Vol. XIX – nr. 3/2016

Impactul profilului de citokine asupra morbidității prin caria dentară la copiii cu maladii severe ale sistemului nervos central

Impact of cytokine profile on dental caries morbidity in children with severe diseases of the central nervous system

Aurelia Spinei*

Rezumat

Obiectivul lucrării: *evaluarea profilului de citokine și evidențierea impactului acestora asupra morbidităţii prin caria dentară la copiii cu maladii severe ale sistemului nervos central (SNC).*

Materiale și metode. *Pentru evaluarea gradului de afectare prin caria dentară au fost examinați clinic 1272 copii cu vârstele cuprinse între 1 și 18 ani. În studiu au fost incluși 636 de copii cu maladii severe ale SNC, care au constitut lotul de cercetare (L_1) și 636 copii fără dizabilități care au format lotul martor (L_0). Au fost calculați indicii de prevalență a cariei dentare (IP) și indicii de experiență carioasă: dft, și DMFT.Conţinutulcitokinelorîn serul sanguina fost determinat prin metoda de analiză imunoenzimatică cu utilizarea reactivelor firmei Vectior-Best (Rusia).*

Rezultate. *La copiii cu maladii severe ale SNC a fost depistată tulburarea profilului de citokine în serul sanguin, caracterizată de majorarea statistic semnificativă a nivelului de citokine proinflamatorii (TNF-α, IL-1β și IL-6) şi concentraţia insuficientă relativă a citokinelor antiinflamatorii*

*Conf. Univ. Dr. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” Chișinău, Republica Moldova

IL-4 şi IL-10. La copiii din lotul de cercetare s-a stabilit relația directă puternică între valoarea indicelui DMFT și concentrația citokinelor pro-inflamatorii în serul sanguin.

Concluzii. *La copiii cu maladii severe ale SNC s-a identificat un dezechilibru al profilului de citokine în serul sanguin cu prevalenţa mediatorilor pro-inflamatorii. Tulburarea profilului de citokine în serul sanguin a influenţat riscul carios crescut şi morbiditatea prin caria dentară la copiii cu maladii severe ale SNC, fapt necesar de luat în considerare la planificarea măsurilor cariopreventive individualizate.*

Cuvinte cheie:*citokine, caria dentară, maladii severe SNC, copii cu dizabilități.*

Summary

Objective: *to evaluate cytokine profile and highlight its impact on dental caries morbidity in children with severe diseases of the central nervous system (CNS).*

Materials and methods. *To assess the degree of dental caries developmentthere were clinically examined 1272 children aged between 1 and 18 years. The study included 636 children with severe diseases of the CNS, who constituted the research group (L_1) and 636 children without disabilities who constituted the control group (L_0). There were calculated indices of prevalence of dental caries (IP) and indices of carious experience: dft and DMFT. Cytokine levels in the serum was determined by enzyme immunoassay method using the reagents of OOO Vectior-Best company (Russia).*

Results. *Cytokine profile impairment was detected in the blood serum of children with severe diseases of the CNS, characterized by a statistically significant increase in the level of proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β and IL-6) and a relatively insufficient concentration of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10. A direct strong relationship between thevalue of DMFT index and increased concentration of pro-inflammatory cytokines in the blood serumwas established in children from the research group.*

Conclusions: *Cytokine profile imbalance in the blood serum was identified in children with severe diseases of the CNS with the prevalence of pro-inflammatory mediators. Impairment of cytokine profile in blood serum influenced the increased caries risk and dental caries morbidityin children with severe diseases of the CNS, a fact which is necessary to consider when planning individualized cariopreventive measures.*

Keywords: *cytokines, dental caries, diseases of the CNS, children with disabilities.*

Caria dentară este cea mai frecventă boala cronică a cavității bucale[11, 19]. Deși foarte frecventă la populație, mechanismul prin care unelepersoanerămân libere de carii prezintă interes pentru cercetătorii în domeniu[3, 34, 41]. Conform viziunilor actuale, caria dentarăeste oboalămultifactorialășieste asociatăcu prezenț amicroorganismelorcariogeneși smalțul dentar susceptibil, precum și durata expunerii acestuia

Dental caries is the most common chronic oral disease [11, 19]. Although very common in the population, the mechanism by which some individuals remain free of caries is of interest to researchers in the field [3, 34, 41]. According to current views, dental caries is a multifactorial disease, and it is associated with cariogenic microorganisms and susceptible tooth enamel, as well as the duration of its exposure to the

la acţiunea factorilor cariogeni[19, 26, 29, 40, 59]. *Streptococcus mutans* este considerat agentul cauzal al carieidentare[19, 22, 23, 34]și mai multe studiiau arătat o relaţie directă dintre gradul de activitate a cariei dentare și numărul de *Streptococcus mutans* depistat în salivă și biofilmul dentar [19, 22,29, 31, 32].

Rolul factorilor imunologiciînpatogenia cariei dentarea fost menționat de un număr mare de autori [1, 3-5, 13, 20, 23, 25, 34, 37, 39].Studiile clinico-experimentale confirmă dependenţa dintre tulburările factorilor imunităţii nespecifice şi/sau a celei specifice și intensitatea procesului carios [5, 8, 13, 17, 18, 20, 21, 23, 25, 27].

Citokinele sunt mediatorii interacţiunilor celulare care, legându-se de receptorii membranari specifici, declanșează la nivel intracelular o serie de evenimente, au ca efect acțiunea asupra nucleului, participă la reglarea reacţiilor de apărare a organismului și la menţinerea homeostaziei în cazul agresivității agenţilor patogeni precum și influențează metabolismul termic, fenomenele de cicatrizare, creșterea celulară, hemostaza și activitatea imună, resorbția și sinteza osoasă [4, 6, 7, 9, 10, 24, 43].

Una din cele mai exacte metode de studiu a evoluției afecțiunilor inflamatoriieste evaluarea profilului citochinic. Majoritatea citokinelor pro- și antiinflamatorii (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNFα, IFNγ) sunt prezente nu doar în sângele periferic, dar și în salivă [36].

Studiile anterioare au raportat exprimarea crescută a diferitelor citokine în pulpa și odontoblaștii dinților afectați de carie, inclusiv: factorul de creștere transformator beta-1 (TGF – B1), factorul de creștere al endoteliului vascular (VEGF), interleukineleIL-1β, IL2, IL4, IL6, IL10, IL11, interferonul IFN-γ, factorul de necroză tumorală alfa TNF-α ș.a. [1, 5, 17, 23, 28, 35, 39, 40, 42-44, 51, 57].

În studiile efectuate în condiții *in vitro* și pe modele *ex vivo* s-a demonstrat că odontoblaștii

action of cariogenic factors [19, 26, 29, 40, 59]. *Streptococcus mutans* is considered the causative agent of dental caries [19, 22, 23, 34], and several studies have shown a direct relationship between the degree of dental caries activity and the number of *Streptococcus mutans* found in saliva and dental biofilm [19, 22, 29, 31, 32].

The role of immunological factors in dental cariespathogenesis has been mentioned by a number of authors [1, 3-5, 13, 20, 23, 25, 34, 37, 39]. Clinical and experimental studies confirm the dependence between the impairment of non-specific and/or specificimmunity factors, and the intensity of the caries process [5, 8, 13, 17, 18, 20, 21, 23, 25, 27].

Cytokines are mediators of cellular interactions which, by binding to specific membrane receptors, trigger intracellularly a series of events, acting uponthe nucleus, regulating the defense reactions of the body and maintaining homeostasis in case of pathogen aggressiveness, as well asinfluencingthermal metabolism, cicatrization phenomena, cell growth, homeostasis and immune activity, bone resorption and synthesis [4, 6, 7, 9, 10, 24, 43].

Assessment of cytokine profile is one of the most accurate methodsof studying the evolution of inflammatory diseases. Most of pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNFα, IFNγ) are present not only in the peripheral blood, but also in saliva [36].

Previous studies have reported an increased expression of various cytokines in the pulp and odontoblasts of teeth affected by caries, including:transforming growth factor beta 1(TGF-B1), vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukins IL-1β, IL2, IL4, IL6, IL10, IL11, IFN-γ interferon, tumor necrosis factor alfa TNF-α, etc. [1, 5, 17, 23, 28, 35, 39, 40, 42-44, 51, 57].

It was demonstrated inboth*in vitro* studies and *ex vivo*models that odontoblasts can mediate inflammatory responses of host in caries

pot media răspunsurile inflamatorii ale gazdei la evoluția procesului carios direct prin producerea de peptide antimicrobiene,citokine, și indirect – prin activarea celulelor imune migratoare [8, 17, 18, 22, 23, 28, 54, 57]. Horst O.V. și coaut., 2011, au confirmat prin studii clinice că celulele dinstratulodontoblaștilor inițiazăreacțiiimunologice în dinții afectați de carie prin producerea citokinelorproinflamatoriișichemo kinelor desemnalizare IL-1β, IL-1α, TNF-α. [28]. Totodată, o serie de fenomene sunt interpretate controversat de diferiți autori [4, 20, 23, 25].

În studiile anterioare s-a stabilit nivelul ridicat de afectare prin caria dentară la copiii cu dizabilități.Sistemul imunitar, împreună cu sistemul nervos central (SNC), sunt cele mai importante sisteme integraționale, responsabile de menținerea homeostazei și vitalității organismului copilului în diferite condiții ale mediului ambiant. Prin urmare, studierea particularităților echilibrului citokinelor pro- și antiinflamatoriila copiii cu afecțiuni ale SNC, va permite evaluarea activității funcţionale a sistemului imunitar, a factorilor imunității nespecifice şi specifice și evidențierea unor aspecte de patogeneză a cariei dentare neexplorate anterior.

Obiectivul lucrării

Obiectivul lucrării este evaluareaprofilului de citokine și evidențierea impactului acestora asupra morbidității prin caria dentară la copiii cu maladii severe ale sistemului nervos central.

Material și metodă

Studiul a fost realizat în cadrul Catedrei de chirurgie oro-maxilo-facială pediatrică, pedodonție și ortodonție a USMF ”Nicolae Testemițanu”. Pentru evaluarea gradului de afectare prin caria dentară au fost examinați clinic 1272 copii cu vârste cuprinse între 1 și 18 ani. În studiu au fost incluși 636 de copii cu

evolutiondirectly by producing antimicrobial peptides, cytokines, and indirectly - by activatingmigrating immune cells [8, 17, 18, 22, 23, 28, 54, 57]. O.V. Horst and et al., 2011, confirmed by clinical studies that cells in the odontoblastic layerinitiate immunological reactions in teeth affected by caries producing proinflammatory cytokines and signaling chemokines IL-1β, IL-1α, TNF-α. [28]. At the same time, a number of different phenomena arecontroversially interpreted by different authors [4, 20, 23, 25].

