

УДК 616.311.2-002-02: 616.379-008.64]-07-097-053.2

DOI: 10.22141/2224-0721.13.1.2017.96758

Котельбан А.В.¹, Годованець О.І.¹, Коваль Г.Д.¹, Камишний О.М.²¹Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна²Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Особливості експресії мРНК ІЛ-1 β , ІЛ-17А та ІЛ-10 епітелію ротової порожнини дітей, хворих на цукровий діабет

For cite: Mezhdunarodnyi Endokrinologicheskii Zhurnal. 2017;13:56-60. doi: 10.22141/2224-0721.13.1.2017.96758

Резюме. Мета дослідження: вивчити показники цитокінового профілю в епітелії ротової порожнини дітей із цукровим діабетом (ЦД) 1-го типу з урахуванням наявних метаболічних порушень. **Матеріали та методи.** Обстежено 12-річних дітей, хворих на ЦД 1-го типу (30 осіб), а також 30 соматично здорових дітей з ознаками хронічного катарального гінгівіту. Також було сформовано групу порівняння (30 соматично та стоматологічно здорових дітей того ж віку). Установлено рівні показників мРНК ІЛ-1 β , -10 та -17А епітелію ротової порожнини дітей з ознаками хронічного катарального гінгівіту за наявності ЦД. **Результати.** Проведене молекулярно-генетичне дослідження відносного рівня мРНК прозапальних цитокінів ІЛ-1 β і -17А, протизапального ІЛ-10 в епітелії ротової порожнини дітей показало, що на тлі ЦД суттєво збільшені відносні рівні мРНК ІЛ-1 β і -17А та низький рівень експресії мРНК ІЛ-10. Переважання рівня прозапальних цитокінів у букальному епітелії над рівнем протизапальних відображає дисбаланс у системі цитокінової регуляції в дітей I та II груп. **Висновки.** Проведені дослідження мають велике значення для діагностики запальних процесів у тканинах пародонта і стану локального імунітету ротової порожнини, а також є підґрунтям для розробки лікувально-профілактичних програм для дітей, хворих на ЦД 1-го типу.

Ключові слова: цукровий діабет 1-го типу; гінгівіт; цитокіни

Вступ

Захворювання ротової порожнини на тлі цукрового діабету (карієс зубів, захворювання тканин пародонта, кандидозний стоматит, ангулярний хейліт та ін.), за даними літератури, спостерігаються в 90,0 % випадків [1, 6, 8]. Багатьма дослідниками встановлено взаємозв'язок між соматичною патологією і стоматологічними захворюваннями, що обумовлено порушенням гемодинаміки, метаболізму, імунологічних і нейрогуморальних функцій [6, 8, 9].

Клінічна картина запального процесу в тканинах пародонта характеризується гіперемією, набряком і кровотечею. На молекулярному та клітинному рівнях проявляється виникненням клітинних інфільтратів і вивільненням цитокінів, провідних факторів запалення, що поєднуються з факторами комплексу [1, 6, 8].

Відомо, що цитокіни утворюють взаємопов'язані сітки, каскадно ініціюють вивільнення один одно-

го, можуть бути синергістами, антагоністами та мають певні особливості при кожній окремо взятій патології [6, 8, 9]. Кооперація цитокінів за типом продукуючих клітин та співвідношення з іншими групами медіаторів визначають характер запального процесу.

У літературі досліджували рівні показників цитокінового профілю серед пацієнтів за умов катарального гінгівіту (інтерлейкін (ІЛ)-1 β , -4, -6, -8, фактор некрозу пухлини (ФНП), інтерферон γ) [2–10]. Запальні медіатори, на думку дослідників, є центральною ланкою імунопатогенезу захворювань тканин пародонта [1, 3–10].

ІЛ-1 β підвищує хемотаксис, фагоцитоз, гемопоез, проникність судинної стінки, цитотоксичну та бактерицидну активність. ІЛ-1 бере участь у регуляції температури тіла, а його підвищена продукція призводить до розвитку лихоманки [2, 5, 6, 8, 9]. Підвищення рівня ІЛ-1 спостерігається при різних

запальних і автоімунних захворюваннях, включаючи септичний шок, запалення шлунково-кишкового тракту, ревматоїдний артрит, цукровий діабет (ЦД) 1-го типу [2, 5, 6]. Як циркулюючий медіатор ІЛ-1 β бере участь у гострофазовій реакції. Відомо, що інфекційна інвазія супроводжується його масивною продукцією. Однак здебільшого ІЛ-1 β діє не самостійно, а в поєднанні з іншими цитокинами, особливо з ІЛ-6, -17, -22, ФНП- α та інтерфероном γ [5, 6].

Основними мішенями ІЛ-17 є епітеліальні, ендотеліальні клітини та фібробласти. Одним із найважливіших біологічних ефектів ІЛ-17 є його здатність ініціювати продукцію клітинами цитокинів і хемокинів, що чинять плейотропну дію на різні клітини — ІЛ-1, -8, -6, ФНП- α , [3–5]. ІЛ-17 запускає реакцію міграції нейтрофілів у зону запалення. Може вироблятися багатьма клітинами, проте найбільш виражену продукцію забезпечують Т-хелпери 17-го типу [5, 7, 9]. ІЛ-17 відіграє ключову роль у регуляції гемопоетичної та імунної систем. Недавно було встановлено кардинальне значення ІЛ-17 у патогенезі захворювань автоімунної природи [3–5, 7, 9, 10]. За наявності ЦД 1-го та 2-го типів описано порушення рівня ІЛ-17 [5, 10].

Інтерлейкін-10 — цитокін із вираженим проти-запальним ефектом. Він здатний пригнічувати лихоманку як прояв запальної реакції. Виробляють ІЛ-10 Т-клітини та моноцити. Крім того, він гальмує проліферативну відповідь Т-клітин на антигени і мітогени, а також пригнічує секрецію активованими моноцитами ІЛ-1 β , ФНП- α і ІЛ-6, бере участь у гуморальному компоненті імунної відповіді, відповідаючи за антипаразитарний захист [3–5, 9]. Тоді ж ІЛ-10 стимулює секрецію імуноглобулінів В-лімфоцитами. Його дія протилежна дії основних цитокинів [3, 5, 9].

Особливу увагу дослідники приділяють ролі порушення загального та місцевого імунітету в патогенезі захворювань ротової порожнини, однак у хворих на ЦД за наявності хронічного катарального гінгівіту (ХКГ) такі дані є недостатньо вивченими та актуальними.

Мета дослідження: вивчити показники цитокинового профілю в епітелії ротової порожнини дітей із цукровим діабетом 1-го типу з урахуванням наявних метаболічних порушень.

Матеріали та методи

Для вирішення поставленої мети були обстежені 12-річні діти, хворі на цукровий діабет 1-го типу (30 осіб), які перебували на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному відділенні ОКУ «Обласна дитяча клінічна лікарня» м. Чернівців (І група). ІІ групу (30 соматично здорових дітей з ознаками хронічного катарального гінгівіту) та групу порівняння (30 соматично та стоматологічно здорових дітей того ж віку) було сформовано з учнів ЗОШ № 22 м. Чернівців.

Відповідно до ступеня тяжкості гінгівіту серед дітей І та ІІ груп було виділено легкий ступінь тяж-

кості хронічного катарального гінгівіту (відповідно 10 та 18 дітей), середній (17 та 8 дітей) та тяжкий ступінь (3 та 4 дитини).

Для аналізу експресії генів використовували метод полімеразної ланцюгової реакції з оберненою транскрипцією в режимі реального часу (ОТ-ПЛР). Об'єктом для молекулярно-генетичних досліджень методом ОТ-ПЛР був букальний епітелій.

Виділення тотальної рибонуклеїнової кислоти проводили з використанням набору Trizol RNA Prep 100 («Ізоген Lab. LTD», Росія). Для оберненої транскрипції (синтез кДНК) використовували набір реагентів для проведення оберненої транскрипції (ОТ-1, «СИНТОЛ», Росія). Підготовку та проведення реакцій здійснювали відповідно до протоколу.

Отримані результати обробляли статистично за допомогою ліцензійної програми Microsoft Excel. Оцінювали середнє значення (M), похибку середнього (m), вірогідність статистичних показників (p).

