

© Цубер В. Ю., Тарасенко Л.М.  
УДК: 616.31-008.8-055:613.86

## **ЗМІНА ВМІСТУ ТУМОРНЕКРОТИЧНОГО ФАКТОРУ- $\alpha$ В РОТОВІЙ РІДИНІ МОЛОДИХ ЛЮДЕЙ ЗА УМОВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАТІ**

*Цубер В. Ю., Тарасенко Л.М.*

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*Туморнекротичний фактор- $\alpha$  (ТНФ- $\alpha$ ) являється поліфункціональним провоспалительних цитокинов, котрий продукується в значительном количестве в ответ на потенциально вредные факторы. Исследовано впливання психоемоціонального напруження на содержание туморнекротичного фактора- $\alpha$  в ротовой жидкости молодых людей и возможность использования его содержания в ротовой жидкости как потенциального биомаркера стрессорные реакции. Прослежена взаимосвязь изменения содержания кортизола и туморнекротичного фактора- $\alpha$  в ротовой жидкости. Выявлено достоверное отрицательная корреляционная связь изменения содержания кортизола в ротовой жидкости с изменением концентрации ТНФ- $\alpha$ . Исследованы различия изменения содержания туморнекротичного фактора- $\alpha$  в ротовой жидкости в условиях психоемоціонального стресса. Выявлено, что корреляционные связи содержания ТНФ- $\alpha$  с концентрацией кортизола наблюдались только у женщин.*

Ключевые слова: психоемоціональний стресс, пол, ротова жидкість, туморнекротичний фактор- $\alpha$ .

Туморнекротичний фактор  $\alpha$  (ТНФ- $\alpha$ ) – позаклітинний білок, поліфункціональний прозапальний цитокін, який синтезується переважно моноцитами, макрофагами і адипоцитами. ТНФ- $\alpha$  відіграє роль в регуляції метаболізму імунних клітин, здатний викликати апоптоз, пригнічує утворення пухлин та реплікацію вірусів, індукує продукцію прозапальних цитокінів, простагландинів, активних форм кисню, оксиду азоту та матричних протеїназ [6]. ТНФ- $\alpha$  модулює широкий спектр прозапальних реакцій в організмі. В низьких концентраціях він відіграє важливу захисну роль, стимулюючи хемотаксис та антимікробну активність нейтрофілів, макрофагів та еозинофілів. Однак при хронічних захворюваннях концентрація ТНФ- $\alpha$  може значно підвищуватися, призводячи до кахексії, апоптозу, некрозу [7]. Вільна форма ТНФ- $\alpha$  відіграє важливу роль в регуляції енергетичного метаболізму. Діючи на адипоцити, цей білок викликає мобілізацію триацилгліцеролів та пригнічення дії інсуліну [10]. В адипоцитах він регулює експресію декількох генів та модулює секрецію вільних жирних кислот та лептину, впливаючи таким чином на системний баланс енергії. ТНФ- $\alpha$  продукується у значній кількості у відповідь на бактеріальну інвазію, але будь-які потенційно шкідливі фізичні, хімічні, імунні та інші агенти можуть значно збільшувати синтез та секрецію ТНФ- $\alpha$  [11].

Мета дослідження – визначити гендерні відмінності зміни вмісту туморнекротичного фактору- $\alpha$  в ротовій рідині молодих людей за умов психоемоціонального стресу.

### **Матеріал і методи дослідження**

Як модель гострого психоемоціонального напруження нами була використана природня соціально значима у житті молодої людини ситуація складання важливого іспиту. Обстежено 22 (9 чоловіків, 13 жінок) молодих людей (студенти ВНЗ) віком 18-22 роки, які не палили, мали відмінний стан зубів, добру гігієну порожнини рота, не вживали ніяких медичних препаратів та не відчували симптомів застуди на час дослідження. Всі

обстежені підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Контрольну групу склали молоді люди у стані відносного спокою (за два тижні до складання іспиту); дослідну групу склали ті ж молоді люди, обстеження яких проводили повторно безпосередньо перед складанням екзамену, тобто у стані психоемоціонального напруження. Обстеження проводили у строго визначений час вранці, щоб уникнути впливу циркадних ритмів на досліджувані показники. Нестимульовану ротову рідину збирали натщесерце. Для оцінки ситуативної та особистісної тривожності використовували опитувальник Спілбергера-Ханіна, який заповнювали в контрольній та дослідній групі безпосередньо перед забором ротової рідини [2]. Для оцінки інтенсивності стресорної реакції у обстежених осіб визначали вміст кортизолу у нестимульованій ротовій рідині методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-набору фірми Алкор-Біо (Росія). Для оцінки активації синтезу прозапальних цитокінів визначали вміст ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-набору виробництва фірми «Вектор Бест», Росія.