In previous studies a high level of dental caries development was established in disabled children. The immune system, together with the central nervous system (CNS), are the most important systems of integration, responsible for maintaining homeostasis and body vitalityof the child under various conditions oftheenvironment. Therefore, studying peculiarities of pro- and anti-inflammatory cytokine balance in children with the CNS disorders will allow to assess thefunctional activity of the immune system, specific and nonspecific immunity factors and to emphasize certain aspects ofpreviously unexplored dental cariespathogenesis.

Objective

To evaluate cytokine profile and highlight its impact on dental caries **morbidity** in children with severe diseases of the central nervous system.

Material and methods

The study was conducted in the Department of Pediatric Oro-maxillo-facial Surgery, Orthodontics and Pedodontics, SUMPh «Nicolae Testemitanu». To assess the developmentof dental caries, 1272 children aged between 1 and 18 years were clinically examined. The study included 636 children with severe diseases of

maladii severe ale SNC, care au constitut lotul de cercetare (L_1) și 636 copii fără dizabilități care au format lotul martor (L_0). Au fost calculați indicii de prevalență a cariei dentare (IP) și indicii de experiență carioasă: dft și DMFT.Prognozarea cariei dentare și evaluarea complexă a riscului carios a fost efectuată cu aplicarea Software *Cariogram.*

A fost evaluatprofilul de citokine în serul sanguin la 212 copii selectaţi aleatoriu din ambele loturi. Conţinutul de citokine pro- și antiinflamatorii a fost determinat prin metoda de analiză imunoenzimatică pe suport solid cu utilizarea reactivelor firmei OOO Vectior-Best (Rusia). Pentru estimarea echilibrului dintre concentrația citochinelor pro- și anti-inflamatorii a fost calculat indicele citokinic integral (ICI) propus de Iudina T. și coaut., 2012[30].

Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu" și realizat în conformitate cu cerințele etice, cu obținerea acordului scris al părinților copiilor sau reprezentanților lor legali. Analiza datelor de statistică descriptivă și inferențială folosind teste parametrice și non-parametrice ($p<0,05$) a fost realizată utilizând programele Microsoft® Excel® 2013 şi IBM® SPSSStatistics 22.0cu ajutorul funcțiilor și modulelor acestor programe.

Rezultate

Toți subiecții luați în observație sunt nativi și rezidenți în Republica Moldova. Loturile de cercetare și referință au prezentat o structură comparabilă după sexe, grupele de vârstă, mediu de traiși condiții socio-economice. Copiii din lotul de cercetare au fost diagnosticaţi cu maladii severe ale SNC asociate cu întârzierea dezvoltării mintale: retardul mintal (RM) moderat a fost stabilit la 24,84±1,71% din copii, sever – la 35,53±1,9% iar profund – la 39,63±1,94% (Fig. 1).

the CNS, who constituted the research group (L_1) and 636 children without disabilities who formed the control group (L_0). Indices of dental caries prevalence (IP) and indices of carious experience: dft and DMFT, were calculated. Prognosis of dental caries and complex assessment of caries risk were carried out applying Software Cariogram.

Cytokine profile was assessed in the blood serum of 212 children randomly selected from both groups. Pro- and anti-inflammatory cytokine content was determined by enzyme immunoassay on solid support using the reagents of OOO Vectior-Best company (Russia). To estimate the balance between the concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines,the integral cytokine index (ICI), proposed by Iudina T. and et al., 2012,was calculated [30].

The study was approved by the Research Ethics Committee of SUMPh «Nicolae Testemitanu» and conducted in accordance with ethical requirements, with the written consent of children`s parents or their legal representatives. Descriptive and inferential statistics data analysiswas performed using parametric and non-parametric tests ($p <0.05$), as well as SPSS 16.0 and EXCEL programs, by means ofprogram functions and modules.

Results

All subjects under observation are natives and residents in the Republic of Moldova. The research and reference lots showed a comparable structure by sex, age, living environment and socio-economic conditions. Children in the research group were diagnosed with severe diseases of the CNS associated with delayed mental development: moderate mental retardation (MR) was found in 24.84±1.71% of children, severe MR- in 35.53±1.9% and deep MR - in 39.63±1.94% (Fig. 1).

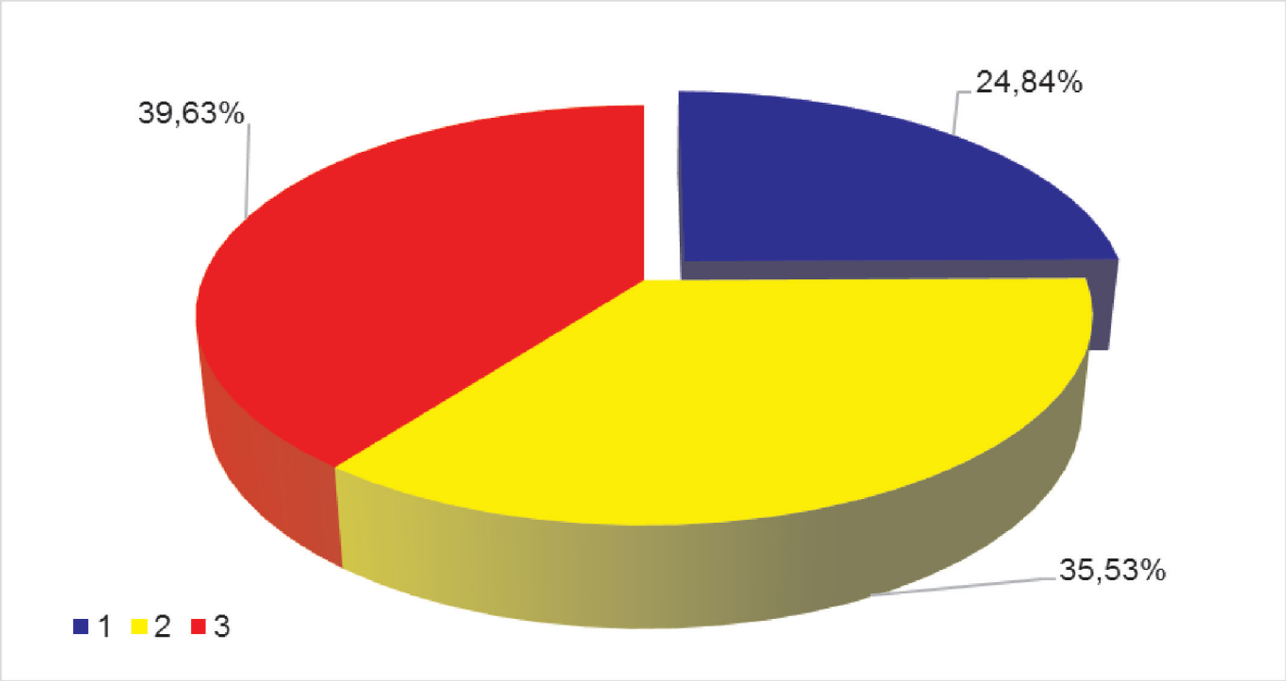

Fig. 1. Repartiţia copiilor cu dizabilităţi în funcţie de dezvoltare intelectuală: retardul mintal (RM) moderat (1), RM sever (2), RM profund (3)
Fig. 1. Distribution of children with disabilities by intellectual development: moderate mental retardation (MR) (1), severe MR (2), deep MR (3)

Repartiţia subiecţilor în subloturi în funcţie de maladiile SNC este reprezentată în fig. 2. Astfel, de paralizie cerebrală infantilă (PCI) suferă 48,12±1,98% din copii, de epilepsie sau sindromul convulsiv – 21,38±1,63% din copii. La 14,78±1,4% din copiii au fost identificate alte maladii congenitale ale SNC (hidrocefalie, microcefalie, encefalopatie, miopatie ș.a.) asociate cu RM. Sindromul Down a fost diagnosticat la 15,72±1,44% din copii. Din numărul total de copii din lotul de cercetare majoritatea – 439 (69,03±1,83%) suferă de dizabilități de grad sever și 197 (30,97±1,83%) din copii – de dizabilități accentuate. La majoritatea copiilor (84,59±1,43%) au fost constatate dizabilități multiple, fiind asociatedeficienţele: motorii (69,18±1,83%), auditive și de vorbire (49,69±1,98%) și vizuale (47,8±1,98%).

Indicatorii de morbiditate prin caria dentarăla copiii din lotul de cercetare și lotul martor diferă

Distribution of subjects in subgroups according to the CNS diseases is shown in fig. 2. Thus, 48.12±1.98% of children suffer from infantile cerebral palsy (ICP), 21.38±1.63% of children suffer from epilepsy or convulsivesyndrome. Congenital CNS diseases associated with MR (hydrocephalus, microcephaly, encephalopathy, myopathy, etc.) were identified in 14.78±1.4% of children. Down`s syndrome was diagnosed in 15.72±1.44% of children. Of the total number of children in the research group, most - 439 (69.03±1.83%) suffer from a severe degree of disability and 197 (30.97±1.83%) of children havemarkeddisabilities. Multiple disabilities were found in most children (84.59±1.43%),they being associated with some deficiencies, namely: motor (69.18±1.83%), hearing and speech deficiencies (49.69±1.98%) and visual ones (47.8±1.98%).

Indicators of dental cariesmorbidity in children from the research and control groups differ signi-

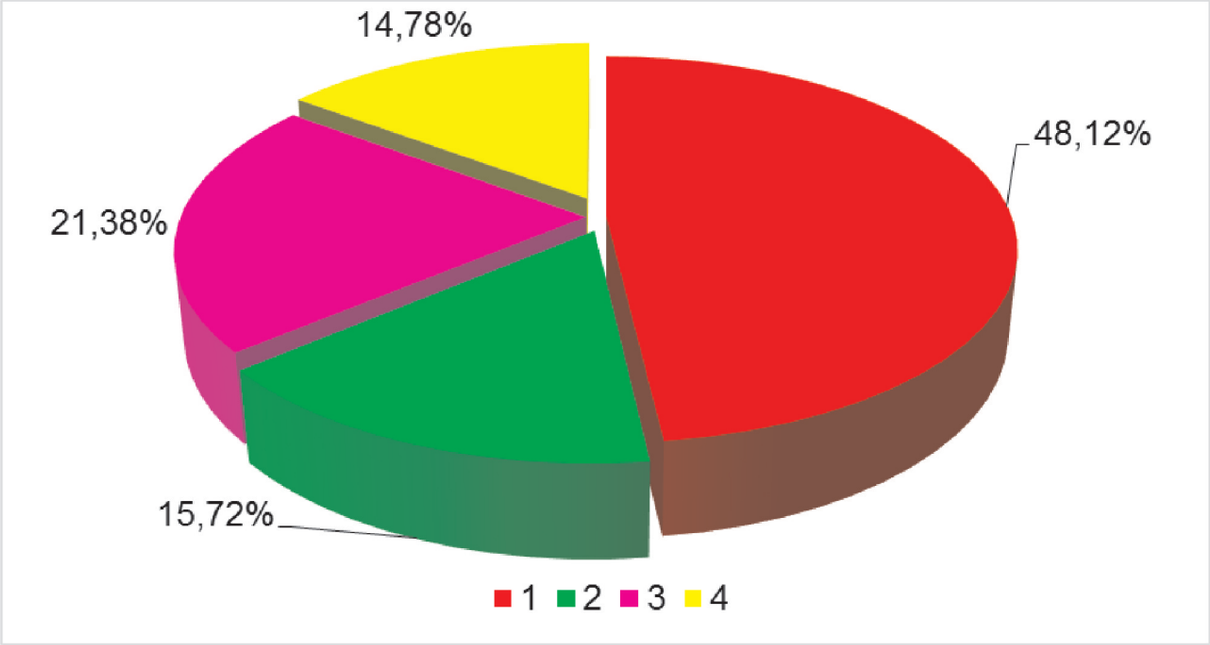

Fig. 2. Repartiţia copiilor cu dizabilităţi în funcţie de maladiile sistemului nervos central:PCI asociată cu RM (1), Sindromul Down (2),Epilepsie/ sindrom convulsivasociate cu RM (3),alte maladii ale SNSasociate cu RM(4)
Fig. 2. Distribution of children with disabilities by diseases of the CNS: ICP associated with MR (1), Down's Syndrome (2), Epilepsy/Convulsive syndrome associated with MR (3), other diseases of the CNS associated with MR (4)

