

УДК 616.314.163-08

А.П. Педорец, О.В. Шабанов, А.Г. Пиляев, С.И. Максютенко, Л.П. Терпигорьева

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», Донецк

## СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИАПИКАЛЬНОМ ЭКССУДАТЕ В ЗУБАХ С РАЗЛИЧНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИОДОНТИТА

Эндодонтическая инфекция в системе корневого канала, недоступная для защитных механизмов периодонта, создает условия для возникновения гранулематозного типа воспалительного процесса как крайнего проявления хронического воспаления, возникающего при невозможности полностью элиминировать микроорганизмы из системы корневого канала [3, 10, 11]. Установлено, что макрофаги составляют до 46% клеточного состава апикальной гранулемы и рассматриваются как главный источник провоспалительных цитокинов, инициирующих и регулирующих воспалительный процесс [7, 8]. Принято считать, что все макрофаги являются активными продуцентами интерлейкинов, однако исследования Stashenko (1993) и Metzger (2002) показали, что в продуцирование интерлейкинов вовлекается только небольшое количество макрофагов, не более 2-3% от всех клеток, присутствующих в очаге периапикального поражения [8, 11]. Хотя провоспалительные интерлейкины синтезируются преимущественно макрофагами периапикальной гранулемы, их активность на разных стадиях развития гранулемы существенно различается, поскольку рост гранулемы не является постоянным процессом, а происходит дискретно в периоды клинического обострения воспалительного процесса [5, 11]. В тоже время, как показали исследования Юровской И.А. (2011), морфологические признаки обострения воспалительного процесса могут отмечаться и при клинически асимптоматическом течении периодонтита [2]. Патогистологические исследования Bergmans L. et al. (2002) показали, что хроническое периапикальное воспаление может приводить к резорбции корневого цемента, в том числе цемента, формирующего апикальную констрикцию [4]. В нишах резорбированного цемента создаются условия для формирования микробной биопленки недоступной для хемоинструментальной обработки [6]. При этом степень разрушения апикальной констрикции не имеет прямой связи с выраженно-

стью резорбции цемента на наружной поверхности корня зуба [2, 9].

В доступной литературе сообщения о связи между содержанием интерлейкинов в периапикальном экссудате и клиническими проявлениями хронического периодонтита встречаются крайне редко, и они носят противоречивый характер [7, 12].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить содержание IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в периапикальном экссудате корневого канала зубов с хроническим периодонтитом и оценить характер их связи с течением хронического периодонтита, размером очага периапикальной деструкции и состоянием апикальной констрикции.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Периапикальный экссудат был получен из корневых каналов 36 однокорневых зубов с наличием очагов периапикального поражения. Для сравнения содержания цитокинов в периапикальном экссудате зубы были разделены на группы в зависимости от клинического течения (хроническое и обострившееся), размеров очагов деструкции и состояния апикальной констрикции. Периапикальные поражения были классифицированы как большие, если длинная ось рентгенологической тени, определенная с помощью измерительной шкалы радиовизиографа («Visiodent», Франция), была более 5 мм. Апикальную констрикцию оценивали как сохраненную, частично разрушенную и полностью разрушенную по методике Н.А. Исаковой [1]. После обеспечения доступа инструментальную обработку корневых каналов проводили согласно единому протоколу Европейской Эндодонтической Ассоциации. Препарирование

апикальной части канала заканчивали файлом 35 размера, независимо от состояния апикальной констрикции

Получение периапикального экссудата. Через 2 минуты после высушивания корневого канала стерильными бумажными штифтами, стерильный бумажный штифт 35 размера вводили в корневой канал на установленную рабочую длину и удерживали в течение 60 секунд. Если извлеченный из канала бумажный штифт был сухим, то для поступления экссудата из периапикальной области в корневой канал файлом 10 размера осторожно проникали через верхушечное отверстие. Бумажный штифт помещали в контейнер, содержащий 250 мкл фосфатно-солевого буферного раствора, перемешивали в течение 1 мин при 5000 об/мин и хранили в морозильной камере до времени анализа. Объем жидкости рассчитывали по стандартной кривой и выражали в мкл.

Определение содержания интерлейкина проводили с помощью иммуноферментного анализа. Количественное определение IL-1 $\beta$  проводили с использованием тест-систем «Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ» производства АО «Вектор-БЕСТ» (Россия). При выполнении анализа использовался принцип двусайтового иммуноферментного анализа. Интенсивность окраски продуктов реакции, которая прямо зависела от содержания определяемого вещества в исследуемом материале, измеряли на планшетном ридере «Multiscan EX» (Thermo Elec-

tron Corp., Финляндия) при длине волны 450 нм. Концентрацию рассчитывали по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания веществ в стандартных пробах. Концентрацию IL-1 $\beta$  определяли в пкг/мл.

