

Експериментальні дослідження

УДК 616.314.18-002.4:379-008.64

DOI 10.11603/2311-9624.2019.4.10884

©К. М. Дуда

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
e-mail: dudakm@tdmu.edu.ua**Зміни цитокінового профілю у сироватці крові щурів за умов пародонтиту**

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:
11.11.2019 р.**Ключові слова:** цитокіни; пародонтит; ліпополісахарид.

АНОТАЦІЯ

Резюме. Захворювання тканин пародонта займають одне з перших місць за частотою і поширенням серед стоматологічних захворювань, а також є складною проблемою, яка набуває масштабного характеру. Високий рівень захворюваності на пародонтит, тяжкість перебігу деяких форм його патології, втрата зубів і як результат значні зміни в зубощелепній системі, зменшення працездатності, зниження якості життя населення – все це дозволяє вважати це захворювання не тільки серйозною медичною, а й важливою соціальною проблемою.

Мета дослідження – вивчити зміни цитокінового профілю при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонта в експерименті.

Матеріали і методи. В експеримент включили 62 щури, яких поділили на дві групи: перша – контрольні тварини; друга – щури з моделлю пародонтиту. Для моделювання гострого пародонтиту в експериментальних тварин ми використали ліпополісахарид, тваринам цієї групи протягом 2-х тижнів через добу вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) і внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу на 22-гу добу від початку досліджу.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведеного обстеження показали, що ФНП-а підвищився в сироватці крові тварин у 8,7 раза порівняно з контрольною групою. Разом з тим, показник ІЛ-1 β зріс в 4,2 раза порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Результати рівня протизапальних цитокінів при ліпополісахаридному пародонтиті достовірно знижували. Дані наших досліджень показали, що рівень ІЛ-4 у сироватці крові експериментальних тварин знизився в 1,6 раза ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. Також ми спостерігали зменшення його у сироватці крові щурів (1,5 раза порівняно з контрольною групою) ІЛ-10.

Висновки. Результати проведених досліджень продемонстрували, що розвиток пародонтиту супроводжується суттєвими змінами стану імунних механізмів захисту ротової порожнини. При генералізованому ліпополісахаридному пародонтиті в сироватці крові експериментальних тварин виникає дисбаланс між продукцією прозапальних і протизапальних цитокінів.

Вступ. Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, розповсюдження стоматологічних захворювань коливається у межах від 75 до 95 % серед дитячого населення та сягає майже 100 % у дорослого [1]. Разом з тим, епідеміологічні дослідження показали високе

поширення хвороб у тканинах пародонта як у світі (80 %), так і в Україні (60–70 %) [1]. Запальні захворювання пародонта є однією з найактуальніших проблем у сучасній стоматології, які мають соціальну значимість, що зумовлено високим розповсюдженням, вираженими

змінами в його тканинах і організмі хворого в цілому, ураженням осіб молодого віку [2]. Багато років існує тенденція до більш раннього виникнення даного захворювання, його агресивного перебігу та розвитком запально-дистрофічного процесу [3].

Важливими чинниками, що визначають патогенез пародонтиту, є видовий і кількісний склад мікрофлори ротової порожнини, а також стан імунної системи [4]. Останній фактор відіграє чи не ключову роль у розвитку запальних захворювань пародонта. При пародонтитах порушується локальний і системний метаболізм, гемодинаміка, мають місце імунологічні й нейрорегуляторні розлади, що є наслідком індукції прозапальної експресії тканинних цитокінів, активації хемоатрактантів і втягнення в патологічний процес прозапальних клітин [5, 6]. Деструкцію тканин при захворюваннях пародонта вважають результатом зміни запально-імунологічної відповіді на мікробний наліт, що передбачає масову продукцію фагоцитів [7]. Основну роль у механізмі захисту структур ротової порожнини від бактеріальної інвазії відіграють клітини ясенного епітелію, які реалізують адаптивну імунну відповідь і вивільняють прозапальні цитокіни [8].

Метою дослідження було вивчити зміни цитокінового профілю при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонта в експерименті.

Матеріали і методи. В експерименті використано 62 безпородних щурів-самців масою 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Дослідних тварин поділили на такі групи: перша – контрольні тварини, яким вводили внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю (n=30); друга – щури з моделлю пародонтиту (n=32). Для моделювання гострого пародонтиту в тварин ми використали ліпополісарид (ЛПС). Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через добу вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) E. Coli («Sigma-Aldrich», США) і внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу на 22-гу добу від початку досліджу.

Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Результати досліджень та їх обговорення. Цитокіни є важливими посередниками міжклітинних взаємозв'язків, які регулюють імунну відповідь [9, 10]. Ліпополісахарид (ЛПС) є одним із токсичних чинників гепатогенного походження. Він викликає стимуляцію імунних факторів захисту й цілого ряду прозапальних й імунохімічних реакцій. У здоровому організмі майже весь ЛПС, що надходить з кишечника, знешкоджується в печінці. Однак при порушенні антимікробної функції печінки, ЛПС потрапляє у системний кровотік й спричиняє негативний вплив на багато органів і тканин. Частина ЛПС також може утворюватися й у тканинах ротової порожнини за рахунок оральних грамнегативних бактерій.

Варто зазначити, що на 22-гу добу при введенні ліпополісахариду в тканини ясен концентрація цитокіну реакції гострої фази, який бере участь у системному запаленні – ФНП- α , підвищувався в сироватці крові тварин у 8,7 раза порівняно з контрольною групою.

Відомо, що ІЛ-1 є першим активатором в ясенній рідині, який бере участь в активації резорбції кісткової тканини. Разом з тим, ІЛ-1 β є домінуючою формою даного цитокіну та основним продуцентом макрофагів, моноцитів та лімфоцитів. Тому в дослідженні показник ІЛ-1 β зріс в 4,2 раза порівняно з контрольною групою (p<0,05).

Разом з тим, показники рівня протизапальних цитокінів при ліпополісахаридному пародонтиті достовірно знижувалися. Варто зазначити, що цитокін ІЛ-4 має не лише про- і протизапальну дію, але і є потужним регулятором імунної відповіді В- і Т-клітин та макрофагів. Дані досліджень показали, що рівень ІЛ-4 у сироватці крові експериментальних тварин знизився в 1,6 раза (p<0,05) відносно контрольної групи. Також ми спостерігали зниження в сироватці крові щурів (1,5 раза порівняно з контрольною групою) ІЛ-10, який є протизапальним цитокіном та стимулює продукування моноцитів, макрофагів та активованих Т-хелперів.

Висновки. Розвиток пародонтиту супроводжується суттєвими змінами в стані імунних механізмів захисту ротової порожнини. Дані зміни варіюють залежно від ступеня ушкодження пародонта і відображають процеси місцевого запалення та активації імунних механізмів захисту. Зміни показників цитокінового профілю є важливою ланкою в ланцюгу

Експериментальні дослідження

патобіохімічних механізмів розвитку пародонтиту. В нашому дослідженні ми спостерігали зростання вмісту прозапальних цитокінів, перш за все TNF- α та IL-1 β , а також зниження цитокінів із профілем підтримки гуморальної (IL-4) імунної відповіді. Тому потрібно зна-

чити, що при генералізованому ліпополісахаридному пародонтиті в сироватці крові експериментальних тварин виникає дисбаланс між продукцією прозапальних і протизапальних цитокінів.

©Е. М. Дуда

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского
МОЗ Украины

Изменения цитокинового профиля в сыворотке крови крыс при пародонтите

Резюме. Заболевания тканей пародонта занимают одно из первых мест по частоте и распространенности среди стоматологических заболеваний, а также представляют собой сложную проблему, которая приобретает масштабный характер. Высокий уровень заболеваемости пародонтитом, тяжесть некоторых форм его патологии, потеря зубов и как результат значительные изменения в зубочелюстной системе, уменьшение работоспособности, снижение качества жизни населения – все это позволяет считать это заболевания не только серьезной медицинской, но и важной социальной проблемой.

Цель исследования – изучить изменения цитокинового профиля при липополисахаридном воспалении тканей пародонта в эксперименте.

