иммунитета ротовой полости по концентрации в ротовой и десневой жидкости двух антимикробных пептидов – кателицидина LL-37 и α -дефензина.

Сбор ротовой жидкости (РЖ) проводили натошак с 8 до 9 часов утра, путём сплёвывания в стерильную стеклянную пробирку. Биомассу центрифугировали, хранили при температуре –30 °С.

Содержание кателицидина LL-37 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Nucult Biotech human LL-37 ELISA» (Нидерланды). Аналогично определяли содержание α -дефензина 1–3 в ротовой жидкости, используя набор реагентов (НБТ, Нидерланды). Контролем служил HNP-1 (humanneutrophilpeptide-1).

Результаты обрабатывали на автоматическом ридере «EL 808» фирмы «Biotek Instruments» (США).

Десневую жидкость (ДЖ) собирали путём введения полосок из хроматографической бумаги с заострённым концом в десневую борозду на 5 минут. Количество ДЖ определяли по площади пропитанного участка полоски (в мм²). Элюаты получали путём помещения полосок с ДЖ в пробирку, содержащую 0,5 мл 0,9 % раствора NaCl, при периодическом встряхивании в течение 4 часов. В элюатах ДЖ методом иммуноферментного анализа также было изучено количество кателицидина LL-37 и α -дефензина.

Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., США).

Результаты. У здоровых доноров в ротовой жидкости концентрация α -дефензина 1–3 в среднем составила 448,1±35 нг/мл. В клинической группе содержание α -дефензинов 1–3 в ротовой жидкости во всех триместрах беременности статистически значимо не различалось с контролем ($p>0,05$). Наиболее близкие значения концентрации α -дефензинов 1–3 в ротовой жидкости к здоровым донорам были у беременных женщин во 2 и 3 триместрах (табл. 1). В динамике гестационного периода концентрация α -дефензинов 1–3 в ротовой жидкости возрастала. Однако некоторое повышение их содержания у беременных во 2 и 3 триместрах по сравнению с первым триместром – на 15,6 и 20 % соответственно было статистически недостоверным ($p>0,05$).

Таблица 1
Содержание антимикробных пептидов в ротовой жидкости у здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности

Показатель	Период наблюдения	Клиническая группа (n=31)	Здоровые доноры (n=32)	p
α -дефензины 1–3, нг/мл	8–12 нед.	389,5±43	448,1±35	>0,05
	13–27 нед.	450,2±29		>0,05
	28–40 нед.	467,3±42		>0,05
Кателицидин LL-37, мкг/мл	8–12 нед.	20,4±1,2	25,1±1,6	<0,05
	13–27 нед.	23,4±1,5		>0,05
	28–40 нед.	27,4±1,9*		>0,05

Примечание: p – вероятность различий показателей пациентов клинической группы и здоровых доноров по критерию Манна – Уитни; * – достоверное отличие показателей по сравнению с 1 триместром беременности по критерию Вилкоксона при $p<0,05$.

Концентрация кателицидина LL-37 в ротовой жидкости здоровых доноров составила 25,1±1,6 мкг/мл. В клинической группе: в 1 триместре беременности содержание кателицидина LL-37 в ротовой жидкости составило 20,4±1,2 мкг/мл и было статистически значимо ($p<0,05$) ниже (на 18,7 %), чем у здоровых. Во 2

и 3 триместрах содержание пептида было близким к показателю у здоровых доноров. В динамике гестационного периода концентрация кателицидина LL-37 в ротовой жидкости повышалась, однако достоверное различие между уровнями антимикробного полипептида у пациенток клинической группы сложилось лишь в 3 триместре беременности по сравнению с 1 триместром ($p < 0,05$).

Содержание антимикробных пептидов в десневой жидкости у пациенток клинической и контрольной групп представлено в таблице 2.

Таблица 2

Содержание антимикробных пептидов в десневой жидкости у здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности

Показатель	Период наблюдения	Клиническая группа (n=31)	Здоровые доноры (n=32)	p
α -дефензины 1–3, пг/мл	8–12 нед.	967,6 $\pm$ 41	456,2 $\pm$ 35	<0,05
	13–27 нед.	1023,3 $\pm$ 53		<0,05
	28–40 нед.	1576,4 $\pm$ 44*		<0,05
Кателицидин LL-37, пг/мл	8–12 нед.	6,7 $\pm$ 0,45	7,1 $\pm$ 0,22	>0,05
	13–27 нед.	9,5 $\pm$ 0,73*		<0,05
	28–40 нед.	14,6 $\pm$ 0,68*o		<0,05

Примечание: p – вероятность различий показателей пациентов клинической группы и здоровых доноров по критерию Манна – Уитни; * – достоверное отличие показателей по сравнению с 1 триместром беременности, ° – по сравнению со 2 триместром по критерию Вилкоксона при $p < 0,05$.

Более выраженные изменения α -дефензинов 1–3 при беременности по сравнению со здоровыми донорами проявлялись в десневой жидкости. У здоровых доноров их содержание в среднем составило 456,2 $\pm$ 35 пг/мл. В десневой жидкости по сравнению с ротовой концентрация α -дефензинов 1–3 была на три порядка меньше, что сказалось на единицах измерения, однако диагностическая значимость изменений антимикробных пептидов в десневой жидкости была более высокой.