semnificativ. După cum denotă datele din tabelul 1, caria dentară a fost depistată la 57,86±1,96% dintre copiii cu maladii severe ale SNC, iar la copiii practic sănătoşi, respectiv la 46,86±1,98 (p<0,001).La copiii din lotul L_1 s-au estimat valori statistic semnificativ sporite ale indicatorilor care reflectă experienţă carioasă în dentiţia definitivă (p<0,001) şi mixtă (p<0,001): DMFT=2,01±0,12, DMFT+dft=5,57±0,16, comparativ cu valorile acestor indicatori apreciaţi la copiii din lotul L_0(DMFT=0,84±0,06şi DMFT+dft=2,46±0,13). Totodată, nu s-au observat diferenţe statistic semnificative între valorile indicelui de experienţă carioasă în dentiţia temporară la copiii din lotul de cercetare (dft=1,84±0,1) şi martor (dft=1,82±0,1, p>0,05).Probabilitatea de evitare a apariţiei noilor cavităţi carioase la copiii cu maladii severe ale SNC a fost redusă (34,2±0,95%), spre deosebire

ficantly. As data in Table 1 show, tooth decay was detected in 57.86±1.96% of children with severe diseases of the CNS, and in practically healthy children, respectively 46.86±1.98 (p<0.001). Children inlot L_1 were estimated statistically significantly increased values of the indicators that reflect carious experience in permanent (p<0.001) and mixed dentition (p<0.001):DMFT=2.01±0.12, DMFT+dft=5.57±0.16, compared to the values of the same indicators assessed in children in group L_0 (DMFT=0.84±0.06 and DMFT+dft=2.46±0.13). However, no statistically significant differences were observed between the values of carious experience index in temporary dentition in children in the research lot (dft=1.84±0.1) and control lot (dft=1.82±0.1, p>0.05). The probability of avoiding the developmentof new carious cavities in children with severe diseasesof the CNS was reduced (34.2±0.95%) as opposed to 63.82±0.73% in

Tab. 1. Valorile indicilor de experienţă carioasă şi a şanselor de evitare a apariţiei cariilor noi la copii

Loturile de copii	p	Indicele de prevalenţă a cariei dentare (%)	Indicatorii experienţei carioase şi ai riscului carios (X±ES)				
			dft	DMFT	DMFT+dft	Şansele de evitare a apariţiei cariilor noi (%)	Riscul carios
L_1	p_1	57,86±1,96 p_{1-0}<0,001	1,84±0,1 p_{1-0}>0,05	2,01±0,12 p_{1-0}<0,001	5,57±0,16 p_{1-0}<0,001	34,2±0,95 p_{1-0}<0,001	Mare (21-40%)
L_0	p_0	46,86±1,98	1,82±0,1	0,84±0,06	2,46±0,13	63,82±0,73	Scăzut (61-80%)

Tab. 1. Values of carious experience indices and chances of avoiding development of new caries in children

Lots of children	p	Index of prevalence of dental caries (%)	Indices of carious experience and risc (X±ES)				
			dft	DMFT	DMFT+dft	Chances of avoiding devel-op-ment of new caries (%)	Carious risc
L_1	p_1	57.86±1.96 p_{1-0}<0.001	1.84±0.1 p_{1-0}>0.05	2.01±0.12 p_{1-0}<0.001	5.57±0.16 p_{1-0}<0.001	34.2±0.95 p_{1-0}<0,001	High (21-40%)
L_0	p_0	46.86±1.98	1.82±0.1	0.84±0.06	2.46±0.13	63.82±0.73	Low (61-80%)

de 63,82±0,73% la copiii sănătoşi (t=11,0668, p<0,001). Riscul apariţiei cariei dentare la copiii cu dizabilităţi a fost de 1,87 ori mai mare în comparaţie cu copiii sănătoşi.

În serul sanguin al copiilor cu dizabilităţi psihosomatice multiple severe,în rezultatul analizei imunoenzimatice, s-a stabilit o creştere statistic semnificativă a concentraţiei citokinelor proinflamatorii (IL-1β, TNFα şi IL-6) comparativ cu copiii sănătoşi. Cele mai crescute valori alecitokinelor proinflamatorii au fost estimate la copiii cu maladii severe ale SNC provocate de hipoxie perinatală.La aceşti copii s-a mai depistat producerea crescută statistic semnificativă a citokinelor antiinflamatorii IL-4 şi IL-10 (p<0,001), însă spre deosebire de copiii sănătoşi, producerea acestora nu este proporţională cu creşterea concentraţiei citokinelor proinflamatorii(Fig. 3).

healthy children (t=11.0668, p<0.001). The risk of dental cariesdevelopment in children with disabilities was 1.87 times higher compared with healthy children.

Analysis of enzyme immunoassay in the blood serum of children with severe multiple psychosomatic disabilities established a statistically significant increase in the concentration of proinflammatory cytokines (IL-1β, TNFαand IL-6) compared to healthy children. The highest values of proinflammatory cytokines were estimated in children with severe diseases of the CNS caused by perinatal hypoxia. There wasalso founda statistically significantly increased production of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 (p<0.001) in these children, but in contrast to healthy children, the production thereof is not proportional to the increase in proinflammatory cytokineconcentration (Fig. 3).

