

УДК: 616.311.2+616.314.17-008.6+616.716.85-02-056.3)J-002-07: 616.155.3-097.37-07J-092.6

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617832>

**ОСОБЛИВОСТІ ЗРУШЕНЬ ПРО- ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИХ
ЦИТОКІНІВ У КРОВІ МУРЧАКІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА ЇХ
ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ**

Регада М. С., Сольвар З. Л.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна, lvivmedinst@gmail.com*

**ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЙ ПРО- И
ПРОТИВОВОСПИСАЮЩИХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ МУРЧАКОВ
ПО УСЛОВИЯМ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ПАРОДОНТИТА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЬВЕОЛИТА И
ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ**

Регада М. С., Сольвар З. Л.

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила
Галицкого, г. Львов, Украина*

**CHARACTERISTICS OF CHANGES IN PRO- AND ANTI-
INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE BLOOD OF ANTS UNDER
THE CONDITIONS OF THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL
PERIODONTITIS AND EXPERIMENTAL ALVEOLITIS AND THEIR
PHARMACOLOGICAL CORRECTION**

Regeda M. S., Solvar Z. L.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Summary/Резюме

The purpose of this study was to find out the dynamics of changes in the pro-inflammatory: tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) and anti-inflammatory: interleukin-10 (IL-10) cytokines in the blood serum of guinea pigs under the conditions of experimental periodontitis and experimental allergic alveolitis development and the effect of L-arginine on these changes. Experimental studies were carried out on 46 guinea pigs (males) weighing 300 — 350 g, divided into 6 groups of 9 animals in each, except for the first (10 animals): the first — healthy animals — control; the second group — animals with experimental periodontitis (EP) and experimental allergic alveolitis (EAA) on the 4th day of the experiment, the third group included guinea pigs with EP and EAA on the 7th day of disease simulation, the fourth group — animals on the 14th day of comorbid pathology, fifth group- guinea pigs on the 24th day of disease model and sixth — animals with EP and EAA on the 24th day after treatment with the drug L-arginine, which was administered intramuscularly in a dose of 150 mg/kg for 10 days. The experimental model of periodontitis was reproduced according to

the method of O.N. Voskresensky, allergic alveolitis — according to the method of O. Orekhov, Yu. A. Kyrlov. In all groups of guinea pigs, the concentration of cytokines: TNF- β , IL-6, and IL-10 in blood serum was determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using test systems from the company “Diacclone” (France). Animals were euthanized by decapitation in compliance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Statistical processing of the obtained data was carried out according to the Student’s method.

The results indicate that under the conditions of the combined pathology development, cytokine balance, disturbance was observed what is manifested by the activation of the pro-inflammatory fraction (TNF- β and IL-6) against the depression of the anti-inflammatory fraction (IL-10). The use of L-arginine for 10 days had a positive corrective effect on the changed indicators of cytokines.

Key words: *experimental parotitis, experimental allergic alveolitis, cytokines, L-arginine.*

Метою даного дослідження стало з’ясування динаміки змін у прозапальних: фактору некрозу пухлин (ФНП- β) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та протизапальних: інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) цитокінів у сироватці крові мурчаків за умов розвитку експериментального пародонтиту та експериментального алергічного альвеоліту та вплив препарату L-аргініну на дані зміни. Експериментальні дослідження проводились на 55 морських свинках (самцях) масою 300 — 350 г, поділених на 6 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин): перша — інтактні тварини — контроль; друга група — тварини з експериментальним пародонтитом (ЕП) та експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА) на 4-у добу експерименту, до третьої групи відносили морські свинки з ЕП та ЕАА на 7-у добу моделювання хвороб, до четвертої — тварини на 14-у добу коморбідної патології, п’ята група — мурчаки з поєднаною патологією на 24- у добу, які не одержували лікування і до шостої — тварини з ЕП та ЕАА на 24-у добу після лікування препаратом L- аргініном, який вводили внутрішньом’язово у дозі 150 мг/кг протягом 10 днів. Експериментальну модель пародонтиту відтворювали за методом Воскресенського О.Н., алергічного альвеоліту — за методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова. Усім групам морських свинок здійснювали визначення концентрації цитокінів: ФНП- β , ІЛ-6 та ІЛ-10 в сироватці крові за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми “Diacclone” (Франція). Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати свідчать про те, що за умов розвитку поєднаної патології відбувається порушення цитокінового балансу, яке проявляється активацією прозапальної фракції (ФНП- β та ІЛ-6) на тлі депресії протизапальної фракції (ІЛ-10). Застосування L- аргініну протягом 10 днів мало позитивний коригуючий вплив на змінені показники цитокіногенезу.

