

Зміни експресії мРНК TLR 2 і 4 типу, ядерного фактора κВ і прозапальних цитокінів ІЛ-1β і ІЛ-17А епітелієм ротової порожнини у дітей з особливими потребами

Ю. М. Колесник, О. М. Камишний, М. А. Гавриленко

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:
діти з особливими потребами,
хронічний катаральний гінгівіт, рецептори вродженого імунітету, ІЛ-1β, ІЛ-17А.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 4–9

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.1.129332

E-mail:
zpstomat@ukr.net

Мета роботи – оцінити відносний рівень мРНК прозапальних цитокінів ІЛ-1β і ІЛ-17А, толл-подібних рецепторів 2 і 4 типів і транскрипційного фактора NF-κВ в епітелії ротової порожнини в дітей із захворюваннями центральної нервової системи, системи крові, органів дихання та в дітей із психічними розладами.

Матеріали та методи. Виконали молекулярно-генетичне дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛП) експресії мРНК генів TLR2, TLR4, NF-κВ, ІЛ-1β і ІЛ-17А в епітелії ротової порожнини 93 дітей з інвалідністю та 25 дітей із хронічним катаральним гінгівітом без супутньої патології віком від 12 до 15 років.

Результати. У дітей з особливими потребами спостерігають зростання транскрипційної активності мембранних TLR2 і TLR4 в усіх групах дослідження, крім групи дітей із психічними розладами. Активація паттерн-розпізнавальних рецепторів закономірно викликає транскрипційну індукцію гена NF-κВ і прозапальних цитокінів ІЛ-1β і ІЛ-17А, що ним регулюються, буккальним епітелієм: рівні експресії мРНК ІЛ-1β і ІЛ-17А в дітей із захворюваннями ЦНС збільшувались у 8,9 і 7,7 раза ($p < 0,05$) відповідно, в дітей із психічними захворюваннями рівень ІЛ-17А підвищився у 2,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем, у дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові експресія ІЛ-1β підвищилась в 6,5 та 2,9 раза ($p < 0,05$) відповідно, ІЛ-17А – у 3,8 і 3,0 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Висновки. Виявлена транскрипційна індукція генів TLR2 і TLR4 з наступною активацією Nf-κB і продукцією прозапальних цитокінів ІЛ-1β і ІЛ-17А є одним із механізмів, який пояснює тяжчий перебіг пародонтиту в дітей з інвалідністю порівняно з хворими на пародонтит без супутньої патології.

Ключевые слова:
дети с особыми потребностями,
хронический катаральный гингивит,
рецепторы врожденного иммунитета, ІЛ-1β, ІЛ-17А.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 4–9

Изменения экспрессии мРНК TLR 2 и 4 типа, ядерного фактора κВ и провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-17А эпителием ротовой полости у детей с особыми потребностями

Ю. М. Колесник, А. М. Камышный, М. А. Гавриленко

Цель работы – оценить относительный уровень мРНК провоспалительных цитокинов ІЛ-1β и ІЛ-17А, толл-подобных рецепторов 2 и 4 типов и транскрипционного фактора NF-κB в эпителии ротовой полости у детей с заболеваниями центральной нервной системы, системы крови, органов дыхания и у детей с психическими расстройствами.

Материалы и методы. Проведено молекулярно-генетическое исследование методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР) экспрессии мРНК генів TLR2, TLR4, NF-κB, ІЛ-1β і ІЛ-17А в епітелії ротової порожнини 93 дітей з інвалідністю і 25 дітей з хронічним катаральним гінгівітом без супутньої патології в віці від 12 до 15 років.

Результаты. У детей с особыми потребностями отмечен рост транскрипционной активности мембранных TLR2 и TLR4 во всех группах исследования, кроме группы детей с психическими расстройствами. Активация паттерн-распознающих рецепторов закономерно вызывает транскрипционную индукцию гена NF-κB и регулируемых им провоспалительных цитокинов ІЛ-1β і ІЛ-17А буккальным эпителием: уровни экспрессии мРНК ІЛ-1β і ІЛ-17А у детей с заболеваниями ЦНС увеличивались в 8,9 и 7,7 раза ($p < 0,05$) соответственно, у детей с психическими заболеваниями уровень ІЛ-17А повысился в 2,2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контролем, у детей с заболеваниями дыхательных путей и заболеваниями системы крови экспрессия ІЛ-1β повысилась в 6,5 и 2,9 раза ($p < 0,05$) соответственно, ІЛ-17А – в 3,8 и 3,0 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Выводы. Обнаруженная транскрипционная индукция генов TLR2 и TLR4 с последующей активацией Nf-κB и продукцией провоспалительных цитокинов ІЛ-1β і ІЛ-17А является одним из механизмов, который объясняет более тяжелое течение пародонтита у детей с инвалидностью по сравнению с больными пародонтитом без сопутствующей патологии.