Результати

ОТ-ПЛР-аналіз букального епітелію показав відносно підвищення рівня експресії мРНК генів прозапальних цитокинів ІЛ-1 β і -17A в дітей, хворих на ЦД, та соматично здорових дітей за наявності ХКГ та відносно зниження мРНК генів протизапального цитокину ІЛ-10 (табл. 1).

Рівень ІЛ-1 β у дітей, хворих на ЦД, у 9 разів вищий від рівня в соматично здорових дітей за наявності ХКГ та 71,5 раза — від рівня в стоматологічно та соматично здорових дітей. Це вказує на забезпечення першої лінії протиінфекційного захисту макроорганізму від патогенної, умовно-патогенної мікрофлори та продуктів їх життєдіяльності.

У дітей І групи вміст ІЛ-17A (16,2823, P < 0,01) у 10,7 раза вищий від вмісту в дітей ІІ групи (1,5477, P < 0,01) та майже в 17,8 раза — групи порівняння (1,0000, P < 0,01). Високі показники ІЛ-17A відображають як посилення специфічної імунної відповіді на ушкоджуючу дію патогенних мікроорганізмів, так і автоімунну природу запального процесу в тканинах пародонта дітей, хворих на ЦД, за наявності ХКГ.

Експресія ІЛ-10 у дітей на тлі ЦД підвищилась відповідно у 2,6 раза порівняно із соматично здоровими дітьми та зменшилась в 1,8 раза — зі стоматологічно та соматично здоровими, що підтверджується даними літератури і вказує на інфекційний генез запального процесу в тканинах пародонта.

У дітей, хворих на цукровий діабет, найвищий рівень експресії мРНК ІЛ-1 β (рис. 1) виявлений при тяжкому ступені ушкодження тканин пародонта — 124,7246, P < 0,01, а найменший — 48,3381, P < 0,01, — за умов легкого ступеня ХКГ, що відповідно у 8 та 7,7 раза більше порівняно з найбільшим та найменшим значенням серед соматично здорових дітей.

Експресія мРНК ІЛ-17A (рис. 2) за наявності легкого ступеня ХКГ у дітей із супутньою патологією становила 13,1914, P < 0,05, у соматично здорових дітей — 1,4865, P < 0,05.

Таблиця 1. Відносний рівень експресії мРНК генів ІЛ-1 β , -17А, -10 букального епітелію в дітей, хворих на ЦД, та соматично здорових дітей за наявності ХКГ порівняно зі стоматологічно та соматично здоровими дітьми

Показник	ЦД за наявності ХКГ	Соматично здорові діти за наявності ХКГ	Соматично та стоматологічно здорові діти	P
ІЛ-1 β	73,1904 \pm 7,5421	8,2555 \pm 1,0765	1,0000 \pm 0,1302	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,01 P ₃ < 0,01
ІЛ-17А	16,2823 \pm 1,2234	1,5477 \pm 0,0578	1,0000 \pm 0,2853	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,01 P ₃ < 0,01
ІЛ-10	0,4012 \pm 0,0527	0,1434 \pm 0,0249	1,0000 \pm 0,1174	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,01 P ₃ > 0,05

Примітка: P — статистична вірогідність показників у соматично та стоматологічно здорових дітей.

