

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ЩУРІВ ІЗ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ

Тернопільський національний медичний університет

імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна)

romakhudan90@gmail.com

Прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів, у тому числі і супутніх патологій. В Україні синдром гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) виявляється у 10% здорових дорослих осіб, 13-43% хворих з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця та у 55% хворих з ішемічними інсультами. Водночас, дані щодо взаємозв'язку ГГЦ та генералізованого пародонтиту є обмеженими та суперечливими. Метою роботи було встановити особливості цитокінового профілю сироватки крові та гомогенату пародонта щурів із ліпополісахарид (ЛПС)-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ. Дослідження виконані на 48 нелінійних статевозрілих щурах-самцях, розподілених на 4 групи: контроль (n=12), тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом (n=12), тварини з хронічною тіолактоновою ГГЦ (n=12), тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). Вміст IL-1 β , TNF- α та IL-10 вивчали методом твердофазового імуноферментного аналізу. Встановлено, що ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β) на тлі зниження вмісту протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10), як у гомогенаті пародонта, так і у сироватці крові. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, на що вказує переважання вмісту TNF- α за умови поєднаної патології відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології як у сироватці крові (на 48,1%; $p < 0,001$) так і у гомогенаті пародонта (в 2,3 рази; $p < 0,001$). Таким чином, ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується цитокіновим дисбалансом, що відіграє важливу роль в ініціації і прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту.

Ключові слова: пародонтит, гіпергомоцистеїнемія, інтерлейкіни, гомоцистеїн.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дана робота є фрагментом НДР кафедри ортопедичної стоматології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України «Мультидисциплінарний підхід до вивчення патогенезу та лікування основних стоматологічних захворювань на основі вивчення механізмів пошкодження тканин порожнини рота на тлі супутньої соматичної патології», № державної реєстрації 0119U002431.

Вступ. Генералізований пародонтит (ГП) залишається важливою медико-соціальною проблемою, що зумовлено високою розповсюдженістю захворювання, значним наростанням деструктивних форм уже в

молодому віці, складністю лікування, високою частотою загострень і соціально-економічними збитками [1-3]. Згідно з даними ВООЗ, захворюваність на ГП корелює з віком: у групі осіб від 35 до 44 років поширеність даної патології досягає 50%, у осіб старше – 65-78%, що призводить в 40% випадків до втрати зубів [4]. В Україні поширеність захворювань пародонта серед населення у віці старше 35-ти років складає 85-95% [5].

Є дані про те, що прогресивне руйнування кісткової тканини в пацієнтів з пародонтитом пов'язане з комбінацією інтерлейкінів (IL) 1 β , 6, фактора некрозу пухлин- α (TNF- α) і простагландинів E2. Ці цитокіни можуть не лише ініціювати запальний процес, але й активувати остеокластогенез і резорбцію кісткової тканини остеокластами [1, 6, 7].

Варто вказати, що прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів [4], у тому числі і супутніх загальносоматичних патологій, які вносять істотну відмінність в етіопатогенез захворювань пародонта. Для поєднаних уражень характерним є взаємообтяжений перебіг захворювань, розвиток ускладнень та гірший прогноз, збільшення матеріальних затрат на лікування [8-10].

У зв'язку з цим до перспективних напрямів вивчення патогенезу захворювань пародонта відносять виявлення факторів, які впливають на весь організм людини і тканини пародонта зокрема. Одним із таких факторів є гомоцистеїн (ГЦ) – проміжний продукт метаболізму метіоніну та цистеїну. В Україні високий рівень ГЦ – гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) виявляється у 10% здорових дорослих осіб, 13-43% хворих з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця та у 55% хворих з ішемічними інсультами [11, 12]. Клінічні дослідження встановили, що ГГЦ є мультифакторним процесом і пов'язана з підвищеним ризиком виникнення серцево-судинних захворювань, ускладнень вагітності, остеопорозу, захворювань центральної нервової системи, неалкогольної жирової хвороби печінки, еректильної дисфункції [13-17]. Водночас дані щодо взаємозв'язку підвищеного рівня ГЦ в крові та ГП є обмеженими та суперечливими [18-23].

Таким чином дослідження спрямовані на порівняльне вивчення особливостей патогенезу ГП без супутньої патології і на тлі ГГЦ є актуальними та перспективними щодо поглиблення розуміння молекулярних механізмів формування ГГЦ-асоційованої патології з одного боку, а з іншого – дозволять розкрити нові патогенетичні ланки коморбідного перебігу пародонтиту та будуть важливим кроком до пошуку нових методів патогенетичної терапії даної когорти пацієнтів.

Таблиця 1 – Зміни вмісту ГЦ у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
ГЦ, мкмоль/л	7,40 (6,65; 7,65)	9,87 (8,91; 10,60)	25,95 (23,10; 27,70)	27,60 (25,85; 29,90)
	Критерій Краскела-Уолліса N=40.58; p<0,001*			
	$p_{1-2}=0,230$ $p_{1-3}<0,001^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,046^*$ $p_{2-4}=0,002^*$	$p_{3-4}=0,999$	–

Примітка 1: $p_{1-2}, p_{1-3}, p_{1-4}$ – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; p_{2-3}, p_{2-4} – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; p_{3-4} – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ.

Примітка 2: * – статистично значущі результати.

Мета дослідження: встановити особливості цитокінового профілю сироватки крові та гомогенату пародонта щурів із ліпополісахарид-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом експериментального дослідження були 48 нелінійних статевозрілих щурів-самців з масою 180-200 г, яких утримували в умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні у відповідності до санітарно-гігієнічних норм.

Експериментальне дослідження були проведені з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Усі піддослідні тварини були поділені на такі групи:

I – контрольна група (щури, яким внутрішньошлунково вводили розчин 1 % крохмалю 1 раз на добу) (n=12); II – тварини з ліпополісахарид-індукованим пародонтитом. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) E. Coli («Sigma-Aldrich», США) (n=12) [24]; III – тварини з хронічною тіолактоновою ГГЦ (n=12). Тіолактон ГЦ вводили в дозі 100 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково на 1% розчині крохмалю один раз на добу протягом 42 діб [25]; IV – тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). У тварин цієї групи викликали хронічну тіолактонову ГГЦ як описано вище. Починаючи з 29-ї доби після початку індукування ГГЦ тваринам протягом чотирнадцяти діб паралельно з тіолактоном ГЦ вводили в тканини ясен ЛПС за вищеописаною схемою.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом пункції серця за умов глибокого тіопентал-натрієвого знечуження на наступний день після останнього введення ЛПС (група II та IV), тіолактон ГЦ (група III). Для подальших досліджень використовували сироватку крові та гомогенат пародонта.

Для підтвердження розвитку ГГЦ, а також для визначення рівня ГЦ у щурів з ЛПС-індукованим па-

родонтитом без супутньої патології у сироватці крові тварин визначали вміст загального ГЦ імуноферментним методом з використанням набору фірми «Axis-Shield» (Велика Британія) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі Multiscan FC (Thermo Scientific, Фінляндія) та виражали у мкмоль/л.

Вміст IL-1 β , TNF- α та IL-10 вивчали методом твердофазового імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів «RayBio» виробництва «RayBiotech» (США) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі Multiscan FC (Фінляндія) та виражали у пг/мл (сироватка крові) та у пг/мг (гомогенат пародонта).

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) і «Statistica» 7.0 («Statsoft», США) з використанням непараметричних методів оцінки отриманих даних.

Кількісні характеристики ознак представляли у вигляді медіани та квантилів (нижнього та верхнього) – Me (Lq; Uq). Порівняльний аналіз здійснювали з використанням критерію Краскела-Уолліса. При отриманні його вірогідних значень (p<0,05) подальше попарне порівняння груп проводили з використанням критерію Манна-Уїтні з врахуванням поправки Бонферроні при оцінці значень p. Взаємозв'язок між досліджуваними показниками встановлювали за результатами проведеного кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона.

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчення рівня ГЦ у сироватці крові тварин дослідних груп дозволило встановити, що у щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології даний показник зріс на 33,4 % відносно контрольної групи (табл. 1), проте ці зміни виявилися статистично не вірогідними (p=0,230).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ вміст ГЦ зріс у 3,8 раза (p<0,001) відносно контрольної групи, що у 2,8 раза вірогідно перевищує дані за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст ГЦ у сироватці крові зріс у 3,5 раза (p<0,001) відносно контрольної групи та вірогідно не відрізнявся від даних за умови ЛПС-індукованого пародонтиту на тлі ГГЦ.

