

**РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ГОСТРОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ****ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет****імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Дана робота є фрагментом НДР «Патогенетичні закономірності та інформаційні моделі розвитку патологічних процесів за умов дії надзвичайних факторів на організм та їх корекція», № держ. реєстрації 0113U001239.

Вступ. Цукровий діабет є однією з найважливіших патологій сучасної клінічної ендокринології, що обумовлено високою, постійно зростаючою розповсюдженістю захворювання та частим розвитком ускладнень [2, 9, 11]. Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я у 2009 р. понад 200 млн людей хворіють на цукровий діабет, тоді як на території України розповсюдженість даної патології становить 1,7-3% від усього населення [5, 10].

Цукровий діабет являє собою складний гетерогенний синдром, що є результатом генетичних або набутих дефектів у секреції інсуліну і / або інсулінорезистентності периферійних тканин, що веде до глибокої модифікації білкового, вуглеводного, ліпідного, іонного і мінерального метаболізму [12]. При цукровому діабеті відзначаються запально-дегенеративні зміни у слинних залозах і в тканинах пародонта. Найбільше суперечливих відомостей торкається щодо патогенезу гострого пародонтиту на фоні цукрового діабету.

Мета дослідження. Метою нашого дослідження стало вивчення концентрації фактора некрозу пухлин – α , інтерлейкінів 1β і 6 у сироватці крові щурів при гострому пародонтиті на тлі цукрового діабету 2 типу.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на 72 білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180-200 г, отриманих з віварію ТДМУ, відповідно до вимог «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин» [4]. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварини знаходилися на повноцінному раціоні віварію з вільним доступом до води. При виборі експериментальної моделі стрептозототин-індукованого цукрового діабету ми спиралися на рекомендації А. А. Спасова і співавт. [8], які у своїй праці показали, що при попередньому введенні нікотинамід

підвищується стійкість β -клітин острівців Лангерганса до пошкоджуючої дії стрептозототину. Це дозволяє змоделювати стан максимально близький до цукрового діабету 2 типу, який проявляється помірною і стабільною гіперглікемією, присутністю глюкози в сечі без явищ ацидозу. Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозототину фірми «Sigma» з розрахунку 6,5 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5) з попереднім за 15 хв введенням інтроперитонеально нікотинамід у дозі 230 мг/кг. Контроль – інтактні білі щурі такої самої ваги, статі і віку. Розвиток цукрового діабету контролювали за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом з використанням набору реактивів «Філісіт-діагностика» (Україна). Дослідження проводили з 21 доби експерименту на тваринах з рівнем глюкози ($14,7 \pm 0,29$) ммоль/л.

Вплив цукрового діабету на перебіг запального процесу при пародонтиті вивчали на моделі запалення, викликаного гострою травмою м'яких тканин ясен [6]. Тваринам під тіопенталовим наркозом (30 мг/кг) з губної сторони до тканин пародонта нижнього різця підводили робочу головку ультразвукового генератора – випромінювач від ультразвукового скейлера ART (Великобританія), і впродовж 60 с здійснювали однократний направлений вплив коливаннями ультразвукової частоти при наступних параметрах впливу: частота коливань 50 кГц, потужність випромінювання 1,2 Вт-см² при експозиції впливу 60 с. Операцію проводили на 14-у добу після першого введення стрептозототину при рівні глюкози ($14,7 \pm 0,29$) ммоль/л. Через 1-у і 7 діб після операції щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Групами порівняння служили тварини з експериментальним цукровим діабетом 2 типу і щурі з гострою механічною травмою м'яких тканин ясен. Контролем служив матеріал від інтактних тварин.

У сироватці крові тварин визначали концентрацію фактору некрозу пухлин – α (TNF- α), інтерлейкіну – 1β (IL- 1β) й IL-6 імуноферментним методом з використанням аналізатора Stat Fax (USA). Концентрацію цитокінів виражали у пг/мл. Отримані цифрові дані оброблялись методом варіаційної статистики. Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення

Рівень прозапальних цитокінів у щурів з модельованим гострим пародонтитом на тлі експериментального цукрового діабету 2 типу в динаміці (M ± m)

Експериментальна модель	TNF-α	IL-1β	IL-6
сироватка крові			
Контроль (n=12)	10,60 ± 0,44	5,88 ± 0,46	10,55 ± 0,18
Цукровий діабет (n=12)	22,65 ± 0,64*	13,84 ± 0,36*	16,28 ± 0,22*
Гострий пародонтит, 2-а доба (n=12)	12,52 ± 0,24*	6,00 ± 0,20	12,17 ± 0,13*
Цукровий діабет+гострий пародонтит, 2-а доба (n=12)	26,26 ± 0,52*	15,14 ± 0,30*	20,24 ± 0,24*
Гострий пародонтит, 8-а доба (n=12)	12,67 ± 0,32*	6,97 ± 0,17*#	13,54 ± 0,19*#
Цукровий діабет+гострий пародонтит, 8-а доба (n=12)	30,15 ± 0,46*#	18,85 ± 0,31*#	23,91 ± 0,41*#

Примітка: * – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами (p < 0,05), # – різниця достовірна у порівнянні з тваринами однієї експериментальної моделі у різні доби (p < 0,05).

«Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6. 0 («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. [3].

Результати досліджень та їх обговорення. Отримані нами експериментальні дані вказують на залучення прозапальних цитокінів у патогенез цукрового діабету 2 типу. Так, концентрація TNF-α зросла у 2,14 рази, IL-6 – у 1,56 рази стосовно контрольної групи (p < 0,001), що свідчить про підвищений їх синтез в умовах гіперглікемії. Враховуючи здатність IL-1β впливати на характер функціонування β-клітин підшлункової залози – від стимуляції до інактивації, нами також виявлено достовірне зростання його концентрації у 2,35 рази відносно контролю (p < 0,001) (табл.).

Формування гострого пародонтиту супроводжується комплексом патологічних змін з перевагою запальних і дистрофічних явищ. Відомо, що розвиток запалення у пародонті нерозривно пов'язаний із системними процесами в організмі, що характеризуються запальною відповіддю [1]. Встановлено, що через 1-у добу після моделювання гострого пародонтиту відбувається зростання прозапальних цитокінів, зокрема, концентрація TNF-α підвищилася на 18,1%, IL-6 – на 15,4% відносно контрольної групи, тоді як рівень IL-1β коливався у межах норми. Потрібно відмітити достовірне зростання досліджуваних прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів з гострим пародонтитом через 7 діб експерименту. Так, концентрація TNF-α підвищилася на 19,5%, IL-1β – на 18,5% й IL-6 – на 28,3% стосовно контролю (p < 0,01) (табл.).

Відомо, що TNF-α поряд із IL-6 та IL-1β вступають активаторами гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, що спричиняє зростання вмісту глюкокортикоїдних гормонів у периферичній крові та істотну імуносупресорну дію, що, в свою чергу, може призвести до формування вторинного імунodefіциту [7]. На тлі стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету через 1 добу після моделювання гострого пародонтиту у щурів відмічено достовірне зростання концентрації TNF-α у 2,5 рази, IL-1β – у 2,6 рази й IL-6 – в 1,9 рази стосовно контролю (p < 0,01) (табл.). Потрібно зауважити, що вміст досліджуваних цитокінів статистично значимо відрізнявся від показників групи тварин з експериментальним цукровим діабетом 2 типу. Так, величина TNF-α при гострому пародонтиті на фоні цукрового діабету перевищувала на 15,9%, IL-1β – на 9,3% й IL-6 – на 24,3% дані групи з цукровим діабетом 2 типу (p < 0,05) (табл., рис.). Проведений аналіз

концентрацій прозапальних цитокінів у групі тварин з цукровим діабетом, яким моделювали гострий пародонтит, показав достовірне зростання через 7 діб експерименту вмісту TNF-α у 2,8 рази, IL-1β – у 3,2 рази й IL-6 – в 2,3 рази відносно контрольної групи (p < 0,001) (табл.). Порівнюючи отримані дані з показниками прозапальних цитокінів на 2-гу добу встановлено достовірне наростання концентрації TNF-α, IL-6 та IL-1β у міру прогресування гострого пародонтиту на тлі цукрового діабету. Так, через 7 діб після гострої травми м'яких тканин ясен на фоні цукрового діабету 2 типу величина TNF-α перевищувала на 14,8%, IL-1β – на 24,5% й IL-6 – на 18,1% дані на 2-у добу (p < 0,05) (табл., рис.). Отримані дані свідчать про те, що концентрація TNF-α, IL-6 та IL-1β відображає формування у групі тварин з цукровим діабетом 2 типу змін імунних механізмів захисту ротової порожнини з проявами активації запалення.

Аналізуючи динаміку змін прозапальних цитокінів у щурів з модельованим гострим пародонтитом на тлі експериментального цукрового діабету 2 типу встановлено переважання цитокінемії у групі тварин з обома патологіями стосовно окремих захворювань, яка наростала у міру прогресування гострого пародонтиту, оскільки відомо, що гіперпродукція TNF-α й IL-1β сприяє посиленню запальних явищ, пошкоджуючи тканини пародонту, а IL-6 приймає участь у резорбції альвеолярної кістки. Отримані дані свідчать про те, що цукровий діабет є фактором ризику розвитку і прогресування гострого пародонтиту.

Висновки.

1. Формування гострого пародонтиту супроводжується комплексом патологічних змін, які характеризуються достовірним зростанням концентрації

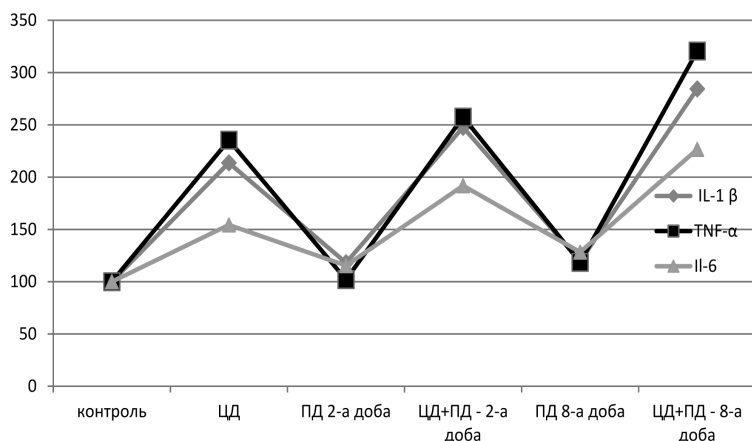


Рис. Динаміка змін концентрації прозапальних цитокінів у сировці з модельованим гострим пародонтитом на тлі експериментального цукрового діабету 2 типу.

TNF- α на 19,5%, IL-1 β – на 18,5% й IL-6 – на 28,3% ($p \leq 0,01$) через 7 днів експерименту.

2. За умови експериментального гострого пародонтиту на фоні цукрового діабету 2 типу відбуваються порушення функціонування імунної системи, які характеризуються прогресуючим зростанням прозапальних цитокінів, що свідчить про участь TNF- α , IL-6 та IL-1 β у патогенезі захворювань пародонту.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі передбачається провести дослідження показників оксидативного стресу та встановити їх роль у патогенезі гострого пародонтиту на фоні експериментального цукрового діабету 2 типу.

Література

1. Горбачева И. А. Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // *Стоматология*. – 2004. – №3. – С. 6-11.
2. Кирилук М. Л. Сучасні клініко-патологічні аспекти цукрового діабету 2 типу / М. Л. Кирилук, О. Д. Гавловський // *Інтегративна антропологія*. – 2009. – № 2 (14). – С. 40-44.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морион, 2000. – 320 с.
4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
5. Пальтов Є. В. Морфологічна організація пошарової структури ясен та м'яких тканин пародонта щурів у нормі та при стрептозотозин-індукованому цукровому діабеті / Є. В. Пальтов, Ю. Я. Кривко, Р. М. Ступницький // [Електронний ресурс]: http://archive.nbuv.gov.ua/portal/chem_biol/prmed/2010_5/Paltov.pdf.
6. Патент на корисну модель № 65771: Мачоган В. Р., Авдеев О. В. /Спосіб моделювання пародонтиту // *Бюлетень №23*. – 2011 р.
7. Рівень прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 2 типу / Т. І. Галенова, В. В. Конопельнюк, Л. І. Кот, О. В. Богданова, Л. І. Остапченко // *Доповіді Національної академії наук України*. – 2010. – № 3 – С. 184-189.
8. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 / А. А. Спасов, М. П. Воронкова, Г. Л. Снигур [и др.] // *Биомедицина*. – 2011. – №3. – С. 12-18.
9. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green [et al.] // *Diabetes Care*. – 2004. – Vol. 27(5). – P. 1047-1053.
10. Molecular connexions between dementia and diabetes / A. R. Cole, A. Astell, C. Green, C. Sutherland // *Neurosci. Biobehav.* – 2007. – Vol. 31 (7). – P. 1046-1063.
11. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000 / G. Roglic, N. Unwin, P. H. Bennett [et al.] // *Diabetes Care*. – 2005. – Vol. 28. – P. 2130-2135.
12. Vlad I. Epidemiology of diabetes mellitus: a current review / I. Vlad, A. R. Popa // *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*. – 2012. – Vol. 19, № 4. – P. 433-440.

УДК 616.314.18-002.4:379-008.64]-092.9

РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Дуда К. М., Кліщ І. М., Марущак М. І., Б. В. Вонс

Резюме. Дослідження проводили на 72 білих безпородних щурах-самцях, яким моделювали цукровий діабет 2 типу шляхом введення тваринам нікотинаміді і стрептозотозину. Вплив цукрового діабету на перебіг запального процесу при пародонтиті вивчали на моделі запалення, викликаного гострою травмою м'яких тканин ясен. Отримані нами експериментальні дані вказують на залучення прозапальних цитокінів у патогенез цукрового діабету 2 типу. Формування гострого пародонтиту супроводжується комплексом патологічних змін, які характеризуються достовірним зростанням концентрації TNF- α на 19,5%, IL-1 β – на 18,5% й IL-6 – на 28,3% ($p \leq 0,01$) через 7 днів експерименту. У групи тварин з цукровим діабетом концентрація TNF- α , IL-6 та IL-1 β відображає формування змін імунних механізмів захисту ротової порожнини з проявами активної запалення.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, гострий пародонтит, прозапальні цитокіни.

