

*С. П. Ярова, А. Г. Попандоуло, А. П. Брашкін***БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРЕБІГУ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПРОЦЕСУ ЩЕЛЕПНОЇ КІСТКИ ПРИ ЗАПАЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНОМУ ПРОЦЕСІ***Донецький національний медичний університет ім. М. Горького, Україна*

Реферат. Висвітлені результати дослідження, проведеного на 20 нелінійних білих статевозрілих щурах-самцях породи Wistar зі спонтанним пародонтитом, яким у ході експерименту накладали ферзевий отвір на гілку щелепи з наступним вивченням показників про- та протизапальних цитокінів (TNF-альфа, IL-1бета, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) крові тварин. Дослідження виявило суттєве підвищення прозапальних цитокінів (TNF-альфа, IL-1бета) та дисбаланс співвідношення про- (TNF-альфа, IL-1бета, IL-6, IL-8) і протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10) у порівнянні з неінфікованою гострою кістковою ранною.

Ключові слова: кісткова тканина щелепи, запально-деструктивний процес, регенерація, цитокіни

За даними ВООЗ, отриманими при обстеженні населення 53 країн, дуже високий рівень захворювань пародонта приходиться на вік 35-44 років (65% - 98 %) і 15-19 років (55% - 89%) і має тенденцію до омолодження й обтяження [2, 3, 8].

Пародонтит – це запально-деструктивний процес тканин пародонта, у патогенезі якого велике значення мають мікроциркуляторні, метаболічні, ферментативні й імунологічні порушення [1, 5, 6]. При захворюваннях пародонта під впливом несприятливих екзо- і ендогенних факторів порушується фізіологічна рівновага в кістці, виникає розбалансування процесів остеосинтезу й остеорезорбції, що веде до деструкції альвеолярної кістки. Утворення нової кістки в цьому випадку уповільнене і не компенсує руйнування кістки і деструкції, викликані дією патологічних факторів [3, 4]. Ремоделювання кістки включає два тісно зв'язаних процеси – руйнування і утворення кістки, що в альвеолярній кістці перебігають більш активно, ніж в інших кістках кістяка [10]. Пошук шляхів рішення задач, пов'язаних з відновленням анатомічної і функціональної цілісності щелепної кістки, розглядається в літературі як одна з актуальних проблем біології і медицини [4, 11]. Однак механізми впливу локальних та загальних чинників само- та взаєморегуляції вивчені недостатньо.

Мета дослідження - визначити характер патологічних змін (рівня регуляторних факторів) та встановити механізми їх співвідношення в експериментальній кістковій рані щелепної кістки при запально-деструктивному процесі.

Дослідна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи лабораторії клітинного і тканинного культивування ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії» ім. В. К. Гусака НАМН України за темою: «Розробка клітинно-тканинних технологій для лікування потерпілих із переломами кісток кінцівок» (№ ГР 0107U000282).

М а т е р і а л т а м е т о д и

Об'єктом дослідження став запально-деструктивний процес, що моделювався в кістковій рані щелепної кістки у експериментальних тварин на тлі генералізованого пародонтиту, в якому вивчали і біохімічні властивості загоєння кісткової тканини: активність факторів, що регулюють вираженість та характер фазного запального процесу (цитокіни (ЦК) - TNF-альфа, IL-1бета, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10).

Робота була виконана на 20 нелінійних білих статевозрілих щурах-самцях породи Wistar, масою 270 ± 58 грамів і віком 11-12 місяців, зі спонтанним пародонтитом, що визначався на підставі клінічного стану зубощелепної системи. Оперативне втручання виконувалося в умовах загального знеболювання шляхом інтраперитонеального введення каліпсолю і ксилазину, після чого у стандартних умовах на скелетованій гілці нижньої щелепи накладали фрезевий отвір, провіт якого поєднувався із порожниною рота за рахунок перфоративного отвору, завдяки чому у вогнищі раневого процесу створювалося джерело інфікування кісткової рани мікрофлорою, що населяє порожнину рота. Тварин виводили з експерименту по 5 на 10-ту, 20-ту і 30-ту добу. Протокол дослідження схвалений Комісією з питань біоетики ДУ ІНВХ ім. В. К. Гусака НАМНУ (протокол № 1/2 від 15.02.2010 р.). Кількість цитокінів визначали за допомогою фотометра для багатофункціонального аналізу Synergy HT Bio-Tek® Instruments (США). Статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням статистичних пакетів «Stadia 6.0» з використанням адекватних методів біостатистики [7, 9].

Р е з у л ь т а т и т а о б г о в о р е н н я

Для визначення рівня регуляторних факторів провели аналіз показників обраних нами ЦК у сироватці крові щурів у контрольні строки в порівнянні з концентрацією в сироватці не оперованих щурів (n=5), які були виведені з експерименту на 1 добу, тобто без розвитку гнійного запалення (см. табл.).