Key words:
child, disabled persons, gingivitis, cytokine receptor, ІЛ-1 beta, ІЛ-17А.

Pathologia
2018; 15 (1), 4–9

Changes in the expression of mRNA TLR2 and 4 type, nuclear factor κB and pro-inflammatory cytokines IL-1β and IL-17A in the epithelium of the oral cavity in children with special needs

Yu. M. Kolesnyk, O. M. Kamyshnyi, M. A. Gavrilenko

Objective: to assess the relative level of mRNA of proinflammatory cytokines ІЛ-1β і ІЛ-17А, toll-like receptors 2 and 4 types and the transcription factor NF-κB in the epithelium of the oral cavity in children with diseases of the central nervous system, blood system, respiratory organs, and in children with mental disorders.

Object and methods: the molecular-genetic study by polymerase chain reaction with reverse transcription real-time (RT-PCR) mRNA expression of the genes TLR2, TLR4, NF-KB, IL-1 β and IL-17A in the epithelium of the oral cavity in 93 children with disabilities and 25 children with chronic catarrhal gingivitis without associated pathology in age from 12 to 15 years.

Results. In children with special needs there is the rise of transcription activity of membrane TLR2 and TLR4 in all study groups except the group of children with mental disorders. Activation of pattern recognition receptors naturally causes transcriptional induction of the gene NF-KB and regulated by it the proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-17A by the buccal epithelium: expression levels of mRNA of IL-1 β and IL-17A in children with central nervous system diseases were increased by 8.9 and 7.7 times ($P < 0.05$), respectively, in children with mental diseases the level of IL-17A was increased by 2.2 times ($P < 0.05$) in comparison with the control, in children with respiratory diseases and diseases of the blood system the expression of IL-1 β was increased by 6.5 and 2.9 times ($P < 0.05$), respectively, IL-17A – 3.8 and 3 times ($P < 0.05$) as compared to control.

Conclusions: discovered in the work transcriptional induction of the genes TLR2 and TLR4 and subsequent activation of NF-kB and production of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-17A is one of the mechanisms that explains the more severe course of periodontitis in children with disabilities as compared to patients with periodontitis and without comorbidities.

Підтримання нормального стану тканин пародонта або перехід до його ураження відбиває безперервний бій між великою кількістю аутохтонної мікробіоти в ротовій порожнині та масивом резидентних та емігруючих імунних клітин у цій ділянці [1]. Хронічний пародонтит переважно впливає на дорослих, але іноді агресивний пародонтит може виникнути в дітей, особливо в умовах порушення взаємодії коменсальної мікробіоти з імунною системою господаря на тлі низки супутніх захворювань [2]. Групою ризику розвитку хронічного пародонтиту й гінгівіту є діти з інвалідністю, котрі мають важкі захворювання центральної нервової системи, органів дихання, захворювання крові та психічні розлади [3,4]. Ці хвороби в дітей знижують загальну імунологічну реактивність організму, призводять до порушення механізмів резистентності слизової оболонки порожнини рота та спричиняють розвиток запальних процесів тканин пародонта [5]. За статистичними даними, в дітей з інвалідністю відзначається погана гігієна порожнини рота або навіть її відсутність.

Відомо, що буквальний епітелій бере участь в імунній відповіді та міжклітинних взаємодіях, секретуючи ряд цитокінів, хемокінів, ростових і гемопоетичних факторів, ейкозаноїдів, оксиду азоту [6]. Сигнальні молекули регулюють активність імунних клітин, що визначає розвиток гострих і хронічних запальних реакцій слизових оболонок. Основна роль у підтримці ініціації імунної відповіді або формуванні толерантності належить компонентам спадкового імунітету, що здатні визначати походження антигена та необхідність розвитку імунної відповіді на нього [7]. Припускаємо, що важливим тригером важчого перебігу захворювань пародонта в дітей з особливими потребами є зміни експресії мембранних толл-подібних рецепторів вродженого імунітету епітелієм ротової порожнини, зокрема TLR2 і TLR4 [8]. Із 10 TLR людини лише для 9 вірогідно відомі ліганди, серед них є не тільки структури мікроорганізмів, але й ендогенні структури – білки гострої фази запалення, фібриноген, фібронектин, гіалуронової кислоти, жирні кислоти та різноманітні алергени й фактори пошкодження [9]. TLR2 розпізнає патоген-асоційовані молекулярні паттерни (PAMP) бактерій, грибів, вірусів і паразитів, які мають у своєму складі ліпопротеїди, ліпотейхоєві кислоти, пептидоглікан, ліпоарабіноманнан, зимозан, хітин, гемаглютиніни, порини, глікоінозитолфосфоліпіди [10], а основним лігандом TLR4 є ліпополісахариди будь-яких грам-негативних бактерій. Передача сигналу від TLR2 і

TLR4 відбувається через MyD88-залежний шлях, через серію серинових/треонінових кіназ, призводячи до індукції активації NF-kB і транскрипції низки генів прозапальних цитокінів: IL-1 β , IL-17, IL-6, IL-12, TNF α [11] і костимулюючих сигналів, які регулюють рівень включення адаптивної імунної відповіді та інтенсивності запалення тканин пародонта [12].