Статистика. Статистический анализ полученных данных проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica. Средние величины определяли с использованием критерия Стьюдента. Содержание цитокинов в периапикальном экссудате в группах сравнения было оценено путем сравнения средних величин с использованием критерия Стьюдента при 95% доверительном интервале.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех образцах периапикального экссудата был обнаружен IL-1 $\beta$ , в то время как TNF- $\alpha$  был обнаружен в 26 случаях, что составило 72,2% наблюдений. Концентрация IL-1 $\beta$  варьировала в широком диапазоне от минимального 1,38 нг/мл до максимального 10,27 пкг/мл. Содержание TNF- $\alpha$  варьировало в промежутке от 1,1 до 7,56 пкг/мл, однако в 10 случаях такой цитокин в опытных образцах обнаружен не был, что принималось за нулевое значение этого показателя. Среднее значение концентрации цитокинов в экссудате периапикальных тканей при различном клиническом течении периодонтита представлено в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, содержание цитокинов в зубах с обострением апикального перио-

Таблица 1.

Средний уровень концентрации цитокинов в экссудате периапикальных тканей при различном клиническом течении хронического периодонтита

Цитокин	Клиническое течение	Количество наблюдений, n	Среднее значение пкг/мл	Критерий достоверности, t	p	Мин, пкг/мл	Макс, пкг/мл
IL-1 $\beta$	Хроническое	23	4,14 $\pm$ 0,24	6,18	p<0,05	1,38	6,1
	Обострившееся	13	6,42 $\pm$ 0,28			4,07	10,27
TNF- $\alpha$	Хроническое	23	3,97 $\pm$ 0,25	2,3	p<0,05	0	5,97
	Обострившееся	13	4,72 $\pm$ 0,21			0	7,56

Таблица 2.

Средний уровень концентрации цитокинов в экссудате периапикальных тканей при различном размере очага деструкции в зубах с хроническим периодонтитом

Цитокин	Размер очага деструкции	Количество наблюдений, n	Среднее значение пкг/мл	Критерий достоверности, t	p	Мин, пкг/мл	Макс, пкг/мл
IL-1 $\beta$	Большой (>5 мм)	21	6,97 $\pm$ 0,25	0,07	p>0,05	4,81	8,9
	Малый ( $\leq$ 5 мм)	15	7,0 $\pm$ 0,37			4,98	10,27
TNF- $\alpha$	Большой (>5 мм)	21	6,21 $\pm$ 0,15	0,84	p>0,05	0	7,56
	Малый ( $\leq$ 5 мм)	15	6,02 $\pm$ 0,17			0	7,51

донтита достоверно выше, чем в зубах с асимптоматическим хроническим течением. В тоже время, несмотря на статистически определяемое различие средних показателей, видно, что один и тот же уровень цитокинов может определяться в зубах как с хроническим, так и обострившимся течением апикального периодонтита. Поскольку хронический периодонтит рассматривается как заболевание, индуцированное биопленкой, становится понятным, что наличие клеток острого воспаления на границе раздела бляшка – периодонтальные ткани является облигатным проявлением любой клинической формы хронического периодонтита даже при отсутствии каких-либо симптомов клинического обострения.

Содержание цитокинов в периапикальном экссудате зубов с большими и малыми очагами периапикальной деструкции представлено в таблице 2. Следует отметить, что отсутствие TNF- $\alpha$  в экссудате отмечалось в зубах, как с большими (7 случаев), так и малыми очагами деструкции (3 случая).

Как видно из таблицы 2, различий между содержанием, как IL-1 $\beta$ , так и TNF- $\alpha$  в зубах с большими и малыми очагами деструкции не было установлено. Это может быть связано с тем, что рост очагов периапикальной деструкции происходит дискретно и связано с накоплением клеток «острого» воспаления – полиморфноядерных лейкоцитов [3]. Поэтому размер очагов деструкции может не отражать характер воспалительного процесса на момент исследования, а

являться результатом предыдущих приступов обострения. Поскольку хронические периодонтиты в настоящее время связывают с формированием бактериальной пленки, становится понятным, что наличие клеток острого воспаления на границе раздела бляшка – периодонтальные ткани является морфологическим проявлением реакции на инфекцию системы корневого канала, иногда при отсутствии каких-либо симптомов клинического воспаления.