За нашими даними, після розвитку гнійних ускладнень (тобто на 10-ту добу) достовірно підвищився рівень IL-1бета та TNF-альфа (на 67,5% та 50,2% відповідно). У той же час рівень IL-4 виявився достовірно нижчим на 131,8%. Рівень IL-6, -8 та -10 достовірно не відрізнявся. Однак в подальшому ці показники дещо змінювались. Рівень IL-1бета підвищувався з 10-ї доби на 20-ту добу у 1,03 рази і був максимальним в

Таблиця. Рівень цитокінів крові тварин контрольної групи в строки спостереження ($M \pm \sigma$)

Цитокіни, пг/мл	Строки спостереження				Середнє (без першої доби)
	1 доба (n=5)	10 доба (n=5)	20 доба (n=5)	30 доба (n=5)	
IL-1бета	36,4±5,2	53,9±6,3 ³	55,6±2,1 ³	54,1±3,5 ³	54,5±4,0 ³
IL-4	62,5±4,7	47,4±4,8 ³	67,5±3,8 ¹	68,3±5,6	61,1±4,7
IL-6	163,5±2,4	165,5±4,5	133,5±4,9 ^{1/3}	130,4±4,8 ³	143,1±4,7 ³
IL-8	491±11,2	486±5,2	491±2,1	384±3,3 ^{2/3}	453,7±3,5
IL-10	95,4±4,4	89,3±4,1	90,5±4,2	98,3±3,9 ²	92,7±4,1
TNF-альфа	9,2±2,0	18,3±2,1 ³	16,2±1,6 ³	12,4±1,9 ¹	15,6±1,9 ³

Примітка: ¹ - достовірна різниця з показниками 10-ї доби ($p < 0,05$); ² - достовірна різниця з показниками 20-ї доби ($p < 0,05$); ³ - достовірна різниця з показниками 1-ї доби ($p < 0,05$)

порівнянні з 10-ю і 30-ю добою. До 30-ї доби рівень IL-1бета зменшувався також у 1,03 рази, різниця у обох випадках невірогідна ($p > 0,05$).

Вміст протизапального цитокіну IL-4 після розвитку запально-деструктивного процесу в нижній щелепі виявився зниженим в порівнянні з його концентрацією при неінфікованій травмі. Проте, IL-4 вірогідно збільшувався з 10-ї на 20-ту добу у 1,4 рази (достовірна відмінність, $p < 0,05$), на 30-ту добу його рівень також збільшувався, але розрізнення було невірогідним ($p > 0,05$).

Рівень IL-6 динамічно (достовірна відмінність, $p < 0,05$) знижувався до 20-ї доби в 1,3 рази і до 30-ї доби залишався приблизно тим же (розрізнення невірогідні, $p > 0,05$).

Показники IL-8 мали тенденцію до незначного росту з 10-ї до 20-ї доби (відмінність невірогідна, $p > 0,05$) і зростав на 30-ту добу у 1,2 рази ($p < 0,05$). IL-10 мав східну з IL-8 тенденцію, незначно зростав до 20-ї доби (невірогідна, $p > 0,05$), і достовірно зростав у 1,1 рази ($p < 0,05$).

Рівень TNF-альфа знизився з 10-ї до 30-ї доби у 1,5 рази (достовірна відмінність, $p < 0,05$), хоча різниця між 10-ю і 20-ю добою та 20-ю і 30-ю добою була незначною (розрізнення невірогідні, $p > 0,05$). Отже, в порівнянні показників 1-ї доби на 10-ту достовірно підвищився рівень IL-1бета та TNF-альфа в 1,7 та 1,6 рази ($p < 0,05$) відповідно. У той же час рівень IL-4 виявився нижчим у 2,3 рази ($p < 0,05$). Рівень IL-6, IL-8 та IL-10 не відрізнявся ($p > 0,05$). Показники рівня IL-1бета підвищувався до 20-ї доби і знижався до 30-ї до рівня 10-ї доби. На 20-ту добу спостерігалось підвищення IL-1бета та TNF-альфа ($p < 0,05$). Рівень IL-4 нормалізувався, а рівень IL-6 був нижчим за початковий ($p < 0,05$).

На 30-ту добу утримувалось підвищення IL-1бета ($p < 0,05$) та зниження рівня IL-6 та IL-8 за початковий. Решта критеріїв не мала достовірних відмінностей.