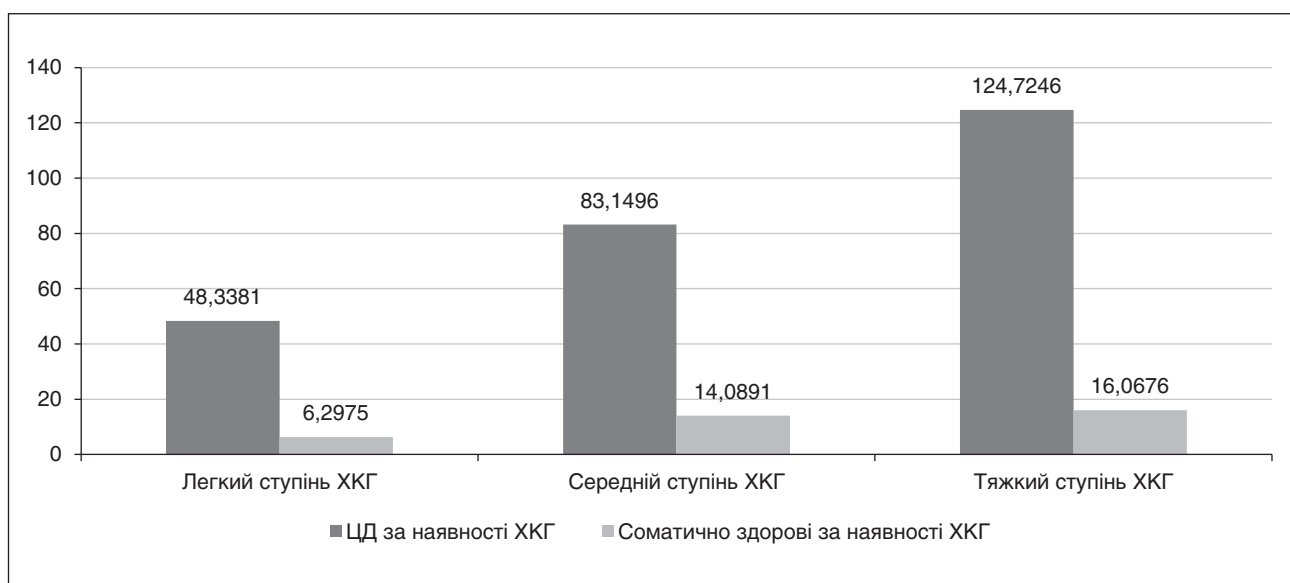


Рисунок 1. Відносний рівень експресії мРНК генів ІЛ-1 β букального епітелію в дітей, хворих на ЦД, та соматично здорових дітей за наявності ХКГ



Рисунок 2. Відносний рівень експресії мРНК генів ІЛ-17А букального епітелію в дітей, хворих на ЦД, та соматично здорових дітей за наявності ХКГ

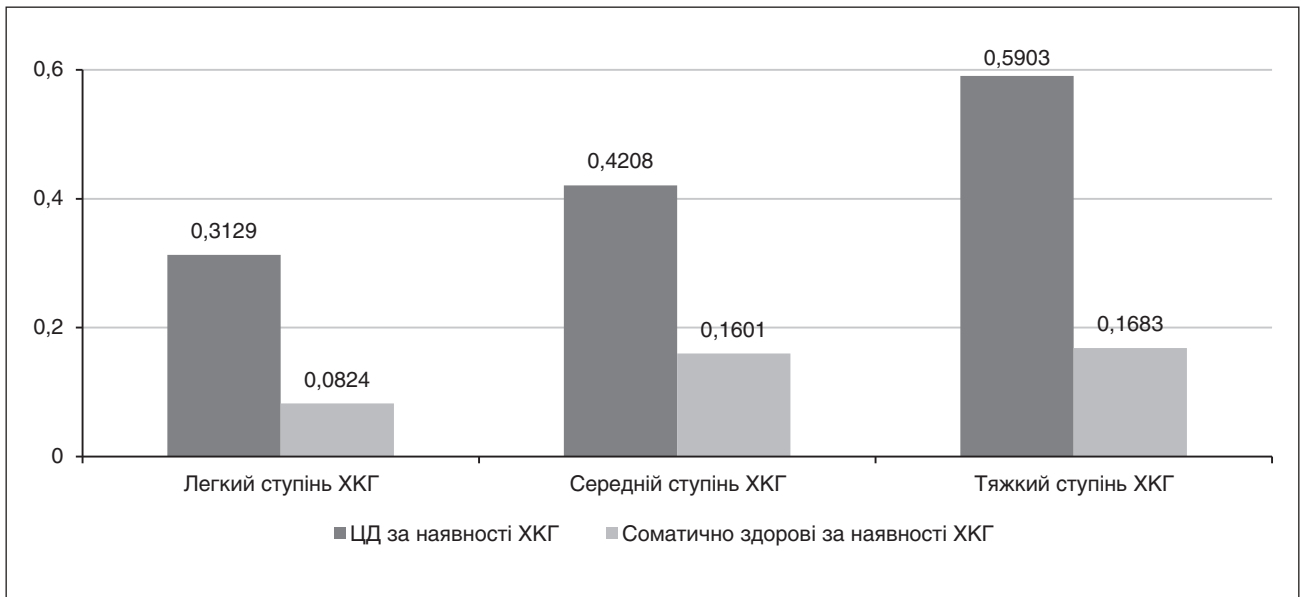


Рисунок 3. Відносний рівень експресії мРНК генів ІЛ-10 букального епітелію в дітей, хворих на ЦД, та соматично здорових дітей за наявності ХКГ ($P < 0,01$)