Состояние апикальной констрикции, которая представляет собой гистологическую границу между тканями пульпы и периодонта, может служить клиническим маркером наличия наружной резорбции твердых тканей зуба. Резорбция цемента приводит к образованию лакун и ниш, способствующих аккумуляции бактерий на наружной поверхности корня с формированием биопленки. В связи с этим мы изучили концентрацию цитокинов в периапикальном экссудате зубов с сохраненной и разрушенной АК (табл. 3.).

Из данных таблицы 3 видно, что концентрация обоих активных веществ достоверно выше в зубах с разрушенной АК. Макрофаги рассматриваются как главный источник провоспалительных цитокинов, однако патологические механизмы, ответственные за рост и прогрессирование периапикального поражения до настоящего времени до конца не установлены. Представленные данные показывают, что повышенное содержание цитокинов может быть причиной включения корня зуба в резорбтивный про-

**Таблица 3.**

Средний уровень концентрации цитокинов в экссудате периапикальных тканей при различном состоянии апикальной констрикции зубов с хроническим периодонтитом

Цитокин	Состояние АК	Количество наблюдений, n	Среднее значение пкг/мл	Критерий достоверности, t	p	Мин, пкг/мл	Макс, пкг/мл
IL-1 $\beta$	Сохранена	9	3,47 $\pm$ 1,17	2,09	p<0,05	1,48	4,79
	Разрушена	27	6,99 $\pm$ 1,21			4,81	10,27
TNF- $\alpha$	Сохранена	9	2,75 $\pm$ 1,13	2,13	p<0,05	0	3,98
	Разрушена	27	6,12 $\pm$ 1,11			0	7,56

**Таблица 4.**

Средний уровень концентрации цитокинов в экссудате периапикальных тканей при различной степени разрушения апикальной констрикции зубов с хроническим периодонтитом

Цитокин	Степень разрушения АК	Количество наблюдений, n	Среднее значение пкг/мл	Критерий достоверности, t	p	Мин, пкг/мл	Макс, пкг/мл
IL-1 $\beta$	Частично	17	6,97 $\pm$ 0,57	0,04	p>0,05	4,81	8,9
	Полностью	10	7,0 $\pm$ 0,64			4,98	10,27
TNF- $\alpha$	Частично	17	6,21 $\pm$ 0,45	0,22	p>0,05	0	7,76
	Полностью	10	6,02 $\pm$ 0,74			0	7,51

цесс. С другой стороны, наличие резорбции тканей зуба может способствовать поддержанию активности макрофагов с повышенной секреторной активностью биологических молекул. Поскольку разрушение апикальной констрикции может быть разной степени выраженности, мы изучили содержание цитокинов в периапикальном экссудате зубов с различной степенью разрушения АК (табл. 4.).

Как видно из таблицы 4, различия в содержании цитокинов в зубах с полностью и частично разрушенной АК не были выявлены. Эти данные подтверждают исследования других авторов, что распространенность и степень наружной резорбции прямо не коррелируют с состоянием АК, однако, должны быть рассмотрены при выборе тактики эндодонтического лечения апикальных периодонтитов [8].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты представленной работы показывают, что повышенное содержание провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в периапикальном экссудате зубов с хроническим периодонтитом связано не только с обострением клинического процесса, но и с резорбцией апикальных тканей зуба, косвенным отражением которой является состояние апикальной констрикции. Разрушение апикальной констрикции во всех случаях сопровождается повышенным содержанием цитокинов в периапикальном экссудате, что косвенно свидетельствует об активации макрофагов полиморфноядерными клетками, указывающими на бляшечную природу заболевания.

*А.П. Педоретц, О.В. Шабанов, А.Г. Пиляев, С.И. Максютенко, Л.П. Терпигорьева*

*ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», Донецк*

### СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИАПИКАЛЬНОМ ЭКССУДАТЕ В ЗУБАХ С РАЗЛИЧНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИОДОНТИТА

Целью настоящей работы было определить содержание IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в периапикальном экссудате корневого канала и оценить характер их связи с клиническими и рентгенологическими проявлениями апикального периодонтита. Было установлено, что в корневом экссудате зубов с обострившимся течением периодонтита уровень обоих цитокинов был существенно выше, чем в зубах с хроническим течением ( $p < 0.05$ ). Уровень цитокинов в зубах с разрушен-

ной апикальной констрикцией был достоверно выше, чем в зубах с сохраненной апикальной констрикцией ( $p < 0.05$ ). Не было установлено различия содержания интерлейкинов в зубах с большими и малыми очагами поражения.

**Ключевые слова:** интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), апикальный периодонтит, апикальная констрикция.

*A.P. Pedorets, O.V. Shabanov, A.G. Piliaiev, S.I. Maksyutenko, L.P. Terpigoreva*

*SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk*

### THE CONTENT OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE PERIAPICAL EXUDATE IN TEETH WITH DIFFERENT CLINICAL COURSE OF CHRONIC APICAL PERIODONTITIS

The aim of the present work was to determine the content of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in the periapical exudate of the root canal and to assess the nature of their relationship with clinical and radiological manifestations of apical periodontitis. It was found that the root exudate of teeth with aggravated course the level of both cytokines was significantly higher than in teeth with chronic course

( $p < 0.05$ ). The level of interleukins in teeth with destroyed apical constriction was significantly higher than in teeth with preserved apical constriction ( $p < 0.05$ ). No difference was found in the content of interleukins in teeth with large and small lesions.

**Key words:** interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ , periapical periodontitis, periapical constriction.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Исакова Н.О. Клінічне обґрунтування апікальної межі інструментальної обробки кореневого каналу: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Київ; 2010. 21.
2. Юровская И.А., Педоретц А.П., Пиляев А.Г. и др. Периа-

## REFERENCES

1. Isakova N.O. Klinichne obgruntuvannya apikal'noi mezhi instrumental'noi obrobki koreneвого kanalu: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Kiiv; 2010. 21 (in Ukrainian).
2. Yurovskaya I.A., Pedorets A.P., Pilyaev A.G. i dr. Periap-

- пикальная резорбция цемента корня и ее связь с патогистологическими проявлениями хронического периодонтита. Архів клінічної та експериментальної медицини. 2009; 20, 1: 78-84.
3. Тёмкин Э.С., Тригонос Н.Н. Механизмы генерализации воспалительного процесса при верхушечном периодонтите и патогенетическое обоснование лечения. Волгоград: Бланк; 2008. 142.
  4. Bergmans L., Van Cleynenbreugel J., Verbeken E., Wevers M., Van Meerbeek B., Lambrechts P. Cervical external root resorption in vital teeth. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 (6): 580-585. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290615.x
  5. Wang C.Y., Stashenko P. Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. *J. Endod.* 1993; 19: 107-111.
  6. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community lifestyle *J. Clin Periodontol.* 2015; 32: 7-15.
  7. Lim G. C., Torabinejad M., Kettering I., et al. Interleukin 1 $\beta$  in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. *J. Endod.* 1994; 20: 225-227.
  8. Metzger Z. Macrophages in periapical lesions. *Endod. Dent. Traumatol.* 2012; 16: 1-8.
  9. Fabiana Vieira Vier et al. Morphologic analysis of apical resorption on human teeth with periapical lesions. *ECLER Endod.* 2017; 2: 2-5.
  10. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Med.* 2014; 15: 348-381.
  11. Stashenko P., Teles S.R., D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* 1998; 9: 498-521.
  12. Matsuo T et al. Quantitative analysis of immunocompetent cells in human periapical lesions: correlations with clinical findings of the involved teeth. *J Endod.* 1992; 18: 497-500.
3. Temkin E.S., Trigolos N.N. Mekhanizmy generalizatsii vospalitel'nogo protsessa pri verkhushhechnom periodontite i patogeneticheskoe obosnovanie lecheniya. Volgograd: Blank; 2008. 142 (in Russian).
  4. Bergmans L., Van Cleynenbreugel J., Verbeken E., Wevers M., Van Meerbeek B., Lambrechts P. Cervical external root resorption in vital teeth. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 (6): 580-585. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.290615.x
  5. Wang C.Y., Stashenko P. Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. *J. Endod.* 1993; 19: 107-111.
  6. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community lifestyle *J. Clin Periodontol.* 2015; 32: 7-15.
  7. Lim G. C., Torabinejad M., Kettering I., et al. Interleukin 1 $\beta$  in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. *J. Endod.* 1994; 20: 225-227.
  8. Metzger Z. Macrophages in periapical lesions. *Endod. Dent. Traumatol.* 2012; 16: 1-8.
  9. Fabiana Vieira Vier et al. Morphologic analysis of apical resorption on human teeth with periapical lesions. *ECLER Endod.* 2017; 2: 2-5.
  10. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Med.* 2014; 15: 348-381.
  11. Stashenko P., Teles S.R., D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* 1998; 9: 498-521.
  12. Matsuo T et al. Quantitative analysis of immunocompetent cells in human periapical lesions: correlations with clinical findings of the involved teeth. *J Endod.* 1992; 18: 497-500.