Материалы и методы. В эксперимент включили 62 крысы, которых разделили на две группы: первая – контрольные животные; вторая – крысы с моделью пародонтита. Для моделирования острого пародонтита в экспериментальных животных мы использовали липополисахарид, животным этой группы в течение 2-х недель через сутки вводили в ткани десен по 40 микролитров (1 мг / мл) липополисахарида (ЛПС) и внутривенно 1% раствор крахмала. Эвтаназию крыс осуществляли путем кровопускания в условиях тиопентал-натриевого наркоза на 22 сутки от начала опыта.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты проведенного обследования показали, что ФНО- α повысился в сыворотке крови животных в 8,7 раза по сравнению с контрольной группой. В то же время, показатель IL-1 β вырос в 4,2 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Результаты уровня противовоспалительных цитокинов при липополисахаридном пародонтите достоверно снижались. Данные наших исследований показали, что уровень IL-4 в сыворотке крови экспериментальных животных снизился в 1,6 раза ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Также мы наблюдали снижение его в сыворотке крови крыс (1,5 раза по сравнению с группой контроля) IL-10.

Выводы. Результаты проведенных исследований показали, что развитие пародонтита сопровождается существенными изменениями состояния иммунных механизмов защиты ротовой полости. При генерализованном липополисахаридном пародонтите в сыворотке крови экспериментальных животных возникает дисбаланс между продукцией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: цитокины; пародонтит; липополисахарид.

©К. М. Duda

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

Modifications of the cytokine profile in blood of rats in periodontitis

Summary. Diseases of periodontal tissues occupy one of the first places in frequency and prevalence among dental diseases, also represent a complex problem that is becoming of significant nature. The high incidence of periodontal disease, the severity of some forms of periodontal pathology, loss of teeth and as a result significant changes in the dentition system, reduced performance, reduced quality of life – all this allows us to consider periodontal disease not only a serious medical but also an important social problem.

The aim of the study – to learn changes in the cytokine profile in lipopolysaccharide inflammation of periodontal tissues in experiment.

Materials and Methods. The experiment included 62 experimental animals, which were divided into two groups: I – control animals; II – animals with periodontitis model. To simulate acute periodontitis in experimental animals, we used lipopolysaccharide, animals of this group were injected with 40 microliters (1mg/ml) lipopolysaccharide (LPS) gums and intragastric 1 % starch solution within 2 weeks. Euthanasia of rats was performed by bloodletting under conditions of thiopental sodium anesthesia on the 22nd day from the beginning of the experiment.

Results and Discussion. The results of the study showed that TNF- α - increased in the serum of animals 8.7 times compared with the control group. At the same time, IL-1 β increased 4.2-fold compared with control ($p < 0.05$). The results of the level of anti-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide periodontitis significantly decreased. The data of our studies showed that the level of IL-4 in the serum of experimental animals decreased 1.6 times ($p < 0.05$) relative to control. We also observed a decrease in the serum of rats (1.5-fold compared with the control group) of IL-10.

Conclusions. The results of the studies showed that the development of periodontitis is accompanied by significant changes in the state of immune mechanisms of protection of the oral cavity. The results of the experimental study indicate that with generalized lipopolysaccharide periodontitis in the serum of experimental animals there is an imbalance between the production of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines.

Key words: cytokines; periodontitis; lipopolysaccharide.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Борисенко А. В. Актуальні проблеми етіології, патогенезу та класифікації захворювань пародонта / А. В. Борисенко // Науковий вісник національного медичного університету імені О. О. Богомольця. – 2004. – № 1–2. – С. 55–61.
2. Рівень прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів за умов гострого пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу / К. М. Дуда, І. М. Кліщ, М. І. Марущак, Б. В. Вонс // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – № 4(1). – С. 318–321.
3. Вольф Г. Ф. Пародонтологія / Г. Ф. Вольф, Э. М. Ратейцхак, К. Ратейцхак. – М. : МЕДпресс-информ, 2008. – 548 с.
4. Зміни клітинного складу ясенної рідини у хворих на генералізований пародонтит та методи їх корекції у комплексному лікуванні захворювань пародонта / Л. З. Деркач, В. П. Пюрик, А. В. Пантус, М. І. Гонко // Галицький лікар. вісн. – 2009. – Т. 16, № 4. – С. 42–45.
5. Zhou Q. Cytocine profiling of macrophages exosed to porphyromonas gingivales, its lipopolysaccharide, or its fimA protein / Q. Zhou, T. Desta, M. Fenton // Infection and Immunity. – 2005. – Vol. 73, No. 2. – P. 935–943.
6. Ezzo P. J. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease / P. J. Ezzo, C. W. Culter // Periodontol. – 2003. – No. 32. – P. 24–35.
7. Деньга О. В. Биохимические показатели тканей пародонта при экспериментальной терапии пародонтита / О. В. Деньга, Д. Б. Цевух, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2007. – № 4. – С. 40–44.
8. Чумакова Ю. Г. Роль місцевих чинників порожнини рота у розвитку пародонтиту // Імплантологія, пародонтологія, остеологія. – 2008. – № 3. – С. 70–75.
9. Беляева О. В. Влияние комплексной терапии на показатели местного иммунитета больных пародонтитом / О. В. Беляева, Н. Н. Кеворков // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 4. – С. 34–37.
10. Lee J. Y. Porphyromonas gingivalis heat shock protein vaccine reduces the alveolar bone loss induced by multiple periodontopathogenic bacteria / J. Y. Lee, N. N. Yi, U. S. Kim // Periodontal. Res. – 2006. – Vol. 41, No. 1. – P. 10–14.