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows. Перед аналізом дані було перевірено на наявність нормального розподілу за допомогою тесту Колмогорова-Смирнова. Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за допомогою  $t$  критерію Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції  $r$  Пірсона. Для аналізу гендерних відмінностей обстежених осіб використовували  $U$ -тест Манна-Уїтні [8]. Критичний рівень значимості у дослідженні приймали рівним 0,05.

### **Результати та їх обговорення**

Туморнекротичний фактор- $\alpha$  (ТНФ- $\alpha$ ) є важливим компонентом системи неспецифічної резистентності до інфекційних захворювань. Він активує макрофаги,

нейтрофіли, збільшуючи їх фагоцитарні властивості, та стимулює продукцію нейтрофілами активних форм кисню.

Доведено, що ТНФ- $\alpha$  відіграє першорядну роль у розвитку системного запалення у відповідь на патогенні чинники шляхом ініціації синтезу прозапальних цитокінів за каскадним механізмом: ТНФ- $\alpha$   $\rightarrow$  IL-1 $\beta$   $\rightarrow$  IL-6 [1]. Глюкокортикоїди інгібують вивільнення ТНФ- $\alpha$  [5], тому метою нашого дослідження було визначити вплив психоемоційного стресу, який супроводжується збільшенням секреції кортизолу, на зміну вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині молодих людей.

Нами встановлено, що концентрація кортизолу в ротовій рідині молодих людей достовірно збільшилася під впливом психоемоційного стресу. В стані відносного спокою концентрація кортизолу складала  $15,37 \pm 6,47$  нмоль/л, за умов психоемоційного стресу концентрація кортизолу підвищилась на 47,4 % і складала  $22,65 \pm 15,10$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ). Ситуативна

тривожність (СТ) у даній групі під впливом психоемоційного напруження достовірно зросла на 46,56 % порівняно з вихідним рівнем ( $СТ_{\text{спокій}} = 39,95 \pm 7,65$ ;  $СТ_{\text{стрес}} = 58,55 \pm 14,12$ ;  $p < 0,001$ ). При цьому особистісна тривожність (ОТ) також достовірно зросла на 7,52 % ( $ОТ_{\text{спокій}} = 38,68 \pm 8,21$ ;  $ОТ_{\text{стрес}} = 41,59 \pm 10,53$ ;  $p < 0,05$ ).

За умов психоемоційного стресу нами спостерігалось збільшення на 60,22% вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині молодих людей порівняно з контролем (табл. 1), яке, однак, не було статистично достовірним із-за широкого діапазону коливань отриманих показників вмісту ТНФ- $\alpha$ . При цьому не було виявлено достовірних відмінностей між вмістом ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині чоловіків та жінок як за умов відносного спокою (табл. 1), так і під дією психоемоційного стресу, де різниця між чоловіками та жінками була більш виражена (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст туморнекротичного фактору- $\alpha$  в ротовій рідині молодих людей у стані відносного спокою та під впливом психоемоційного стресу та гендерні відмінності його вмісту ( $M \pm m$ )

| Показник              | Стан спокою       | Стрес             | P     |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Загалом               |                   |                   |       |
| ТНФ- $\alpha$ , пг/мл | $2,423 \pm 2,745$ | $3,882 \pm 6,098$ | 0,315 |
| Жінки                 |                   |                   |       |
| ТНФ- $\alpha$ , пг/мл | $2,723 \pm 2,825$ | $5,485 \pm 7,252$ | 0,236 |
| Чоловіки              |                   |                   |       |
| ТНФ- $\alpha$ , пг/мл | $1,989 \pm 2,730$ | $1,567 \pm 2,917$ | 0,742 |