УДК 616.314.18-002.4:379-008.64]-092.9

УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Дуда К. М., Клищ И. Н., Марущак М. И., Б. В. Вонс

Резюме. Исследование проводилось на 72 белых беспородных крысах-самцах, которым моделировали сахарный диабет 2 типа путем введения животным никотинамида и стрептозотоцина. Влияние сахарного диабета на течение воспалительного процесса при пародонтите изучали на модели воспаления, вызванном острой травмой мягких тканей десны. Полученные нами экспериментальные данные указывают на привлечение провоспалительных цитокинов в патогенез сахарного диабета 2 типа. Формирование острого пародонтита сопровождается комплексом патологических изменений, которые характеризуются достоверным ростом концентрации TNF- α на 19,5%, IL-1 β – на 18,5% и IL-6 – на 28,3% ($p \leq 0,01$) через 7 суток эксперимента. В группе животных с сахарным диабетом концентрация TNF- α , IL-6 и IL-1 β отражает формирование изменений иммунных механизмов защиты ротовой полости с проявлениями активации воспаления.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, острый пародонтит, провоспалительные цитокины.

UDC 616.314.18-002.4:379-008.64]-092.9

Level Proinflammatory Cytokines in Blood Serum of Rats under Acute Periodontitis on Background of Type 2 Diabetes

Duda K. M., Klishch I. M., Marushchak M. I., Vons B. S.

Abstract. Diabetes mellitus is characterized by inflammatory and degenerative changes in salivary glands and in the periodontal tissues, with the most conflicting information affects the pathogenesis of acute periodontitis on a background of type 2 diabetes.

The aim of our study was to study the concentration of tumor necrosis factor - α , interleukins 1 β and 6 in serum of rats with acute periodontitis in the background type 2 diabetes. The study was conducted on 72 white nonliner male rats according to the rules of work using experimental animals. Experimental diabetes caused by a single intraperitoneal streptozotocin administration firm «Sigma» at the rate of 6,5 mg per 100 g body weight (prepared at 0,1 M citrate buffer, pH = 4,5) with the last 15 minutes of nicotinamide administration intraperitoneally at a dose of 230 mg / kg. Studies were performed on white male rats that simulated type 2 diabetes by administering to animals of nicotinamide and streptozotocin. Serum concentrations of animals defined tumor necrosis factor - α , interleukin - 1 β and 6 immunoenzyme method. Effect of diabetes on the course of inflammation in periodontitis was studied in a model of inflammation caused by acute trauma of the soft gum tissue.

The experimental data indicate the involvement of proinflammatory cytokines in the pathogenesis of diabetes. Formation of acute periodontitis accompanied by complex lesions with a predominance of inflammatory and degenerative phenomena. So, after first day after modeling of acute periodontitis is an increase of proinflammatory cytokines, including TNF- α concentration increased by 18,1%, IL-6 – by 15,4% compared to the control group, while the levels of IL-1 β varied the normal range. So, after 7 days the concentration of TNF- α increased by 19,5%, IL-1 β – by 18.5% and IL-6 – by 28,3% with respect to control ($p \leq 0,01$), after 7 days of experiment content TNF- α increased by 2,8 times, IL-1 β – 3,2 times and IL-6 – by 2,3 times relative to the control group ($p \leq 0,001$). By comparing the findings with proinflammatory cytokines on the 2nd day found a significant increase in the concentration of TNF- α , IL-6 and IL-1 β progression of acute periodontitis on a background of diabetes. Analyzing the dynamics change proinflammatory cytokines in rats with acute periodontitis simulated against experimental type 2 diabetes prevalence cytokinemia found in the group of animals with both pathologies on specific diseases, which is increasing with the progression of acute periodontitis.

These data indicate that the concentration of TNF- α , IL-6 and IL-1 β reflects the formation of a group of animals with diabetes changes of immune defense mechanisms oral manifestations of inflammatory activation.

Conclusion. Formation of the complex is accompanied by acute periodontitis lesions, characterized by significant increase in the concentration of proinflammatory cytokines after 7 days of the experiment. In case of acute experimental periodontitis in the background of diabetes occurring disruption of the immune system characterized by progressive increase of proinflammatory cytokines, indicating the participation of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in the pathogenesis of periodontal disease.

Key words: type 2 diabetes, acute periodontitis, proinflammatory cytokines.

Рецензент – проф. Скрипніков П. М.

Стаття надійшла 5. 11. 2013 р.