У попередній роботі досліджували видовий склад мікрофлори пародонтальних кишень у дітей з особливими потребами та їхній вплив на перебіг генералізованого пародонтиту [13]. Зважаючи, що мікроорганізми, індукуючи рецептори вродженого імунітету, котрі розпізнають PAMP, як-от толл-подібні рецептори 2 та 4 типів, призводять до активації ядерного фактора kB та NF-kB-залежної продукції прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, вирішили дослідити рівень транскрипційної активності генів названих рецепторів і цитокінів [14].

Мета роботи

Оцінити відносний рівень мРНК прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, толл-подібних рецепторів 2 і 4 типів і транскрипційного фактора NF-kB в епітелії ротової порожнини в дітей із захворюваннями центральної нервової системи, системи крові, органів дихання та в дітей із психічними розладами.

Матеріали і методи дослідження

Виконали молекулярно-генетичне дослідження експресії толл-подібних рецепторів епітелію ротової порожнини 93 дітей і 25 здорових дітей віком від 12 до 15 років. У першу групу (I) ввійшли діти-інваліди із захворюваннями центральної нервової системи (ЦНС) (21 особа), другу (II) – діти-інваліди із психічними розладами (24 особи), третю (III) – діти-інваліди з хворобами крові (25 осіб), четверту (IV) – діти-інваліди із захворюваннями системи органів дихання (23 особи). Діти цих чотирьох груп регулярно лікували основне захворювання в КУ «Запорізька обласна дитяча клінічна лікарня» та мали хронічний катаральний гінгівіт легкого та середнього ступенів тяжкості. П'ята група (V) (група порівняння) сформована із 25 дітей віком від 12 до 15 років, які мали хронічний катаральний гінгівіт легкого та середнього ступеня тяжкості (табл. 1).

При I ступені тяжкості хронічного катарального гінгівіту в дітей усіх груп дослідження спостерігали

Таблиця 1. Поділ дітей за ступенем тяжкості перебігу хронічного катарального гінгівіту

Хронічний катаральний гінгівіт	I група, n = 21	II група, n = 24	III група, n = 25	IV група, n = 23	V група, n = 25
I ступінь тяжкості	13	15	15	13	19
II ступінь тяжкості	8	9	10	10	6

Таблиця 2. Специфічні пари праймерів для аналізу досліджуваних і референсного генів

Ген (Gene)	Праймер (Primer)	Температура плавлення (Temperature melting) (°C)	Довжина виробу (Product length) (bp)	Exon junction
TLR2	F: 5'-TTCTCTCAGGTGACTGCTCG-3'	59.12	46	72/73
	R: 5'-TGCAACACCAACACTGGGA-3'	60.32		
TLR4	F: 5'-TGCGTGAGACCAGAAAGCTG-3'	60.6	46	391/392
	R: 5'-TAGGAACCACCTCCACGCAG-3'	61.54		
IL1β	F: 5'-CCACCTCCAGGGACAGGATA-3'	60.03	41	553/554
	R: 5'-AGAACCACACTTGTGCTCCA-3'	60.06		
IL17α	F: 5'-TACAACCGATCCACCTCACC-3'	59.1	43	275/276
	R: 5'-CCTCATTGCGGTGGAGATTC-3'	58.7		
NFKB1	F: 5'-AACAGCAGATGGCCATACC-3'	60.11	63	626/627
	R: 5'-CGGAAACGAAATCCTCTGT-3'	58.04		
GAPDH	F: 5'-CTCTGCTCCTCTGTTCGAC-3'	59.83	63	165/166
	R: 5'-CGATGTGGCTCGGCTGG-3'	60.58		

Таблиця 3. Рівень відносної нормалізованої експресії мРНК генів TLR2, TLR4, NF-κB, IL-1β та IL-17A в дітей із захворюваннями центральної нервової системи та психічними захворюваннями

Мішень	Група	Рівень експресії (M ± m)
TLR2	захворювання ЦНС	5,64 ± 0,69*
	психічні захворювання	1,36 ± 0,24
	контроль	1,00 ± 0,23
TLR4	захворювання ЦНС	1,59 ± 0,31*
	психічні захворювання	1,32 ± 0,75
	контроль	1,00 ± 0,24
NF-κB	захворювання ЦНС	7,50 ± 1,11*
	психічні захворювання	13,64 ± 2,20*
	контроль	1,00 ± 0,19
IL-1β	захворювання ЦНС	8,96 ± 1,35*
	психічні захворювання	1,23 ± 0,25
	контроль	1,00 ± 0,14
IL-17A	захворювання ЦНС	7,74 ± 1,04*
	психічні захворювання	2,29 ± 0,19*
	контроль	1,00 ± 0,19

TLR2: Toll-like рецептор 2 типу; TLR4: Toll-like рецептор 4 типу; NF-κB: ядерний фактор κB; IL-1β: інтерлейкін 1β; IL-17A: інтерлейкін 17A; *: вірогідна різниця з групою контролю (p < 0,05).