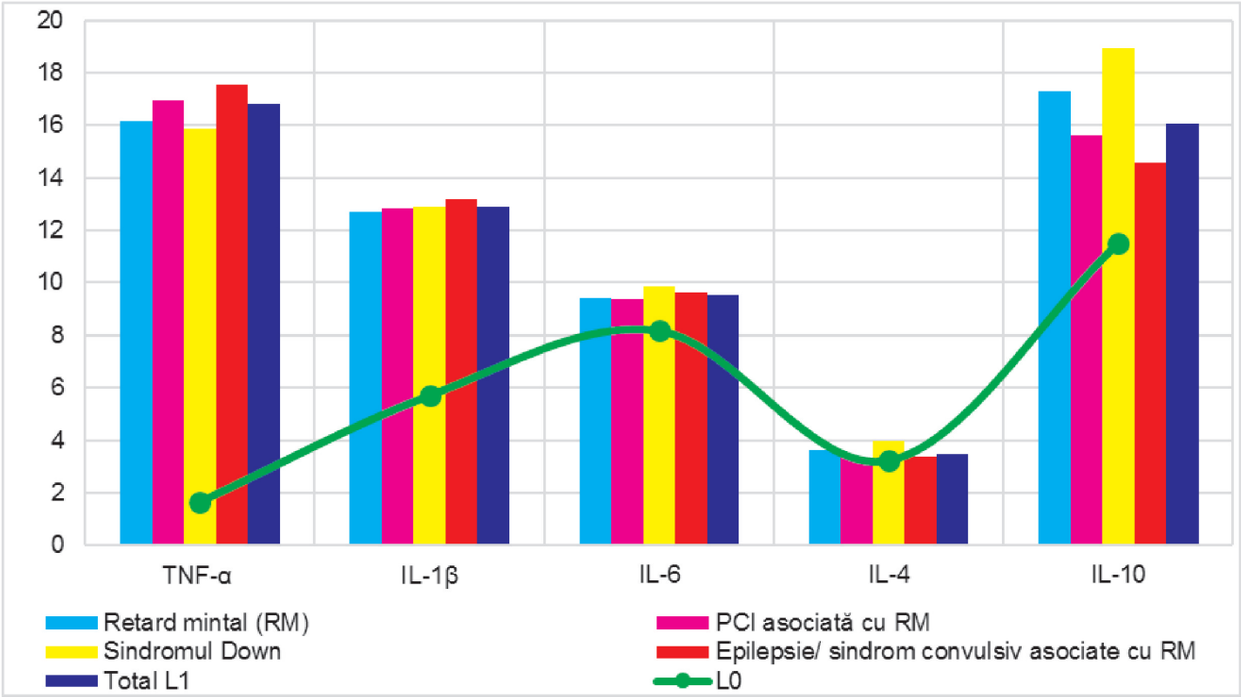

Fig. 3. Concentraţia citokinelor în serul sanguin la copii

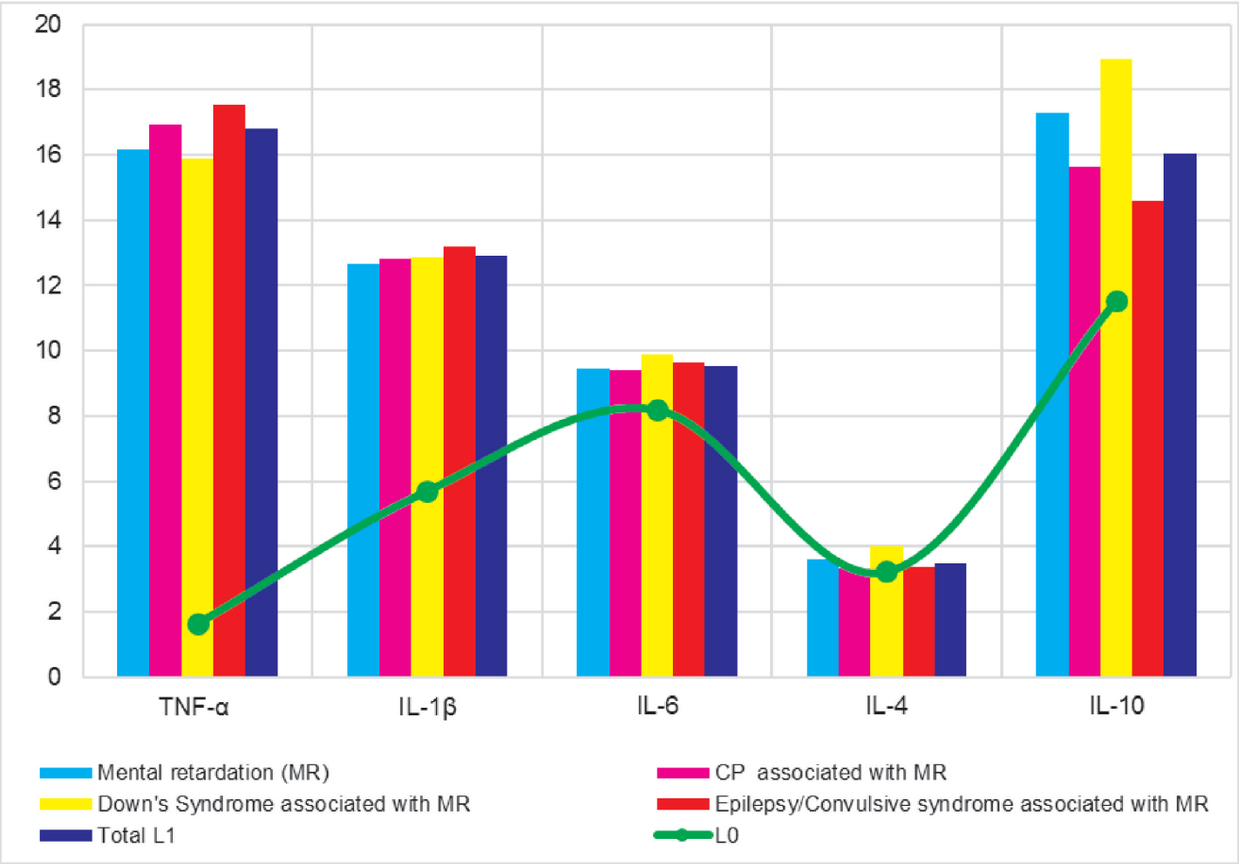

Fig. 3. Cytokine concentration in children`s blood serum

În lotul de copii sănătoşi cu cavitatea orală sanată, profilul de citokine în serul sanguin este comparabil cu valorile copiilor liberi de carie, iar la cei cu leziuni carioase netratate şi complicaţiile acestora a fost identificată o creştere moderată a TNFα. În cazul copiilor cu dizabilităţipsihosomatice multiple severe, pe măsură creşterii indicelui DMFT (dft), se intensifică semnificativ activitatea proinflamatorie a TNFα şi IL-6 şi se reduce concentraţia citokinelor antiinflamatori. Tulburarea semnificativă a profilului de citokine a fost înregistrată la copiii cu dizabilităţi şi cu cavitatea orală nesanată, manifestată prin supraproducţia IL-1β, TNFα şi IL-6. Totodată, la copiii cu dizabilităţi liberi de carie, este crescută concentreţia TNFα de 10,49 ori, IL-1β – de 2,27 ori şi IL-6 – de 1,19 ori în serul sanguin comparativ cu copiii sănătoşi.

La copiii cu dizabilităţi s-a depistat dependenţa directă puternică şi medie între intensitatea cariei dentare şi nivelul citokinelor pro-inflamatorii în serul sanguin: TNF-α (ρ=0,95,p<0,001, n=212), IL-1β (ρ=0,65,

In the group of healthy children with teeth subjected to dental treatment, cytokine profile in blood serum is comparable to the values of caries-free children, buta moderate increase in TNFα was identified in children with untreated dental caries and its complications. In case of children with multiple severe psychosomatic disabilities, as DMFT index growth (DFT), proinflammatory TNF and IL-6 activity intensifies significantly andantiinflammatory cytokine concentration is reduced. Significant impairmentof cytokine profile was recordedin disabled children with teeth not subjected to dental treatment, manifested by overproduction of IL-1β, TNFαand IL-6. At the same time, children with disabilities who are caries-free have an increased TNFαconcentration upto 10.49 times, IL-1β - 2.27 times, and IL-6 - 1.19 times in blood serum, compared to healthy children.

A direct strong and average dependence between the intensity of dental caries and the level of pro-inflammatory cytokines in blood serum was found in children with disabilities: TNF-α (ρ=0.95, p<0.001, n=212), IL-1β (ρ=0.65,

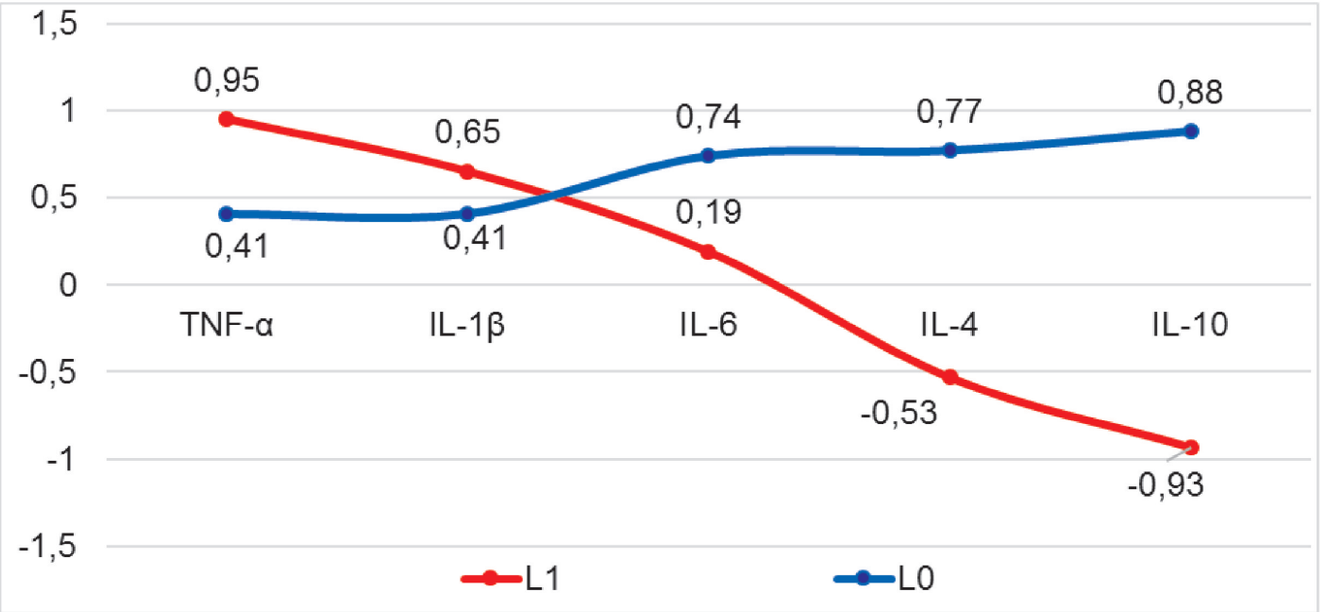

Fig. 4. Relaţia dintre concentraţia citokinelor din serul sanguin la copii şi indicele DMFT
Fig. 4. Relationship between cytokine concentration in children`s blood serum and DMFT index

p<0,01, n=212) şi relaţia inversă între gradul de activitate carioasă şi concentraţia citokinelor anti-inflamatorii: IL-4 (ρ=-0,53, p<0,001, n=212); IL-10 (ρ=-0,93, p<0,001, n=212). Spre deosebire de copiii cu dizabilităţi, la copiii sănătoşi această legătura este slabă (Fig. 4). Aceiaşi tendinţă a fost observată la analiză corelaţiei între concentraţia citokinelor din serul sanguin şi numărul de *Streptococcus mutans* în biofilmul dentar (Fig. 5).

La copiii cu maladii severe ale SNC concentraţia factorului de necroză tumorală (TNF-α) în FO şi serul sanguin este crescută statist semnificativ comparativ cu subiecţii sănătoşi. Astfel, s-a depistat relaţia directă puternică între intensitatea cariei dentare şi nivelul TNF-αîn serul sanguin (ρ=0,95, p<0,001, n=212). În plus, la copiiidin lotul de cercetare s-a evidenţiat relaţia inversă între concentraţia TNF-a în serul sanguin şi gradul de mineralizare

p<0.01, n=212) and a reverse relationship between the degree of carious activity and concentration of anti-inflammatory cytokines IL-4 (ρ=-0.53, p<0.001, n=212); IL-10 (ρ=-0.93, p<0.001, n=212). Unlike children with disabilities, this link is weak in healthy children (Fig. 4). The same trend was observed whenanalyzingthe correlation between cytokine concentration in blood serum and the number of *Streptococcus mutans* in dental biofilm (Fig. 5).

In children with severe diseases of the CNS the concentration of tumor necrosis factor (TNF-α) in OF and blood serum is statistically significantly increased compared to healthy subjects. Thus, a direct strong relationship was found between the intensity of tooth decay and TNF-α level in blood serum (ρ=0.95, p<0.001, n=212). In addition, an inverse relationship between TNF-α concentration in blood serum and degree of OF mineralization was revealed in children in the

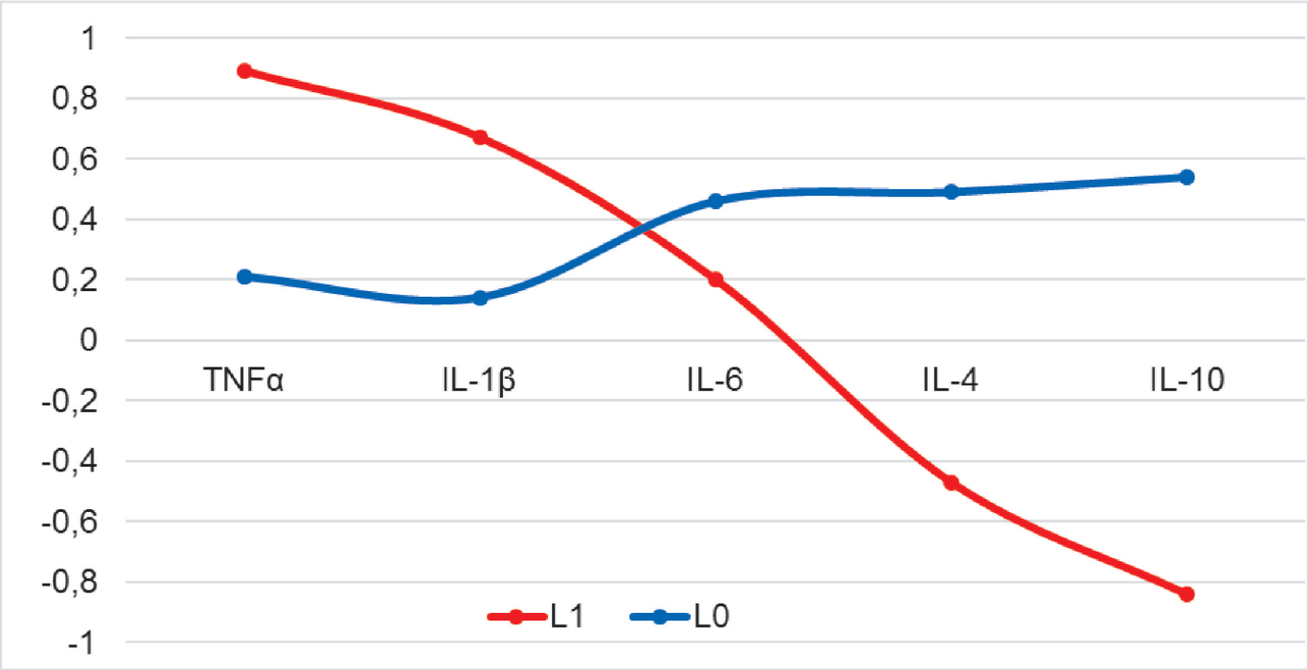

Fig. 5.Relaţia dintre concentraţia citokinelor din serul sanguin la copii şi numărul de *Streptococcus mutans* în biofilmul dentar

Fig. 5. Relationship between cytokine concentration in children`s blood serum and number of *Streptococcus mutans* in dental biofilm

a fluidului oral, precum şi şansele de evitare a apariţiei cariilor noi (Fig. 6).

research group, as well as chances of avoiding development of new caries(Fig. 6).