Доведено, що підвищення вмісту цитокінів у плазмі крові відбувається не відразу при дії стресора, а через певний час [9]. Отже, не завжди можна реєструвати збільшення концентрації цитокінів в біологічних пробах, отриманих під час дії стресорного фактора або відразу після її припинення. Також можна припустити, що зміни концентрації ТНФ- $\alpha$  складно враховувати із-за чіткої послідовності змін цитокінового профілю та гальмівного впливу інтерлейкіну-6 на продукцію ТНФ- $\alpha$  [4], що обмежує використання ТНФ- $\alpha$  як маркера стресорної реакції, але це питання потребує подальших досліджень. Отже, за нашими даними, ТНФ- $\alpha$  ротової рідини не може претендувати на роль біомаркера стресорної реакції на початковій стадії її розвитку, на відміну від кортизолу ротової рідини. Нами обґрунтована роль зміни вмісту кортизолу в ротовій рідині як маркера стресорної відповіді в залежності від типу реагування організму [3].

При дослідженні взаємозв'язків вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині обстежених молодих людей з об'єктивними показниками тривожності нами був виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок зміни вмісту кортизолу в ротовій рідині ( $\Delta$  Кортизол) зі зміною концентрації ТНФ- $\alpha$  ( $\Delta$  ТНФ- $\alpha$ ) ( $r = -0,545$ ;  $p=0,036$ ). Таким чином, у осіб з більш вираженим зростанням вмісту головного стресреалізуючого гормону

кортизолу спостерігалось гальмування зростання вмісту ТНФ- $\alpha$ , що співпадає з відомостями про те, що глюкокортикоїди гальмують секрецію ТНФ- $\alpha$  [5].

При дослідженні гендерних відмінностей кореляційних зв'язків вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині з показниками тривожності обстежених молодих людей нами було виявлено достовірні добре виражені негативні кореляційні зв'язки змін вмісту ТНФ- $\alpha$  ( $\Delta$  ТНФ- $\alpha$ ; % $\Delta$  ТНФ- $\alpha$ ) з показниками тривожності та концентрації кортизолу, що спостерігалися лише у осіб жіночої статі та були відсутні у чоловіків (табл. 2). У осіб з більш вираженими змінами показників ситуативної тривожності ( $\Delta$  СТ) та концентрації кортизолу ( $\Delta$  Кортизол) між станом спокою та станом стресу спостерігалась згладжена, атенуйована зміна вмісту ТНФ- $\alpha$  ( $\Delta$  ТНФ- $\alpha$ ) в ротовій рідині між цими станами (табл. 2). Аналогічний зв'язок відносної зміни вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині (% $\Delta$  ТНФ- $\alpha$ ) був виявлений для всіх видів тривожності в обох досліджуваних станах ( $СТ_{\text{спокій}}$ ;  $СТ_{\text{стрес}}$ ;  $ОТ_{\text{спокій}}$ ;  $ОТ_{\text{стрес}}$ ), тобто жінки з підвищеною як ситуативною, так і особистісною тривожністю були схильні до меншого зростання вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині під дією психоемоційного стресу (табл. 2).

Взаємозв'язок змін вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині з показниками ситуативної та особистісної тривожності у стані відносного спокою та під дією психоемоційного стресу та зі зміною вмісту кортизолу у осіб жіночої статі.

| Зміна ТНФ- $\alpha$<br>Показники тривожності, вмісту кортизолу в ротовій рідині | $\Delta$ ТНФ- $\alpha$<br>(ТНФ- $\alpha_{стрес}$ – ТНФ- $\alpha_{спокої}$ ), пг/мл | % $\Delta$ ТНФ- $\alpha$<br>$\frac{ТНФ\alpha_{стрес} - ТНФ\alpha_{спокої}}{ТНФ\alpha_{спокої}} \times 100\%$ |
|---|--|--|
| СТ <sub>спокої</sub>  | -0,701**   | -0,728*  |
| СТ <sub>стрес</sub>   |  | -0,791*  |
| $\Delta$ СТ<br>(СТ <sub>стрес</sub> – СТ <sub>спокої</sub> )                    |  | -0,556<br>(p=0,120)  |
| ОТ <sub>спокої</sub>  |  | -0,735*  |
| ОТ <sub>стрес</sub>   | -0,515<br>(p=0,073)  | -0,816**   |
| $\Delta$ Кортизол<br>(КОРТ <sub>стрес</sub> – КОРТ <sub>спокої</sub> ), нмоль/л |  | -0,728*  |

Отже, підвищення тривожності та паралельне їй зростання концентрації глюкокортикоїдів в ротовій рідині осіб жіночої статі супроводжується атенуацією зміни вмісту ТНФ- $\alpha$  в ротовій рідині.

