

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ В ЖИДКОСТЯХ ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ГИНГИВИТОМ В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ

Радаева О.А.¹, Костина Ю.А.¹, Солодовникова Г.А.¹, Фридман И.Ю.², Курмышев А.С.¹, Негоднова Е.В.¹, Бешейнов Д.Д.¹, Еремеев В.В.¹, Видякина А.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: radaevamed@mail.ru;

²Центр дентальной имплантологии, Москва

Исследования, посвященные анализу изменения физиологии в постковидном периоде, являются бесспорно значимыми на фоне увеличения числа лиц, перенесших COVID-19. Цель исследования: изучение особенностей постковидного периода у больных ЭАГ с определением уровней М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 в крови и жидкостях полости рта при прогрессировании ЭАГ у пациентов с симптомами гингивита после SARS-CoV-2 инфицирования, а также анализ патогенетической роли местного применения Zn. Изучались 3 группы пациентов с COVID-19 в анамнезе: с ЭАГ, без и с хроническим гингивитом в постковидном периоде, без ЭАГ с хроническим гингивитом в постковидном периоде. Изучение содержания М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 в крови, ротовой жидкости и жидкости десневой борозды проводили иммуноферментным методом. Полученные в ходе исследования данные демонстрируют у пациентов с ЭАГ иные цитокин-опосредованные закономерности иммунопатогенеза осложнений, ассоциированных с полостью рта (хронический гингивит). Выявлены положительные связи ($p<0,001$) между увеличением М-CSF и ростом содержания MMP-8 в крови и ротовой/десневой жидкостях при формировании гингивита, но только в группах пациентов с ЭАГ. На фоне применения гигиенических средств, содержащих цинк, в течение 14 дней (60-74 дни постковидного периода) зарегистрировано достоверное снижение уровней MMP-8, sTREM-1 в жидкости десневой борозды во всех группах ($p<0,01$) с положительной динамикой папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса. Дисрегуляция системы М-CSF-IL-34-MMP-8-коллаген-Zn-sTREM-1 является значимым компонентом постковидного периода с потенцированием как прогрессирования ЭАГ, так и поражения слизистой полости рта.

Ключевые слова: COVID-19, артериальная гипертензия, М-CSF, IL-34, MMP-8, sTREM-1, гингивит.

ANALYSIS OF CYTOKINE LEVELS IN ORAL FLUIDS IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION AND GINGIVITIS IN THE POST-COVID PERIOD

Radaeva O.A.¹, Kostina Yu.A.¹, Solodovnikova G.A.¹, Fridman I.Y.², Kurmyshev A.S.¹, Negodnova E.V.¹, Besheynov D.D.¹, Eremeev V.V.¹, Vidyakina A.V.¹

¹National Research Mordovia State University, Saransk, e-mail: radaevamed@mail.ru;

²Clinic "Dental Implantation Clinic", Moscow

Studies devoted to the analysis of changes in physiology in the postcovid period are significant against the background of an increase in the number of people who have undergone COVID-19. The aim of the study was to study the features of the postcovid period in patients with EH with the determination of the levels of M-CSF, IL-34, MMP-8 and sTREM-1 in the blood and oral fluids during the progression of EH in patients with gingivitis symptoms after SARS-CoV-2 infection, as well as the analysis of the pathogenetic role of topical application of Zn. The study of M-CSF, IL-34, MMP-8 and sTREM-1 level in blood, oral fluid and gingival sulcus fluid was carried out by enzyme immunoassay. The data obtained during the study demonstrate in patients with EH other cytokine-mediated patterns of immunopathogenesis of complications associated with the oral cavity (chronic gingivitis). Positive associations ($p<0.001$) were found between an increase in M-CSF and an increase in MMP3 content in blood and oral/gingival fluids during the formation of gingivitis, but only in groups of patients with EH. Against the background of the use of hygiene products containing zinc, a significant decrease in the levels of MMP-8, sTREM-1 in the gingival sulcus fluid in all groups ($p<0.01$) with positive dynamics of the papillary-marginal-alveolar index was recorded for 14 days (60-74 days of the postcovid period). Dysregulation of the M-CSF-IL-34-MMP-8-collagen-Zn-sTREM-1 system is a significant component of the postcovid period with potentiation of both the progression of EH and lesions of the oral mucosa.

Keywords: COVID-19, arterial hypertension, M-CSF, IL-34, MMP-8, sTREM-1, gingivitis.

Значимость изучения иммунопатогенеза постковидного периода возрастает как на фоне увеличения числа лиц, перенесших COVID-19, так и за счет отсутствия данных об особенностях течения хронических заболеваний, в том числе эссенциальной артериальной гипертензии, в рамках постковидного синдрома за счет мультисистемности его проявления и потенциальной проградидентной суммации изменений со стороны несвязанных напрямую органов и систем [1]. Информация о выделении нового варианта SARS-CoV-2 – Омикрона (B.1.1.529), который характеризуется, по некоторым данным, более высоким индексом контагиозности, указывает на вероятность повышения числа переболевших, несмотря на массовую вакцинацию [2]. При этом однозначных критериев постковидного синдрома, учитывая его патогенетическое многообразие, не выделено, и диагноз устанавливается как исключение иных причин болевого синдрома (головных, миалгических и др. видов боли), длительного искажения обоняния и вкуса, изменения уровня артериального давления (АД), симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта, полости рта (кровоточивость десен, признаки гингивита, пародонтита) и др. При этом выделение групп пациентов с постковидным синдромом вызывает научные дискуссии из-за отсутствия единообразия критериев [3], что обосновало в представленной статье использование понятия «пациенты с компонентами постковидного синдрома для лиц с прогрессированием эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) (кризовое течение на фоне ранее эффективной антигипертензивной терапии) и впервые появившимися признаками поражения полости рта (кровоточивость и повышенная чувствительность десен), сохраняющимися более 6 недель после перенесенного COVID-19». Важно отметить, что проявления постковидного синдрома у пациентов с ЭАГ разнообразны и сопровождаются не только изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы. Кроме этого, выдвинута гипотеза о роли периферических воспалительных процессов (в том числе полости рта) в развитии системного субклинического сосудистого воспаления через перепрограммирование функции костного мозга как центрального узла иммунного ответа [4], что может быть значимо при запуске прогрессивного течения ЭАГ с развитием поражения органов-мишеней (инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения). Большое значение в описанной патогенетической линии, объединяющей прогрессирование эндотелиальной дисфункции и изменение со стороны десен и пародонта, отдается регуляторным белкам – цитокинам и матриксным металлопротеиназам, в частности коллагеназам [5] и уровню цинка [6]. При этом спорным, но актуальным является вопрос о наличии связей между уровнями данных биоактивных веществ в сыворотке крови и жидкостях полости рта. Кроме этого, на сегодняшний день описана значимость указанного патогенетического звена (цитокины-мелаллопротеиназы) на фоне SARS-CoV-2 инфицирования [7], но с отсутствием информации