Ключові слова: *експериментальний пародонтит, експериментальний алергічний альвеоліт, цитокіни, L-аргінін.*

Целью данного исследования стало выяснение динамики изменений в провоспалительных: фактора некроза опухолей (ФНО-б) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) и противовоспалительных: интерлейкина-10 (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови морских свинок в условиях развития экспериментального пародонтита и экспериментального аллергического альвеолита и влияние препарата L-аргинина на данные изменения. Экспериментальные исследования проводились на 55 морских свинках (самцах) массой 300 — 350 г, разделенных на 6 групп по 9 животных в каждой, кроме первой (10 животных): первая группа — контроль; вторая группа — животные с экспериментальным пародонтитом (ЭП) и экспериментальным аллергическим альвеолитом (ЭАА) на 4-е сутки эксперимента, к третьей группе относили морские свинки с ЭП и ЕАА на 7-е сутки моделирования болезни, к четвертой — животные на 14-е сутки коморбидной патологии, пятая группа — морские свинки с коморбидной патологией на 24-е сутки эксперимента которые не получали лечение и шестая группа — животные с ЭП и ЕАА на 24-е сутки после лечения препаратом L-аргинином, который вводили внутримышечно в дозе 150 мг/кг в течение 10 дней. Экспериментальную модель пародонтита воспроизводили по методу Воскресенского А.Н., аллергического альвеолита — по методу О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова. Всем группам морских свинок определяли концентрации цитокинов: ФНО-б, ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови с помощью иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) с использованием тест-систем фирмы «Diacclone» (Франция). Эвтаназию животных проводили путем декапитации с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Статистическую обработку полученных данных осуществляли по методу Стьюдента.

Результаты свидетельствуют о том, что при развитии коморбидной патологии происходит нарушение цитокинового баланса, которое проявляется активацией провоспалительной фракции (ФНО-б и ИЛ-6) на фоне депрессии противовоспалительной фракции (ИЛ-10). Применение L-аргинина в течение 10 дней оказало положительное корректирующее влияние на измененные показатели цитокиногенеза.

Ключевые слова: экспериментальный пародонтит, экспериментальный аллергический альвеолит, цитокины, L-аргинин.

Ротова порожнина має різні середовища проживання мікробів, включаючи зуби, ясенну борозну, ясна, язик, внутрішню частину щоки, тверде та м'яке піднебіння. У ротовій порожнині людини міститься другий за різноманітністю мікробіом в організмі, який нараховує понад 700 видів бактерій. [1] Тонко налаштована рівновага екосистеми мікробіома порожнини рота підтримує здоров'я порожнини рота. Дисбактеріоз порожнини рота, спричинений харчовими звичками та поганою гігієною порожнини рота, призводить до різних захворювань

ротової порожнини, таких як пародонтит, карієс, гінгівіт та рак порожнини рота[2].

Пародонтит — це запальне захворювання, яке пошкоджує м'які тканини і без лікування може призвести до прогресуючої деструкції періодонтальної зв'язки та альвеолярної кістки з утворенням пародонтальної кишені, рецесії ясен і навіть втрати зуба[3]. Захворювання пародонта не тільки вражають тканини ясен, але також вважаються потенційним фактором ризику системних захворювань через вплив бактерій

із тканин пародонта на кров і, як наслідок, утворення медіаторів запалення[4]. Останні наукові дослідження виявили кореляцію між мікробіомом ротової порожнини та системними захворюваннями, такими як захворювання легень, серцево-судинні захворювання, ревматоїдний артрит, хвороба Альцгеймера та інші метаболічні захворювання. Оскільки ротова порожнина безпосередньо з'єднується з верхніми дихальними шляхами, ротовий мікробіом має легший доступ до дихальної системи порівняно з іншими системами органів. Пряма аспірація ротової мікрофлори в дихальну систему та імунна реакція господаря та запалення, спричинені дисбактеріозом порожнини рота, головним чином відповідають за різні легеневі ускладнення[5]. Стан цитокінового профілю, як одного з основних компонентів регулятора імунної відповіді, має важливе значення для вивчення особливостей патогенезу прояву пародонтиту в асоціації з перебігом алергічного альвеоліту [9, 10]. Тому метою нашого дослідження було з'ясування змін рівнів прозапальних: інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактору некрозу пухлин (ФНП-б) та протизапальних: інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) цитокінів у сироватці крові мурчаків за умов розвитку експериментального пародонтиту та експериментального алергічного альвеоліту та вплив на них препарату L-аргініну.