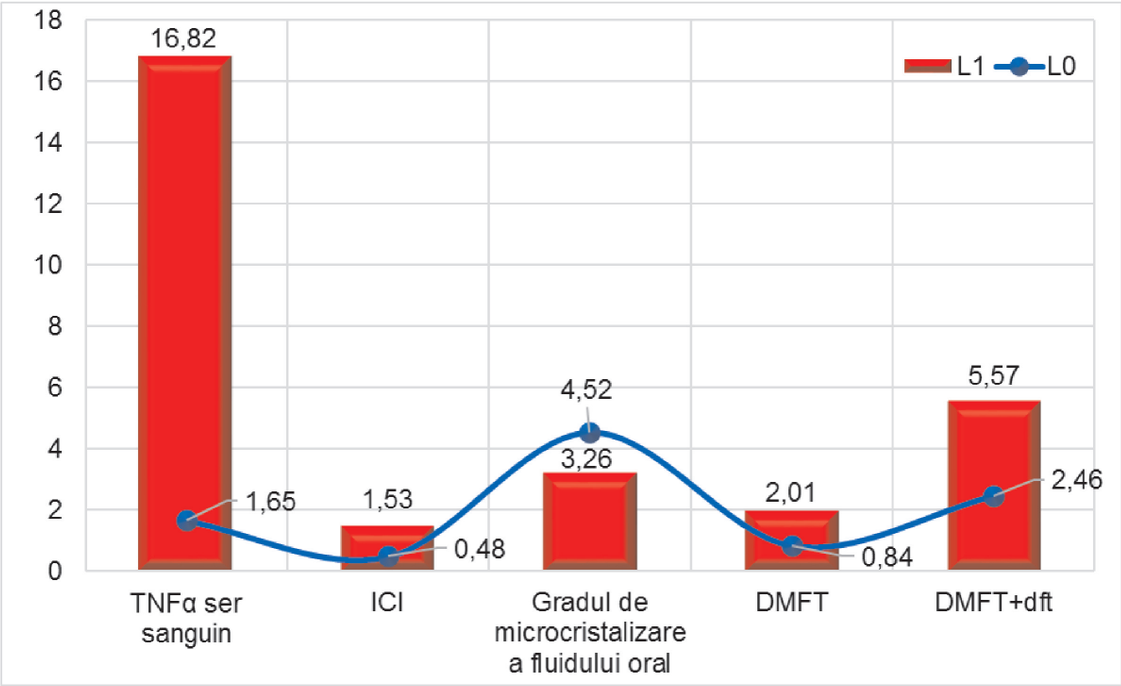

Fig. 6. Relaţia concentraţiei TNF-α în serul sanguin, indicatorii de experienţă carioasă şi rezultatele predicţiei riscului carios la copii

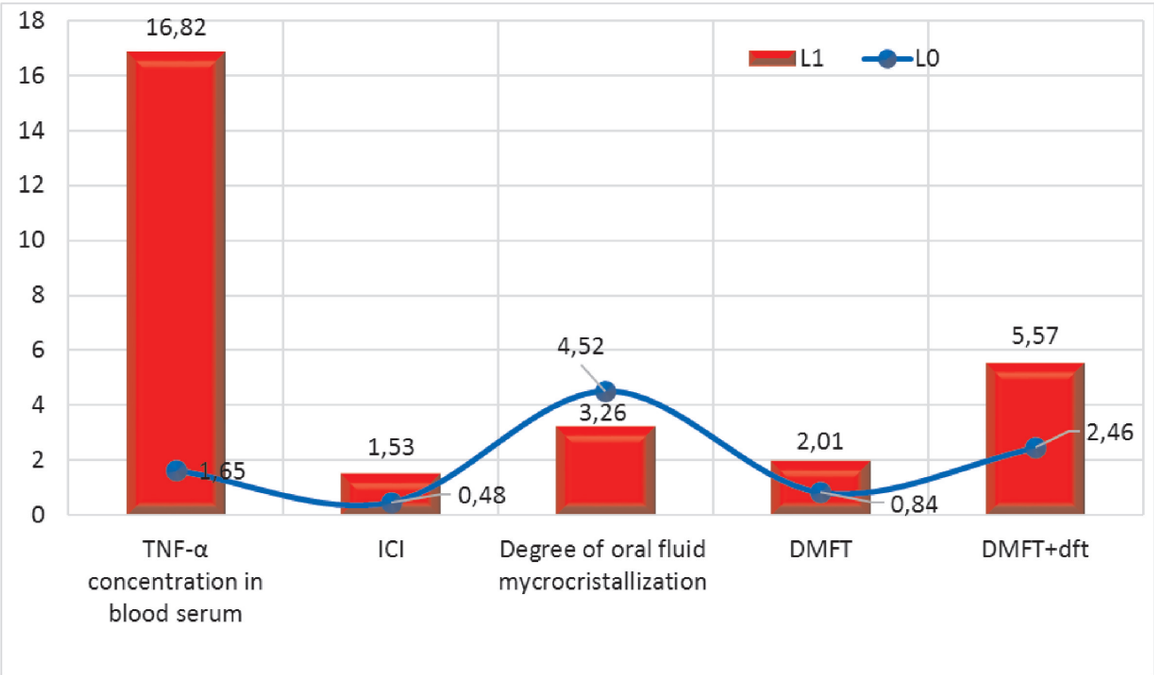

Fig. 6. Relationship of TNF-α concentration in oral fluid, blood serum, indicators of carious experience and results of caries risk prediction in children

Pentru stabilirea deficitului relativ sau a supraproducerii citokinelor a fost estimat indicele citokinic integral (ICI) propus de Iudina T. şi coaut., 2012care reflectărelaţia dintre concentraţia citokinelor pro- şi anti-inflamatorii în serul sanguin la copiii luaţi în studiu. La valori ICI≤1 se constată un echilibru optimal al conţinutului citokinelor, iar la ICI>1 indică dereglarea acestuia[30]. Astfel, la copiii cu dizabilităţi s-au depistat valori crescute ale ICI în serul sanguin (1,53), spre deosebire de valorile normale ale acestui indicator estimat la copiii practic sănătoşi (0,48). Acest fapt indică tulburarea echilibrului citokinelor, manifestat prin supraproducerea citokinelor proinflamatorii (Fig. 6).

Discuţii

În studiile noastre anterioare s-astabilit nivelul crescut de afectare prin caria dentară şi risc carios la copiii cu dizabilităţi intelectuale, iar în fluidul oral al acestora tulburarea profilului de citokineeste caracterizată de majorarea statistic semnificativă a nivelului de citokine proinflamatorii (TNF-α, IL-1β şi IL-6) şi de legătura directă între concentraţia acestora şi gradul de activitate carioasă[52, 53].

Studierea particularităţilor echilibrului citokinelor pro- şi antiinflamatorii in serul sanguin permite evaluarea activităţii funcţionale a sistemului imunitar, a factorilor imunităţii nespecifice şi specifice şi evidenţierea unor aspecte de patogeneză a cariei dentare neexplorate anterior. În prezentul studiua fost determinat conţinutul citokinelor în fluidul oral şi serul sanguin la 212 copii cu maladii severe ale SNC şi 212 copii practic sănătoşi prin metoda de analiză imunoenzimatică pe suport solid.

La copiii cu cu maladii severe ale SNC a fost depistată tulburarea profilului de citokine în fluidul oral (FO) şi serul sanguin, caracterizată

To establish relative cytokinedeficit or overproduction,theintegral cytokine index (ICI) proposed by Iudina T. and et al., 2012, was estimated, reflecting the relationship between the concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood serum of children in the study. There is an optimum balance of cytokine content at ICI≤1 values, while ICI>1 indicates its impairment [30]. Thus, elevated ICI values were found in the blood serumof children with disabilities (1.53), in contrast to the normal values of the indicator estimated in practically healthy children (0.48). This indicates cytokine imbalance manifested by overproduction of proinflammatory cytokines (Fig. 6).

Discussions

In previous studies we established increased dental cariesdevelopment and caries risk in children with intellectual disabilities, and cytokine profile impairment in oral fluid characterized bya statistically significantincrease in the level of proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β and IL-6) and direct connection between their concentration and degree of carious activity [52, 53].

Studying peculiarities of pro- and anti-inflammatory cytokine balance in blood serum allows to assess functional activity of the immune system, specific and nonspecific immunity factors and to emphasize certain aspects of previously unexplored pathogenesis of dental caries. This study assayed the content of cytokines in oral fluid and blood serum of 212 children with severe diseases of theCNS and 212 practically healthy children by the enzyme immunoassay method on solid support.

In children with severe disease of the CNS the impairment of cytokine profile has been detected in oral fluid (OF) and blood serum, characterized by a statistically significant increase in the level

de majorarea statistic semnificativă a nivelului de citokine proinflamatorii (TNF-α, IL-1β şi IL-6).