Для дітей із середнім ступенем тяжкості ХКГ були характерні такі дані: 17,4465, $P < 0,05$, — у І групі та 1,9003, $P < 0,05$, — у ІІ. Найвищий показник виявлено в дітей, хворих на цукровий діабет, за наявності тяжкого ступеня ХКГ (19,9873, $P < 0,05$).

Рівень експресії мРНК ІЛ-10 (рис. 3) у дітей з ознаками легкого ступеня тяжкості ХКГ на тлі соматичної патології становив 0,3129, $P < 0,01$, а серед соматично здорових дітей дещо нижчий — 0,0824. За наявності середнього та тяжкого ступенів ХКГ відзначалося також збільшення експресії ІЛ-10 серед дітей із супутньою соматичною патологією порівняно із соматично здоровими дітьми — відповідно 0,4208 і 0,1601 та 0,5903 і 0,1683.

Обговорення

Рівень мРНК ІЛ-1 β — провідного прозапального імунцитокіна гострої фази високий та залежав від ступеня тяжкості ХКГ. При поглибленні патологічного процесу в тканинах пародонта за наявності ЦД спостерігалися підвищення рівня ІЛ-1 β та напруження захисної ланки місцевого специфічного імунітету.

Експресія мРНК ІЛ-17А в значній кількості дітей, хворих на ЦД, була високою та мала тенденцію до зростання залежно від ступеня тяжкості ХКГ, що відображає бактеріальну агресію, активний запальний процес і автоімунну природу запального процесу в тканинах пародонта.

Низький рівень експресії мРНК ІЛ-10 призводить до зниження захисних можливостей і розвитку хронічного інфекційного запального процесу.

Висновки

Проведене молекулярно-генетичне дослідження відносного рівня мРНК прозапальних цитокінів ІЛ-1 β і -17А, протизапального ІЛ-10 в епітелії ротової порожнини дітей показало, що на тлі ЦД суттєво

збільшені відносні рівні мРНК ІЛ-1 β і -17А та низький рівень експресії мРНК ІЛ-10.

Таким чином, переважаючий рівень прозапальних цитокінів у букальному епітелії над рівнями проти-запальних відображає дисбаланс у системі цитокінової регуляції в дітей І та ІІ груп.

Проведені дослідження мають велике значення для діагностики запальних процесів у тканинах пародонта і стану локального імунітету ротової порожнини, а також є підґрунтям для розробки лікувально-профілактичних програм для дітей, хворих на цукровий діабет І типу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

References

1. Aleksandrov EI. Microflora and immunological resistance in a tooth decay and diseases of parodontium on a background of diabetes mellitus. *Medyko-sotsialni problemy simyi*. 2014;1:109-114 (Russian).
2. Duriakhina LH. Influence of psychical status on the immunological indexes of mouth liquid in patients with parodontium diseases. *Tavrisheskiy medico-biologicheskii vestnik*. 2012;4(60):124-129 (Ukrainian).
3. Kostina EM, Molotilov BA, Levashova OA, Osipova MV. Study of polymorphism of genes of cytokines IL-4, IL-10, IL-17A and TNF in patients with infectious-dependent bronchial asthma. *Immunopatologia, allergologia, infektologia*. 2013;1:53-58 (Russian).
4. Krasnitskaya AS, Poliatika AN. Features of local cytokines status in patients with the adenoid disease of different etiology. *Tihookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013;1:62-64 (Russian).
5. Zak KP, Popova VV, Tron'ko ND, Butenko AK. Diabetes mellitus. *Immunity. Cytokines*. K.: Knyga-plius. 2015; 488 p. (Russian).