#### Перспективи подальших досліджень

Необхідні подальші дослідження гендерних особливостей зміни цитокінового профілю з метою встановлення факторів, що її модулюють.

#### Література

1. Бурмєстр Г.Р. Наглядная иммунология. Пер. с англ. / Г.Р. Бурмєстр, А. Пецутто. – М.: БИНОМ, 2007. – 320 с.
2. Елисеєв О.П. Практикум по психологии личности / О.П. Елисеєв. — СПб.: Питер, 2006. — 512 с.
3. Патент України 70331, МПК G01N 33/00. Спосіб визначення типу реагування організму на психоемоційний стрес / Цубер В.Ю., Тарасенко Л.М.; заявник та патентовласник автори; заявл. 04.11.2011; опубл. 11.06.2012. – Бюл.№11.
4. Цитокінпродукуюча властивість мононуклеарних клітин та рівень ендотеліну в плазмі крові хворих на стабільну стенокардію напруження / Т.І. Гавриленко, В.А. Слободський, О.М. Корніліна [та ін.] // Український медичний часопис. – 2012. – № 2 (88). – С. 134 – 136.
5. Якобісяк М. Імунологія (переклад з польської за редакцією проф. В.В. Чоп'як) / М. Якобісяк. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2004. – 672 с.
6. Beutler B. TNF, immunity and inflammatory disease: lessons of the past decade / B. Beutler // Journal of Investigative Medicine. – 1995. – Vol.43. – P. 227– 235.
7. Cachexia and graft-vs.-host-disease-type skin changes in keratin promotor-driven TNF  $\alpha$  transgenic mice / J. Cheng, K. Turksen, Q.C. Yu [et al] // Genes and Development. – 1992. – Vol. 6. – P. 1444 – 1456.
8. De Muth J.E. Basic statistics and pharmaceutical statistical applications / James E. De Muth. – New York – Basel: Marcel Dekker, Inc., 1999. – 596 p.
9. Febbraio M.A. Muscle-derived interleukin-6: Mechanism for activation and possible biological roles / M.A. Febbraio, B.K. Pedersen // FASEB Journal. – 2002. – Vol. 16. – P. 1335 – 1347.
10. Grunfeld C. The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines / C. Grunfeld, K.R. Feingold // Biotherapy. – 1991. – Vol. 3. № 2. – P. 143 – 158.
11. Russo C. TNF- $\alpha$  as a promising therapeutic target in chronic asthma: a lesson from rheumatoid arthritis / C. Russo, R. Polosa // Clinical Science. – 2005. – Vol.109. – P. 135 – 142.

#### Summary

#### GENDER-DEPENDENT CHANGE OF CONCENTRATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR- $\alpha$ IN WHOLE SALIVA OF YOUNG PEOPLE AT PSYCHOEMOTIONAL STRESS

V. Tsuber, L. Tarasenko

Key words: psychoemotional stress, gender, whole saliva, tumor necrosis factor- $\alpha$ .

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) is a multifunctional proinflammatory cytokine which is copiously produced in response to potentially noxious factors. The impact of psychoemotional stress on concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  in whole saliva of young people and application of its measurement in whole saliva as a potential biomarker of stress reaction was investigated. A relationship of changes in cortisol and tumor necrosis factor- $\alpha$  concentrations in whole saliva was studied. The study demonstrates a significant negative correlation of the changes of cortisol and TNF- $\alpha$  concentrations in whole saliva. Gender differences of TNF- $\alpha$  concentration in whole saliva at psychoemotional stress were investigated. It was found that correlations of cortisol and TNF- $\alpha$  concentrations were only observed in women.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 18.10.2012 р.