Cele mai crescute valori a citochinelor proinflamatorii în serul sanguin şi FO au fost estimate la copiii cu epilepsie şi dizabilităţi multiple asociate cu sindromul convulsiv, inclusiv PCI născuți prematur și/sau cu hipoxie perinatală. Datele noastre sunt un concordanță cu rezultatele studiului imunocitokinelor proinflamatorii în serul sanguin la copiii cu diferite afecțiuni ale SNC, inclusiv lezarea posthipoxică [2]. Tsiganiuc S., Parahonskii A., 2007, au afirmat că creșterea statistic semnificativă a concentrației citokinelor prounflamatorii mai mult de 10 de ori, comparativ cu lotul de control, indică la activarea răspunsului inflamator sistemic la hipoxia cronică [56]. Mai mulți autori au menționat că concentrațiile crescute de TNF-α după o afectare axonală difuză în traumatisme craniene ar putea provoca leziuni neuronale secundare [10, 12, 15, 38].Cu toate acestea, chiar și citokine pro-inflamatorii, cum ar fi IL-1, IL-6 și TNF-α au atât efecte dăunătoare, cât și benefice asupra celulelor neuronale [60]. IL-6 a fost recunoscută ca o importantă citochină pro-inflamatorie secretată de leucocite și care activează glia sistemul nervos. IL-6 este implicată nu doar în procese inflamatorii și maladii infecțioase, dar şi exercită efecte anti-inflamatorii și este legată de reglarea proceselor metabolice, regenerative și cele neuronale [47, 50]. Este cunoscut faptul că citokinele proinflamatorii joacă un rol important în modularea durerii prin interferarea cu transducția nociceptivă (prin terminații nervoase libere cu originea în ganglionii atașați fibrelor senzitive ale nervilor spinali și cranieni), conducția și transmisia durerii. Această modulare poate rezulta din alterarea ratei transcrierii și modificările post-translaționale în proteinele implicate în calea durerii. În studiul efectuat de De Jongh R.F. și coaut., 2003, un rol important a fost atribuit IL-6 în sensibilitatea nociceptivă și fiziopatologia durerii [15].

of proinflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β and IL-6).

The highest values of proinflammatory cytokines in blood serum and OF were estimated in children with epilepsy and multiple disabilitiesassociated withconvulsivesyndrome, including ICP, born prematurely and/or with perinatal hypoxia. Our data are consistent with the study results of pro-inflammatory immunocytokinesin the blood serum of children with various CNS disorders, including posthypoxic injury [2]. S.Tsiganiuc, A. Parahonskii, 2007, claimed that the statistically significant increase in proinflammatory cytokine concentration more than 10 times, compared to the control group, indicates activation of systemic inflammatory response to chronic hypoxia [56]. Several authors have mentioned that increased TNF-α concentrations following a diffuse axonal impairment in head injury may cause secondary neuronal lesions [10, 12, 15, 38]. However, even pro-inflammatory cytokines, such as IL-1, IL-6 and TNF-α have bothharmfuland beneficial effectson neuronal cells [60].

IL-6 has been recognized as an important proinflammatory cytokine secreted by white blood cells, activating the nervous system glia. IL-6 is involved not only in inflammatory processes and infectious diseases, but it also exerts anti-inflammatory effects and is related to the regulation of metabolic, regenerative and neural processes [47, 50]. It is known that pro-inflammatory cytokines play an important role in pain modulation by interfering with nociceptive transduction (via free nerve endings originating in the ganglia attached to sensitive fibers of spinal and cranial nerves), pain conduction and transmission. This modulation may result from the alteration of transcription rate and post-translational modifications in proteins involved in the pain pathway. In the study performed by De Jongh R.F. et al., 2003, an important role has been assigned to IL-6 in nociceptive sensitivity and pathophysiology of pain [15].

A fost stabilită relația dintre concentrația serică a TNF-α, IL-1α, IL-2, IL-6 și activitatea celulelor nervoase [56]. Studiile efectuate de Alexandrova I., 2010, au confirmat ipoteza că la copiii cu maladiile SNC provocate de hipoxie, citokinele proinflamatorii IL-1*β* și TNF-*α*, sunt responsabile pentru deteriorarea progresiva a neuronilor, iar acești mediatori sunt importanți factori declanșatori ai reacțiilor neuroprotectoare după perioada acută a leziunilor cerebrale [2].

Tulburarea semnificativă a profilului de citokine a fost înregistrată la copiii cu dizabilități şi cu carie dentară şi cavitatea orală nesanată, manifestată prin supraproducţia IL-1β, TNFα și IL-6. Relația directă între gradul de activitate carioasă și concentrația citokinelor pro-inflamatorii IL-1β, TNF-α și a IL-6 în serul sanguin este o dovadă a faptului că aceste citokine pot avea un rol semnificativ în evoluţia rampantă a cariei dentare sau instalarea gradului intens de activitate carioasă.

Creșterea semnificativă a concentrației citokinelor pro-inflamatorii în FO la copiii cu cavitatea orală nesanată ar putea fi explicată prin răspunsul imun la prezența focarelor de infecție. Acestea din urmă sunt consecinţa lipsei tratamentului adecvat la etapele timpurii de evoluție a procesului carios, precum şi a cazurilor de carie complicată, fapt mult mai frecvent observat la copiii cu dizabilităţi comparativ cu cei sănătoşi.

Rezultatele studiilor noastre sunt în acord cu cele efectuate de mai mulți autori [6, 9, 14, 21, 46, 48, 50, 57] care au stabilit un răspuns imun similar la persoanele cu leziunile periapicale în faza acută. Leziunile periapicale rezultă, de obicei, dintr-un răspuns inflamator persistent indus de expunerea prelungita a țesuturilor periapicale la diferiți agenți microbieni, care evocă o reacție imunologică. În acest mecanism de apărare locală, diverşi mediatori inflamatori, în special citokinele inflamatorii IL-1β, IL-6

There was determined the relationship between serum concentration of TNF-α, IL-1α, IL-2, IL-6 and activity of nerve cells [56]. Studies performed by I. Alexandrova, 2010, confirmed the hypothesis that IL-1β and TNF-α pro-inflammatory cytokines are responsible for progressive deterioration of neuronsin children with diseases of the CNS caused by hypoxia, and these mediators are important triggers of neuroprotective reactions after acutebrain injury [2].

A significant impairment of cytokine profile was recordedin disabled children with dental caries and teeth not subjected to dental treatment, manifested by overproduction of IL-1β, TNFαand IL-6. The direct relationship between the degree of carious activity and concentration of IL-1β, TNF-α and IL-6 pro-inflammatory cytokines in blood serum is evidence that these cytokines may play a significant role in the rampant evolution of tooth decay or intense degreeof carious activity.

The significant increase in pro-inflammatory cytokine concentration in OF in children with teeth not subjected to dental treatment can be explained bythe immune response to the presence of infection foci. The latter are due to a lack of adequate treatment at the early stages of caries evolution, as well as cases of complicated caries, a fact actually more frequently observed in children with disabilities compared to healthy subjects.

Our findings are consistent with those of several authors [6, 9, 14, 21, 46, 48, 50, 57] who established a similar immune response in people with acute periapical lesions. Periapical injuries usually result from a persistent inflammatory response induced by prolonged exposure ofperiapical tissues tovarious microbial agents that evoke an immunological reaction. In this local defense mechanism, various inflammatory mediators, in particular inflammatory cytokines

și TNF-α, joacă un rol complex și central în reglarea răspunsului imun. Complexul imunitar este format din celule ale căror funcție principală este de a recunoaște antigenii care penetrează organismul și pentru a neutraliza și/sau pentru a le distruge [16].

Totodată, concentrația crescută a citokinelor pro-inflamatorii (IL-1β, TNF-α IL-6) s-a depistat în lichidul oral şi serul sanguin al copiiilor cu maladii severe ale SNC provocate de hipoxie perinatală liberi de carie dentară. Acest fapt poate fi provocat de starea defectuoasă a igienei orale și acumularea biofilmului dentar cariogen. În lichidul oral al copiilor cu numărul $\geq 10^{5}$ UFC/g a tulpinilor de *Streptococcus mutans* în biofilmul dentar, este crescut semnificativ conținutul citokinelor proinflamatorii, dar şi a celor antiinflamatorii. Rezultatele obţinute de noi confirmă supoziţiile expuse de Cogulu D. și coaut., 2015, referitor la influenţa *Streptococcus mutans* în biofilmul dentar şi salivă asupra producerii crescute a citokinelorproinflamatorii [13]. O altă cauză a creşterii concentraţiei citokinelor proinflamorii în FO ar putea fi transudarea acestora din serul sanguin.

Producerea neproporțională a citokinelor pro- și antiinflamatorii ar putea fi una din cauzele rezistenței reduse la caria dentară provocată de dezechilibrul citokinelor.Citokinele proinflamatorii de etiologie macrofagală, în special TNF-α, prezintă o importanță deosebită în declanșarea și cronicizarea inflamației autoimune, inducând producerea de citokine și mediatori ai inflamației, antrenați în patogeneza cariei dentare. Este cunoscut că TNF-α posedă un șir de efecte biologice, inclusiv intensifică oxidarea peroxidică a lipidelor, stimulează producția de γ-interferon de către limfocitele T și apoptoza oligodendrocitelor, care produc mielină. Prso I. și coaut., 2007, au menționat că creșterea producerii citokinelor pro-inflamatorii ar putea exercita un efect benefic sau dăunător,

IL-1β, IL-6 and TNF-α play a complex and central role in the regulation of immune response. The immune complex consists of cells whose primary function is to recognize antigens that penetrate the body and to neutralize and/or destroy them [16].

At the same time, an increased concentration of proinflammatory cytokines (IL-1β, TNF-α IL-6) was found in the oral fluid and blood serum of children with severe diseases of the CNS caused by perinatal hypoxia free of dental caries. This can be caused by deficient oral hygieneand accumulation of cariogenicdental biofilm. In children`s oral fluid with $\geq 10^{5CFU}$/ml of *Streptococcus mutans* strains in dental biofilm the content of both proinflammatory and anti-inflammatory cytokines is significantly increased**.** Our results confirm the assumptions exposed by Cogulu D. and et al.,2015,concerninig the *Streptococcus mutans* influence on dental biofilm and saliva on increased production of proinflammatory cytokines [13]. Another cause of the increase in proinflammatory cytokine concentration in OF could be their transudation from blood serum.

Disproportionate production of pro- and anti-inflammatory cytokines could be a cause of reduced resistance to dental caries caused by cytokine imbalance. Macrophagal proinflammatory cytokines, particularly TNF-α, are of particular importance in triggering chronic autoimmune inflammation, inducing production of cytokines and inflammatory mediators, involved in the pathogenesis of dental caries.

TNF-α is known to possess a number of biological effects, namely: itenhances lipid peroxidation, stimulates the production of interferon-γ by T lymphocytes and apoptosis of oligodendrocytes, which produce myelin. I. Prso et al., 2007, mentioned that increased production of pro-inflammatory cytokines could exert a beneficial or harmful efect, depending on the amount produced and the time in which their production

în funcție de cantitatea în care sunt produse și perioada de timp în care producția lor este susținută [45]. Balto K. și coaut., 2001, Silva T. și coaut.,2005, Prso I. și coaut., 2007, Simbirtsev A., 2013 au sugerat că focarele cronice de infecție odontogenă determină expresia a două citokine pro-inflamatorii IL-1β, TNF-α și a IL-6, care joacă un rol cheie în eliberarea mediatorilor care stimulează resorbția osoasă [6, 48, 49, 45]. Conform cercetărilor efectuate deMilehina S., 2012, citokinele pro-inflamatorii induc o producere excesivă a metaloproteinazei-9 matriciale, care nu este controlată în mod corespunzător de inhibitorul său tisular de tip II, ceea ce contribuie la intensificarea permeabilităţii şi distrucţia structurilor dintelui [41].