У женщин клинической группы концентрация α -дефензинов 1–3 в десневой жидкости на всех этапах исследования была достоверно выше, чем у здоровых доноров (см. табл. 2), процент превышения в 1 триместре составил 112 % ($p < 0,05$), во 2 триместре – 124 % ($p < 0,05$) и в 3 триместре беременности – 246 % ($p < 0,05$).

Во 2 триместре по сравнению с первым концентрация α -дефензинов 1–3 в десневой жидкости практически не изменялась (1023,3 $\pm$ 53 пг/мл против 967,6 $\pm$ 41 пг/мл), а в 3 триместре значительно повышалась, составив в среднем 1576,4 $\pm$ 44 пг/мл. Процент повышения составил 157,6 $\pm$ 44 пг/мл. Процент повышения α -дефензинов 1–3 в десневой жидкости у пациенток клинической группы в 3 триместре по сравнению с 1 триместром составил 62,9 % ($p < 0,05$), а по сравнению со 2 триместром – 54,1 % ($p < 0,05$).

Таким образом, при физиологической беременности у лиц без стоматологической патологии концентрация α -дефензинов 1–3 повышается только в десневой жидкости. Увеличение содержания α -дефензинов способствует усиленной секреции ИЛ-8 и привлечению в очаг воспаления нейтрофилов, высвобождающих продукты окислительного взрыва,

оказывающих повреждающее действие на бактериальные микроорганизмы, но одновременно повреждающих и слизистую оболочку ротовой полости [2]. В связи с этим у женщин клинической группы при беременности рост α -дефензинов в ротовой жидкости отсутствовал, а в десневой повышался только к 3 триместру. Следовательно, α -дефензины 1–3 в ротовой жидкости у пациенток клинической группы не играли значимой роли в мукозальном иммунитете. Их защитная активность повышалась лишь в конце беременности и только в десневой жидкости.

Концентрация кателицидина LL-37 в десневой жидкости у здоровых доноров составила 7,1 $\pm$ 0,22 пг/мл. В 1 триместре беременности уровень изучаемого пептида в десневой жидкости (6,7 $\pm$ 0,45 пг/мл) не отличался от аналогичного показателя у здоровых доноров (см. табл. 2). Однако в динамике прироста показателя во 2 и 3 триместрах был существенным и составил соответственно 34 % ($p < 0,05$) и 106 % ($p < 0,05$). Концентрация кателицидина LL-37 в десневой жидкости у пациенток клинической группы во 2 триместре беременности по сравнению с 1 триместром возросла на 41,8 % ($p < 0,05$), в 3 триместре по сравнению с 1 триместром – на 118 % ($p < 0,05$) и по сравнению с предыдущим триместром на 53,7 % ($p < 0,05$) (см. табл. 2). Следовательно, в десневой жидкости градиент прироста кателицидина LL-37 в динамике беременности был более выраженным, чем в ротовой жидкости.

Учитывая, что в десневой жидкости антимикробные пептиды в большей мере имеют лейкоцитарное происхождение, а в ротовой жидкости в основном секретируются эпителиальными клетками, при беременности они, по-видимому, обеспечивают активацию мукозального иммунитета, особенно в 3 триместре за счет дегрануляции полиморфно-ядерных лейкоцитов.

Кателицидин отвечает за хемотаксис полиморфно-ядерных нейтрофилов, которые уничтожают микроорганизмы, подключая окислительный и неокислительный механизмы [2]. Среди неокислительных механизмов, кроме секреции антибактериального вещества лизоцима, катепсина G, эластазы, сериновых протеиназ, выделяют воздействие α -дефензинов 1–3 [7]. По-видимому, неокислительные механизмы кателицидина LL-37 при беременности являются предпочтительными по сравнению с окислительным механизмом уничтожения микроорганизмов α -дефензинами 1–3 вследствие более щадящего действия на эпителий слизистой оболочки полости рта.

Выводы

1. У женщин без стоматологической патологии при физиологической беременности концентрация α -дефензинов 1–3 и кателицидина LL-37 повышается по сравнению со здоровыми донорами в десневой жидкости при отсутствии активации врожденных иммунных реакций в ротовой жидкости.

2. В течение беременности антимикробная защита ротовой полости усиливается в основном за счет активизации секреции кателицидина LL-37 и значительного прироста его в десневой жидкости.

3. Исследование антимикробных пептидов в десневой жидкости имеет большую диагностическую ценность, чем в ротовой.

Литература

1. Жаркова, М. С. Антимикробные пептиды млекопитающих: классификация, биологическая роль, перспективы практического применения (обзорная статья) / М. С. Жаркова, Д. С. Орлов, В. Н. Кокряков, О. В. Шамова // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2014. – Серия 3. Биология. – № 1. – С. 98–114.
2. Казеко, Л. А. Возможности диагностики заболеваний периодонта с использованием противомикробных пептидов слюны и десневой жидкости / Л. А. Казеко // Современная стоматология. – 2016. – № 1 (62). – С. 11–16.
3. Нефедова, Д. Д. Иммунологические аспекты беременности (обзор литературы) / Д. Д. Нефедова, В. А. Линде, М. А. Левкович // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 4. – С. 16–21.