Дослідження прозапальних ЦК (TNF-альфа, IL-1бета) виявило істотне підвищення їх концентрацій. Порівняння концентрації прозапальних

(TNF-альфа, IL-1бета, IL-6, IL-8) і протизапальних ЦК (IL-4, IL-10) виявило дисбаланс в їх співвідношенні в порівнянні із співвідношеннями при неінфікованій гострій кістковій травмі. Тобто, загоєння інфікованої кісткової рани характеризувалося десинхронізацією фаз запалення і регенерації.

Таким чином, локальні фактори відіграють важливу роль у регуляції процесів ремоделювання кісткової тканини. Порівняння концентрації прозапальних і протизапального цитокінів виявило дисбаланс в їх співвідношенні в порівнянні зі співвідношеннями при неінфікованій гострій кістковій травмі.

S.P. Jarova, A.G. Popandopulo, A.P. Brashkin

Biochemical indexes of the regeneration course of the jaw bone tissue in inflammatory destructive process

In this article are covered the results of the research conducted on 20 non-linear whiter viripotent male rats of Wistar breed with spontaneous periodontitis, that was applied during the experiment, on to the mill aperture of the jaw branch with the following studies of indicators pro- and anti-inflammatory cytokines (TNF-alpha, IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) of animal's blood. The research revealed the substantial increase of concentration of the pro-inflammatory cytokines (TNF-alpha, IL-1beta), and an imbalance in the ratio about - (TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, IL-8) and the anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) in comparison with not infected sharp bone wound (University clinic. — 2013. — Vol.9, №2. — P.153-155).

Key word: jaw bone, inflammatory-destructive process, regeneration, cytokines, TNF-alpha, IL-1beta, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10.

С.П. Ярова, А.Г. Попандопуло, А.П. Брашкин

Биохимические показатели течения регенераторного процесса челюстной кости при воспалительно-деструктивном процессе

Освещены результаты исследования, проведенного на 20 нелинейных белых половозрелых кры-

сах-самцах породы Wistar со спонтанным пародонитом, которым в ходе эксперимента накладывали фрезное отверстие на ветвь челюсти с последующим изучением показателей про- и противовоспалительных цитокинов (TNF-альфа, IL-1бета, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) крови животных. Исследование выявило существенное повышение концентрации провоспалительных цитокинов (TNF-альфа, IL-1бета), и дисбаланс в соотношении про- (TNF-альфа, IL-1бета, IL-6, IL-8) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) в сравнении с неинфицированной острой костной раной (Университетская клиника. — 2013. — Т.9, №1. — С.153-155).

Ключевые слова: костная ткань челюсти, воспалительно-деструктивный процесс, регенерация, цитокины.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Баринов Э.Ф.* Патогенетические механизмы развития хронического пародонтита / Э. Ф. Баринов, О. Н. Сулаева // *Арх. клинич. и эксперим. медицины.* — 2006. — Т. 15, №. — С. 84-92.
2. *Грудянов А.И.* Состав парадонтогенной микрофлоры при пародонтите разной степени тяжести по данным полимеразной цепной реакции / А. И. Грудянов, В. В. Овчинникова // *Стоматология.* — 2008. — Т. 78, № 3. — С. 21.
3. *Данилевский Н.Ф.* Заболевания пародонта / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко. — К. : Здоров'я, 2000. — 461 с.
4. *Иванов В.С.* Заболевания пародонта / В. С. Иванов. — М. : МИА, 1998. — 122 с.
5. *Кашенко С.А.* Роль костной ткани в регуляции иммунного ответа : лекция / С. А. Кашенко // *Укр. журн. клініч. та лаборатор. "медицини.* — 2008. — Т. 3, № 1. — С. 9-11.
6. Комплексное изучение механизмов развития хронического воспаления при пародонтите / Т. П. Иванюшко, Л. В. Ганковская, Л. В. Ковальчук [и др.] // *Стоматология.* — 2002. — № 4. — С. 13-16.
7. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов, В. Н. Хоменко, В. А. Панченко. — Донецк : Папакица Е.К., 2006. — 214 с.
8. *Цепов Л.М.* Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта / А. И. Цепов, А. И. Николаев, Е. А. Михеева. — 3-е изд., испр. и доп. — М. : МЕДпресс-информ, 2008. — 270 с.
9. *Instruction Manual BD OptEIA / Ed. by Becton, Dickinson and Co.* - San Diego CA 92121 USA, 2005. — P. 16.
10. *Long M.W.* Expression of human bone-related proteins in the hematopoietic microenvironment / M. W. Long, J. L. Williams, K. G. Mann // *J. Clin. Invest.* — 1990. — Vol. 86, № 5. — P. 1387-1395.
11. Three-dimensional cellular development is essential for ex vivo formation of human bone / S. Kale, S. Biermann, C. Edwards [et al.] // *Nat. Biotechnol.* — 2000. — Vol. 18, № 9. — P. 954-958.