Матеріал і методи дослідження

Експериментальні дослідження проводились на 46 морських свинках (самцях) масою 300 — 350 г, поділених на 5 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин): перша — інтактні тварини — контроль; друга група — тварини з експериментальним пародонтитом (ЕП) та експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА) на 4-у добу експерименту, до третьої групи відносили морські свинки з ЕП та ЕАА на 7-у добу моделювання хвороби, до четвертої —

тварини на 14-у добу коморбідної патології, до шостої — тварини з ЕП та ЕАА, п'ята група — мурчаків з поєднаною патологією на 24-у добу, які не одержували лікування і до шостої — тварини з ЕП та ЕАА на 24-у добу після лікування препаратом L-аргініном, який вводили внутрішньом'язево у дозі 150 мг/кг протягом 10 днів. Експериментальну модель пародонтиту відтворювали за методом Воскресенського О.Н.[5]. алергічного альвеоліту — за методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова[6]. Усім групам морських свинок здійснювали визначення концентрації цитокінів: ФНП-б, ІЛ-6 та ІЛ-10 в сироватці крові за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми "Diacclone" (Франція). Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

На основі проведених досліджень було встановлено, що при поєднанні пародонтиту з алергічним альвеолітом характерним є достовірне підвищення концентрації ФНП-б на 70,0 та 75,3 % ($p < 0,05$), ІЛ-6 — на 50,0 та 58,7 % ($p < 0,05$), починаючи вже з раннього періоду (4-7-ма доби) цих патологій та досягаючи максимуму на 14 добу відповідно — концентрації ФНП-б — на 58,5 % ($p < 0,05$), ІЛ-6 — на 58,0 % ($p < 0,05$) порівняно з першою групою експериментальних тварин. Водночас індекс ІЛ-10 характеризується зниженням титру в сироватці крові мурчаків у всі періоди (4, 7, 14-та доби) розвитку ЕП та ЕАА: на 40, 42 та 43,2 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з контрольною групою. Наростає пригнічення продукції ІЛ-10 як цитокіну протизапальної природи

свідчать про посилення запальної відповіді в експериментальних тварин. З метою корекції цитокінового дисбалансу було проведено лікування тварин препаратом L-аргініном протягом 10 днів (з 14-ї по 24-у доби) експерименту. Цей препарат вводили внутрішньо м'язово у дозі 150 мг/кг 1 раз на добу впродовж 10 днів.

На сьогодні вже відомі коригуючі ефекти препарату L-аргініну на запальну відповідь організму. Зокрема встановлено, що даний середник знижує продукцію вільних радикалів та їх накопичення, пригнічує вивільнення блокатора NO-синтази, запобігає продукції факторів адгезії лейкоцитів та тромбоцитів до ендотелію [7,8]. Застосування цього медичного середника протягом 10 діб мурчакам з експериментально поєднаними патологіями — пародонтитом та алергічним альвеолітом спричиняло достовірне зниження продукції прозапальних цитокінів — ФНП- α на 36,8 % ($p < 0,05$), IL-6 відповідно — на 28,0 %. ($p < 0,05$) у порівнянні з групою тварин, яким лікування не проводилось та підвищення потенціалу протизапального індексу IL-10 на 52 % ($p < 0,05$) порівнюючи з мурчаками, які не отримували цього медичного середника на 24-у добу цих модельних процесів, що є наслідком вираженої позитивної протизапальної дії даного фармацевтичного препарату (Рис. 1)

Висновки

За умов розвитку коморбідної патології — експериментального пародонтиту та експериментального алергічного альвеоліту відбувається порушення цитокінового балансу, яке проявляється активацією прозапальної фракції, що представлена у наших дослідженнях ФНП- α та IL-6 на тлі стійкого пригнічення титру протизапального цитокі-

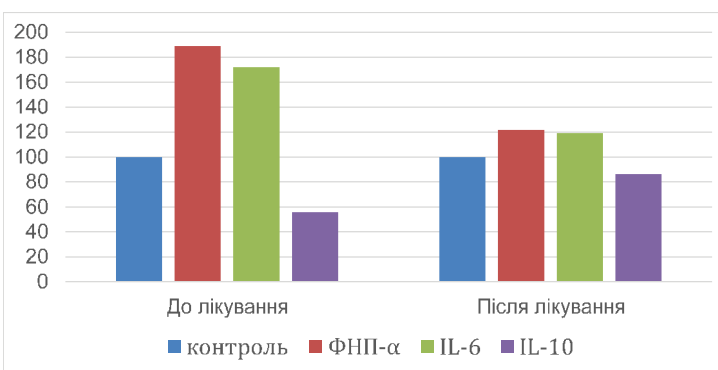


Рис. 1 Зміни рівнів цитокінів в сироватці крові тварин при експериментальному пародонтиті та експериментальному алергічному альвеоліті до- та після лікування L-аргініном.