4. Проходная, В. А. Патогенетическое значение анти-микробных пептидов ротовой полости для рецидивирования кариеса зубов у беременных женщин / В. А. Проходная // *Стоматология для всех*. – 2015. – № 2. – С. 32–35.
5. Сипайлова, О. Ю. Антимикробные низкомолекулярные пептиды: факторы неспецифической защиты организма животных / О. Ю. Сипайлова, Д. В. Нестеров // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2013. – № 12 (161). – С. 169–172.
6. Сухих, Г. Т. Иммунные механизмы в физиологии и патологии беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько // *Иммунология*. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 103–108.
7. Умнякова, Е. С. Дефензины как регуляторы системы комплемента / Е. С. Умнякова, М. Н. Берлов, В. Н. Кокряков // *Российский иммунологический журнал*. – 2014. – Т. 8, № 3 (17). – С. 414–417.
8. Alessandri, R. Gingival fluid cytokine expression and subgingival bacterial counts during pregnancy and postpartum: a case series / R. Alessandri, L. Adriaens, S. Spörri [et al.] // *Clinical oral investigations*. – 2013. – Vol. 17(1). – P. 19–28.
9. Buduneli, N. Gingival status, crevicular fluid tissue type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-2 levels in pregnancy versus post-partum / N. Buduneli, S. Becerik, E. Buduneli [et al.] // *Aust. Dent. J.* – 2010. – Vol. 55. – P. 292–297.
10. Chen, S. Immunologic Regulation in Pregnancy: From Mechanism to Therapeutic Strategy for Immunomodulation / S. Chen, Y. Liu, H. Sytwu // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 258391.

References

1. Zharkova M. S., Orlov D. S., Kokrjakov V. N., Shamova O. V. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologiya*. – *Vestnik St. Petersburg University. Series 3. Biology*. 2014;1:98-114.
2. Kazeko L. A. *Sovremennaja stomatologija*. – *Modern dentistry*. 2016;1(62):11-16.
3. Nefedova D. D., Linde V. A., Levkovich M. A. *Medicinskij vestnik Juga Rossii*. – *Medical Bulletin of Southern Russia*. 2013;4:16-21.
4. Prohodnaja V. A. *Stomatologija dlja vseh*. – *Dentistry for all*. 2015;2:32-35.
5. Sipajlova O. Ju., Nesterov D. V. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. – *Bulletin of the Orenburg State University*. 2013;12(161):169-172.
6. Suhij G. T., Van'ko L. V. *Immunologija*. – *Immunology*. 2005;2(9):103-108.
7. Umnjakova E. S., Berlov M. N., Kokrjakov V. N. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. – *Russian immunological journal*. 2014;3(17):414-417.
8. Alessandri R., Adriaens L., Spörri S., Lang N., Persson G. *Clinical oral investigations*. 2013;17(1):19-28.
9. Buduneli N., Becerik S., Buduneli E., Baylas H., Kinnby B. *Aust. Dent. J.* 2010;55:292-297.
10. Chen S. J., Liu Y. L., Sytwu H. K. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012. Article ID 258391.

Сведения об авторах:

Проходная Виктория Александровна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры стоматологии № 1; тел.: 88632504198, 89885557444; e-mail: ms.victoria111@mail.ru

Быков Илья Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии; тел.: 88612680230; e-mail: ilyaMB@ksma.ru

Гайворонская Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии; тел.: 88612680230; e-mail: T.Gaivoronskaya@rambler.ru

Лапина Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой ортопедической стоматологии; тел.: 88612530359; e-mail: kgma74@yandex.ru

Сурменева Светлана Олеговна, аспирант; тел.: 88632504198, 89061838201; e-mail: alald@inbox.ru

Чибичян Елена Христофоровна, аспирант; тел.: 88632504198, 89198997340; e-mail: ms.victoria111@mail.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.716.8:031

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13021>

ISSN – 2073-8137

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ НАРУШЕНИЯ СТРУКТУРЫ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ

Г. Г. Петросян, С. В. Сирак, Р. Г. Романенко, А. Г. Тарабрина, Е. В. Щетинин

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

STRESS-INDUCED DISTURBANCES OF THE STRUCTURE OF PERIODONT TISSUE IN EXPERIMENT ON ANIMALS

Petrosyan G. G., Sirak S. V., Romanenko R. G., Tarabrina A. G., Shchetinin E. V.

Stavropol State Medical University, Russia

Целью исследования явилась оценка состояния тканей пародонта экспериментальных животных в условиях хронического стресса, вызванного устройством, формирующим нефизиологическую окклюзию челюстей у крыс. Представлены результаты электронно-микроскопической, рентгенологической и патоморфологической оценки тканей пародонта при моделировании хронического стресса, свидетельствующие о динамиче-