REFERENCES

1. Borysenko, A.V. (2004). Aktualni problemy etiologii, patohenezu ta klasyfikatsii zakhvoriuvan parodonta [Actual problems of etiology, pathogenesis and classification of periodontal diseases]. *Naukovyi visnyk natsionalnoho medychnoho universyteta imeni O.O. Bohomoltsia – Scientific Bulletin of the National Medical University by O.O. Bohomolets*, 1-2, 55-61 [in Ukrainian].
2. Duda, K.M., Klishch, I.M., Marushchak, M.I., & Vons, B.V. (2003). Riven prozapalnykh tsytokiniv u syrovattsi krovi shchuriv za umov hostroho parodontytu na tli tsukrovoho diabetu 2 typu [The level of proinflammatory cytokines in the serum of rats under conditions of acute periodontitis on the background of type 2 diabetes]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny – Bulletin of Problems of Biology and Medicine*, 4 (1), 318-321 [in Ukrainian].
3. Volf, G.F., & Rateytskhak, E.M. (2008). *Parodontologiya [Periodontology]*. Moscow: MEDpress-inform [in Russian].
4. Derkach, L.Z., Piuruk, V.P., Pantus, A.V., & Hopko, M.I. (2009). Zminy klitynoho skladu yasenoi ridnyu u khvorykh na heneralizovanyi parodontyt ta metody korektsii u kompleksnomu likuvanni zahvoriuvan parodonta [Changes in the cellular composition of gum fluid in patients with generalized periodontitis and methods of

Експериментальні дослідження

their correction in the complex treatment of periodontal diseases]. *Halytskyi likarskyi visnyk – Galician Medicinal Herald*, 16 (4), 42-45 [in Ukrainian].

5. Zhou, Q., Desta, T., & Fenton, M. (2005). Cytocine profiling of macrophages exosed to porphyromonas gingivales, its ipopolysaccharide, or its fimA protein. *Infection and Immunity*, 73 (2), 935-943.

6. Ezzo, P.J. (2003). Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontol.*, 32, 24-35.

7. Denha, O.V., Tsevukh, D.B., & Levitsky, A.P. (2007). Biokhimicheskiye pokazateli tkaney parodonta pri eksperimentalnoy terapii periodonta [Biochemical parameters of periodontal tissues during experimental periodontal therapy]. *Visnik stomatologii – Bulletin of Dentistry*, 4, 40-44 [in Ukrainian].

8. Chumakova, Yu.H. (2008). Rol mistsevykh chynnykiv

porozhnyny rota u rozvytku parodontytu [The role of local factors of the oral cavity in the development of periodontitis]. *Implantolohiia, parodontolohiia, osteolohiia – Implantology, Periodontics, Osteology*, 3, 70-75 [in Ukrainian].

9. Beliaieva, O.V., & Kevorkov, N.N. (2002). Vliyaniye kompleksnoy terapii na pokazateli mestnogo immuniteta bolnykh parodontitom [The effect of complex therapy on indicators of local immunity of patients with periodontitis]. *Tsitokiny i vospaleniye – Cytokines and Inflammation*, 1 (4), 34-37 [in Russian].

10. Lee, J.Y., Yi, N.N., & Kim, U.S. (2006). Porphyromonas gingivalis heat shock protein vaccine reduces the alveolar bone loss induced by multiple periodontopathogenic bacteria. *Periodontal. Res.*, 41 (1), 10-14.