Одним з основних медіаторів імунної відповіді є багатофункціональний IL-1 β , який продукується у вигляді неактивного протеїну багатьма клітинами імунної системи у відповідь на молекулярні патерни, зв'язані з патогенами або з пошкодженням [26, 27]. Встановлено, що вміст IL-1 β у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зріс на 60,8 % відносно контрольної групи (табл. 2).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 2,6 раза (p<0,001) відносно контрольної групи, що на 61,0% вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-1 β на 67,5% вірогідно перевищував дані контрольної групи.

У гомогенаті пародонта інтенсивність змін вмісту IL-1 β була вищою відносно сироватки крові. Так,

у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-1 β вірогідно збільшився в 2,1 раза відносно контрольної групи (табл. 2). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 3,2 раза ($p < 0,001$) відносно контрольної групи, що на 53,1% вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-1 β у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

TNF- α є одним із основних медіаторів, що визначає розвиток і прогресування запалення у тканинах пародонта [28]. Крім того, саме TNF- α відводиться ключова роль у патогенезі запально-індукованої втрати кісткової тканини при генералізованому пародонтиті [29]. Результати наших досліджень показали, що вміст TNF- α у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вірогідно зріс в 2,1 раза відносно контрольної групи (табл. 2). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 3,1 раза ($p < 0,001$) відносно контрольної групи, що на 48,1% вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст TNF- α на 86,8% перевищував дані контрольної групи, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними.

У гомогенаті пародонта інтенсивність змін вмісту TNF- α була вищою відносно сироватки крові. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст TNF- α вірогідно збільшився в 2,0 рази відносно контрольної групи (табл. 2). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник збільшився в 4,7 раза ($p < 0,001$) відносно контрольної групи, що в 2,3 раза вірогідно вище показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст TNF- α у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи.

Наші результати співзвучні із результатами В. Al-Ghurabi та співавторів, які встановили підвищення вмісту IL-1 β та TNF- α у сироватці крові пацієнтів з ГП [30]. Н. Oh та співавтори визначаючи вміст IL-1 β у ясенній рідині пацієнтів з ГП, встановили що даний показник корелював із вираженістю запалення [31]. На протипагу цьому, інші дослідники не встановили вірогідних змін вмісту IL-1 β та TNF- α у пацієнтів з хронічним пародонтитом відносно здорових осіб [32, 33].

IL-10 відноситься до визнаних протизапальних цитокінів, але дослідження його вмісту за умови ГП не чисельні [34-36]. Ми встановили, що у сироватці крові щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-10 зменшився на 52,7% ($p = 0,024$) відносно контрольної групи (табл. 2). У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 4,2 раза ($p < 0,001$) відносно

Таблиця 2 – Зміни вмісту інтерлейкінів у сироватці крові та гомогенаті пародонта щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології і на тлі хронічної ГГЦ (Ме [Q25–Q75])

Показник	Група тварин			
	Контроль	Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
	1	2	3	4
Сироватка крові				
IL-1 β , пг/мл	8,30 (7,20; 9,20)	13,35 (10,95; 15,80)	13,90 (13,15; 14,60)	21,50 (19,05; 22,45)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=34,65$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,023^*$ $p_{1-3}=0,006^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,018^*$	$p_{3-4}<0,058$	–
IL-10, пг/мл	17,55 (14,75; 18,35)	8,30 (6,70; 9,20)	7,55 (6,30; 7,95)	4,19 (4,04; 4,38)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=37,59$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,024^*$ $p_{1-3}=0,002^*$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,008^*$	$p_{3-4}<0,076$	–
TNF- α , пг/мл	5,01 (3,20; 7,75)	10,60 (9,70; 11,35)	9,36 (7,40; 11,77)	15,70 (15,10; 16,35)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=36,22$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,018^*$ $p_{1-3}=0,093$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,999$ $p_{2-4}=0,016^*$	$p_{3-4}=0,002^*$	–
Гомогенат пародонта				
IL-1 β , пг/мг	4,80 (4,39; 5,03)	10,06 (8,11; 11,55)	5,95 (5,10; 7,05)	15,40 (13,95; 16,75)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=40,00$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,845$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,148$ $p_{2-4}=0,179$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
IL-10, пг/мг	7,10 (6,30; 8,20)	3,13 (2,83; 3,42)	5,55 (4,85; 6,35)	1,75 (0,91; 1,92)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=41,73$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,001^*$ $p_{1-3}=0,918$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,089$ $p_{2-4}=0,215$	$p_{3-4}<0,001^*$	–
TNF- α , пг/мг	1,98 (1,32; 2,26)	4,01 (3,06; 5,07)	2,25 (2,05; 3,12)	9,35 (8,40; 10,15)
	Критерій Краскела-Уолліса $H=37,00$; $p < 0,001^*$			
	$p_{1-2}=0,007^*$ $p_{1-3}=0,970$ $p_{1-4}<0,001^*$	$p_{2-3}=0,397$ $p_{2-4}=0,004^*$	$p_{3-4}<0,001^*$	–

Примітка 1: p_{1-2} , p_{1-3} , p_{1-4} – вірогідність відмінностей між контрольною групою і дослідними групами; p_{2-3} , p_{2-4} – вірогідність відмінностей між групою з пародонтитом без супутньої патології і групою з ГГЦ та групою із пародонтитом на тлі ГГЦ; p_{3-4} – вірогідність відмінностей між групою з ГГЦ і групою з пародонтитом на тлі ГГЦ.

Примітка 2: * – статистично значущі результати.

контрольної групи, що на 49,5% вірогідно нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології. Варто вказати, що у тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-10 на 57,0% був вірогідно нижчий даних контрольної групи.

Аналогічна тенденція щодо змін IL-10 спостерігалась і у гомогенаті пародонта. Так, у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом вміст IL-10 вірогідно зменшився на 55,9 % відносно контрольної групи. У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ даний показник зменшився в 4,1 раза ($p < 0,001$) відносно контрольної групи, що в

Таблиця 3 – Кореляційні зв'язки між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів за умови ЛПС-індукованого пародонтиту на тлі хронічної ГГЦ (r_{xy})

Кореляційні зв'язки між показниками		Дослідна група		
		Пародонтит	ГГЦ	Пародонтит на тлі ГГЦ
ГЦ, мкмоль/л	IL-4 (сироватка крові)	r=-0,41 p=0,182	r=0,29; p=0,355	r=-0,41; p=0,131
	IL-4 (гомогенат пародонта)	r=-0,07; p=0,826	r=-0,43; p=0,168	r=0,01; p=0,965
	IL-1β (сироватка крові)	r=0,46 p=0,135	r=0,77; p=0,004*	r=0,82; p=0,001*
	IL-1β (гомогенат пародонта)	r=0,80; p=0,002*	r=0,50; p=0,141	r=0,74; p=0,006*
	IL-10 (сироватка крові)	r=0,43 p=0,160	r=0,21; p=0,507	r=-0,41; p=0,181
	IL-10 (гомогенат пародонта)	r=0,41; p=0,122	r=-0,25; p=0,435	r=-0,52; p=0,231
	TNF-α (сироватка крові)	r=0,43 p=0,168	r=0,85; p<0,001*	r=0,76; p=0,004*
	TNF-α (гомогенат пародонта)	r=0,75; p=0,005*	r=0,09; p=0,786	r=0,78; p=0,003*

Примітка: * – статистично значущі результати.

1,8 раза нижче показника за умови ЛПС-індукованого пародонтиту без супутньої патології, але ці зміни виявилися статистично не вірогідними. У тварин з ізольованою хронічною тіолактоновою ГГЦ, вміст IL-10 у гомогенаті пародонта вірогідно не змінився відносно контрольної групи. Отримані результати співзвучні із даними Д.В. Шмідт, яка визначила двократне підвищення вмісту IL-10 у ясенній рідині пацієнтів з ГП відносно здорових осіб [37].

Отже, ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією прозапальних TNF-α та IL-1β на тлі зниження вмісту протизапального цитокіну IL-10, що відіграє важливу роль в ініціації і прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна тіолактонова ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, на що вказує переважання вмісту TNF-α за умови поєднаної патології відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології як у сироватці крові (на 48,1%; p<0,001) так і у гомогенаті пародонта (в 2,3 раза; p<0,001). Ймовірно, посилення продукції прозапальних цитокінів відбувається за рахунок збільшення експресії генів,

що в свою чергу пов'язане з тим, що хронічна ГГЦ активує ядерний фактор транскрипції κB (NF-κB) [38]. Відомо, що NF-κB бере участь в регуляції адаптивної імунної відповіді та стимулює синтез прозапальних цитокінів (TNF-α, IL1β), прозапальних ензимів (індуцибельної синтази нітроген (II) оксиду, циклооксигенази-2), молекул адгезії лейкоцитів, які в подальшому, посилюють міграцію лейкоцитів в стінку судини, тим самим збільшують цитотоксичність лейкоцитів [39, 40].

Проведений кореляційний аналіз між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом про- та протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові і гомогенаті пародонта у щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології виявив вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ та вмістом IL-1β і TNF-α у гомогенаті пародонта (табл. 3).

У щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі хронічної тіолактонової ГГЦ встановлено вірогідну пряму взаємодію високої сили між рівнем ГЦ у сироватці крові та вмістом IL-1β і TNF-α, як у сироватці крові, так і у гомогенаті пародонта.

Отже, проведенні нами дослідження дозволяють зробити наступні висновки: ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-1β) на тлі зниження вмісту протизапального цитокіну IL-10, як у гомогенаті пародонта, так і у сироватці крові, що відіграє важливу роль в ініціації і прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту.

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні наукової роботи з дослідження цитокінового профілю та інших маркерів запалення у сироватці крові та гомогенаті пародонта за умови експериментального пародонтиту на тлі хронічної ГГЦ в умовах корекції.

Література

- Riznyk SS, Riznyk YuB. Tsytokinovy status khvorykh na heneralizovanyi parodontyt na tli tsukrovoho diabetu II typu. Suchasna stomatolohiia 2020;4:22-25. [in Ukrainian].
- Popovych IYu, Petrushanko TO. Mozhlyvosti likuvannya patsientiv iz khronichnym heneralizovanyim parodontytom. Visnyk stomatolohii. 2020;2(111):27-33. [in Ukrainian].
- Suragimath G, Doshi D, Varma S, A. Zope S, SRA. Effect of non-surgical periodontal therapy on salivary and serum leptin levels in patients with generalized stage II grade B periodontitis. Journal of Stomatology. 2021;74(2):84-88.
- Mashchenko IS, Hudar'ian OO, Kucherenko TO. Klinichni, imunolohichni ta metabolichni osoblyvosti zahostrenoho i shvydko prohresuiuchoho variantiv heneralizovanoho parodontyta. Suchasna stomatolohiia 2020;4:26-32. [in Ukrainian].
- Kolenko YuH, Volovyk IA, Mialkivskiy KO. Vplyv zakhvoriuvan tkanyn parodonta na yakist zhyttia patsientiv. Suchasna stomatolohiia. 2021;2:36-42. [in Ukrainian].
- Shcherba VV, Krynytska IYa, Korda MM. Zminy tsytokinovoho profilu v shchuriv z parodontytom na tli hiper- ta hipotyreozy. Medychna ta klinichna khimiia. 2019;21(2):36-43. [in Ukrainian].
- Duvina M, Barbato L. Biochemical markers as predictors of bone remodelling in dental disorders: a narrative description of literature. Clin. Cases Miner. Bone Metab. 2012;9(2):100-106.
- Naumova VN, Krynytska SV, Maslak EE. Vzaimosvyaz stomatologicheskikh i somaticheskikh zabolevaniy: obzor literatury. Volgogradskiy nauchno-meditsynskiy zhurnal. 2016;2:25-28. [in Russian].
- Leonteva EYu, Bykovskaya TYu, Kyreev VV. Analiz komorbidnosti stomatologicheskoy i obshchesomaticheskoy patologii meditsynskikh robotnikov. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2017;4:1. [in Russian].
- Prodanchuk AI, Kiiun ID, Kroitor MO. Zakhvoriuvannya parodonta i somatychna patolohiia. Bukovyns'kyu medychnyy visnyk. 2012;16(2):164-168. [in Ukrainian].
- Yurchenko PO, Melnyk AV, Zaichko NV, Yoltukhivskiy MM. Osoblyvosti obminu homostysteinu ta hidrohen sulfidu v tsentralnii nervovii systemi. Medychna khimiia. 2014;3(60):90-96. [in Ukrainian].

12. Nechyporuk VM, Zaichko NV, Melnyk AV, Ostreniuk RS, Korda MM. Vplyv khronichnoi hiperhomotsysteinemii na metabolizm sirkovmisykh aminokyslot u nyrkakh shchuriv pry hiper- ta hypotyreozi. *Visnyk naukovykh doslidzhen*. 2019;1:97-102. [in Ukrainian].
13. Nekrut DO. Vplyv hiperhomotsysteinemii na formuvannia nealkoholnoi zhyrovoy khvoroby pechinky u shchuriv. *Visnyk morfolohii* 2016;1:22:40-45. [in Ukrainian].
14. Smith AD, Refsum H. Homocysteine – from disease biomarker to disease prevention. *J. Intern. Med.* 2021;2021:1-29. doi: 10.1111/joim.13279.
15. Rehman T, Shabbir MA, Inam-Ur-Raheem M, Manzoor MF, Ahmad N, Liu ZW, et al. Cysteine and homocysteine as biomarker of various diseases. *Food Sci. Nutr.* 2020;8:4696-4707.
16. Cordaro M, Siracusa R, Fusco R, Cuzzocrea S, Di Paola R, Impellizzeri D. Involvements of hyperhomocysteinemia in neurological disorders. *Metabolites*. 2021;11:37.
17. Salvio G, Ciaroni A, Cutini M, Balercia G. Hyperhomocysteinemia: Focus on endothelial damage as a cause of erectile dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:418.
18. Mallapragada S, Kasana J, Agrawal P. Effect of Nonsurgical Periodontal Therapy on Serum Highly Sensitive Capsule Reactive Protein and Homocysteine Levels in Chronic Periodontitis: A Pilot Study. *Contemp Clin Dent.* 2017;8(2):279-285.
19. Penmetsa GS, Bhaskar RU, Mopidevi A. Analysis of plasma homocysteine levels in patients with chronic periodontitis before and after nonsurgical periodontal therapy using high-performance liquid chromatography. *Contemp Clin Dent.* 2020;11:266-273.
20. Botelho J, Machado V, Leira Y, Proença L, Mendes JJ. Periodontal Inflamed Surface Area Mediates the Link between Homocysteine and Blood Pressure. *Biomolecules*. 2021;11(6):875.
21. Navarro BG, Salas EJ, López JL, Sala XP. Is there a relationship between dental and/or periodontal pathology and values of C-reactive protein, homocysteine and lipoprotein (a) in patients with cardiovascular disease? A Case Control Study. *Journal of Current Medical Research and Opinion.* 2020;3(05):451-458.
22. Stanisic D, Jovanovic M, George AK, Homme RP, Tyagi N, Singh M, et al. Gut microbiota and the periodontal disease: role of hyperhomocysteinemia. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(1):9-17.
23. Krivosheyeva EM, Fefelova EV, Borodulina II, Sepp AV, Borodulina NV. Effektivnost adaptogenov pri eksperimentalnom parodontite na fone giperhomotsisteinonii. *Byulleten VSNTS SO RAMN.* 2010;3(73):221-225. [in Russian].
24. Moiseyeva EG. *Metabolicheskiy gomeostaz i immunnaya reaktivnost organizma v dinamike vospaleniya v tkanyakh parodonta (eksperimentalnoye issledovaniye) [dysertatsiia]*. Moskva: Rossiyskiy Universitet druzhby narodov; 2008. 45 s. [in Russian].
25. Stangl GI. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp. Biol. Med.* 2007;232(1):81-87.
26. Zinina EP, Tsarenko SV, Logunov DYU, Tukhvatulin AI, Babayants AV, Avramov AA. Rol provospalitelnykh i protivovospalitelnykh tsitokinov pri bakteriynoy pnevmonii. *Obzor literatury. Vestnik intensivnoy terapii im. A.I. Saltanova.* 2021;1:77-89. [in Russian].
27. Krynytska I, Marushchak M, Svan O, Akimova V, Mazur L, Habor H. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption. *Georgian Medical News.* 2018;(279):196-200.
28. Sabirova AI. Tsitokinovyy status u bolnykh generalizovannym parodontitom i metabolicheskim sindromom. *Vestnik KRSU.* 2016;16(7):102-105. [in Russian].
29. Borysenko AV, Kolenko YUH, Linovytska LV, Nesin OF, Timokhina TO, Pechkovskyy KYE. Osoblyvosti mistsevoho imunitetu porozhnyny rota u khvorykh na generalizovany parodontyt i suputni zahalni zakhvoryuvannya. *Suchasna stomatolohiya.* 2019;5:34-39. [in Ukrainian].
30. Al-Ghurabi BH, Shaker ZF, Al-Hassan AA. Clinical relevance of IL-1B/IL-10 and TNF-A/IL-10 ratio in chronic periodontitis patients. *Int J Recent Sci Res.* 2013;4(3):275-277.
31. Oh H, Hirano J, Takai H, Ogata Y. Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1β level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. *Int J Oral Sci.* 2015;57(2):67-71.
32. Ikezawa-Suzuki I, Shimada Y, Tai H, Komatsu Y, Tanaka A, Yoshie H. Effects of treatment on soluble tumour necrosis factor receptor type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008;35(11):961-968.
33. Elkhoul A. The efficacy of host response modulation therapy (omega-3 plus low-dose aspirin) as an adjunctive treatment of chronic periodontitis (Clinical and biochemical study). *J Periodontol Res.* 2011;46(2):261-268.
34. Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL)-17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009;36(5):396-403.
35. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int J Oral Sci.* 2019;11:30.
36. Shcherba V, Krynytska I, Marushchak M, Korda M. Does thyroid dysfunction influence inflammatory mediators in experimental periodontitis? *Endocrine regulations.* 2021;55(3):101-111.
37. Shmidt DV. Tsitokiny desnevoy zhidkosti: ikh rol v patogeneze i kontrole lecheniya khronicheskogo parodontita [dysertatsiia]. Perm: Institut ekologii i genetiki mikroorganizmov UrO RAN; 2009. 21 s. [in Russian].
38. Lazzerini PE, Selvi E, Lorenzini S, Capocchi PL, Ghittoni R, Bisogno S, et al. Homocysteine enhances cytokine production in cultured synovialocytes from rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(4):387-393.
39. Wang XJ, Tian DC, Wang FW, Zhang MH, Fan CD, Chen W, et al. Astaxanthin inhibits homocysteine-induced endothelial cell dysfunction via the regulation of the reactive oxygen species-dependent VEGF-VEGFR2-FAK signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2019;19(6):4753-4760.
40. Myslivets MG, Naumov AV, Paramonova NS. Rol' gomotsisteina v razvittii yuvenilnogo revmatoidnogo artrita. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2017;2:144-148. [in Russian].

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ЩУРІВ ІЗ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ

Худан Р. І., Кирилів М. В., Бекус І. Р., Корда М. М.

Резюме. Прогресування деструктивних явищ у пародонтальних тканинах залежить від багатьох факторів, у тому числі і супутніх патологій. В Україні синдром гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) виявляється у 10% здорових дорослих осіб, 13-43% хворих з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця та у 55% хворих з ішемічними інсультами. Водночас, дані щодо взаємозв'язку ГГЦ та генералізованого пародонтиту є обмеженими та суперечливими. Метою нашої роботи було встановити особливості цитокінового профілю сироватки крові та гомогенату пародонта щурів із ліпополісахарид (ЛПС)-індукованим пародонтитом на тлі хронічної ГГЦ. Дослідження були виконані на 48 нелінійних статевозрілих щурах-самцях, розподілених на 4 групи: контроль (n=12), тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом (n=12), тварини з хронічною тіолактоновою ГГЦ (n=12), тварини з ЛПС-індукованим пародонтитом на тлі ГГЦ (n=12). Вміст IL-1β, TNF-α та IL-10 ми вивчали методом твердофазового імуноферментного аналізу. Нами було встановлено, що ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-1β) на тлі зниження вмісту проти-запальних цитокінів (IL-4, IL-10), як у гомогенаті пародонта, так і у сироватці крові. Хронічна ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту, на що вказує переважання вмісту TNF-α за умови

поєднаної патології відносно щурів з ЛПС-індукованим пародонтитом без супутньої патології як у сироватці крові (на 48,1%; $p < 0,001$) так і у гомогенаті пародонта (в 2,3 рази; $p < 0,001$). Таким чином, наше дослідження показало, що ЛПС-індукований пародонтит у щурів супроводжується цитокіновим дисбалансом, що відіграє важливу роль в ініціації і прогресуванні пародонтиту та запуску метаболічних каскадних реакцій. Хронічна ГГЦ посилює цитокіновий дисбаланс за умови ЛПС-індукованого пародонтиту.

Ключові слова: пародонтит, гіпергомоцистеїнемія, інтерлейкіни, гомотеїн.

EFFECT OF CHRONIC HYPERHOMOCYSTEINEMIA ON THE CYTOKINE PROFILE OF RATS WITH LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED PERIODONTITIS

Khudan R. I., Kyryliv M. V., Bekus I. R., Korda M. M.

Abstract. The progression of destructive event in periodontal tissues depends on many factors, including comorbid somatic pathologies. In Ukraine, the syndrome of hyperhomocysteinemia (HHcy) is found in 10% of healthy adults, 13-43% of patients with arterial hypertension and coronary heart disease and 55% of patients with ischemic strokes. Data on the relationship between HHcy and generalized periodontitis are limited and contradictory. **Purpose of work:** to establish the features of the cytokine profile of blood serum and periodontal homogenate of rats with lipopolysaccharide (LPS)-induced periodontitis combined with chronic HHcy. **Object and methods.** The study included 48 mature inbred white male rats, which were randomly divided into the following groups: control ($n=12$); animals with a model of periodontitis ($n=12$). For two weeks, the rats in this group were injected 40 μL (1 mg/mL) of *E. coli* LPS (manufactured by Sigma-Aldrich, USA) into gingival tissues every other day; rats with chronic thiolactone HHcy ($n=12$). Homocysteine thiolactone was administered intragastrically (100 mg/kg of body weight in 1 % solution of starch) once a day for 42 days; animals with a model of periodontitis combined with HHcy ($n=12$). The contents of TNF- α , IL-1 β and IL-10 were studied by a solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay using RayBio reagent kits manufactured by RayBiotech (USA) according to the manufacturer's protocol on a Multiscan FC analyzer (Thermo Scientific, Finland). **Results.** It was found that LPS-induced periodontitis in rats is accompanied by hyperproduction of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β) on the background of reduced anti-inflammatory cytokine (IL-10), both in periodontal homogenate and in blood serum. Chronic HHcy exacerbates cytokine imbalance in LPS-induced periodontitis, as indicated by the significant predominance of TNF- α contents in rats with LPS-induced periodontitis combined with HHcy vs. rats with LPS-induced periodontitis without comorbid pathology both in blood serum (by 48.00%) and in the periodontal homogenate (by 2.3 times). **Conclusions.** LPS-induced periodontitis in rats is accompanied by cytokine dysbalance, which plays an important role in the initiation and progression of periodontitis and the initiation of metabolic cascade reactions. Chronic HHcy exacerbates cytokine imbalance in LPS-induced periodontitis.

Key words: periodontitis, hyperhomocysteinemia, interleukins, homocysteine.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Khudan R. I.: 0000-0002-7127-5832^{ABD}

Kyryliv M. V.: 0000-0001-5251-5637^{BE}

Bekus I. R.: 0000-0002-7164-8977^C

Korda M. M.: 0000-0002-6066-5165^{AF}

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Худан Роман Іванович

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1

Тел.: +380501732043

E-mail: romakhudan90@gmail.com

А – концепція роботи та дизайн, В – збір та аналіз даних, С – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Гасюк П. А.

Стаття надійшла 03.02.2021 року

Стаття прийнята до друку 13.08.2021 року