6. Homenko LO, Havrylenko TI, Ostapko OI. Features of cytokines status in children with chronic catarrhal gingivitis on a background of somatic pathology. *Visnyk problem biologii i medytyny*. 2013;4:352-356 (Ukrainian).

7. Shilova LN, Pan'shina NN, Chernov AS. Immune and pathological values of IL-17 in psoriasis arthritis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015;6. Available from: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23040> (Russian).

8. Yarova SP, Sanoyan VV. Pathogenetic aspects of generalized periodontitis on a background the type 2 diabetes

mellitus. *Visnyk problem biologii i medytyny*. 2010;4:57-61 (Ukrainian).

9. Javed F, Al-Askar M, Al-Hezaimi K. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients with and without type 2 diabetes: a literature review. *J Periodontol*. 2012;83(2):156-61.

10. Zhu S, Qian Y. IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci*. 2012;122(11):487-511.

Отримано 27.01.2017 ■

Котельбан А.В.¹, Годованец О.И.¹, Коваль Г.Д.¹, Камышный А.М.²

¹Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина

²Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

Особенности экспрессии мРНК ИЛ-1 β , ИЛ-17А и ИЛ-10 эпителия ротовой полости детей, больных сахарным диабетом

Резюме. Цель исследования: изучить показатели цитокинового профиля в эпителии ротовой полости детей с сахарным диабетом (СД) 1-го типа с учетом имеющихся метаболических нарушений. **Материалы и методы.** Исследованы 12-летние дети, больные СД 1-го типа (30 чел.), а также 30 соматически здоровых детей с признаками хронического катарального гингивита. Также была сформирована группа сравнения (30 соматически и стоматологически здоровых детей того же возраста). Установлены уровни показателей мРНК ИЛ-1 β , -10 и -17А эпителия ротовой полости детей с признаками хронического катарального гингивита при наличии СД. **Результаты.** Проведенное молекулярно-генетическое исследование относительного уровня мРНК провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и -17А, противовоспалитель-

ного ИЛ-10 в эпителии ротовой полости детей показало, что на фоне СД существенно увеличены относительные уровни мРНК ИЛ-1 β и -17А и низкий уровень экспрессии мРНК ИЛ-10. Преобладание уровня провоспалительных цитокинов в буккальном эпителии над уровнем противовоспалительных отображает дисбаланс в системе цитокиновой регуляции у детей I и II групп. **Выводы.** Проведенные исследования имеют большое значение для диагностики воспалительных процессов в тканях пародонта и состояния локального иммунитета ротовой полости, а также являются основой для разработки лечебно-профилактических программ для детей, больных СД 1-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа; гингивит; цитокины

A.V. Kotelban¹, O.I. Godovanets¹, G.D. Koval¹, O.M. Kamyshnyj²

¹State Higher Education Institution of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

²Zaporozhye State Medical University, Zaporizhia, Ukraine

Expression of mRNA IL-1 β , IL-17A and IL-10 of oral epithelium in diabetic children

Abstract. The aim of the study was to investigate the indexes of cytokines profile in the epithelium of oral cavity of children with type 1 diabetes mellitus (DM) taking into account present metabolic violations. **Materials and methods.** 12-years-old children with type 1 DM (30 persons) were observed, and 30 somatically healthy children with the signs of chronic catarrhal gingivitis. The group of comparison (30 somatically and stomatological healthy children of the same age) was also formed. The mRNA IL-1 β , IL-10 and IL-17A of epithelium of oral cavity levels were determined in children with the signs of chronic catarrhal gingivitis against DM. **Results.** The molecular and genetic study of mRNA IL-1 β , IL-17A and IL-10 epithelium of oral cavity in children with chronic catarrhal gingivitis and type 1 DM revealed significantly increased levels of pro-inflammatory mRNA IL-1 β , IL-10 and decreased anti-

inflammatory IL-10 level. The predominance of epithelium proinflammatory cytokines level versus anti-inflammatory ones represent a imbalance in the cytokine regulatory system in children of the first and second groups. **Conclusions.** Undertaken studies are of great importance for diagnosis of inflammatory processes in the paradontium tissues and state of local immunity of oral cavity, as well as can be the basis for the medical and preventive program development for children with type 1 DM.

Keywords: type 1 diabetes mellitus; gingivitis; cytokines