запалення міжзубних сосочків ясен. При II ступені тяжкості в запальний процес залучалися міжзубні сосочки та маргінальний край ясен. Діти скаржились на біль, кровоточивість ясен, біль на всій поверхні ясен під час їди, відмовлялися від харчування. Під час об'єктивного обстеження встановили причинно-наслідковий зв'язок виникнення запального процесу: наявність зубного нальоту та каріозних порожнин. Спостерігали зміну рельєфу маргінального краю, гіперемію, кровоточивість і набряк ясен.

Дослідження змін експресії мРНК TLR2 і 4 типу, ядерного фактора κB і прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A епітелію ротової порожнини в дітей з особливими потребами здійснили у відділі молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Для оцінювання відносного рівня мРНК використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР). Об'єктом дослідження був епітелій ротової порожнини. Взяття букального епітелію виконували вранці, до цього мінімум протягом 4 годин було виключено приймання їжі. Перед забором порожнину рота ретельно ополіскували водою або фізіологічним розчином. Забір епітелію здійснили скребком клітин із внутрішнього боку щоки разовим зондом із синтетичним ворсом. У стерильну одноразову пробірку типу «Еппендорф» (0,5 мл) із транспортним середовищем занурювали відрізану робочу частину зонда. Ця процедура абсолютно безболісна, безкровна та нетравматична. Для визначення рівня експресії використовували ампліфікатор CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, США). Специфічні пари праймерів для аналізу досліджуваних і референсного генів дібрані за допомогою програмного забезпечення Primer-BLAST (NIH, США) та виготовлені фірмою Metabion (ФРН) (табл. 2).

Підібрано оптимальні умови ЗТ-ПЛР для досягнення лінійної залежності між числом циклів і кількістю продуктів ПЛР. В експеримент включені негативні контролю: без додавання кДНК матриці в реакцію ПЛР, без додавання РНК матриці в синтезі кДНК, без додавання ферменту в синтезі кДНК. Всі реакції ампліфікації повторювали тричі. Статистичний аналіз даних ПЛР виконали за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ (Bio-Rad, США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії та помилки середньої (m). Під час порівняння даних використовували параметричний t-критерій Стьюдента та непараметричний U-критерій Манна-Уїтні, після чого визначали можливість різниці вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. При перевірці статистичних гіпотез нульову гіпотезу відкидали при p < 0,05.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження експресії мРНК IL-1 β , IL-17A, TLR2, TLR4 та NF- κ B у дітей із психічними захворюваннями й захворюваннями центральної нервової системи наведені в *табл. 3*. ЗТ-ПЛР-аналіз букального епітелію продемонстрував 5,6- та 1,6-кратне ($p < 0,05$) зростання транскрипційної активності мРНК гена TLR2 і TLR4 в букальному епітелії дітей із захворюваннями центральної нервової системи. У дітей із психічними розладами вірогідних змін рівня мРНК генів TLR2 і TLR4 не було (*табл. 3, рис. 1*). Це супроводжувалось 7,5- та 13,6-разовим ($p < 0,05$) зростанням експресії NF- κ B у дітей із захворюваннями ЦНС і психічними захворюваннями відповідно (*табл. 3, рис. 2*).

Активізація NF- κ B закономірно підвищувала рівні експресії прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A у дітей із захворюваннями ЦНС у 8,9 і 7,7 раза ($p < 0,05$) відповідно. У дітей із психічними захворюваннями рівень IL-17A підвищився в 2,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем (*табл. 3, рис. 2*).

Результати дослідження експресії мРНК IL-1 β , IL-17A, TLR2, TLR4 та NF- κ B дітей із захворюваннями дихальних шляхів і системи крові наведено в *таблиці 4*. Аналіз ЗТ-ПЛР продемонстрував 8,5- та 2,4-кратне ($p < 0,05$) зростання транскрипційної активності мРНК гена TLR2 і TLR4 в букальному епітелії дітей із захворюваннями дихальних шляхів і 7,8- та 16,6-кратне ($p < 0,05$) у дітей із захворюваннями системи крові. Нарешті, 3,6-кратне та 6,1-кратне ($p < 0,05$) зростання експресії NF- κ B встановлено в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові (*табл. 4, рис. 2*). ЗТ-ПЛР-аналіз букального епітелію показав підвищення рівня експресії прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові. Експресія IL-1 β підвищилась у 6,5 і 2,9 раза ($p < 0,05$) відповідно, IL-17A – в 3,8 і 3,0 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем (*рис. 1–4*).