об изменении в постковидном периоде. По собственным данным, комплекс М-CSF и IL-34 актуален как при инициации ЭАГ, так и на фоне прогрессирования гипертензии в постковидном периоде [8], а по данным Martinez G.L. с соавторами (2017) [9], указанные цитокины определяют прогрессирование патологии полости рта через стимулирование синтеза и выделения во внеклеточное пространство MMP-8.

Цель исследования: изучить особенности постковидного периода у больных ЭАГ с определением уровней М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 в сыворотке крови и жидкостях полости рта для оценки их значимости при прогрессировании ЭАГ у пациентов с симптомами гингивита после SARS-CoV-2 инфицирования, а также анализ патогенетической роли местного применения Zn.

Материалы и методы исследования. Представленные результаты получены при выполнении третьего этапа исследования «Цитокины в патогенезе и диагностике ЭАГ» (длительность исследования составляет 11,5 лет (95% [7,5-12,3] лет). В рамках 3 этапа работы изучаются иммунопатогенетические эффекты 32 цитокинов при прогрессировании ЭАГ в постковидном периоде. Для достижения поставленной цели выделены две группы больных из базы данных лиц с ЭАГ II стадии, которые находятся под наблюдением 10,5 лет (95% ДИ [7,5-13,9] лет), 3-я группа сформирована из контингента условно здоровых лиц (без гипертензии), которые также находятся под наблюдением в течение 13 лет, сопоставимые по возрасту (59 лет (95% ДИ [52,5-64,9] лет): 1-я группа – пациенты с ЭАГ и COVID-19 в анамнезе, без симптомов постковидного синдрома – 42 человека; 2-я группа – пациенты с ЭАГ и COVID-19 в анамнезе с симптомами постковидного синдрома (ранее не регистрируемое кризовое течение ЭАГ, симптомы гингивита) – 38 человек; 3-я группа – пациенты с COVID-19 в анамнезе и с симптомами постковидного синдрома (ранее не регистрируемый гингивит) без ЭАГ – 40 человек. Регистрация симптомов постковидного синдрома, а также исключение других возможных причин утяжеления течения ЭАГ и развития гингивита выполнялись сертифицированными специалистами медицинских учреждений в соответствии с местом регистрации пациента и предоставлением заключения исследователю.

Единые критерии включения в исследование для трех групп: легкое течение COVID-19 в анамнезе (выделение РНК SARS-CoV-2 и выявление иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2), пациенты с постоянными зубами, осмотр стоматолога в течение 1 года до SARS-CoV-2 инфицирования, количество зубов – 24-25, гигиенический индекс – средний (упрощенный индекс гигиены Green, Wermillion (1964) с применением раствора Люголя – 9,5 [7,6-11,2]), для 50% пациентов согласие на применение гигиенических средств для ухода за полостью рта, содержащих цинк и вспомогательное вещество – гидролизат коллагена, по

предложенной схеме: утром и вечером – по 1 см³ зубной пасты, днем – 5 мл средства для ополаскивания полости рта в течение 14 дней, согласие на ежедневное предоставление видеозаписей гигиенической процедуры исследователю. Суммарная суточная доза цинка в гигиенических средствах составляла $(0,0025 \times 2 + 0,0125 = 0,0175 \text{ г})$. Зубная паста, ополаскиватель предоставлялись исследователем.

Дополнительные критерии включения для 1-й группы: ЭАГ II стадии, установленная до SARS-CoV-2 инфицирования (прием гипотензивных препаратов из группы и-АПФ и/или диуретики с достижением целевого АД в соответствии с российскими клиническими рекомендациями «Артериальная гипертензия у взрослых», 2020).

Дополнительные критерии включения для 2-й группы: ЭАГ II стадии, установленная до SARS-CoV-2 инфицирования (прием гипотензивных препаратов из группы и-АПФ и/или диуретики с достижением целевого АД), кризовое течение ЭАГ в постковидном периоде на фоне эффективной гипотензивной терапии до SARS-CoV-2 инфицирования, хронический катаральный гингивит в постковидном периоде (выставлен на основании клинических рекомендаций (протоколы лечения) при диагнозе гингивит, утвержденных Постановлением № 15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая ассоциация России» от 30 сентября 2014 года), средняя степень тяжести гингивита (ПМА (папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс) – 34% (95% ДИ [27-38]%), индекс кровоточивости Мюллемана-Коуэлла – 2 степени, соответствует воспалению средней степени – 1,1-2.

Дополнительные критерии включения для 3-й группы: хронический катаральный гингивит в постковидном периоде (выставлен на основании клинических рекомендаций (протоколы лечения) при диагнозе гингивит, утвержденных Постановлением № 15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая ассоциация России» от 30 сентября 2014 года), средняя степень тяжести гингивита (ПМА (папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс) – 34% (95% ДИ[27-38]%), индекс кровоточивости Мюллемана-Коуэлла – 2 степени, соответствует воспалению средней степени – 1,1-2.

Критерии невключения в исследование для всех групп: ассоциированные клинические состояния в анамнезе на момент исследования (острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда, стенокардия, коронарная реваскуляризация; почечная недостаточность, сахарный диабет 1 типа, аутоиммунные, аллергические заболевания, симптоматическая артериальная гипертензия), отказ пациента от долгосрочного участия в исследовании, вакцинация для профилактики COVID-19 в анамнезе, дисгевзия, применение на момент начала исследования препаратов цинка, иммуностимуляторов или иммуносупрессантов, антибактериальных лекарственных средств, курение, регистрируемые в течение года до SARS-CoV-2 и на момент исследования признаки пародонтита (нарушение

целостности зубодесневого прикрепления в области зубов верхней и нижней челюсти, рентгенологические изменения в костной ткани альвеолярного отростка).

Через 30 дней после двух отрицательных результатов ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2 проводился забор крови, нестимулированной слюны и жидкости десневой борозды с 9.00 до 10.00 натошак (не применяли гигиенические средства по уходу за полостью рта до забора материала). Участники полоскали полость рта дистиллированной водой в течение двух минут непосредственно перед отбором проб, а затем слюну собирали путем 15-минутного пассивного слюнотечения в градуированные пробирки. Забор жидкости десневой борозды проводили по методу Желева Е.Н., Серова А.Б. (2007) [10].

Проводимое ранее комплексное функциональное, клинико-биохимическое обследование с анализом содержания 32 цитокинов, 6 матриксных металлопротеиназ проводилось в 2008, 2013, январе-феврале 2020 года, 3-й этап – апрель 2020 - ноябрь 2021 г. у больных ЭАГ, а также пилотные данные 2021 года обосновали актуальность анализа в выделенных группах содержания в сыворотке крови, ротовой жидкости и жидкости десневой борозды методом иммуноферментного анализа уровней М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 на иммуноферментном анализаторе Personal Lab TM (Adaltis, Италия) с использованием тест-системы достаточной чувствительности и специфичности (лаборатория кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии – лицензия № 13.01.04. 0001. Л.000005.06.11, бессрочная), а также содержания цинка методом спектрометрии.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью Stat Soft Statistica 13.5 (США). Данные представлены в виде медианы (Me) и перцентилей (Q 0,25-Q 0,75). Распределение данных отличалось от распределения Гаусса – Лапласа, поэтому при сравнении зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, несвязанных выборок – критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение. Пациенты с ЭАГ II стадии (1-я и 2-я группы) через 60 дней после перенесенного COVID-19 имели более высокие уровни М-CSF ($p<0,001$) на фоне снижения IL-34 ($p<0,001$) в сыворотке крови при сопоставлении с данными больных без ЭАГ (3-я группа), но с симптомами постковидного синдрома (гингивит, ксеростомия, повышенная утомляемость) – таблица 1. Тенденция разнонаправленного изменения М-CSF и IL-34 доминировала во 2-й группе пациентов, характеризующихся кризовым течением ЭАГ и симптомами гингивита, ксеростомии после SARS-CoV-2 инфицирования ($p<0,001$). Отличия закономерности зарегистрированы при изучении содержания данных цитокинов в жидкостях полости рта: наиболее выраженное повышение М-CSF и снижение IL-34 в ротовой и десневой жидкостях ($p<0,001$) определено также у пациентов 2-й группы (ЭАГ и постковидный хронический гингивит), но наименьшие

концентрации ($p < 0,001$) в 1-й группе (ЭАГ, без постковидного синдрома), пациенты 3-й группы (постковидный хронический гингивит без ЭАГ) имели промежуточные уровни анализируемых цитокинов. Корреляции между уровнями М-CSF крови, ротовой жидкости и жидкости десневой борозды не выявлено ($p > 0,05$).

Таблица 1

Содержание М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 у пациентов через 60 дней после перенесенного COVID-19 в зависимости от ЭАГ и симптомов постковидного синдрома (хронический гингивит)

Показатели		1-я группа ЭАГ (без постковидного синдрома), n=42 чел.	2-я группа ЭАГ (постковидный синдром), n=38 чел.	3-я группа без ЭАГ (симптомы постковидного синдрома), n=40 чел.
		a	b	c
М-CSF (пг/мл)				
сыворотка крови	1	257 [208-380]	450 [362-547]* ^a	145 [123-206]* ^{a,б}
ротовая жидкость	2	508 [451-644]* ¹	1080 [940-1610]* ^{a,1}	780 [610-912]* ^{a,б,1}
десневая жидкость	3	854 [793-910]* ^{1,2}	1640 [890-2800]* ^{a,1,2}	1005 [903-1260]* ^{a,б,1,2}
IL-34				
сыворотка крови	4	99,5 [94,2-151]	64,3 [58,5-87,3]* ^a	121 [94,6-143]* ^{a,б}
ротовая жидкость	5	138 [103-177]* ⁴	109 [87,1-149]* ^{a,4}	175 [152-193]* ^{a,б,4}
десневая жидкость	6	171 [164-191]* ^{4,5}	157 [111,3-168]* ^{a,4,5}	192 [176-198]* ^{a,4,5}
MMP-8				
сыворотка крови	7	3,47 [2,95-4,91]	8,97 [3,47-4,78]* ^a	2,63 [2,11-3,05]* ^{a,б}
ротовая жидкость	8	4,12 [3,67-6,22]* ⁷	16,4 [12,3-21,4]* ^{a,7}	9,17 [6,13-11,2]* ^{a,б,7}
десневая жидкость	9	8,13 [7,1-9,17]* ^{7,8}	37,3 [24,2-39,8]* ^{a,7,8}	18,1 [6,68-28,2]* ^{a,б,7,8}
sTREM-1				
сыворотка крови	10	180 [143-217]	279 [146-390]* ^a	83 [74-123]* ^{a,б}
ротовая жидкость	11	93 [62-136]* ¹⁰	319 [278-369]* ^{a,10}	247 [193-267]* ^{a,б,10}
десневая жидкость	12	102 [69-145]* ¹⁰	392 [306-470]* ^{a,10,11}	289 [245-370]* ^{a,б,10,11}

Примечание: * - уровень достоверности $p < 0,001$, ^ - $p < 0,01$, ' - $p < 0,05$ (применяли критерий Уилкоксона для связанных совокупностей и критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей) для указанных групп.

Ретроспективный анализ выявил, что пациенты трех групп в период до SARS-CoV-2 инфицирования (февраль-март 2021 года) имели достоверные предикторные отличия

содержания М-CSF и IL-34 в крови ($p < 0,001$) с наибольшим уровнем во 2-й группе больных с ЭАГ и в последующем с признаками постковидного синдрома (кризовое течение ЭАГ и гингивит): М-CSF: 1-я группа – 223 пг/мл (75% ДИ [193-284] пг/мл), 2-я группа – 317 пг/мл (75% ДИ [254-410] пг/мл), 3-я группа – 145 пг/мл (75% ДИ [127-158] пг/мл), $p > 0,05$; IL-34: 1-я группа – 117 пг/мл (75% ДИ [95,3-122] пг/мл), 2-я группа – 83 пг/мл (75% ДИ [64,2-96,2] пг/мл), 3-я группа – 124 пг/мл (75% ДИ [97,8-156] пг/мл), $p > 0,05$. Данные отличия уровней М-CSF и IL-34 в крови пациентов 1-й и 2-й групп были зарегистрированы на фоне приема антигипертензивных препаратов и достижения в период до SARS-CoV-2 инфицирования целевых уровней АД (САД < 130 мм рт. ст., ДАД < 90 мм рт. ст.). При анализе динамики изменения уровней М-CSF в крови пациентов трех групп (до SARS-CoV-2 инфицирования и через 60 дней после перенесенного COVID-19) определено повышение содержания М-CSF ($p < 0,001$) в постковидном периоде только у пациентов 2-й группы (ЭАГ и симптомы постковидного синдрома). Достоверных отличий динамики уровней IL-34 в крови не выявлено ($p > 0,05$).

Анализ в крови уровней MMP-8 и sTREM-1 определил в постковидном периоде большее содержание указанных факторов во 2-й группе (больные с ЭАГ и хроническим гингивитом) при сопоставлении как с пациентами 1-й группы (ЭАГ без постковидного синдрома), так и 3-й группы (пациенты с постковидным синдромом, но без ЭАГ). Но у пациентов с симптомами постковидного синдрома (2-й и 3-й группы) определяются более высокие концентрации в жидкостях полости рта MMP-8 и sTREM-1 ($p < 0,001$) с наибольшей выраженностью в группе с кризовым течением ЭАГ и симптомами гингивита (2-я группа). В рамках исследования был проведен однофакторный корреляционный анализ, который зарегистрировал положительные связи между содержанием в сыворотке крови М-CSF и MMP-8 как в 1-й группе ($r = 0,68-0,71$, связь средняя, $p < 0,05$), так и во 2-й ($r = 0,65-0,68$, связь средняя, $p < 0,05$), но отсутствие достоверной корреляции между данными показателями в группе без ЭАГ (3-я группа). Более высокая сила связи между данными показателями была выявлена в ротовой жидкости и жидкости десневой борозды, но также только в 1-й и 2-й группах (М-CSF и MMP-8, $r = 0,79-0,83$, связь сильная, $p < 0,01$; М-CSF и MMP-8 ($r = 0,75-0,81$, связь сильная, $p < 0,01$). Достоверная прямая корреляции между М-CSF, IL-34 и sTREM-1 в группах не выявлена, $p > 0,05$. Также были проанализированы потенциальные корреляционные связи между М-CSF, IL-34 и MMP-8, sTREM-1 с ПМА, индексом кровоточивости и результатами сиалометрии. Достоверные корреляционные линии определены при анализе уровней М-CSF в крови и ПМА во 2-й группе пациентов ($r = 0,68$, $p < 0,05$), М-CSF жидкости десневой борозды и ПМА в 1-й и 2-й группах пациентов ($r = 0,66$, $p < 0,05$ и $r = 0,72$, $p < 0,01$ соответственно); MMP-8 десневой жидкости и ПМА в 1, 2 и 3-й

группах пациентов ($r=0,58$, $p<0,05$, $r=0,69$, $p<0,01$ и $r=0,83$, $p<0,001$ соответственно); sTREM-1 десневой жидкости с ПМА в 3-й группе ($r=0,074$, $p<0,01$).

На фоне применения гигиенических средств, содержащих цинк, в течение 14 дней (60-74 дни постковидного периода) зарегистрировано снижение уровней MMP-8 в жидкости десневой борозды во всех группах ($p<0,01$), наиболее выраженное во 2-й группе – таблица 2. Содержание sTREM-1 имело тенденцию к снижению в жидкости десневой борозды только во 2-й и 3-й группах ($p<0,01$), т.е. у пациентов с хроническим гингивитом. У пациентов 3-й группы дополнительно характеризовались уменьшение уровней MMP-8, sTREM-1 и в ротовой жидкости ($p<0,01$), а также М-CSF в жидкости десневой борозды. 78% пациентов 3-й группы и 52% – 2-й группы отмечали субъективное снижение выраженности кровоточивости десен во время проведения гигиенических процедур утром и вечером, а 72% и 54% – снижение болезненности/чувствительности десен (1-я группа: ПМА до применения средств с Zn – 18,3% (95% ДИ [12,1-22,4]%), после применения – 15,5% (95% ДИ [13,3-19,7]%), $p>0,05$), 2-я группа: ПМА до применения средств с Zn – 36,8% (95% ДИ [31,4-41,3]%), после 29,2% (95% ДИ [16,7-35,4]%), $p<0,001$), 3-я группа: ПМА до применения средств с Zn – 39,5% (95% ДИ [29,7-43,6]%), после применения – 22,4% (95% ДИ [15,8-32,9]%), $p<0,001$).

Таблица 2

Содержание М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 у пациентов через 74 дня после перенесенного COVID-19 на фоне применения гигиенических средств, содержащих цинк, в течение 14 дней

Показатели		1-я группа ЭАГ (без постковидного синдрома), n=21 чел.	2-я группа ЭАГ (постковидный синдром), n=20 чел.	3-я группа без ЭАГ (симптомы постковидного синдрома), n=20 чел.
		а	б	с
М-CSF (пг/мл)				
сыворотка крови	1	212 [185-419]	488 [412-527]* ^а	117 [94,3-154]* ^{а,б}
ротовая жидкость	2	529 [440-696]* ¹	965 [850-1390]* ^{а,1}	712 [541-890]* ^{а,б,1}
десневая жидкость	3	805 [743-877]* ^{1,2}	1530 [752-2670]* ^{а,1,2}	580 [507-670]* ^{а,б,1,2}
IL-34				
сыворотка крови	4	121 [96-142]	69,1 [54,3-91,7]* ^а	136 [102-147]* ^{а,б}
ротовая жидкость	5	126 [104-184]* ⁴	91,3 [85,7-136]* ^{а,4}	184 [162-201]* ^{а,б,4}

десневая жидкость	6	182 [173-208]* ^{4,5}	199 [81,7-216]* ^{4,5}	203 [174-175]* ^{4,5}
MMP-8				
сыворотка крови	7	3,28 [2,47-4,11]	8,62 [3,83-9,64]* ^a	2,41 [1,93-2,96]* ^{a,б}
ротовая жидкость	8	5,93 [3,96-6,58]* ⁷	13,2 [10,6-17,7]* ^{a,7,8}	4,83 [3,95-5,81]
десневая жидкость	9	6,2 [4,93-7,36]* ⁷	15,7 [10,2-19,4]* ^{a,7^8}	12,8 [4,21-17,3]
sTREM-1				
сыворотка крови	10	164 [126-209]	302 [121-267]* ^a	86 [79-115]* ^{a,б}
ротовая жидкость	11	80,7 [54-102]* ¹⁰	295 [257-377]* ^{a,10}	94 [75-151]* ^{a^б}
десневая жидкость	12	94 [51,6-156]* ¹⁰	293 [231-325]* ^{a,10,11}	152 [124-181] * ^{a,б,10,11}

Примечание: * - уровень достоверности $p < 0,001$, ^ - $p < 0,01$, ' - $p < 0,05$ (применяли критерий Уилкоксона для связанных совокупностей и критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей) для указанных групп.

В группах пациентов, использующих гигиенические средства без цинка, динамика показателей через 14 дней не выявлена – таблица 3.

Таблица 3

Содержание М-CSF, IL-34, MMP-8 и sTREM-1 у пациентов через 74 дня после перенесенного COVID-19 без применения гигиенических средств, содержащих цинк, в течение 14 дней

Показатели		1-я группа ЭАГ (без постковидного синдрома), n=21 чел.	2-я группа ЭАГ (постковидный синдром), n=18 чел.	3-я группа без ЭАГ (симптомы постковидного синдрома), n=20 чел.
		a	b	c
М-CSF (пг/мл)				
сыворотка крови	1	243 [176-372]	407 [322-562]* ^a	138 [107-224]* ^{a,б}
ротовая жидкость	2	485 [423-593]* ¹	975 [912-1580]* ^{a,1}	814 [598-944]* ^{a,б,1}
десневая жидкость	3	854 [742-954]* ^{1,2}	1490 [860-2630]* ^{a,1,2}	976 [879-1310]* ^{a,б,1,2}
IL-34				
сыворотка крови	4	107 [88,4-168]	72,6 [62,7-93,4]* ^a	134 [102-151]* ^{a,б}
ротовая жидкость	5	124 [94,5-169]* ⁴	117 [91-151]* ⁴	191 [164-202]* ^{a,б,4}
десневая жидкость	6	165 [148-195]* ^{4,5}	161 [121-188]* ^{4,5}	201 [169-231]* ^{a,б,4,5}
MMP-8				
сыворотка крови	7	3,33 [2,84-4,95]	8,86 [3,49-4,76]* ^a	2,59 [2,17-2,94]* ^{a,б}
ротовая жидкость	8	4,18 [3,62-6,24]* ⁷	16,8 [11,9-21,7]* ^{a,7}	8,99 [6,19-11,7]* ^{a,б,7}

десневая жидкость	9	8,21 [6,93-9,08]* ^{7,8}	37,7 [25,5-40,8]* ^{a,7,8}	18,6 [7,03-27,9]* ^{a,6,7,8}
sTREM-1				
сыворотка крови	10	169 [141-222]	269 [158-387]* ^a	87,3 [71,9-119]* ^{a,6}
ротовая жидкость	11	96,6 [59,2-141]* ¹⁰	327 [254-362]* ^{a,10}	251 [184-273]* ^{a,6,10}
десневая жидкость	12	117 [73,5-148]* ¹⁰	402 [328-483]* ^{a,10,11}	302 [252-392]* ^{a,6,10,11}

Примечание: * - уровень достоверности $p < 0,001$, ^ - $p < 0,01$, ' - $p < 0,05$ (применяли критерий Уилкоксона для связанных совокупностей и критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей) для указанных групп.

Проведен анализ содержания Zn в крови и ротовой жидкости до и после применения гигиенических стоматологических средств с цинком, с регистрацией на начальном этапе наименьшего ($p < 0,001$) содержания у пациентов с гингивитами в постковидном периоде (2-я и 3-я группы) с увеличением на фоне применения гигиенических средств с цинком у данной категории пациентов содержания Zn в ротовой жидкости ($p < 0,001$), но без динамики в крови, $p > 0,05$. В 1-й группе (ЭАГ, без постковидного синдрома) до применения средств с Zn: кровь – 2,71 [2,18-3,36] мг/л, ротовая жидкость 142 [73,5-234] мг/л, после применения: кровь – 2,45 [2,1-3,97], ротовая жидкость – 156 [82,9-251] мг/л, $p > 0,05$; во 2-й группе (ЭАГ, постковидный синдром) до применения средств с Zn: кровь – 1,23 [0,93-1,46] мг/л, ротовая жидкость – 32,1 [17,8-57,3] мг/л, после применения: кровь – 1,34 [1,13-1,86], ротовая жидкость – 73,8 [25,4-195] мг/л – достоверное увеличение в ротовой жидкости, $p < 0,01$; в 3-й группе (без ЭАГ, симптомы постковидного синдрома) до применения средств с Zn: кровь – 1,65 [1,21-2,47] мг/л, ротовая жидкость – 45,7 [22,4-163] мг/л, после применения: кровь – 1,8 [0,93-2,89] мг/л, ротовая жидкость – 61,9 [29,7-217] мг/л, $p < 0,05$.

Полученные в ходе исследования данные демонстрируют у пациентов с признаками постковидного синдрома, которые формируются на фоне ЭАГ, иные цитокин-опосредованные закономерности иммунопатогенеза осложнений, ассоциированных с полостью рта. Были проанализированы связи между иммуноактивными молекулами (M-CSF-IL-34-MMP-8-Zn-sTREM-1), которые описаны как перспективные в разобщенных исследованиях, посвященных иммунопатогенезу заболеваний пародонта, ЭАГ и COVID-19. При этом важно отметить, что при сопоставимой степени вовлечения в патогенез постковидного синдрома полости рта (равные интервалы для ПМА, индекса кровоточивости) у пациентов 2-й и 3-й групп, локальные уровни повышения M-CSF доминируют у лиц с ЭАГ (2-я группа). Выявленные изменения отношений в системе M-CSF/IL-34 как на системном (в крови), так и локальных (в десневой и ротовой жидкостях) уровнях являются компонентами прогрессирования эндотелиальной дисфункции, что, по собственным данным, значимо в патогенезе и ЭАГ [8], а по данным [9], и при поражении пародонта. Развитие у данной категории пациентов в постковидном периоде поражения полости рта, в том числе легкой

степени, может определять как дополнительное стимулирование цитокин-опосредованной воспалительной линии прогрессирования ЭАГ, так и запуск вторичного системного провоспалительного вектора на фоне дисбиоза слизистых [5]. Отсутствие корреляционных связей между содержанием М-CSF в крови, жидкостях полости рта дает возможность предположить значимость локальных клеток продуцентов, в том числе эндотелия для крови и эпителиальных клеток для жидкости десневой борозды, но также указывает на потенциально иные их цитокин-продуцирующие характеристики у пациентов с ЭАГ в анамнезе. При этом показатели крови и жидкостей полости рта требуют отдельного изучения, в частности для понимания иммунопатогенеза постковидного синдрома с вовлечением слизистой полости рта у больных с ЭАГ.

Нами выявлено предикторное значение повышения в крови уровней М-CSF на фоне снижения IL-34 в отношении симптомокомплекса постковидного синдрома, включающего особенности течения гипертензии и воспаление тканей десны. Рядом исследователей ранее продемонстрированы патогенетические связи между патологией полости рта и ЭАГ, что может стать взаимно отягощающим процессом у больных с ЭАГ [5], особенно перенесших COVID-19, так, SARS-CoV-2 тропен к эндотелиальным клеткам сосудов и эпителиальным клетками слизистой полости рта [11].

Выявлены положительные связи между увеличением М-CSF и ростом содержания MMP-8 в крови, ротовой и десневой жидкостях, но только в группах пациентов с ЭАГ. Важно отметить, что количественные характеристики более увеличены при сочетании ЭАГ с кризовым течением и гингивитом в постковидном периоде. Ранее взаимодействие в системе М-CSF- MMP-8 у пациентов с заболеванием пародонта были описаны в работе Martinez G.L. (2017) [9], но корреляционные положительные связи между данными веществами были определены у больных с гингивитом и пародонтитом без учета уровня АД, что частично расходится с нашими данными. MMP-8 относится к суперсемейству ММП, которые представляют собой набор генетически различных, но структурно связанных эндопептидаз. Патологические уровни MMP-8 связаны с разрушением тканей при заболеваниях периодонтита/периимплантита [12] и с повышением систолического АД в покое [13]. При этом при ЭАГ больше научных данных о роли плазменных MMP-9, MMP-2, MMP-3 и MMP-1, с указанием их наибольшего потенциала в качестве плазменных биомаркеров ремоделирования «целевых» органов [14]. По нашим данным, в постковидном периоде у больных с кризовым течением ЭАГ и гингивитом определяется рост уровня MMP-8 как в крови, так и жидкостях полости рта, возможно, изменяя классические схемы ремоделирования сосудистой стенки и органов мишеней при гипертензии. По данным ряда исследователей [15], MMP-8 может выступать маркером коллагенолитического воспаления

вокруг естественных зубов и зубных имплантатов до обнаруживаемых клинических и рентгенографических изменений, что демонстрирует значимость выявленного в нашем исследовании повышения MMP-8 у пациентов с хроническим катаральным гингивитом в постковидном периоде со снижением уровней при местном применении гигиенического средства, содержащего цинк и гидролизат коллагена. Полученные данные позволяют выдвинуть гипотезу для дальнейшего анализа патогенетической роли местного применения коллагенового субстрата у данной категории пациентов. MMP-8 состоит из нескольких доменов. N-концевой продомен имеет характерный для всех MMPs мотив «цистеиновый выключатель», поскольку содержит SH-группу, которая, связываясь с атомом Zn^{2+} в активном центре снижает активность [12], что обосновало анализ уровней Zn у данной категории пациентов с потенциальным поиском местной коррекции. При этом у пациентов с COVID-19, по данным da Silva-Neto P.V. с соавторами, определяется корреляция между системными уровнями MMP-8 и sTREM-1, что объясняют способностью MMP-8 регулировать высвобождение sTREM-1 с поверхности клеток периферической крови [7] и может объяснять выявленные в представленном исследовании корреляционные связи между данными веществами и клиническими проявлениями гингивита в постковидном периоде. Большая выраженность данных изменений, зарегистрированная у пациентов с ЭАГ и гингивитом в постковидном периоде, указывает на иные патогенетические силы связи при поражении пародонта в постковидном периоде у больных с ЭАГ, что находит частичное подтверждение в ранее опубликованных результатах о значимой патогенетической связи гипертонии и заболеваний пародонта [16].

На фоне применения уходовых средств с цинком зарегистрировано снижение ПМА в группах с признаками постковидного синдрома, при этом оно наиболее выражено у пациентов без ЭАГ, что также указывает на более сложные иммунопатогенетические взаимодействия при развитии постковидного гингивита на фоне артериальной гипертензии. Определено снижение в ротовой жидкости и жидкости десневой борозды уровней MMP-8, что патогенетически может быть ассоциировано с ролью Zn в формировании неактивной формы MMP-8 [17] со вторичным изменением его общего количества в анализируемых жидкостях. Полученные результаты требуют расширения исследования с целью анализа патогенетической роли цинка в постковидном периоде при применении на слизистых. В ранее опубликованных данных о роли цинка в противовирусном иммунитете обозначена цинкзависимая аутофагия [18], но крайне ограничены исследования о значении цинка в иммунопатогенезе постковидного периода, в том числе в жидкостях полости рта.

Вирусиндуцированное воспаление на фоне ранее предсуществующего провоспалительного настроения пациентов с ЭАГ действует как экологический драйвер

изменения дисбиотического и иммунорегуляторного баланса слизистых, что может генерировать самоподдерживающийся цикл, который при длительном существовании повышает риск развития периодонтита у ранее здоровых пациентов и прогрессирование гипертензии. При этом ранее описана роль изменения уровней железа, калия, цинка в жидкостях полости рта при прогрессировании заболеваний пародонта [19; 20]. С учетом собственных данных бесспорно и значение цинка в снижении риска развития постковидного поражения полости рта, в том числе у пациентов с ЭАГ. При этом применение средств с цинком определяет изменение его содержания в жидкостях полости рта не только за счет прямой компенсации, но и через изменения соотношения свободной и связанной форм. Бесспорно, что, несмотря на условную легкость течения гингивита у анализируемых пациентов, необходимо помнить об увеличении вторичного системного воспалительного бремени, в том числе и на систему кровообращения [5], что актуально для больных с ЭАГ.

Заключение. Полученные данные открывают перспективы изучения вопроса о первичности повышения содержания цитокинов у определенной группы больных ЭАГ в отношении увеличения риска вторичного поражения полости рта в постковидном периоде или же «пусковой» роли поражения полости рта как дополнительного фактора системного воспалительного импульса с вторичным утяжелением ЭАГ у больных после COVID-19. Дисрегуляция патогенетической системы, включающей M-CSF-IL-34-MMP-8-коллаген-Zn-sTREM-1, является значимым компонентом формирования симптомов постковидного синдрома с потенцированием как прогрессирования ЭАГ, так и поражения слизистой полости рта. ЭАГ выступает патологией, изменяющей иммунопатогенез гингивита в постковидном периоде с увеличением степени дисбаланса в системе M-CSF-IL-34-MMP-8-коллаген-Zn-sTREM-1. Учитывая пантропизм SARS-CoV-2 и его способность объединять в единую патогенетическую цепь сосудистую стенку, клетки слизистой полости рта и миокард с параллельными изменениями иммунорегуляторных факторов, сдерживающих выраженность воспалительной реакции в норме, актуально комплексное изучение данной проблемы с выделением потенциальных методов коррекции, в том числе с учетом уровня цинка.

Список литературы

1. Bucciarelli V., Nasi M., Bianco F., Seferovic J., Ivkovic V., Gallina S., Mattioli A.V. Depression pandemic and cardiovascular risk in the COVID-19 era and long COVID syndrome: Gender makes a difference. Trends in Cardiovascular Medicine. 2022. vol. 32. no. 1. P. 12-17.

2. Kannan S.R., Spratt A.N., Sharma K., Chand H.S., Byrareddy S.N., Singh K. Omicron SARS-CoV-2 variant: Unique features and their impact on pre-existing antibodies. *Journal of Autoimmunity*. 2022. vol. 126. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841121001876?via%3Dihub> (дата обращения: 11.03.2022).
3. Halpin S., O'Connor R., Sivan M. Long COVID and chronic COVID syndromes. *Journal of Medical Virology*. 2021. vol. 93. no. 3. P. 1242-1243.
4. Chavakis T., Mitroulis I., Hajishengallis G. Hematopoietic progenitor cells as integrative hubs for adaptation to and fine-tuning of inflammation. *Nature Immunology*. 2019. vol. 20. no. 7. P. 802–811.
5. Hajishengallis G., Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews Immunology*. 2021. vol. 21. no. 7. P. 426-440.
6. Tsuchiya H. Oral Symptoms Associated with COVID-19 and Their Pathogenic Mechanisms: A Literature Review. *Dentistry Journal*. 2021. vol. 9. no. 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7999671/> (дата обращения 11.03.2022).
7. da Silva-Neto P.V., de Carvalho J.C.S., Pimentel V.E., Pérez M.M., Toro D.M, Fraga-Silva T.C., Fuzo C.A., Oliveira C.N.S., Rodrigues L.C., Argolo J.G.M., Garmona-Garcia I., Neto N.T., Souza C.O.S., Fernandes T.M., Bastos V.A.F., Degiovani A.M., Constant L.F., Ostini F.M., Feitosa M.R., Parra R.S., Vilar F.C., Gaspar G.G., da Rocha J.J.R., Feres O., Frantz F.G., Gerlach R.F., Maruyama S.R., Russo E.M.S., Viana A.L., Fernandes A.P.M., Santos I.K.F.M., Bonato V.L.D., Boechat A.L., Malheiro A., Sadikot R.T., Dias-Baruffi M., Cardoso C.R.B., Faccioli L.H., Sorgi C.A. sTREM-1 Predicts Disease Severity and Mortality in COVID-19 Patients: Involvement of Peripheral Blood Leukocytes and MMP-8 Activity. *Viruses*. 2021. vol. 13. no. 12. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8708887/> (дата обращения: 11.03.2022).
8. Радаева О.А., Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе артериальной гипертензии. М.: Наука, 2021. 350 с.
9. Martinez G.L., Majster M., Bjurshammar N., Johannsen A., Figueredo C.M., Boström E.A. Salivary Colony Stimulating Factor-1 and Interleukin-34 in Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*. 2017. vol. 88. no. 8. [Электронный ресурс]. URL: <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1902/jop.2017.170081> (дата обращения 11.03.2022).
10. Жулев Е.Н., Серов А.Б. Способ исследования десневой жидкости // Патент РФ №2349920. Патентообладатель ГОУВПО «НижГМА Росздрава». 2009.

11. Erbaş G.S., Botsali A., Erden N., Arı C., Taşkın B., Alper S., Vural S. COVID-19-related oral mucosa lesions among confirmed SARS-CoV-2 patients: a systematic review. *International Journal of Dermatology*. 2022. vol. 61. no. 1. P. 20-32.
12. Sorsa T., Sahni V., Buduneli N., Gupta S., Räisänen I.T., Golub L.M., Lee H.M., Pätälä T., Bostanci N., Meurman J., Pärnänen P., Nwhator S.O., Singla M., Gauba K. Active matrix metalloproteinase-8 (aMMP-8) point-of-care test (POCT) in the COVID-19 pandemic. *Expert Review Proteomics*. 2021. vol. 18. no. 8. P. 707-717.
13. Maggio A.B.R, Farpour-Lambert N.J., Aggoun Y., Galan K., Montecucco F., Mach F., Beghetti M. Serum cardiovascular risk biomarkers in pre-pubertal obese children. *European Journal of Clinical Investigation*. 2018. vol. 48. no. 9. [Электронный ресурс]. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eci.12995> (дата обращения: 11.03.2022).
14. Bisogni V., Cerasari A., Pucci G., Vaudo G. Matrix Metalloproteinases and Hypertension-Mediated Organ Damage: Current Insights. *Integrated Blood Pressure Control*. 2020. no. 13. P. 157-169.
15. Alassiri S., Pärnänen P., Rathnayake N., Johannsen G., Heikkinen A.M., Lazzara R., van der Schoor P., van der Schoor J.G., Tervahartiala T., Gieselmann D., Sorsa T. The ability of quantitative, specific, and sensitive point-of-care/chair-side oral fluid immunotests for aMMP-8 to detect periodontal and peri-implant diseases. *Disease Markers*. 2018. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.hindawi.com/journals/dm/2018/1306396/> (дата обращения: 10.03.2022).
16. Türkoğlu O., Barış N., Tervahartiala T., Şenarslan Ö., Sorsa T., Atilla G. Evaluation of systemic levels of neutrophilic enzymes in patients with hypertension and chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2014. vol. 85. no. 7. P. 908-916.
17. Fasciglione G.F., Marini S., D'Alessio S., Politi V., Coletta M. pH- and temperature-dependence of functional modulation in metalloproteinases. A comparison between neutrophil collagenase and gelatinases A and B. *Biophysical Journal*. 2000. vol. 79. no. 4. P. 2138-2149.
18. Rahman M.T., Idid S.Z. Can Zn Be a Critical Element in COVID-19 Treatment? *Biological Trace Element Research*. 2021. vol. 199. no. 2. P. 550-558.
19. Wu D., Lin Z., Zhang S., Cao F., Liang D., Zhou X. Decreased Hemoglobin Concentration and Iron Metabolism Disorder in Periodontitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers Physiology*. 2020. no. 10. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.01620/full> (дата обращения: 11.03.2022).
20. Uwitonze A.M., Ojeh N., Murererehe J., Atfi A., Razzaque M.S. Zinc Adequacy Is Essential for the Maintenance of Optimal Oral Health. *Nutrients*. 2020. vol. 12. no. 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/4/949/htm> (дата обращения: 11.03.2022).