Accentuăm faptul că la copiii cu maladii severe ale SNC provocate de hipoxie perinatală am depistat concentrația crescută statist semnificativă a TNF-α în FO şi serul sanguin (la copiii cu epilepsie şi dizabilităţi multiple asociate cu sindromul convulsiv, inclusiv PCI).Este cunoscut faptul că TNF-α joacă un rol cheie în eliberarea mediatorilor care stimulează resorbția osoasă, stimulând expresia locală a factorului RANKL (Receptorului Activator a NFkB Ligand) și diferențierea precursorilor de osteoclaste [55, 58]. S-a relatat că TNF-a inhibă activitatea fosfatazei alcaline şi expresia genei ei [41], astfel, s-ar aştepta ca nivelul TNF-α să fie corelat direct cu un grad scăzut de mineralizare a smalţului dentar. Cu toate acestea, în literatura de specialitate nu este descrisă influența TNF-α asupra mineralizării mugurilor dentari. În studiul nostru am depistat că conţinutul TNF-α în FO şi serul sangui este corelat direct cu gradul de afectare prin caria dentară şi invers cu gradul de mineralizare a fluidului oral, fiind reduse considerabil şansele de evitare a apariţiei cariilor noi (evaluate cu utilizarea Software *Cariogram).* Astfel, creşterea concentrației TNF-α în FO şi serul sanguin este soldată cu reducerea proprietăţilor de mineralizare

is supported [45]. K. Balto and et al., 2001, T. Silva and et al., 2005, I. Prso and et al., 2007 A. Simbirtsev, 2013, suggested that chronic foci of odontogenic infection determine the expression of two pro-inflammatory cytokines IL-1β, TNF-α and IL-6, which play a key role in the release of mediators that stimulate bone resorption [6, 48, 49, 45]. According to research conducted by S.Milehina, 2012, pro-inflammatory cytokines induce excessive production of matrix metalloproteinase-9, which is not adequately controlled by itstype II tissue inhibitor, which enhances permeability and destroys tooth structures [41].

We would like to emphasize that children with severe diseases of the CNS caused by perinatal hypoxia had statistically significantly increased TNF-α concentration in OFand blood serum (in children with epilepsy and multiple disabilities associated with convulsive syndrome, including ICP). It is known that TNF-α plays a key role in the release of mediators that stimulate bone resorption, stimulating local expression of RANKL factor (Receptor Activator of NFkB Ligand) and differentiation of osteoclast precursors [55, 58]. It has been reported that TNF-αinhibits the activity of alkaline phosphatase and its gene expression [41]. Thus, one would expect that the level of TNF-α is directly correlated with a low degree of dental enamelmineralization. However, the influence of TNF-α on dental budsmineralizationis not describedin the literature. In our study we found that TNF-α content in OF and blood serum is directly correlated with the degree of dental caries development,and inversely, with the degree of oralfluidmineralization, the chances of avoidingthe development ofnew caries being considerably reduced (estimated application of Software Cariogram). Thus, the increase inTNF-α concentration in OF and blood serum results in the reduction of properties of oral fluid mineralization. One might assume that TNF-α not only affects tissue mineralization during pre-eruptive

a fluidului oral. Am putea presupune că TNF-α nu doar influenţează mineralizării ţesuturilor în perioada pre-eruptivă, fapt presupus anterior, dar şi reduce proprietăţile de mineralizare a fluidului oral, constituind una din proprietăţile pleiotrope necunoscute suficient a TNF-α.

O'Shea J. și coaut., 2002,consideră că dezechilibrul citokinelor pro- și anti-inflamatorii este un fundal pentru declanșarea unor maladii inflamatorii cronice. Mai mult, echilibrul dintre citokine într-un proces inflamator determină tipul răspunsului imun ulterior: predominarea unui răspuns imunitar celular sau umoral, iar menținerea echilibrului între citokinele asigură un mediu favorabil pentru restabilirea țesuturilor alterate [43]. Luând în considerare opinia mai multor autori [24, 30, 43, 49] care stipulează că pentru stabilirea deficitului relativ sau a supraproducerii citokinelor este necesară estimarea relației dintre nivelul mediatorilorcu diferite proprietăţi funcţionale. , în cadrul studiului nostru a fost estimat indicele citokinic integral (ICI) propus de Iudina T. și coaut., 2012,care reflectărelația dintre concentrația citokinelor pro- și anti-inflamatorii. La valori ICI≤1 se constată un echilibru optimal al conținutului citokinelor, iar la ICI>1 indică dereglarea acestuia[30].

Indicele citochinic integral la copiii practic sănătoși indică un echilibru optimal al citokinelor în serul sanguin. La copiii maladii severe ale SNC s-au depistat valori crescute ale ICI în serul sanguin (1,53), fapt care demonstrează caracterul sistemic al tulburărilor imunoregulatorii la copiii cu maladii severe ale SNC, determinate de creșterea în serul sanguin a citokinelor proinflamatorii, Iar indicele citokinic integral are importanță diagnostică și prognostică în evaluarea disfuncției protecției imune, inclusiv la stadiile timpurii de dezvoltare a patologiei. Astfel, estimarea ICI este o metodă informativă și importanță în diagnosticul timpuriu al cariei

period, which has beenpreviously assumed, but also reduces oral fluid mineralization, being one of the pleiotropic properties of TNF-α,which is not knownenough.

J. O'Shea and et al., 2002, believe that the imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines is a background to the onset of some chronic inflammatory diseases. Moreover, the balance between cytokines in inflammatory process determines later the type of immune response: the prevalenceof cellular or humoral immune response, and maintenanceofbalance between cytokines provide a favorable environment for restoring the altered tissue [43]. Taking into account the opinion of many authors [24, 30, 43, 49] which stipulates that it is necessary to estimate the relationship between the level of mediators with different functional propertiesin order to establish relative cytokinedeficit or overproduction. In the study we estimated the integral cytokine index (ICI) proposed by Iudina T. et al., 2012, which reflects the relationship between the concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines. There is an optimum balance of cytokine content at ICI≤1 values, but ICI>1 indicatesits impairment [30].

Integral cytokine index in practically healthy children indicates an optimal balance of cytokines in blood serum. Elevated ICI values were found in the blood serum (1.53) of children with severe diseases of the CNS, which demonstrates the systemic nature of immunoregulatory disorders in children with severe diseasesof the CNS resulting from the increase of proinflammatory cytokines in blood serum.Integral cytokine index has diagnostic and prognostic importance in assessing the dysfunction of immune protection, including the early stages of disease development. Thus, ICI assessment is an informative and important

dentare, precum şi de pronostic al gradului de activitate a procesului carios.

Concluzii

1. La copiii cu maladii severe ale SNC s-a identificat un dezechilibru al profilului de citokine în serul sanguin cu prevalenţa mediatorilor pro-inflamatorii.

2. Tulburarea profilului de citokine în serul sanguin este una din cauzele rezistenţei reduse la caria dentară şi morbidităţii crescute prin caria dentară la copiii cu maladii severe ale SNC provocate de hipoxie perinatală.

3.Datele obţinute argumentează necesitatea corecţiei măsurilor cariopreventive şi de tratament al cariei dentare la copiii cu dezechilibru citochinic, în special – la cei cu dizabilităţi provocate de hipoxie perinatală a SNC.

method in the early diagnosis of dental caries, as well as prognosisof the degree of caries activity.

Conclusions

1. Imbalance of cytokine profile in blood serum with the prevalence of pro-inflammatory mediatorswas identified in children with severe diseases of the CNS.

2. Impairment of cytokineprofile in blood serum is one of the causes of reduced resistance to tooth decay and increased morbidity of dental caries in children with severe diseases of theCNS caused by perinatal hypoxia.

3. The data arguethe need of correction of dental caries prevention and treatment measures in children with cytokine imbalance, especially – those with disabilities caused by perinatal hypoxia of the CNS.

Bibliografie

1. Adachi T., Nakanishi T., Yumoto H., Hirao K., Takahashi K., Mukai K-, Nakae H-, Matsuo T. Caries-related bacteria and cytokines induce CXCL10 in dental pulp. J Dent Res 2007;86:1217-222. doi: 10.1177/154405910708601215. [PubMed][Cross Ref]

2. Alexandrova I. Pokazateli immunnogo statusa v diagnostike ghipoxii i meninghita u novorojdennih detei. Meditsinskii akademiceskii jurnal. Sankt-Peterburg 2010;5(10):93-98 (în rusă).

3. Antunes L.S., Tannure P.N., Antunes L.A., Reis M.F., Costa M.C., Gouvêa C.V., Olej B., Granjeiro J.M., Küchler E.C. Genetic association for caries susceptibility among cleft lip and/or palate individuals. J Contemp Dent Pract 2014;15(3):288-93.

4. Arend W., Palmer G., Gabay C. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. Immunol Rev 2008;223: 20-38.See comment in PubMed Commons below

5. Artese L., Rubini C., Ferrero G., Fioroni M., Santinelli A., Piattelli A. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in healthy and inflamed human dental pulps. Endod2002;28:20-23. doi: 10.1097/00004770-200201000-00005. [PubMed][Cross Ref]

6. Balto K., Sasaki H., Stashenko P. Interleukin-6 deficiency increases inflammatory bone destruction. Infection and Immunity2001;69(2):744-750. [PMC free article][PubMed]

7. Brandtzaeg P. Immunology of tonsils and adenoids: everything the ENT surgeon needs to know. J. Pediatr. Otorhinolaryngol 2003; 67, Suppl.1: 69-76.

8. Botero T.M., Shelburne C.E., Holland G.R., Hanks C.T., Nor J.E. TLR4 mediates LPS-induced VEGF expression in odontoblasts. J Endod2006;32: 951-955. doi: 10.1016/j.joen.2006.03.018. [PubMed][Cross Ref]

9. Bozkurt F.Y., Berker E., Akkuş S., Bulut Ş. Relationship between interleukin-6 levels in gingival crevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. Journal of Periodontology2000;71(11): 1756-1760. [PubMed]

10. Campbell S.J., Deacon R.M., Jiang Y., Ferrari C., Pitossi F.J., Anthony D.C. Overexpression of IL-1beta by adenoviral-mediated gene transfer in the rat brain causes a prolonged hepatic chemokine response, axonal injury and the suppression of spontaneous behaviour. Neurobiol Dis2007;27: 151-163. [PubMed]

11. Caufield P.W., Griffen A.L. Dental caries: an infectious and transmissible disease. Pediatr Clin North Am 2000; 47: 1001-1019.

12. Ciallella J.R., Ikonomovic M.D., Paljug W.R., Wilbur Y.I., Dixon C.E., Kochanek P.M., Marion D.W., DeKosky S.T. Changes in expression of amyloid precursor protein and interleukin-1beta after experimental traumatic brain injury in rats. J Neurotrauma2002;19: 1555-1567. [PubMed]

13. Cogulu D., Onay H., Ozdemir Y., Aslan G.I., Ozkinay F., Kutukculer N., Eronat C. Associations of interleukin (IL)-1β, IL-1 receptor antagonist, and IL-10 with dental caries. Journal of Oral Science 2015; 57(1): 31-36.

14. Danin J., Linder L.E., Lundqvist G., Andersson L. Tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1 in chronic periapical lesions. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics2000;90(4):514-517. [PubMed]

15. De Jongh R.F., Vissers K.C., Meert T.F., Booij L.H., De Deyne C.S., Heylen R.J. The role of interleukin-6 in nociception and pain. Anesthesia and Analges ia2003;.96(4):.1096-1103.

16. De Oliveira Rodini C., Lara V.S. Study of the expression of $CD68^+$ macrophages and $CD8^+$ T cells in human granulomas and periapical cysts. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics2001;92(2):221-227. [PubMed]

17. Durand S.H., Flacher V., Romeas A., Carrouel F., Colomb E., Vincent C., Magloire H., Couble M.L., Bleicher F., Staquet M.J. et al. Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in in vitro differentiated human odontoblasts. J Immunol2006;176:2880-2887. [PubMed]

18. Farges J.C., Keller J.F., Carrouel F., Durand S.H., Romeas A., Bleicher F., Lebecque S., Staquet M.J. Odontoblasts in the dental pulp immune response. J Exp Zool B Mol Dev Evol2009;312B:425-436. doi: 10.1002/jez.b.21259. [PubMed][Cross Ref]

19. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res 2004; 38: 182-191.

20. Gornowicz A., Bielawska A., Bielawski K., Grabowska S.Z., Wojcicka A., Zalewska M. et al. Pro-inflammatory cytokines in saliva of adolescents with dental caries disease. Ann Agric Environ Med 2012; 219: 711-716.

21. Graves D.T., Chen C.P., Douville C., Jiang Y. Interleukin-1 receptor signaling rather than that of tumor necrosis factor is critical in protecting the host from the severe consequences of a polymicrobe anaerobic infection. Infection and Immunity2000;68(8):4746-4751. [PMC free article][PubMed]

22. Hahn C.L., Best A.M., Tew J.G. Cytokine induction by Streptococcus mutans and pulpal pathogenesis. Infect Immun 2000;68:6785-6789. doi: 10.1128/IAI.68.12.6785-6789.2000. [PMC free article][PubMed][Cross Ref]

23. Hahn C.L., Best A.M., Tew J.G. Comparison of type 1 and type 2 cytokine production by mononuclear cells cultured with Streptococcus mutans and selected other caries bacteria. J Endod 2004; 30: 333-338.

24. Haitov P., Pineghin B. Immunomoduleatori: mehanizm deistviea i kliniceskoe primenenie. Immunologhia 2003; 4: 196-202(în rusă).

25. Heigetyan A., Bragin E., Maksiukov S., Labushkina A., Alutina E., Harseeva G. The immunologic indicators in patients with caries of contact surfaces of lateral teeth. Klin Lab Diagn 2015; 60(8): 52-54.

26. Hicks J., Garcia-Godoy F., Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). J Clin Paediatr Dent 2003; 28: 47-52.

27. Hirschfeld J., Dommisch H., Skora P., Horvath G., Latz E., Hoerauf A., Waller T., Kawai T., Jepsen S., Deschner J., Bekeredjian-Ding I.Neutrophil extracellular trap formation in supragingival biofilms. Int J Med Microbiol 2015; 305 (4-5): 453-463. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.04.002.

28. Horst O.V., Tompkins K.A., Coats S.R., Braham P.H., Darveau R.P., Dale B.A. TGF-beta1 Inhibits TLR-mediated odontoblast responses to oral bacteria. J Dent Res2009;88:333-338. doi: 10.1177/0022034509334846. [PMC free article][PubMed][Cross Ref]

29. Humphrey S.P., Williamson R.T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. J Prosthet Dent 2001; 85: 162-169.

30. Iudina T., Saarkoppeli L., Kriucikova E., Konocalov I., Mirzonov V. Sposob diagnostiki narusheniea citokinovogo balansa organizma celoveka. Patent na izobretenie 2463609, 10.10.2012(în rusă).

31. Kagami H., Hiramatsu Y., Hishida S., Okazaki Y., Horie K., Oda Y ., Ueda M. Salivary growth factors in health and disease. Adv. Dent. Res 2000; 14: 99-102.

32. Kaufman E., Lamster I.B. Analysis of saliva for periodontal diagnosis – a review. J Clin Periodontol 2000; 27: 453-465.

33. Keller J.F., Carrouel F., Colomb E., Durand S.H., Baudouin C., Msika P., Bleicher F., Vincent C., Staquet M.J., Farges J.C. Toll-like receptor 2 activation by lipoteichoic acid induces differential production of pro-inflammatory cytokines in human odontoblasts, dental pulp fibroblasts and immature dendritic cells. Immunobiology2010;215: 53-59. doi: 10.1016/j.imbio.2009.01.009. [PubMed][Cross Ref]

34. Koga T., Oho T., Shimazaki Y., Nakano Y. Immunization against dental caries. Vaccine 2002;20 (16): 2027-2044.

35. Kokkas A.B., Goulas A., Varsamidis K., Mirtsou V., Tziafas D. Irreversible but not reversible pulpitis is associated with up-regulation of tumour necrosis factor-alpha gene expression in human pulp. Int Endod J2007;40: 198-203. doi: 10.1111/j.1365-2591.2007.01215.x. [PubMed][Cross Ref]

36. Lee Y.H., Wong D.T. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. Am J Dent 2009; 22: 241-248.

37. Liu Z., Que G., Li J., Deng J., Li L., Liu T., Su D. Correlation between children's dental decay and the contents of saliva CCL28 and secretory immunoglobulin A. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban2015; 40(1): 102-106. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2015.01.016.

38. Lin Y, Wen L. Inflammatory response following diffuse axonal injury. Int J Med Sci2013;10:515-521. [PMC free article][PubMed]

39. McLachlan J.L., Sloan A.J., Smith A.J., Landini G., Cooper P.R. S100 and cytokine expression in caries. Infect Immun2004;72:4102-4108. doi: 10.1128/IAI.72.7.4102-4108.2004. [PMC free article][PubMed][Cross Ref]

40. McLachlan J.L., Smith A.J., Bujalska I.J., Cooper P.R. Gene expression profiling of pulpal tissue reveals the molecular complexity of dental caries. Biochim Biophys Acta 2005;1741:271-281. [PubMed]

41. Milehina S. Sostoianie lokalinogo immuniteta i fosfokalitsievogo obmena u detei s kariesom. Avtoreferat dissertatsii na soiskanie ucenoi stepeni kandidata meditsinskih nauk. Vladovostok, 2012: 23 p (în rusă).

42. Nakanishi T., Takahashi K., Hosokawa Y., Adachi T., Nakae H., Matsuo T. Expression of macrophage inflammatory protein 3alpha in human inflamed dental pulp tissue. J Endod2005;31: 84-87. doi: 10.1097/01.don.0000143414.22112.57. [PubMed][Cross Ref]

43. O'Shea J.J., Ma A., Lipsky P. Cytokines and autoimmunity. Nat Rev Immunol2002;2: 37-45. [PubMed]

44. Piattelli A., Rubini C., Fioroni M., Tripodi D., Strocchi R. Transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) expression in normal healthy pulps and in those with irreversible pulpitis. Int Endod J 2004;37: 114-119. doi: 10.1111/j.0143-2885.2004.00758.x. [PubMed][Cross Ref]

45. Prso I.B., Kocjan W., Šimić H., et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin 6 in Human Periapical Lesions. Mediators of Inflammation2007;Article ID 38210: 4 p. doi:10.1155/2007/38210.

46. Radics T., Kiss C., Tar I., Márton I.J. Interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in apical periodontitis: correlation with clinical and histologic findings of the involved teeth. Oral Microbiology and Immunology2003;18(1): 9-13. [PubMed]

47. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochim Biophys Acta 2011;1813: 878-888. [PubMed]

48. Silva T.A., Garlet G.P., Lara V.S., Martins W., Silva J.S., Cunha F.Q. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in inflammatory periapical diseases. Oral Microbiology and Immunology2005;20(5): 310-316. [PubMed]

49. Simbirtsev A. Dostijeniea i perspektivi ispolizovaniea recombinantnih citokinov v kliniceskoi practike. Meditsinskii akademiceskii jurnal, Sankt-Peterburg 2013;13 (1): 7-22(în rusă).

50. Simčić D., Pezelj-Ribarić S., Gržić R., Horvat J., Brumini G., Muhvić-Urek M. Detection of salivary interleukin 2 and interleukin 6 in patients with burning mouth syndrome. Mediators of Inflammation2006;Article ID 54632: 4 p.[PMC free article][PubMed]

51. Sloan A.J., Perry H., Matthews J.B., Smith A.J. Transforming growth factor-beta isoform expression in mature human healthy and carious molar teeth. Histochem J2000;32:247-252. doi: 10.1023/A:1004007202404. [PubMed][Cross Ref]

52. Spinei A.Prevalenţa cariei dentare la copiii cu dizabilităţi în Republica Moldova. Medicina Stomatologică2015; 3 (36): 39-49.

53. Spinei A. Salivary cytokines in disabled children with dental caries. Oral Health Dent Manag 2016; 15:4(Suppl): p.70. http://dx.doi.org/10.4172/2247-2452.C1.034.

54. Staquet M.J., Durand S.H., Colomb E., Romeas A., Vincent C., Bleicher F., Lebecque S., Farges J.C. Different roles of odontoblasts and fibroblasts in immunity. J Dent Res2008;87: 256-261. doi: 10.1177/154405910808700304. [PubMed][Cross Ref]

55. Teiji Wada T., Nakashima T., Hiroshi N., , Penninger J.M.· RANKL–RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. Trends in Molecular Medicine 2006: 12: 17-25.

56. Tsiganiuc S., Parahonskii A. Vlieanie citokinov na functii nervnih kletok. Sovremennoe naukoemkie tehnologhii 2007; 2: 81-82(în rusă).

57. Veerayutthwilai O., Byers M.R., Pham T.T., Darveau R.P., Dale B.A. Differential regulation of immune responses by odontoblasts. Oral Microbiol Immunol2007;22: 5-13. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00310.x. [PubMed][Cross Ref]

58. Vernal R., Dezerega A., Dutzan N., et al. RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. Oral Diseases2006;12(3): 283-289. [PubMed]

59. Wang Q., Jia P., Cuenco K.T., Feingold E., Marazita M.L., Wang L. et al. Multi-dimensional prioritization of dental caries candidate genes and its enriched dense network modules. PLoS One 2013; 8(10): e76666.

60. Winter CD, Pringle AK, Clough GF, Church MK. Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after traumatic brain injury. Brain2004;127:315-320. [PubMed]

Aşteptăm opiniile dumneavoastră în legătură cu acest articol la adresa opinii@unas.ro