Молекулярно-генетичне дослідження відносного рівня мРНК прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, толл-подібних рецепторів 2 та 4 типів і NF- κ B в епітелії ротової порожнини в дітей з особливими потребами віком від 12 до 15 років і практично здорових дітей цього ж віку, які страждають на хронічний катаральний гінгівіт, продемонструвало зростання транскрипційної активності мембранних TLR2 і TLR4 у всіх групах дослідження, крім групи дітей із психічними розладами. Значно вищий рівень експресії TLR4 спостерігали у групі захворювань системи крові (*рис. 1*). Активізація патерн-розпізнавальних рецепторів закономірно викликала транскрипційну індукцію NF- κ B і прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, які ним регулюються, букальним епітелієм.

Підвищення рівня експресії TLR2 і TLR4 епітеліальними клітинами ротової порожнини в умовах хронічного пародонтиту продемонстровано в ряді досліджень [15]. Зокрема, D'souza RS et al. (2013) проаналізували експресію та локалізацію TLR-2 методом імуофлуоресценції у здорових і запалених тканинах порожнини рота та продемонстрували збільшення рівня експресії TLR2 при хронічному пародонтиті, який виявляється вищим в епітеліальних клітинах, ніж у клітинах сполучної тканини [16]. A. Beklen et al. (2014)

Таблиця 4. Рівень відносної нормалізованої експресії мРНК генів TLR2, TLR4, NF- κ B, IL-1 β та IL-17A в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і системи крові

Мішень	Група	Рівень експресії (M \pm m)
TLR2	захворювання дихальних шляхів	8,53 \pm 1,52*
	захворювання системи крові	7,82 \pm 1,05*
	контроль	1,00 \pm 0,24
TLR4	захворювання дихальних шляхів	2,49 \pm 0,27*
	захворювання системи крові	16,60 \pm 3,17*
	контроль	1,00 \pm 0,19
NF- κ B	захворювання дихальних шляхів	3,660 \pm 0,516*
	захворювання системи крові	6,166 \pm 0,756*
	контроль	1,006 \pm 0,146
IL-1 β	захворювання дихальних шляхів	6,56 \pm 0,81*
	захворювання системи крові	2,97 \pm 0,34*
	контроль	1,00 \pm 0,13
IL-17A	захворювання дихальних шляхів	3,82 \pm 0,56*
	захворювання системи крові	3,07 \pm 0,31*
	контроль	1,00 \pm 0,15

TLR2: Toll-like рецептор 2 типу; TLR4: Toll-like рецептор 4 типу; NF- κ B: ядерний фактор κ B; IL-1 β : інтерлейкін 1 β ; IL-17A: інтерлейкін 17A; *: вірогідна різниця з групою контролю ($p < 0,05$).

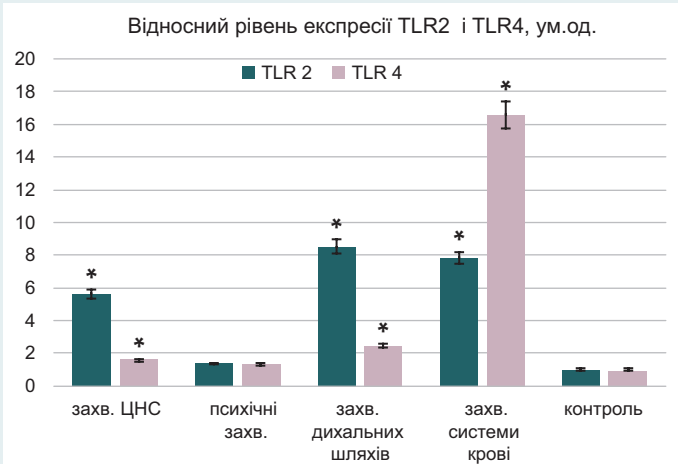


Рис. 1. Відносний рівень експресії мРНК TLR2 і TLR4 букальним епітелієм у дітей із захворюваннями у порівнянні з контрольною групою. Як референс-ген використали GAPDH.

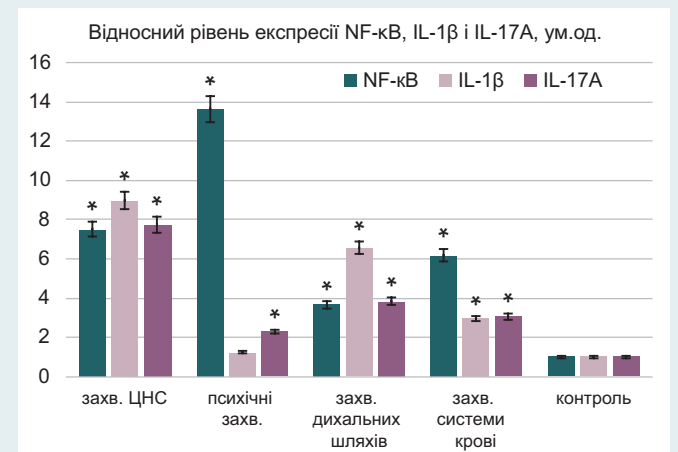


Рис. 2. Відносний рівень експресії мРНК NF- κ B, IL-1 β і IL-17A букальним епітелієм у дітей із захворюваннями порівняно з контрольною групою. Як референс-ген використали GAPDH.

виявили підвищений рівень TLR4 у зразках тканин пародонтиту [17], а N. Waga-aswapati et al. (2013) у дослідженні індукції експресії толл-подібних рецепторів за допомогою *Porphyromonas gingivalis* показали, що рівні TLR2 і TLR4 були значно збільшені у хворих на пародонтит [18]. Також продемонстровано зв'язок поліморфізму генів TLR2 і TLR4 із захворюваннями пародонта в дітей [19]. Здатність цитокінів IL-1 β і IL-17A посилювати запальний процес у пародонті продемонстрована в ряді досліджень [20,21,22]. Однак відсутні інші дані щодо змін рівня експресії мРНК цих факторів епітеліальними клітинами ротової порожнини в дітей із важкою супутньою патологією. Тому вважаємо, що виявлена в роботі транскрипційна індукція генів TLR2 і TLR4 з наступною активацією NF- κ B і продукцією прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A є одним із механізмів, який пояснює тяжчий перебіг пародонтиту в дітей з особливими потребами порівняно з хворими на пародонтит без супутньої патології.

Висновки

1. У дітей з особливими потребами спостерігали зростання транскрипційної активності мембранних TLR2 і TLR4 в усіх групах дослідження, крім групи дітей із психічними розладами.

2. Встановлено, що в дітей із інвалідністю всіх груп суттєво збільшений відносний рівень мРНК прозапального цитокіну IL-17A та NF- κ B в епітелії ротової порожнини. Проте в дітей із захворюваннями ЦНС, на відміну від дітей із психічними захворюваннями, переважно збільшився рівень мРНК цитокіну IL-1 β і толл-подібних рецепторів 2 та 4 типу.

3. У дітей із захворюваннями дихальних шляхів і патологією системи крові суттєво збільшений відносний рівень мРНК прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, толл-подібних рецепторів 2 і 4 типів та NF- κ B епітелію ротової порожнини. У дітей із захворюваннями дихальних шляхів переважно збільшився рівень мРНК цитокінів IL-1 β і IL-17A і толл-подібних рецепторів 2 типу, а в дітей із захворюваннями системи крові – толл-подібних рецепторів 4 типу та NF- κ B. Збільшення рівня прозапальної сигналізації в ротовій порожнині пояснює вищий рівень захворювань пародонта у дітей I, II, III, IV груп.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор Запорізького державного медичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.

Камишний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Гавриленко М. А., канд. мед. наук, доцент, асистент каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор Запорозького государственного медицинского университета, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гавриленко М. А., канд. мед. наук, доцент, ассистент каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Rector of Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Kamyshnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Gavrilenko M. A., MD, PhD, Associate Professor, Assistant of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 15.11.2017

Після доопрацювання / Revised: 19.12.2017

Прийнято до друку / Accepted: 28.01.2017

Список літератури

- Ebersole J.L. The periodontal war: microbes and immunity / J.L. Ebersole, D. Dawson, P. Emecen-Huja, et al. // *Periodontol.* 2000 – 2017. – Vol. 75(1). – P. 52–115. doi: 10.1111/prd.12222.
- Kinane D.F. Periodontal diseases / D.F. Kinane, P.G. Stathopoulou, P.N. Papapanou // *Nat Rev Dis Primers.* – 2017. – Vol. 3. – P. 17–38. Evidence summary: the relationship between oral health and pulmonary disease / D. Manger, M. Walshaw, R. Fitzgerald, et al. // *Br Dent J.* – 2017. – Vol. 222(7). – P. 527–533.
- Acute oral complications in a pediatric patient with acute lymphoid leukemia / Y. Kamasaki, K. Satoh, M.L. Nishiguchi, et al. // *Pediatr Int.* – 2016. – Vol. 58(6). – P. 484–487.
- Mendes V. Interrelation of periodontal parameters between asthmatics and nonasthmatics subjects: a systematic review and meta-analysis / V. Mendes, G.O. Dos Santos, V. Moraschini // *J Dent.* – 2018. – Vol. 69. – P. 32–40.
- The periodontal war: microbes and immunity / J.L. Ebersole, D. Dawson, P. Emecen-Huja, et al. // *Periodontol.* – 2017. – Vol. 75(1). – P. 52–115.
- TLRs/NLRs: Shaping the landscape of host immunity / K. Dolasia, M.K. Bisht, G. Pradhan et al. // *Int Rev Immunol.* – 2018. – Vol. 37. – Issue 1. – P. 3–19.
- Leifer C.A. Molecular mechanisms of regulation of Toll-like receptor signaling / C.A. Leifer, A.E. Medvedev // *J Leukoc Biol.* – 2016. – Vol. 100(5). – P. 927–941.
- McClure R. TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens / R. McClure, P. Massari // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 386.
- Sasai M. Pathogen recognition receptors: ligands and signaling pathways by Toll-like receptors / M. Sasai, M. Yamamoto // *Int Rev Immunol.* – 2013. – Vol. 32(2). – P. 116–33.
- Hayden M.S. NF- κ B in immunobiology / M.S. Hayden, S. Ghosh // *Cell Res.* – 2011. – Vol. 21(2). – P. 223–244.
- Visekruna A. A key role for NF- κ B transcription factor c-Rel in T-lymphocyte-differentiation and effector functions / A. Visekruna, A. Volkov, U. Steinhoff // *Clin Dev Immunol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 239368.
- Гавриленко М.А. Мікробіологічний вміст пародонтальних кишень у дітей з особливими потребами / М.А. Гавриленко // *Современная стоматология* – 2015. – №2. – С. 28–29.
- Macrophage-specific TLR2 signaling mediates pathogen-induced TNF-dependent inflammatory oral bone loss / G. Papadopoulos, E.O. Weinberg, P. Massari, et al. // *J Immunol.* – 2013. – 190. – Issue 3. – P. 1148–57.
- Evaluation of TLR2 and 4 in Chronic Periodontitis / P. Ilango, A. Mahalingam, H. Parthasarathy et al. // *J Clin Diagn Res.* – 2016. – Vol. 10(6). – P. 86–89.
- Analysis of expression and localization of TLR-2 by immunofluorescent technique in healthy and inflamed oral tissues / R.S. D'souza, K.G. Bhat, D. Sailaja, et al. // *J Clin Diagn Res.* – 2013. – Vol. 7(12). – P. 2780–683.
- The function of TLR4 in interferon gamma or interleukin-13 exposed and lipopolysaccharide stimulated gingival epithelial cell cultures / A. Beklen, A.S. Sarp, D. Uckan, G. TsaousMemet // *Biotech Histochem.* – 2014. – Vol. 89(7). – P. 505–12.

- [18] Induction of toll-like receptor expression by *Porphyromonas gingivalis* / N. Wara-aswapati, A. Chayasadam, R. Surarit, et al. // *J Periodontol.* – 2013. – Vol. 84(7). – P. 1010–18.
- [19] Toll-like receptor (TLR2 and TLR4) polymorphisms: markers of innate immunity in oral infection in children / M. Rashkova, A. Kirov, A. Todorova, V. Mitev // *Oral Health Dent Manag.* – 2010. – Vol. 9(3). – P. 148–53.
- [20] Salivary cytokine levels in early gingival inflammation / D. Belström, C. Damgaard, E. Könönen, et al. // *J Oral Microbiol.* – 2017. – Vol. 9. – Issue 1. – P. 1364101.
- [21] Chitrapriya M. N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in different stages of inflammatory periodontal disease / M.N. Chitrapriya, S.R. Rao, V. Lavu // *J Indian Soc Periodontol.* – 2015. – Vol. 19(1). – P. 14–7.
- [22] Cheng W.C. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis / W.C. Cheng, F.J. Hughes, L.S. Taams // *J Clin Periodontol.* – 2014. – Vol. 41(6). – P. 541–9.
- [19] Rashkova, M., Kirov, A., Todorova, A., & Mitev, V. (2010) Toll-like receptor (TLR2 and TLR4) polymorphisms: markers of innate immunity in oral infection in children. *Oral Health Dent Manag.*, 9(3), 148–53.
- [20] Belström, D., Damgaard, C., Könönen, E., Gürsoy, M., Holmstrup, P., & Gürsoy, U. K. (2017) Salivary cytokine levels in early gingival inflammation. *J Oral Microbiol.*, 9(1), 1364101. doi: 10.1080/20002297.2017.1364101.
- [21] Chitrapriya, M. N., Rao, S. R., & Lavu, V. (2015) Interleukin-17 and interleukin-18 levels in different stages of inflammatory periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol.*, 19(1), 14–7. doi: 10.4103/0972-124X.145798.
- [22] Cheng, W. C., Hughes, F. J., & Taams, L. S. (2014) The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. *J Clin Periodontol.*, 41(6), 541–9. doi: 10.1111/jcpe.12238.

References

- [1] Ebersole, J. L., Dawson, D., Emecen-Huja, P., Nagarajan, R., Howard, K., Grady, M. E., et al. (2017) The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontol 2000*, 75(1), 52–115. doi: 10.1111/prd.12222.
- [2] Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017) Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers.*, 3, 17038. doi: 10.1038/nrdp.2017.38.
- [3] Manger, D., Walshaw, M., Fitzgerald, R., Doughty, J., Wanyonyi, K. L., White, S., & Gallagher, J. E. (2017) Evidence summary: the relationship between oral health and pulmonary disease. *Br Dent J.*, 222(7), 527–533. doi: 10.1038/sj.bdj.2017.315.
- [4] Kamasaki, Y., Satoh, K., Nishiguchi, M., Hoshino, T., & Fujiwara, T. (2016) Acute oral complications in a pediatric patient with acute lymphoid leukemia. *Pediatr Int.*, 58(6), 484–487. doi: 10.1111/ped.12829.
- [5] Mendes, V., Dos Santos, G. O., & Moraschini, V. (2018) Interrelation of periodontal parameters between asthmatics and nonasthmatics subjects: a systematic review and meta-analysis. *J Dent.*, 69, 32–40. doi: 10.1016/j.jdent.2017.11.011.
- [6] Ebersole, J. L., Dawson, D., Emecen-Huja, P., Nagarajan, R., Howard, K., Grady, M. E., et al. (2017) The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontol.*, 75(1), 52–115. doi: 10.1111/prd.12222.
- [7] Dolasia, K., Bisht, M. K., Pradhan, G., Udgata, A., & Mukhopadhyay, S. (2017) TLRs/NLRs: Shaping the landscape of host immunity. *Int Rev Immunol.* 37(1), 3–19. doi: 10.1080/08830185.2017.1397656.
- [8] Leifer, C. A., & Medvedev, A. E. (2016) Molecular mechanisms of regulation of Toll-like receptor signaling. *J Leukoc Biol.*, 100(5), 927–941. doi: 10.1189/jlb.2MR0316-117RR.
- [9] McClure, R., & Massari, P. (2014) TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens. *Front Immunol.*, 5, 386. doi: 10.3389/fimmu.2014.00386.
- [10] Sasai, M., & Yamamoto, M. (2013) Pathogen recognition receptors: ligands and signaling pathways by Toll-like receptors. *Int Rev Immunol.*, 32(2), 116–33. doi: 10.3109/08830185.2013.774391.
- [11] Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2011) NF- κ B in immunobiology. *Cell Res.*, 21(2), 223–244. doi: 10.1038/cr.2011.13.
- [12] Visekruna, A., Volkov, A., & Steinhoff, U. (2012) A key role for NF- κ B transcription factor c-Rel in T-lymphocyte-differentiation and effector functions. *Clin Dev Immunol.*, 2012, 239368. doi: 10.1155/2012/239368.
- [13] Gavrilenko, M. A. (2015) *Mikrobiolohichnyi vmist parodontalnykh kyshen u ditei z osoblyvymy potrebamy* [Microbiological content of gingival pockets of children with special needs]. *Sovremennaya stomatologiya*, 2, 28–29. [in Ukrainian].
- [14] Papadopoulos, G., Weinberg, E. O., Massari, P., Gibson, F. C., Wetzel, L. M., Morgan, E. F., & Genco, C. A. (2013) Macrophage-specific TLR2 signaling mediates pathogen-induced TNF-dependent inflammatory oral bone loss. *J Immunol.* 190(3), 1148–57. doi: 10.4049/jimmunol.1202511.
- [15] Ilango, P., Mahalingam, A., Parthasarathy, H., Katamreddy, V., & Subbareddy, V. (2016) Evaluation of TLR2 and 4 in Chronic Periodontitis. *J Clin Diagn Res.*, 10(6), 86–89. doi: 10.7860/JCDR/2016/18353.8027.
- [16] D'souza, R. S., Bhat, K. G., Sailaja, D., Babji, D. V., Bandiwadekar, T. K., & Katgalkar, R. M. (2013) Analysis of expression and localization of TLR-2 by immunofluorescent technique in healthy and inflamed oral tissues. *J Clin Diagn Res.*, 7(12), 2780–683. doi: 10.7860/JCDR/2013/6745.3745.
- [17] Beklen, A., Sarp, A. S., Uckan, D., & TsaousMemet, G. (2014) The function of TLR4 in interferon gamma or interleukin-13 exposed and lipopolysaccharide stimulated gingival epithelial cell cultures. *Biotech Histochem.*, 89(7), 505–12. doi: 10.3109/10520295.2014.903299.
- [18] Wara-aswapati, N., Chayasadam, A., Surarit, R., Pitiphat, W., Boch, J. A., Nagasawa, T., et al. (2013) Induction of toll-like receptor expression by *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.*, 84(7), 1010–18. doi: 10.1902/jop.2012.120362.