ну- IL-10. Застосування препарату L-аргініну мало коригувальний вплив на змінені показники, зокрема рівень прозапальних цитокінів зазнав тенденції до зниження в умовах активації протизапальної фракції. Одержані результати дозволяють розширювати напрями майбутніх досліджень, зосереджених на мікробіомі порожнини рота, щоб обґрунтувати нові терапевтичні підходи, щодо запобігання або лікування різних легневих ускладнень.

Ключові слова: експериментальний пародонтит, експериментальний алергічний альвеоліт, цитокіни, L-аргінін.

Література

1. Avila M., Ojcius D., Yilmaz O. The human oral microbiom. *J. Bacteriol.* 2010; 192: 5002-5017.
2. Zaura E., Nicu E.A., Krom B.P., Keijser B.J. Proteomic analysis of a noninvasive human model of acute inflammation and its resolution: the twenty-one day gingivitis model. *J. Proteome Res.* 2010; 9: 4732-4744.
3. Seymour G.J., Cullinan M.P., Leishman S., Yamazaki K. The oral microbiome in health and its implication in oral and systemic diseases. *Adv. Appl. Microbiol.* 2016; 97: 171-210.
4. Casarin R.C., Barbagallo A., Meulman T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 28: 1-15.
5. Воскресенский О. Н. Доклиническое изу-

- чення средств профилактики и лечения пародонтита: Метод. рекомендации. К.: Авиценна. 2002. 16 с.
6. Орехов О. О., Кирилов Ю. А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите 1985. Архив патологии. № 10. С. 54–61
 7. Bucur R.H., Ron E.S. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern. Med. Rev.*, -2005- 10 (1): 14–23.
 8. Барна О. М., Сірик В. О., Гдиря О. В. L – аргінін: нові можливості застосування. Ліки України. 2018 №3 (219), 25-26.
 9. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Регеда С.М., Фурдичко Л.О. Запалення: механізми пошкодження та захисту. — Львів. 2021. — 177 с.
 10. Регеда М.С., Грицько Р.Ю., Гайдучок І.Г., Любінець Л.А., Пиндус Т.О. Екзогенний алергічний альвеоліт. Монографія. Видання друге, доп. та перероб. — Львів: В — во “Сполом”, 2007.-200 с.
- References**
1. Avila M., Ojcius D., Yilmaz O. The human oral microbiom. *J. Bacteriol.* 2010; 192: 5002-5017.
 2. Zaura E. Nicu E.A Krom B.P. Keijser B.J. Proteomic analysis of a noninvasive human model of acute inflammation and its resolution: the twenty-one day gingivitis model. *J. Proteome Res.* 2010; 9: 4732-4744
 3. Seymour G.J. Cullinan M.P. Leishman S. Yamazaki K. The oral microbiome in health and its implication in oral and systemic diseases. *Adv. Appl. Microbiol.* 2016; 97: 171-210
 4. Casarin R.C. Barbagallo A Meulman T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 28: 1-15.
 5. Voskresenskij O.N. Doklinicheskoje uzyczenija sredstv profilactiki I lechenija parodontita: Metod. recomendacii. К.: Avicenna 2002. 16 s.
 6. Orekhov, O.O. & Kirilov, Yu.A. 1985. Patomorfologiya legkikh i mikrotsirkulyatornogo rusla malogo kruga krovoobrashcheniya pri khronicheskom eksperimentalnom allergicheskom alveolite. *Arkhirv patologii.* № 10. С. 54–61
 7. Bucur R.H., Ron E.S. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern. Med. Rev.*, -2005- 10 (1): 14–23.
 8. Barna O. M. Siruk V. O., Gdyrja O. V. L – arginin: novi mozlivosti zastosyvannja Liku Ukrainu. 2018 №3 (219), 25-26.
 9. Regeda M.S., Regeda-Furdychko M.M., Regeda S.M., Furdychko L.O. Zapalennja: mehanizmu pochkodzennja i zachusty. — Lviv. 2021. — 177 p.
 10. Regeda M.S., Hrytsko R.Yu., Haidychok I.G., Lyubinets L.A., Pundys T.O. Exzogennej alergichnij alveolit Monographija. Druge vydannja- Lviv: In “Spolom”, 2007.-200 p.
- Вперше надійшла до редакції 24.12.2022 р.
 Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування