УДК: 616.314.25/.26-097:612.017.11]-053.2-036.86

Імунопатогенетичні особливості реалізації функціонування вродженого імунітету в дітей зі стоматологічною та інвалідизуючою соматичною патологією

М. А. Гавриленко*[B,C,D], Т. Є. Шумна[A,E,F]

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – вивчити імунопатогенетичні механізми реалізації функціонування вродженого імунітету в дітей зі стоматологічною та інвалідизуючою соматичною патологією.

Матеріали та методи. Загальне стоматологічне обстеження пройшли 416 дітей з інвалідністю, які мали і стоматологічну патологію, віком від 2 до 18 років. І групу спостереження утворили 98 дітей із хворобами ЦНС, ІІ групу – 150 дітей із хворобами крові; ІІІ групу – 70 дітей із хворобами органів дихання; IV – 98 дітей із розладами психіки, а V (контрольну) групу – 50 дітей без соматичної інвалідизувальної патології. В обстежених дітей, за рекомендаціями Dental Health Foundation, враховували вікові періоди розвитку зубів, співвідносили з основними етапами дитинства та критичними періодами становлення імунної системи: вік тимчасового прикусу (від 2 до 5 років), змінного прикусу (від 6 до 10 років), постійного прикусу (від 11 до 18 років). В обстежених використали методи дослідження: клініко-лабораторні (для вивчення стану твердих тканин зубів, тканин пародонта, гігієни порожнини рота), фотоколориметричний (для дослідження рівня лізоциму), імуноферментний (для визначення секреторного імуноглобуліну А – sIg A). Мікробіологічне дослідження зубного нальоту та молекулярно-генетичний аналіз (для визначення експресії матричної РНК толл-подібних (мРНК Toll-like) рецепторів (TLR) 2 і 4 типу, ядерного фактора кВ (NF-кВ) і прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1β і ІЛ-17А)) здійснені в 93 дітей з особливими потребами та карієсом і хронічним катаральним гінгівітом і 25 соматично здорових дітей. Для визначення рівня експресії використовували ампліфікатор CFX96™Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, США). Специфічні пари праймерів для аналізу досліджуваних і референсного генів підібрані за допомогою програмного забезпечення Primer-BLAST (NIH, США) та виготовлені фірмою Metabion (ФРН). Статистичне опрацювання виконали з застосуванням пакета ліцензійної програми Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Для всіх видів аналізу використовували рівень статистичної значущості $p < 0,05$, при якому відмінності вважали вірогідними.

Результати. Встановили, що в дітей з інвалідністю частота виявлення карієсу становила 41,67–82,14 %, але в усіх обстежених пацієнтів у зубному нальоті були виділені мікроорганізми: *Streptococcus non-haemolyticus, Streptococcus haemolyticus, Corynebacterium matruschotti*. Рівень секреторного IgA в ротовій рідині в усіх дітей з інвалідністю становив у І групі 0,47 (0,46; 0,48) г/л; в ІІ – 0,45 (0,31; 0,47) г/л; в ІІІ – 0,42 (0,41; 0,43) г/л; в IV – 0,33 (0,31; 0,35) г/л та вірогідно перевищував аналогічні показники у групі порівняння – 0,28 (0,26; 0,28) г/л. Лізоцим мав нижчий рівень у дітей з інвалідизувальними захворюваннями (у І групі – 5,75 (5,25; 5,89) мг/л; в ІІ – 5,1 (3,25; 5,45) мг/л; в ІІІ – 5,74 (5,65; 5,78) мг/л; в IV – 5,62 (5,35; 5,85) мг/л), ніж у групі порівняння (7,26 (7,12; 7,45) мг/л). Молекулярно-генетичне дослідження вродженого імунітету показало вірогідне 5,6- і 1,6-разове збільшення транскрипційної активності мРНК гена TLR2 і TLR4 у букальному епітелії дітей із захворюваннями центральної нервової системи; 8,5- та 2,4-разове збільшення – в дітей із захворюваннями дихальних шляхів; 7,8- та 16,6-разове – у дітей із захворюваннями системи крові. У дітей із психічними розладами значущих змін рівня мРНК генів TLR2 і TLR4 не було. Активація паттерн-розпізнавальних рецепторів викликає транскрипційну індукцію гена NF-кВ і прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A букальним епітелієм: рівні експресії мРНК IL-1β і IL-17A у дітей із захворюваннями ЦНС порівняно з контролем збільшувались у 8,9 і 7,7 раза ($p < 0,05$) відповідно, у дітей із психічними захворюваннями рівень IL-17A підвищився у 2,2 раза ($p < 0,05$), в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюванням системи крові експресія IL-1β підвищилася в 6,5 та 2,9 раза ($p < 0,05$) відповідно, IL-17A – у 3,8 і 3,0 раза ($p < 0,05$).

Висновки. Визначені патогенетичні сигнальні шляхи реалізації функціонування вродженого імунітету залежно від інвалідизувального захворювання та механізми формування одонтогенної патології в умовах життєдіяльності негемолітичних та гемолітичних стрептококів і коринебактерій у зубному нальоті та особливостей продукції sIgA, лізоциму: в дітей із захворюваннями ЦНС – унаслідок транскрипційної активності мембранних толл-подібних рецепторів 4, експресії нуклеарного фактора кВ (NF-кВ) та активності матричної РНК прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A; з хворобами крові – при активації матричної РНК мембранних толл-лайк рецепторів 2, 4, нуклеарного фактора кВ (NF-кВ), інтерлейкіну 17А; з хворобами органів дихання – експресії інтерлейкіна 17А; з психічними розладами – при активації інтерлейкіна 1β та мембранних толл-подібних рецепторів інтерлейкіном 17А.

Ключові слова: експресія генів, толл-подібні рецептори 2 типу, толл-подібні рецептори 4 типу, нуклеарний фактор кВ, матрична РНК, інтерлейкін 1β, інтерлейкін 17А, діти з інвалідністю.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 2(46). – С. 251–261

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.2.177195

***E-mail:** zpstomat@ukr.net

Иммунопатогенетические особенности реализации функционирования врожденного иммунитета у детей со стоматологической и инвалидизирующей соматической патологией

М. А. Гавриленко, Т. Е. Шумная

Цель работы – изучить иммунопатогенетические механизмы реализации функционирования врожденного иммунитета у детей со стоматологической и инвалидизирующих соматической патологией.

Ключевые слова: экспрессия генов, толл-подобные рецепторы 2 типа, толл-подобные рецепторы 4 типа, нуклеарный фактор кВ, матричная РНК, интерлейкин 1β, интерлейкин 17А, дети с инвалидностью.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 2(46). – С. 251–261

Материалы и методы. Общее стоматологическое обследование прошли 416 детей с инвалидностью, которые имели и стоматологическую патологию, в возрасте от 2 до 18 лет. Так, I группу наблюдения составили 98 детей с болезнями ЦНС, II группу – 150 детей с болезнями крови, III группу – 70 детей с болезнями органов дыхания; IV – 98 детей с расстройствами психики, V контрольную группу составили 50 детей без соматической инвалидизирующей патологии. У обследованных детей, по рекомендациям Dental Health Foundation, учитывали возрастные периоды развития зубов, соотносили с основными этапами детства и критическими периодами становления иммунной системы: возраст временного прикуса (от 2 до 5 лет), сменного прикуса (с 6 до 10 лет), постоянного прикуса (с 11 до 18 лет). При обследовании использованы методы исследования: клинико-лабораторные (для изучения состояния твердых тканей зубов, тканей пародонта, гигиены полости рта); фотоколориметрический (для исследования уровня лизоцима), иммуноферментный (секреторного иммуноглобулина А – sIg A). Микробиологическое исследование зубного налета и молекулярно-генетический анализ (для определения экспрессии матричной РНК толл-подобных (мРНК Toll-like) рецепторов (TLR) 2 и 4 типа, ядерного фактора кВ (NF-кВ) и провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1β и ІЛ- 17А)) проведены в 93 детей с особыми потребностями и кариесом и хроническим катаральным гингивитом и 25 соматически здоровых детей. Для определения уровня экспрессии использовали амплификатор CFX96 ™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, США). Специфические пары праймеров для анализа исследуемых и референсного генов подобраны с помощью программного обеспечения Primer-BLAST (NIH, США) и изготовленные фирмой Metabion (ФРГ). Статистическую обработку проводили с применением пакета лицензионной программы Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Для всех видов анализа использовали уровень статистической значимости $p < 0,05$, при котором различия считали достоверными.

Результаты. Установлено, что у детей с инвалидностью частота встречаемости кариса составляла 41,67–82,14 %, но у всех обследованных пациентов в зубном налете выделены микроорганизмы: *Streptococcus non-haemolyticus, Streptococcus haemolyticus, Corynebacterium matruschotti*. Уровень секреторного IgA в ротовой жидкости у всех детей с инвалидностью составил в I группе 0,47 (0,46; 0,48) г/л; во II – 0,45 (0,31; 0,47) г/л; в III – 0,42 (0,41; 0,43) г/л; в IV – 0,33 (0,31; 0,35) г/л, достоверно превышал аналогичные показатели в группе сравнения – 0,28 (0,26; 0,28) г/л. Лизоцим имел низкий уровень у детей с инвалидизирующими заболеваниями (в I группе – 5,75 (5,25; 5,89) мг/л, во II – 5,1 (3,25; 5,45) мг/л, в III – 5,74 (5,65; 5,78) мг/л, в IV – 5,62 (5,35; 5,85) мг/л), чем в группе сравнения (7,26 (7,12; 7,45) мг/л). Молекулярно-генетическое исследование врожденного иммунитета показало достоверный 5,6- и 1,6-кратный рост транскрипционной активности мРНК гена TLR2 и TLR4 в буккальном эпителии детей с заболеваниями центральной нервной системы, 8,5- и 2,4-кратное увеличение – у детей с заболеваниями дыхательных путей 7,8- и 16,6-кратное – у детей с заболеваниями крови. У детей с психическими расстройствами значимых изменений уровня мРНК генов TLR2 и TLR4 не было. Активация паттерн-опознавательных рецепторов вызывает транскрипционную индукцию гена NF-кВ и провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-17A буккального эпителия: уровни экспрессии мРНК IL-1β и IL-17A у детей с заболеваниями ЦНС по сравнению с контролем увеличивались в 8,9 и 7,7 раза ($p < 0,05$) соответственно, у детей с психическими заболеваниями уровень IL-17A повысился в 2,2 раза ($p < 0,05$), у детей с заболеваниями дыхательных путей и заболеваниями системы крови экспрессия IL-1β повысилась в 6,5 и 2,9 раза ($p < 0,05$) соответственно, IL-17A – в 3,8 и 3,0 раза ($p < 0,05$).

Выводы. Определены патогенетические сигнальные пути реализации функционирования врожденного иммунитета в зависимости от инвалидизирующего заболевания и механизмы формирования одонтогенной патологии в условиях жизнедеятельности негемолитических и гемолитических стрептококков и коринебактерий в зубном налете и особенностей продукции sIgA, лизоцима: у детей с заболеваниями ЦНС – в результате транскрипционной активности мембранных толл-подобных рецепторов 4, экспрессии нуклеарного фактора кВ (NF-кВ) и активности матричной РНК провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-17A; с болезнями крови – при активации матричной РНК мембранных толл-лайк рецепторов 2, 4, нуклеарного фактора кВ (NF-кВ), интерлейкина 17А; с болезнями органов дыхания – экспрессии интерлейкина 17А; с психическими расстройствами – при активации интерлейкина 1β и мембранных толл-подобных рецепторов интерлейкином 17А.

Key words: gene expression, toll-4 receptor, toll-like receptor 2, matrix RNA, interleukin-1β, interleukin-17A, disabiled children.

Pathologia 2019; 16 (2), 251–261

Immunopathogenetic features of the functioning realization of congenital immunity in children with dental and disabling somatic pathology

M. A. Havrylenko, T. Ye. Shumna

Purpose. To study the immunopathogenetic mechanisms of the functioning realization of congenital immunity in children with dental and disabling somatic pathology.

Materials and methods. General dental examination was conducted in 416 children with disabilities, who had a dental pathology, aged from 2 to 18 years. Thus, group I of observation were 98 children with CNS diseases, group II – 150 children with blood diseases; group III – 70 children with respiratory diseases; IV – 98 children with mental disorders, and the control group V were 50 children without somatic invalidating pathology. In the examined children, according to Dental Health Foundation recommendations, we took into account age periods of development of teeth, which correlated with the main stages of childhood and the critical periods of the formation of the immune system: the age of temporary bite (from 2 to 5 years), changing bite (from 6 to 10 years), permanent bite (from 11 to 18 years old). In examined children the following methods of research were used: clinical and laboratory – for studying the state of solid teeth tissues, periodontal tissues, oral hygiene; photocolorimetric – to study the level of lysozyme, enzyme-linked immunosorbent assay – secretory immunoglobulin A (sIg A). Microbiological study of plaque and molecular genetics – to determine the expression of the Toll-like receptor (TLR) type 2 and type 4, the nuclear factor kB (NF-κB) and proinflammatory interleukins (IL-1β and IL- 17A) were carried out in 93 children with special needs and caries and chronic catarrhal gingivitis and 25 somatically healthy children. The CFX96 ™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, USA) amplifier was used to determine the expression level. Specific pairs of primers for

analysis of the studied and reference genes were selected using the software Primer-BLAST (NIH, USA) and manufactured by Metabion (Germany). Statistical processing was carried out using the package of the licensed program Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J). For all types of analysis, the level of statistical significance P < 0.05was used, at which differences were considered reliable.

Results. It has been established that in children with disabilities the frequency of caries was registered in the range of 41.67–82.14 %, but in all examined patients in the dental plaque microorganisms, such as *Streptococcus non-haemolyticus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Corynebacterium matruschotti* were isolated. In this case, the level of secretory Ig A in the oral fluid in all children with disabilities in group I was 0.47 (0.46; 0.48) g / l; in II – 0.45 (0.31; 0.47) g / l; in III – 0.42 (0.41; 0.43) g / l; in IV – 0.33 (0.31; 0.35) g / l, and significantly exceeded the similar indicators in the comparison group – 0.28 (0.26; 0.28) g / l. Lysozyme, by contrast, had a lower level in children with disabling diseases (in group I it was 5.75 (5.25; 5.89) mg / l; in II – 5.1 (3.25; 5.45) mg/l, in III – 5.74 (5.65; 5.78) mg/l, in IV – 5.62 (5.35; 5.85) mg/l, than in the comparison group – 7.26 (7.12; 7.45) mg/l. The molecular genetic study of congenital immunity reliably demonstrated 5.6- and 1.6-fold increase in the transcriptional activity of the mRNA of the TLR2 and TLR4 gene in the buccal epithelium of children with diseases of the central nervous system, 8.5- and 2.4-fold increase in children with respiratory diseases, 7.8- and 16.6-fold in children with blood disoders. In children with mental disorders there was no significant change in the level of the mRNA of the TLR2 and TLR4 genes. Activation of the pattern recognition receptors causes transcriptional induction of the NF-κB gene and proinflammatory cytokines IL-1β and IL-17A by the buccal epithelium: levels of expression of IL-1β and IL-17A mRNA in children with CNS diseases increased by 8.9 and 7.7 times (P < 0.05), respectively, in children with mental illness, IL-17A levels increased by 2.2 times (P < 0.05) in children with respiratory diseases and diseases of the blood system, expression of IL-1β increased by 6.5 and 2.9 times (P < 0.05), respectively, IL-17A – 3.8 and 3.0 times (P < 0.05).

Conclusion. The pathogenetic signaling pathways for the implementation of the functioning of congenital immunity depending on the disabling disease and the mechanisms of the formation of odontogenic pathology under the conditions of vital activity of non-hemolytic and hemolytic streptococci and corynebacterium in dental plaque and peculiarities of sIgA, lysozyme production were determined: in children with CNS diseases – due to the transcriptional activity of membrane toll-like receptors 4, expression of the nuclear factor kB (NF-κB) and the activity of the matrix RNA of proinflammatory cytokines IL-1β and IL-17A; with blood diseases – when activating matrix RNA of membrane toll-like receptors 2, 4, nuclear factor kB (NF-κB), interleukin 17A; with diseases of the respiratory system – expression of interleukin 17A; with mental disorders – when activating interleukin 1β and membrane toll-like receptors by interleukin 17A.

Злагоджена робота імунної системи захищає дитину від різноманітних інфекційних і неінфекційних антигенів, забезпечуючи її здоров'я шляхом здійснення постійного контролю та підтримки генетично зумовленого антигенного гомеостазу в організмі [1].

До факторів вродженого імунітету належать передіснуючі в організмі до контакту з патогеном механізми захисту, що призначені для запобігання проникненню збудника і для запуску ранньої запальної відповіді. В розпізнаванні чужорідних агентів беруть участь численні рецептори на клітинах організму, передіснуючі до початку інфекції. В останні роки при вивченні процесів розпізнавання найбільшу увагу привертають паттерн-розпізнавальні рецептори, а серед них – толл-подібні рецептори (Toll-like, TLR) [2]. Розпізнавання інфекційних патогенів Toll-like рецепторами призводить до активації нуклеарного фактора кВ (NF-kB), основною функцією якого є швидке включення генів гострої фази антимікробного захисту неспецифічного вродженого імунітету з продукцією прозапальних цитокінів [3].

Одним із ключових інтерлейкінів, що визначає перебіг запального процесу та стимулює продукцію інших цитокінів, є інтерлейкін1β (IL-1β), який через індукцію IL-17A, IL-17F забезпечує рекрутування та активацію нейтрофілів, а через каскад цитокінової продукції зумовлює розвиток нейтрофільно-макрофагального запалення та може бути молекулярною основою розвитку хронічних запальних захварювань [4]

Дозрівання вродженої імунної системи переважно здійснюється до шкільного віку, однак повна функціональна зрілість механізмів неспецифічного захисту настає після підліткового періоду життя. Так, у періоді новонародженості, відзначають знижену експресію толл-подібних рецепторів 4 типу та уповільнене проведення внутрішньоклітинних сигналів, що асоціюються з активацією вродженого імунітету, в результаті чого цитокінова відповідь є менш маніфестною, ніж у дітей старшого віку [5].

Незважаючи на теоретичні знання щодо функціонування вродженого імунітету, нині недостатньо вивченими є питання, що стосуються особливостей реалізації вродженого імунітету в дітей як із соматичними, особливо інвалідизувальними, так і зі стоматологічними захворюваннями. До виконання цієї роботи нас спонукало щорічне збільшення кількості дітей з інвалідністю, в яких поширеність карієсу становить 88–93% у дітей дошкільного віку, у 54–99 % – шкільного віку [6].

Мета роботи

Вивчити імунопатогенетичні механізми реалізації функціонування вродженого імунітету в дітей зі стоматологічною та інвалідизувальною соматичною патологією.

Матеріали і методи дослідження

Відповідно до поставленої мети, загальне стоматологічне обстеження пройшли 416 дітей з інвалідністю, що мали і стоматологічну патологію від 2 до 18 років. Так, до I групи спостереження ввійшли 98 дітей із хворобами ЦНС, до II – 150 дітей із хворобами крові; III групу становили 70 дітей із хворобами органів дихання; IV – 98 дітей із розладами психіки, V (контрольну) – 50 дітей без соматичної інвалідизуючої патології. В обстежених дітей, за рекомендаціями Dental Health Foundation, враховували вікові періоди розвитку зубів:

вік тимчасового прикусу (від 2 до 5 років), змінного прикусу (від 6 до 10 років), постійного прикусу (від 11 до 18 років). Ці вікові періоди співвідносили з основними етапами дитинства (малюки – 1–4 роки, діти – 4–10 років, підлітки – 11–18 років) і критичними періодами становлення імунної системи в дітей: для першої та другої груп – це III (2–3 роки) і IV (4–6 років), що характеризуються незрілістю імунних процесів у слизових і низьким рівнем секреторного IgA, та V критичний період (12–13 років), коли підвищується чутливість до інфекційних збудників [7,8].

Використали методи дослідження: клініко-лабораторні – для вивчення стану твердих тканин зубів (визначення індексів «кп», «кп + КПВ», «КПВ», де «К» – каріозний зуб; «к» – каріозний тимчасовий зуб; «П» – пломбований зуб; «п» – пломбований тимчасовий зуб; «В» – видалений зуб; тканин пародонта (індекс РМА, де «Р» – запалення ясенного сосочка, «М» – запалення краю ясен, «А» – запалення коміркових (альвеолярних) ясен), гігієни порожнини рота (індекси гігієни Ю. А. Федорова, В. В. Володкіної «ІФВ», Green-Vermillion «IGV»). Для визначення стану місцевого імунітету порожнини рота нестимульовану рідину (змішана слина) збирали вранці натщесерце шляхом спльовування у стерильну пробірку. Надалі ротову рідину в пробірках центрифугували і використовували надосадову рідину для визначення секреторного імуноглобуліну А (sIg A) імуноферментним аналізом [9]. Дослідження рівня лізоциму виконали фотоколориметричним методом [10,11].

Мікробіологічне дослідження зубного нальоту та молекулярно-генетичний аналіз (для визначення експресії матричної РНК толл-подібних (мРНК Toll-like) рецепторів (TLR) 2 і 4 типу, ядерного фактора кВ (NF-кВ) і прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1β і ІЛ-17А)) здійснили у 93 дітей з особливими потребами та карієсом і хронічним катаральним гінгівітом і 25 соматично здорових дітей.

Дослідження змін експресії мРНК TLR2 і 4 типу, ядерного фактора кВ і прозапальних цитокінів ІЛ-1β і ІЛ-17А епітелію ротової порожнини в дітей з особливими потребами здійснили у відділі молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету при безпосередній участі автора. Для оцінювання відносного рівня мРНК використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР-аналіз). Об'єкт дослідження – епітелій ротової порожнини. Для визначення рівня експресії використовували ампліфікатор CFX96™Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, США). Специфічні пари праймерів для аналізу досліджуваних і референсного генів підібрані за допомогою програмного забезпечення Primer-BLAST (NIH, США) та виготовлені фірмою Metabion (ФРН).

Статистичне опрацювання виконали, застосовуючи пакет ліцензійної програми Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Для всіх даних гіпотезу про нормальність розподілу перевіряли з використанням критерію Шапіро–Уїлка. Кількісні ознаки наведені як M ± m (середнє арифметичне ± стандартна похибка середнього арифметичного) або Me (25 %; 75 %) (медіана, 25 і 75 перцентиль) залежно від виду розподілу змінних. При нормальному розподілі вірогідність відмінностей оцінювали за допомогою t-критерія Стьюдента для незалежних і залежних вибірок. При розподілі, що відрізняється від нормального, використовували непараметричні критерії: U-критерій Манна–Уітні для незалежних вибірок, критерій Вілкоксона – для залежних вибірок. Міжгрупові відмінності якісних ознак оцінювали з використанням критерію χ^2 Пірсона. Якщо кількість груп, які порівнювали, становила понад дві, міжгрупові порівняння виконали за допомогою параметричного або непараметричного дисперсійного аналізу. Для аналізу спрямованості та сили зв'язку між певними показниками використовували метод кореляційного аналізу з обчисленням коефіцієнта кореляції при розподілі показників, що відрізнялися від нормального, методом Спірмена (r_s (γ) або Гамма (γ), останній застосовували у випадках, коли в аналізованих даних були значення, які збігаються. Для всіх видів аналізу використовували рівень статистичної значущості $p < 0,05$, при якому відмінності вважали вірогідними.

Результати

У результаті дослідження встановили чималу поширеність карієсу зубів у дітей з інвалідністю залежно від вікових періодів прикусу зубів: при захворюваннях ЦНС у дітей 1 вікової групи карієс зубів спостерігали у 71,79 %, 2 вікової групи – у 67,74 %, 3 вікової групи – у 78,58 % випадків; з психічними розладами – у 76,92 %, 80,65 %, 82,14 % обстежених у кожній віковій групі, з поганим і дуже поганим рівнем гігієни порожнини рота; при хворобах крові – у 78,69 %, 70,49 %, 45,24 %; при захворюваннях органів дихання – у 41,67 %, 52,38 %, 56,00 % із частотним розподілом за віковими групами відповідно. У структурі індексу КПВ спостерігали превалювання показника «В», що свідчило про передчасне видалення постійних зубів у цих хворих на тлі супутнього гінгівіту та погіршення жувальної ефективності з віком за відсутності охоплення плановою санацією в 100 % випадків.

Надалі встановили, що в дітей з інвалідністю в усіх досліджуваних групах виявили стрептококи негемолітичні *Streptococcus non-haemolyticus* (група I – 90 (90; 91) шт., група II – 86 (85; 86) шт., група III – 92 (91; 92) шт., група IV – 93 (92; 93) шт.), V група – 11 (10; 11) шт. ($p < 0,05$); стрептококи гемолітичні *Streptococcus haemolyticus* (група I – 80 (80; 81) шт., група II – 79 (78; 79) шт., група III – 69 (68; 69) шт., група IV – 72 (71; 72) шт., група V – 9 (8;9) шт. ($p < 0,05$); коринебактерії *Corynebacterium matruschotti* (група I – 79 (79; 80) шт., група II – 82 (81; 82) шт., група III – 88 (88; 89) шт., група IV – 77 (77; 78) шт., V група – 6 (5; 6) шт.), $p < 0,05$ (*табл. 1*). Показники в I, II, III, IV групах суттєво не відрізнялися між собою, але суттєво відрізнялися від показників кількості мікроорганізмів у групі порівняння. Це свідчило про дисбіотичні зсуви в порожнині рота в дітей з особливими потребами і превалювання мікроорганізмів, що діють цитотоксично, тобто посилюють деструктивні чинники, руйнують зубоутримувальні тканини.

Таблиця 1. Кількість виділених штамів мікроорганізмів зубного нальоту в дітей

Вид мікроорганізмів	Кількість виділених штамів мікроорганізмів				
	I група	II група	III група	IV група	V група
Staphylococcus aureus	11 (10; 12)	16 (15; 16)	9 (9; 10)	15 (14; 15)	7 (6; 8)
Staphylococcus epidermidis	28 (27; 29)	30 (30; 31)	29 (28; 29)	32 (32; 33)	2 (1; 2)
Streptococcus non-haemolyticus	90 (90; 91)*	86 (85; 86)*	92 (91; 92)*	93 (92; 93)*	11 (10; 11)
Streptococcus haemolyticus	80 (80; 81)*	79 (78; 79)*	69 (68; 69)*	72 (71; 72)*	9 (8; 9)
Streptococcus pyogenes	17 (16; 17)	20 (20; 21)	15 (14; 15)	16 (15; 16)	4 (3; 4)
Corynebacterium matruschotti	79 (79; 80)	82 (81:82)*	88 (88;89)*	77 (77; 78)*	6 (5; 6)
Pseudomonas aeruginosa	12 (11; 12)	11 (10; 12)	16 (15; 16)	14 (13; 14)	0 (0; 0)
Escherichia coli	10 (10; 11)	14 (13; 14)	15 (14; 15)	15 (14; 15)	0 (0; 0)
Klebsiella mobilis	3 (2; 4)	6 (5; 7)	4,5 (4; 5)	7 (6; 8)	0 (0; 0)
Proteus vulgaris	2 (1; 2)	4 (3; 4)	6 (5; 6)	3 (2; 4)	0 (0; 0)
Proteus mirabilis	7 (6; 8)	6 (5; 6)	10 (10; 11)	4 (4; 5)	0 (0; 0)

***:** p < 0,05 порівняно з контрольною V групою.

Отже, в усіх дітей з інвалідністю суттєво збільшена кількість мікрофлори, що призводить до цитотоксичного ефекту та зумовлює деструктивний характер перебігу захворювання, тривалі періоди загострення.

Також встановили, що рівень секреторного Ig A в ротовій рідині в усіх дітей з інвалідністю, який становив у I групі 0,47 (0,46; 0,48) г/л; в II – 0,45 (0,31; 0,47) г/л; в III – 0,42 (0,41; 0,43) г/л; в IV – 0,33 (0,31; 0,35) г/л, вірогідно перевищував аналогічні показники у групі порівняння – 0,28 (0,26; 0,28) г/л, що свідчило про компенсаторне його збільшення та напруженість місцевого імунітету. Лізоцим, який є природнім неспецифічним фактором захисту, мав нижчий рівень у дітей з інвалідизувальними захворюваннями (в I групі – 5,75 (5,25; 5,89) мг/л; у II – 5,1 (3,25; 5,45) мг/л; у III – 5,74 (5,65; 5,78) мг/л; у IV – 5,62 (5,35; 5,85) мг/л, ніж у групі порівняння – 7,26 (7,12; 7,45) мг/л, що призводило в них до розвитку більшої активності бактерій у ротовій порожнині. У групах дітей із хворобами ЦНС, крові та органів дихання між показниками sIg A та лізоциму виявлена пряма кореляційна залежність (r_s = +0,57; r_s = +0,55; r_s = +0,41 відповідно; p < 0,05).

Молекулярно-генетичне дослідження для оцінювання відносного рівня мРНК методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу показало 5,6- та 1,6-разове (p < 0,05) збільшення 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.Також визначили 8,5- та 2,4-разове (p < 0,05) збільшення транскрипційної активності мРНК гена TLR2 і TLR4 в букальному епітелії дітей із захворюваннями дихальних шляхів і 7,8- та 16,6-разове (p < 0,05) – у дітей із захворюваннями системи крові (*рис. 1, 2*).

Це супроводжувалося 7,5- та 13,6-разовим (p < 0,05) зростанням експресії NF-κB у дітей із захворюваннями ЦНС і психічними захворюваннями відповідно. Окрім того, 3,6- та 6,1-разове (p < 0,05) збільшення експресії NF-κB встановлено в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові (*рис. 3*).

Активація NF-κB закономірно підвищувала рівні експресії прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A в дітей

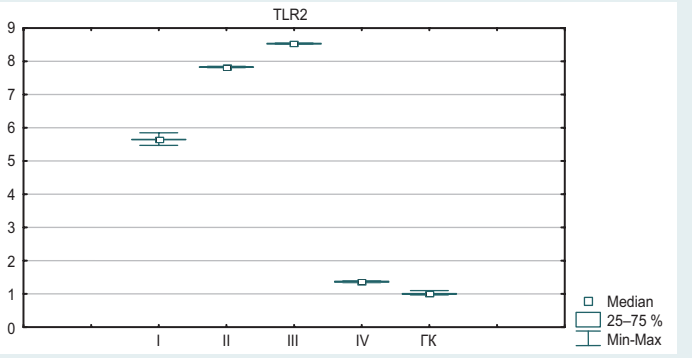

Рис. 1. Відносний рівень експресії мРНК TLR2 букальним епітелієм у дітей з інвалідністю порівняно з контрольною групою. Як рефлекс-ген використали GAPDH.

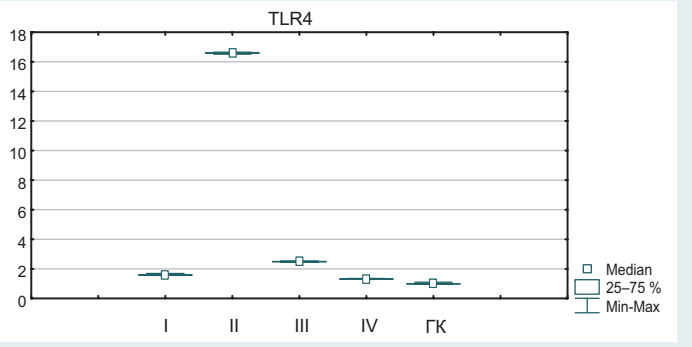

Рис. 2. Відносний рівень експресії мРНК TLR4 букальним епітелієм у дітей із захворюваннями порівняно з контрольною групою. Як рефлекс-ген використали GAPDH.

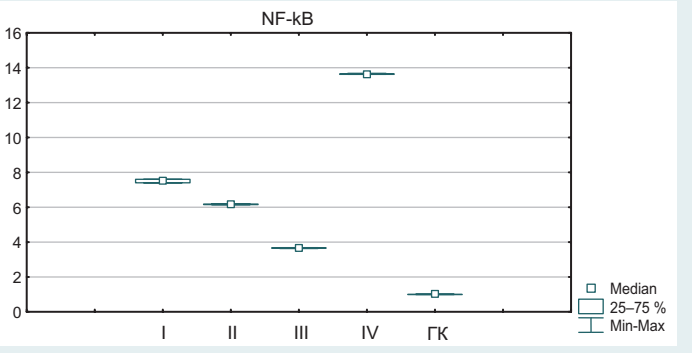

Рис. 3. Відносний рівень експресії МРНК NF-kB букальним епітелієм у дітей із захворюваннями порівняно з контрольною групою. Як рефлекс-ген використали GAPDH.

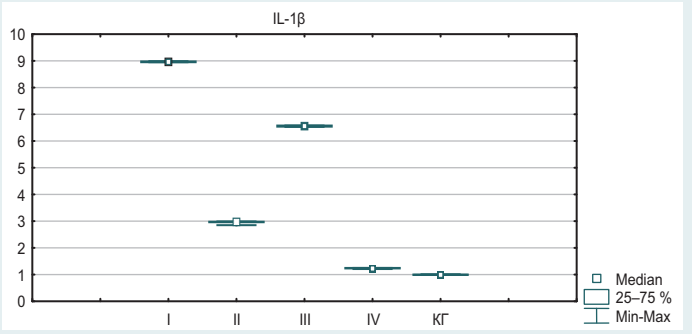

Рис. 4. Відносний рівень експресії МРНК IL-1β букальним епітелієм у дітей із захворюваннями порівняно з контрольною групою. Як рефлекс-ген використали GAPDH.

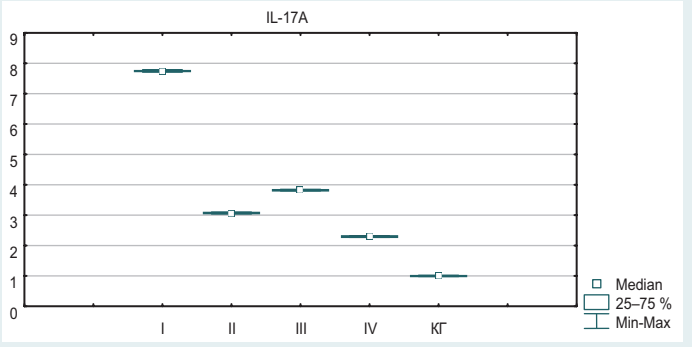

Рис. 5. Відносний рівень експресії МРНК IL-17A букальним епітелієм у дітей із захворюваннями порівняно з контрольною групою. Як рефлекс-ген використали GAPDH.

з інвалідністю (*рис. 4, 5*). Так, в обстежених із захворюваннями ЦНС рівні експресії прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A перевищували показники соматично здорових дітей у 8,9 і 7,7 раза ($p < 0,05$) відповідно. У дітей із психічними захворюваннями рівень IL-17A підвищився у 2,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Також аналіз зворотної транскрипції в режимі реального часу показав підвищення рівня експресії прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A в дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові. Експресія IL-1β 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.

Отже, молекулярно-генетичне дослідження відносного рівня мРНК толл-подібних рецепторів 2 та 4 типів, нуклеарного фактора κB, прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A в епітелії ротової порожнини у дітей з інвалідністю і соматично здорових дітей показало збільшення транскрипційної активності мембранних TLR2 і TLR4 у всіх групах дослідження, крім групи дітей із психічними розладами. Суттєво вищий рівень експресії TLR4 спостерігали у групі захворювань системи крові. Активація патерн-розпізнавальних рецепторів закономірно викликала транскрипційну індукцію NF-κB і прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A, які ним регулюються. Для показу імунопатогенетичних особливостей реалізації функціонування вродженого імунітету в дітей зі стоматологічною та інвалідизуючою соматичною патологією здійснили кореляційний аналіз досліджених показників, що найповніше характеризував сигнальні шляхи регуляції імунної відповіді та додаткові регуляційні та компенсаторні зміни в дитячому організмі (*рис. 6–10*).

У зв'язку з виявленими патогенетичними особливостями формування одонтогенної патології в обстежених дітей, можна стверджувати: в дітей із захворюваннями ЦНС серед основних кореляційних залежностей простежувався прямий кореляційний зв'язок між рівнем лізоциму та sIgA ($r_s = +0,57$), а сигнальний шлях реалізації функціонування вродженого імунітету в умовах життєдіяльності штамів негемолітичних стрептококів (з кп + КПВ, $r_s = -0,54$; з П, $r_s = -0,63$; з В, $r_s = -0,32$; кп, $r_s = +0,39$) та кори-

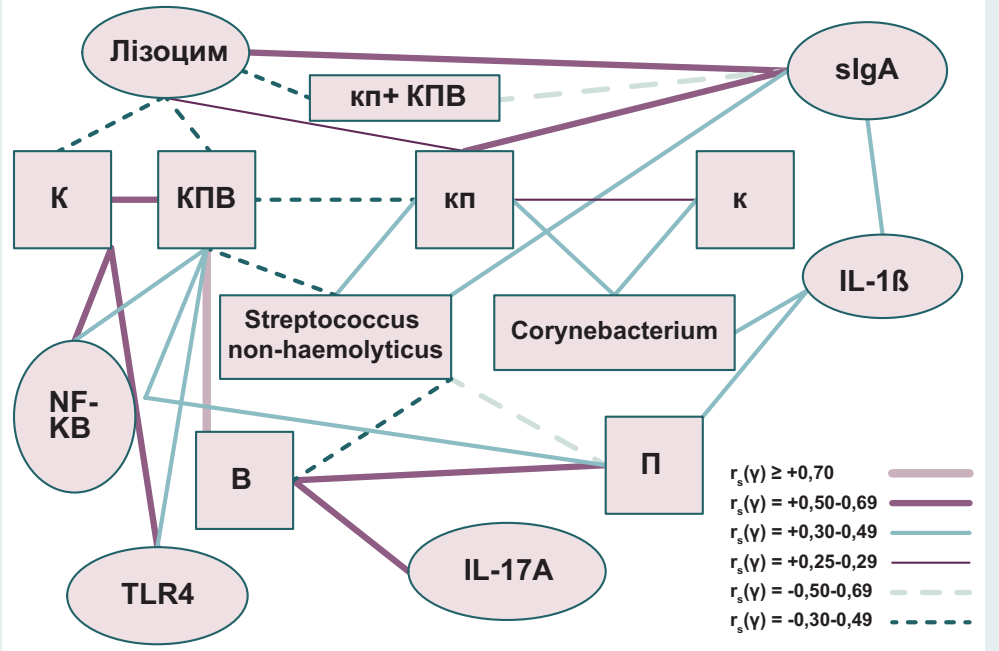

Рис. 6. Патогенетичні механізми реалізації функціонуванняімунної системи в дітей із хворобами ЦНС.

TLR4: транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 4; NF-κB: нуклеарний фактор κB; **IL-1β і IL-17A:** інтерлейкіни 1β і 17A; **sIgA:** секреторний імуноглобулін А; **К:** каріозні зуби; **П:** пломбовані зуби; **КПВ:** каріозні, пломбовані, видалені зуби; **к:** каріозні тимчасові зуби; **кп:** каріозні та пломбовані тимчасові зуби; **кп + КПВ:** каріозні, пломбовані тимчасові зуби та каріозні, пломбовані, видалені постійні зуби.

небактерій (з к, r_s = +0,33; з кп, γ = +0,31) у зубному нальоті забезпечувався транскрипційною активністю мембранних толл-подібних рецепторів 4, експресією нуклеарного фактора κB (NF-κB) та активністю матричної РНК прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A. sIgA та експресія IL-1β (γ = +0,43) мала патогенетичне значення на розвиток карієсу в періоді тимчасового прикусу (sIgA і кп, r_s = +0,51, кп + КПВ, r_s = -0,3), а лізоцим (лізоцим і кп + КПВ, r_s = -0,3; лізоцим і КПВ, r_s =-0,3; лізоцим і К, γ = -0,28) та транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 4 (з КПВ, γ = +0,45; з К, r_s = +0,59), нуклеарного фактора κB (NF-κB) (з К, r_s = +0,53) та IL-17A (з В, γ = -0,5) – у періодах змінного та постійного прикусів.

У дітей із хворобами крові в умовах конкурентної життєдіяльності штамів гемолітичних та негемолітичних стрептококів у зубному нальоті з наявністю вагомих кореляційних зв'язків встановлена виразність усіх досліджуваних складових як місцевого, так і вродженого імунітету: sIgA (з лізоцимом, r_s = +0,55; з КПВ, r_s = +0,45; з К, r_s = +0,44), лізоциму (з КПВ, r_s = +0,36; з К, r_s = +0,54), матричної РНК мембранних толл-подібних рецепторів 2 (з В, r_s = -0,41; з інтерлейкіном 17А, r_s = -0,48), матричної РНК мембранних толл-подібних рецепторів 4 (з к, γ = -0,49; з кп, r_s = -0,43), нуклеарного фактора κB (NF-κB) (з «В», r_s = -0,41), інтерлейкіну 1β (з к, γ = +0,6; з п, γ = -0,39; з ІФВ, r_s = +0,61) та інтерлейкіну 17А (з TLR2, r_s = -0,48; зі стрептококом негемолітичним,

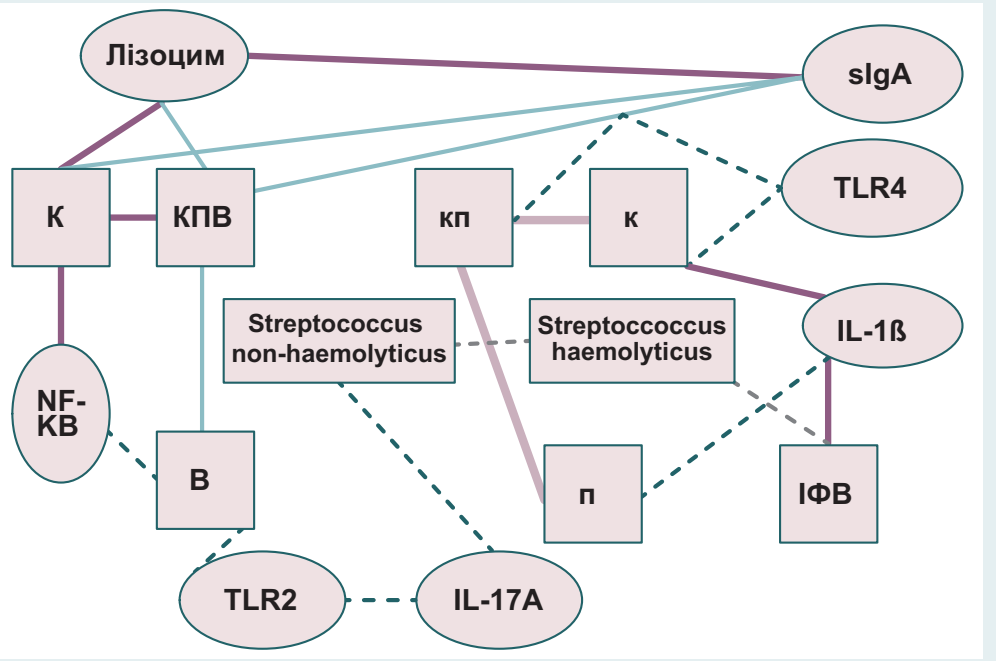

Рис. 7. Патогенетичні механізми реалізації функціонування імунної системи в дітей із хворобами крові.

TLR2, TLR4: транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 2,4; **NF-κB:** нуклеарний фактор κB; **IL-1β і IL-17A:** інтерлейкіни 1β і 17А; **sIgA:** секреторний імуноглобулін А; **К:** каріозні зуби; **П:** пломбовані зуби; **В:** видалені зуби; **КПВ:** каріозні, пломбовані, видалені зуби; **к:** каріозні тимчасові зуби; **кп:** каріозні та пломбовані тимчасові зуби; **ІФВ:** індекс гігієни Ю. А. Федорова, В. В. Володкіної.

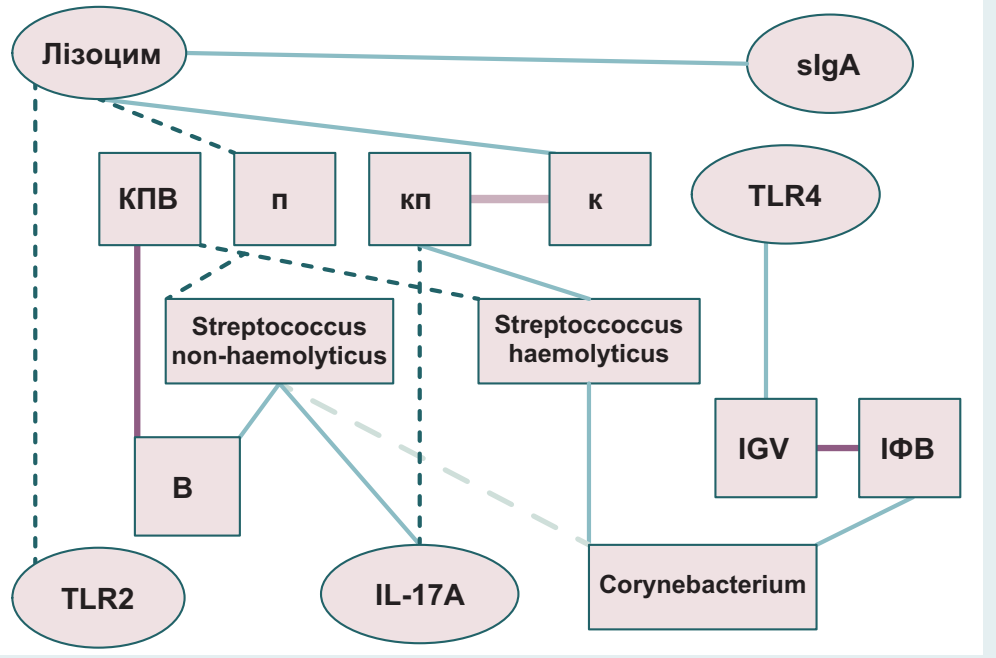

Рис. 8. Патогенетичні механізми реалізації функціонування імунної системи в дітей із хворобами органів дихання.

TLR2, TLR4: транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 2,4; **IL-1β і IL-17A:** інтерлейкіни 1β і 17А; **sIgA:** секреторний імуноглобулін А; **В:** видалені зуби; **КПВ:** каріозні, пломбовані, видалені зуби; **к:** каріозні тимчасові зуби; **п:** пломбовані тимчасові зуби; кп: каріозні та пломбовані тимчасові зуби; **ІФВ:** індекс гігієни Ю. А. Федорова, В. В. Володкіної; **IGV:** індекс гігієни Green-Vermillion.

γ = -0,43). Але на формування карієсу в тимчасових зубах у малюків патогенетичний вплив мали матрична РНК мембранних толл-подібних рецепторів 4 та IL-1β, а в дітей і підлітків – sIgA, лізоцим, матрична РНК мембранних толл-лайк рецепторів 2, нуклеарний фактор кВ (NF-кВ), інтерлейкін 17А.

У групі обстежених із хворобами органів дихання, незалежно від вікових періодів, в реалізації функціонування вродженого імунітету при забезпеченні стоматологічного здоров'я, не мали патогенетичного значення коринебактерії та експресія нуклеарного фактора кВ (NF-кВ) як прозапального посередника. Але визначили взаємозв'язок між показниками лізоциму з sIgA, r_s = +0,41; з к, r_s = +0,40; з п, γ = -0,34; з TLR2, γ = -0,39; стрептококами негемолітичними з коринебактеріями, γ = -0,51; з інтерлейкіном 17А, γ = 0,5; з В, r_s = +0,39; з п, γ = -0,36; стрептококами гемолітичними з коринебактеріями, γ = +0,47; з В, γ = -0,5; з кп, γ = +0,37; з КПВ, γ = -0,4; інтерлейкіну 17А з кп (γ = -0,48).

У дітей із розладами психіки визначили тісний взаємозв'язок між показниками місцевого та вродженого імунітету. Так, рівень sIgA корелював із транскрипційною активністю сигнальних толл-подібних рецепторів 2 (r_s = +0,49) після розпізнавання коринебактерій (γ = +0,30) та експресією нуклеарного фактора кВ (NF-кВ), γ = +0,44. Негемолітичні стрептококи активували продукцію лізоциму (γ = +0,28) як гуморального фактора вродженого імунітету,

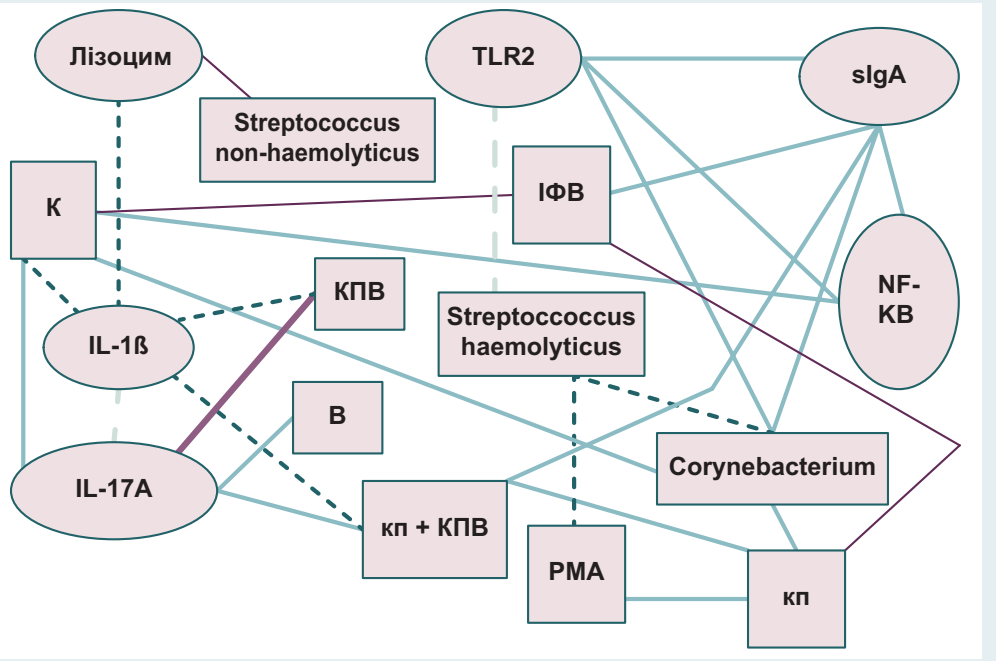

Рис. 9. Патогенетичні механізми реалізації функціонування імунної системи в дітей із розладами психіки.

TLR2: транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 2; **NF-кВ:** нуклеарний фактор кВ; **IL-1β і IL-17A:** інтерлейкіни 1β і 17А; **sIgA:** секреторний імуноглобулін А; **В:** видалені зуби; **К:** каріозні зуби; **КПВ:** каріозні, пломбовані, видалені зуби; **кп:** каріозні та пломбовані тимчасові зуби; **ІФВ:** індекс гігієни Ю. А. Федорова, В. В. Володкіної; **РМА:** індекс РМА, де Р – запалення ясенного сосочка, М – запалення краю ясен, А – запалення комірковых (альвеолярних) ясен).

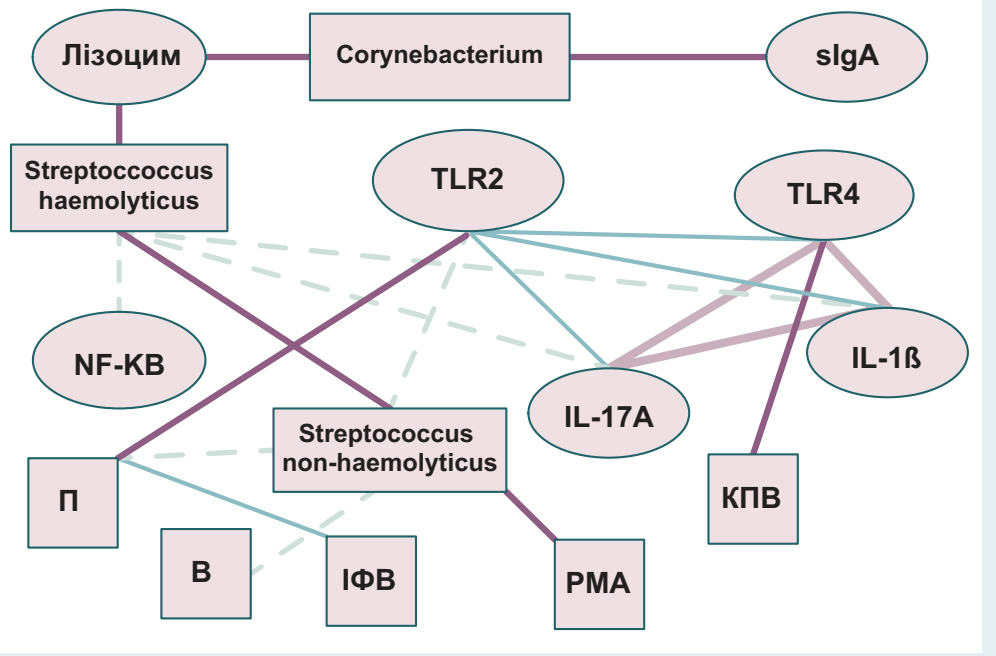

Рис. 10. Патогенетичні механізми реалізації ф нкціонування імунної системи в дітей із групи порівняння.

TLR2: транскрипційна активність мембранних толл-лайк рецепторів 2; **NF-кВ:** нуклеарний фактор кВ; **IL-1β і IL-17A:** інтерлейкіни 1β і 17А; **sIgA:** секреторний імуноглобулін А; **В:** видалені зуби; **П:** пломбовані зуби; **ІФВ:** індекс гігієни Ю. А. Федорова, В. В. Володкіної; **РМА:** індекс РМА, де Р – запалення ясенного сосочка, М – запалення краю ясен, А – запалення комірковых (альвеолярних) ясен).

який зумовлює бактерицидну активність слини. Проте між лізоцимом та експресією інтерлейкіна 1β (γ = -0,42), між інтерлейкінами 1β і 17А (r_s = -0,59) виявили негативний кореляційний зв'язок, а гемолітичні стрептококи конкурували за життєдіяльність із коринебактеріями (r_s = -0,38). Залежно від віку в періоді змінного прикусу важливе патогенетичне значення мали sIgA (з кп + КПВ, r_s = -0,29; з TLRII, r_s = +0,49; з коринебактеріями, γ = +0,30; з NF-κB, γ = +0,44), лізоцим (зі стрептококами негемолітичними, γ = +0,28; з інтерлейкіном 1β (γ = -0,42), експресія мембранних толл-подібних рецепторів 2 (з коринебактеріями, γ = +0,45; з NF-κB, r_s = 0,44), інтерлейкін 1β (з інтерлейкіном 17А, r_s = -0,59).

У V групі порівняння переважно в періоді постійного прикусу встановили «класичний» сигнальний шлях реалізації функціонування місцевого та вродженого імунітету з продукцією sIgA та лізоциму за умови життєдіяльності коринебактерій (з sIgA, γ = +0,59) та стрептококів як гемолітичних (з лізоцимом, γ = +0,52; NF-κB, γ = -0,56; з інтерлейкіном 1β, γ = -0,62; з інтерлейкіном 17А, γ = -0,62), так і негемолітичних (з П, γ = -0,67; з В, r_s = -0,51; з TLR2, r_s = -0,53) і експресії матричної РНК мембранних толл-лайк рецепторів 2 (з TLR2,4, r_s = +0,48; з інтерлейкіном 1β, r_s = +0,43; з інтерлейкіном 17А, r_s = +0,43), експресії матричної РНК мембранних толл-лайк рецепторів 4 (з інтерлейкіном 1β, r_s = +0,83; з інтерлейкіном 17А, r_s = +0,83), інтерлейкінів 1β і 17А (між інтерлейкінами (γ = +1,0).

Кореляційний аналіз показав, що розуміння патогенетичного механізму функціонування імунної системи в дітей зі стоматологічною та інвалідизуючою патологією необхідно враховувати під час розроблення та здійснення лікувально-профілактичних заходів у цього контингенту пацієнтів.

Обговорення

Сучасні дослідження, що здійснені вченими різних країн у галузі стоматології, показали: вроджений імунітет відіграє важливу роль не тільки в запобіганні розвитку соматичних захворювань, але й у захисті твердих і м'яких тканин зубів від інфекційних агентів, що патогенетично зумовлює формування стійкості організму до розвитку карієсу та періодонтиту [12].

Карієс – це унікальна інфекція твердих тканин зубів, причина якої найчастіше була пов'язана зі *Streptococcus mutans*, але при поєднанні з запаленням пародонта, за результатами дослідження Massimo Costalonga та Mark C. Herzberg, спостерігали збільшення частоти виявлення *Porphyromonas gingivalis*, *S. mitis* (25,5 %), *S. sanguinis* (9,1 %) та розвитку дисбіозу, зумовлюючи демінералізацію емалі та дентина при порушенні функціонування вродженого імунітету та продукції секреторного IgA [13].

За даними В. С. Мельник і співавт., у дітей із карієсом, які проживали в сільській місцевості, в зубному нальоті у 100 % випадків були виявлені такі мікроорганізми, як *Lactobacillus spp*., *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, у 22,6 % випадків – гриби роду *Candida spp*., у 16,12 % випадків – *Enterococcus faecium*, а в нашому дослідженні здебільшого реєстрували інші штами мікроорганізмів [14].

Відомо, що ускладненнями карієсу є розвиток періодонтиту, тобто запалення періодонта. Сам періодонт є частиною пародонта, і при його захворюваннях розпізнають різні компоненти бактеріальних клітин саме TLR2 та TLR4. Це підтверджується даними дослідження, які свідчать, що активація TLR2 та TLR4 зареєстрована у 16,7 % та 43,3 % пацієнтів із хронічним періодонтитом проти 3,3 % та 10,0 % випадків у контрольній групі спостереження (p = 0,085 та p = 0,004), хоча вірогідність даних підтверджена тільки для TLR4 [15].

Вроджений імунітет є першою лінією захисту організму, являє собою спадкову стійкість до інфекції та діє через толл-подібні рецептори (TLR), що розпізнають консервативні молекулярні структури патогенних бактерій. Періодонт – унікальне середовище, в якому оральні мікроорганізми знаходяться в постійному контакті з імунною системою. Надалі активація толл-подібних рецепторів мікроорганізмами призводить до експресії транскрипційного фактора NF-kB та викиду прозапальних цитокінів стимуляції вродженого імунітету [16]. Це теоретичне свідчення підтверджено на практиці у здійсненому дослідженні. Оскільки толл-подібні рецептори в епітеліальних клітинах десни постійно стимулюються, це призводить до продукції цитокінів, зокрема IL-1β, та дефензимів, які допомагають підтримувати порожнину рота здоровою. У дослідженні зареєстрована пряма кореляційна залежність між рівнем IL-1β і тривалістю гінгівіта (r_s = +0,45, p < 0,05 на 7 день спостереження та r_s = +0,66, p < 0,01 на 24 день) і рівнями IL-1Ra (r_s = +0,78, p < 0,0001) та IL-8 (r_s = +0,86, p < 0,0001). На противагу нашим даним, інші дослідники не спостерігали кореляційну залежність між IL-1β і клінічними індексами, що характеризують стоматологічне здоров'я пацієнтів [17,18]. Огляд фахової літератури свідчив, що підвищення рівня такого прозапального цитокіна, як інтерлейкін-1β, котрий має кістковорезорбтивну активність, відіграє важливу роль у патогенезі втрати альвеолярної кістки, що асоційована з хронічним генералізованим пародонтитом [19].

У дослідженні І. І. Соколової та співавт. показано: до протизапальних інтерлейкінів належить і IL-17, який синтезується в основному Т-хелперами, регулює виділення клітинами-продуцентами IL-6, IL-8, а його мішенями є епітеліальні, ендотеліальні клітини, фібробласти. У цій роботі, на відміну від наших досліджень, наведені результати імуноферментного аналізу не ротової рідини (слини), а сироватки крові хворих на пародонтит, у яких у 90 % випадків реєстрували IgG-антитіла до вірусу простого герпесу, в 70–90 % – IgG-антитіла до цитомегаловірусу, у 58 % – антитіла до *C. albicans*, у 17 % – антитіла класу G до *C. trachomatis*. Проте збігаються з нашими кореляційними показниками результати досліджень в умовах *in vitro*, де показаний синергізм лізоциму та sIgA [20]. Окрім цього, теоретично показано, що цитокіни ІЛ-1ß та ІЛ-17 також відіграють важливу роль у захисті організму від *Streptococcus pneumonia* при розвитку запальної відповіді під час пневмококової інфекції [4].

Ці дані підтверджують і результати наукових досліджень А. В. Котельбан щодо вивчення вродженого імунітету, що свідчать про вірогідне підвищення рівня експресії мРНК toll-подібних рецепторів 2,4 у дітей із хронічним катаральним гінгівітом на тлі цукрового діабету в 5,74 та 6,38 раза порівняно з дітьми з хронічним катаральним гінгівітом, але без супутньої соматичної патології. Склад мікрофлори ротової порожнини соматично і стоматологічних хворих, що активував експресію цих toll-подібних рецепторів, характеризувався наявністю *S. aureus*, *Str. pyogenus*, *Str. faecales*, *E. coli*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*. Відповідно, рівні експресії мРНК інтерлейкінів 1ß s 17A у дітей із поєднанням ендокринної та стоматологічної патологій (72,18 ± 5,59 і 16,61 ± 0,88) вірогідно перевищували показники як дітей без ендокринної патології (8,25 ± 1,07 і 1,54 ± 0,05), так і здорових (1,00 ± 0,13 і 1,00 ± 0,28) [21].

Доведено, що показники середніх значень TLR2 у дітей із карієсом були вищими, ніж без карієсу (2,12 нг/мл та 1,42 нг/мл, p = 0,008). Підвищення TLR2 дослідники пов'язували з інфікуванням порожнини рота бактерією *S. mutans*. Під час аналізу рівня TLR2 у дітей із карієсом до та після лікування встановили, що вже через 3 місяці після лікування рівень TLR2 знизився до 0,925 нг/мл [22].

Враховуючи, що дослідження, присвячені вивченню вродженого імунітету в дітей нечисленні, можна стверджувати: наші дослідження є необхідними, своєчасними й актуальними.

Висновки

1. Молекулярно-генетичне дослідження вродженого імунітету вірогідно продемонструвало 5,6- та 1,6-разове збільшення транскрипційної активності мРНК гена TLR2 і TLR4 в букальному епітелії дітей із захворюваннями центральної нервової системи; 8,5- та 2,4-разове збільшення у дітей із захворюваннями дихальних шляхів; 7,8- та 16,6-разове – у дітей із захворюваннями системи крові. У дітей із психічними розладами значущих змін рівня мРНК генів TLR2 і TLR4 не було.

2. Активація паттерн-розпізнавальних рецепторів викликає транскрипційну індукцію гена NF-кВ і прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A букальним епітелієм: рівні експресії мРНК IL-1β і IL-17A в дітей із захворюваннями ЦНС порівняно з контролем збільшувались у 8,9 і 7,7 раза (p < 0,05) відповідно. У дітей із психічними захворюваннями рівень IL-17A підвищився у 2,2 раза (p < 0,05), у дітей із захворюваннями дихальних шляхів і захворюваннями системи крові експресія IL-1β підвищилася в 6,5 та 2,9 раза (p < 0,05) відповідно, IL-17A – у 3,8 і 3,0 раза (p < 0,05).

3. Визначили патогенетичні аспекти формування одонтогенної патології в дітей з інвалідністю в умовах життєдіяльності негемолітичних і гемолітичних стрептококів і коринебактерій у зубному нальоті з особливостями сигнальних шляхів реалізації функціонування вродженого імунітету залежно від інвалідизувального захворювання: в дітей із захворюваннями ЦНС – унаслідок транскрипційної активності мембранних толл-подібних рецепторів 4, експресії нуклеарного фактора кВ (NF-кВ) та активності матричної РНК прозапальних цитокінів IL-1β і IL-17A; з хворобами крові – при активації матричної РНК мембранних толл-лайк рецепторів 2, 4, нуклеарного фактора кВ (NF-кВ), інтерлейкіну 17A; з хворобами органів дихання – експресії інтерлейкіну 17A; з психічними розладами – при активації інтерлейкіна 1β та мембранних толл-подібних рецепторів інтерлейкіном 17A.

Перспективи подальших досліджень. Плануємо дослідити взаємозв'язок уродженого та набутого специфічного (адаптивного) імунітету в дітей з інвалідністю, враховуючи вікові особливості.

Фінансування

Дослідження виконане згідно з планом НДР ЗДМУ: «Особливості перебігу захворювань і розробка програм раціонального харчування, удосконалення лікувальних, реабілітаційних заходів і профілактики відхилень у стані здоров'я дітей різного віку, мешканців промислового міста» (№ державної реєстрації 0114U001397).

Конфлікт інтересів: відсутній.
Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 01.04.2019
Після доопрацювання / Revised: 06.05.2019
Прийнято до друку / Accepted: 13.05.2019

Відомості про авторів:
Гавриленко М. А., канд. мед. наук, доцент, асистент каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Шумна Т. Є., д-р мед. наук, професор каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:
Гавриленко М. А., канд. мед. наук, доцент, ассистент каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Шумная Т. Е., д. мед. н., профессор каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:
Havrylenko M. A., MD, PhD, Associate Professor, assistant of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Shumna T. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Faculty Pediatry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

[1] Москалев А.В., Сбойчаков В.Б., Рудой А.С. Общая иммунология с основами клинической иммуноогии : учебное пособие. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 352 с.
[2] Фрейдлин И. С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (ревизия классических догм). *Инфекция и иммунитет*. 2011. Т. 1. №3. С. 199–206.
[3] Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей. Киев : Полиграф плюс, 2006. 482 с.
[4] Абатуров А. Е., Агафонова Е. А., Никулин А.А. Развитие иммунного ответа при пневмококковой пневмонии. Часть 2. *Современная педиатрия*. 2016. №5(77). С. 54–61.
[5] Эволюция и возрастные особенности врожденной и адаптивной иммунной системы / А.Е. Абатуров и др. *Современная педиатрия*. 2016. №3(75). С. 74–84.

[6] Особенности стоматологического статуса у детей с расстройствами аутического спектра / С. И. Гажва и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2018. №3. Р. 36.
[7] Mubashar H. Sh., Elijah D. The Objective Structured Clinical Examination Review. Springer, 2019. 478 c.
[8] Казмирчук В.Е., Ковальчук Л.В., Мальцев Д.В. Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями. Киев : Медицина, 2012. 520 с.
[9] Практическое пособие по иммуноферментному анализу / Н. В. Иванская и др. Киев, 2003. 68 с.
[10] Иванцова Е.А. Фотоколориметрический метод. Проблемы науки. 2015. URL.: file:///C:/Users/%D0%A1%D0%B2%D0%B5%D1%82%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D0%B0/Downloads/fotokolorimetricheskiy-metod.pdf
[11] Ильиных Е. И., Коробейникова Э. Н. Количественное определение содержания белка и лизоцима (гликопротеинов) в слюне. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2001. №8. С. 34–35.
[12] The innatehostresponseincariesandperiodontitis / J. Meyle, et al *Journal of Clinical Periodontology.* 2017. Vol. 44. Issue 12. P. 1215–1225. https://doi.org/10.1111/jcpe.12781
[13] Costalonga M., Herzberg M. C. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett*. 2014. Vol. 162. P. 22–38. doi: 10.1016/j.imlet.2014.08.017
[14] Мельник В. С., Горзов Л. Ф., Когут О. В. Оцінка ризику розвитку карієсу зубів у дітей в сільській місцевості. *Клінічна стоматологія*. 2016. №1. С. 68–73. doi: 10.11603/2311-9624.2016.1.6156
[15] Evaluation of TLR2 and 4 in Chronic Periodontitis / P. Ilango, et al. *JClin Diagn Res.* 2016. Vol. 10. Issue 6. P. ZC86-9. doi: 10.7860/JCDR/2016/18353.8027
[16] Гасюк Н. В., Єрошенко Г. А., Палій О. В. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороб пародонта. *Світ медицини та біології*. 2013. №2. С. 207–211.
[17] Toll-like receptors: A double edge sword / M. P. Shah, et al. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*. 2013. Vol. 3. Issue 2. P. 57–63. doi: 10.4103/2229-5194.126853
[18] Salivary cytokine levelsinearlyging ivalinflammation / D. Belstrom et al. *JOralMicrobiol.* 2017. Vol. 9. Issue 1. 1364101 doi: 10.1080/20002297.2017.1364101
[19] Романова Ю. Г., Золотухина Е. Л. Участие провоспалительных цитокинов в регуляции метаболизма костной ткани и их роль в развитии хронического генерализованного пародонтита. *Стоматология. Эстетика. Инновации.* 2017. №1. С. 48–54.
[20] Імунологія в сучасній стоматології : метод. посіб. для студ. стомат. фак-ту, лікарів-інтернів-стоматологів та лікарів стомат. профілю / І. І. Соколова та ін. Харків, 2018. 116 с.
[21] Котельбан А. В. Клініко-імунологічна характеристика хронічного катарального гінгівіту в дітей, хворих на цукровий діабет, та шляхи його корекції : дис. … к.мед.н. : 14.01.22 / Держ. ВНЗ «Івано-Франків. нац. мед. ун-т». Чернівці, 2018. 232 с.
[22] Malekafzali B., Sattari M., Keyvanfar S. Toll Like Receptor-2 Concentration and Early Childhood Caries. *Iran J Immunol*. 2014. Vol. 11. Issue 3. P. 210–216. doi: IJIv11i3A7

References

[1] Moskalev, A. V., Sbojchakov, V. B., Rudoj, A. S. (2015) *Obshchaya immunologiya s osnovami klinicheskoj immunoogii [General immunology with the basics of clinical immunology]*. Moscow: GEOTAR-Media. [in Russian].
[2] Freidlin, I. S. (2011) Vzaimosvyazi vrozhdennogo i priobretennogo immuniteta pri infekciyakh (reviziya klasskicheskikh dogm). [Relationship between the innate and adaptive immunity in infections (revision of classic dogma)]. *Infekciya i immunitet*, 1(3), 199–206. [in Russian].
[3] Drannik, G. N. (2006) *Klinicheskaya immunologiya i alergologiya: posobie dlya studentov, vrachej-internov, immunologov, allergologov, vrachej lechebnogo profilya vsekh special'nostej [The relationship of innate and acquired immunity in infections (revision of classical dogmas)]*. Kyiv: Poligraf plyus. [in Russian].
[4] Abaturov, A. E., Agafonova, E. A., & Nikulina, A. A. (2016) Razvitie immunnogo otveta pri pnevmokokkovoj pnevmonii. Chast' 2. [Development of the immune response in pneumococcal pneumoniae (part 2)]. *Sovremennaya pediatriya*, 5(77), 54–61. [in Russian].
[5] Abaturov, A. E., Agafonova, E. A., Abaturova, N. I., & Babich, V. L. (2016) E'volyuciya i vozrastnye osobennosti vrozhdennoj adaptivnoj immunnoj sistemy [Evolution and age characteristics of the innate and adaptive immune system]. *Sovremennaya pediatriya*, 3(75), 74–84. [in Russian].
[6] Gazhva, S. I., Belousova, E. Y., Knyaschuk, E. A., & Kulikov, A. S. (2018) Osobennosti stomatologicheskogo statusa u detej s rasstrojstvami auticheskogo spektra [Peculiarities of stomatological status in children with disorders of the authentic spectrum]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 3, 36. [in Russian].
[7] Mubashar, H. Sh., & Elijah, D. (2012) The Objective Structured Clinical Examination Review. Springer.
[8] Kazmirchuk, V. E., Koval'chuk, L. V. & Mal'cev, D. V. (2012) *Klinicheskaya immunologiya i allerhologiya s vozrastnymi osobennostyami [Clinical immunology and allergology with age-related features].* Kyiv: Medicina. [in Russian].
[9] Ivanskaya, N. V., Kislykh, E. N., Maksimenok, E. V., Raevskaya, G. E., & Pilipenko, V. G. (2003) *Prakticheskoe posobie po immunofermentnomu analizu [Practical guide for enzyme immunoassay]*. Kyiv. [in Russian].
[10] Ivancova, E. A. (2015) Fotokolorimetricheskij metod [Photo Colorimetric Method]. *Problemy nauki*. Retrievrd from file:///C:/Users/%D0%A1%D0%B2%D0%B5%D1%82%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D0%B0/Downloads/fotokolorimetricheskiy-metod.pdf
[11] Il'inykh, E. I., Korobejnikova, E'. N. (2001) Kolichestvennoe opredelenie soderzhaniya belka i lizocima (glikoproteinov) v slyune [Quantification of protein and lysozyme (glycoproteins) in saliva]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika, 8, 34–35*.
[12] Meyle, J., Dommisch, H., Groeger, S., Giacaman, R. A., Costalonga, M., & Herzberg, M. (2017) The innate host response in caries and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(12), 1215–1225. https://doi.org/10.1111/jcpe.12781
[13] Costalonga, M., & Herzberg, M. C. (2014) The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett*, 162(2 Pt A), 22–38. doi: 10.1016/j.imlet.2014.08.017
[14] Melnyk, V. C., Horzov, L. F., & Kohut, O. V. (2016) Otsinka ryzyku rozvytku kariiesu zubiv u ditei v silskii mistsevosti [Evaluation of the risk of tooth decay among children in the countryside]. *Klinichna stomatolohiia*, 1, 68–73. [in Ukrainian]. doi: 10.11603/2311-9624.2016.1.6156
[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), ZC86-9. doi: 10.7860/JCDR/2016/18353.8027
[16] Gasyuk, N. V., Yeroshenko, G. A., & Paliy, E. V. (2013) Suchasni uiavlennia pro etiolohiiu ta patohenez khvorob parodonta [Modern look about etiology and pathogenesis of periodontal tissues diseases]. *Svit medytsyny ta biolohii,* 2, 207–211. [in Ukrainian].
[17] Shah, M. P., Patel, A. P., Ganna, P. S., & Shah, K. M. (2013) Toll-like receptors: A double edge sword. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*, 3(2), 57–63. doi: 10.4103/2229-5194.126853
[18] Belstrom, 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
[19] Romanova, Iu., & Zolotukhina, O. (2017) Uchastie provospalitel'nykh citokinov v regulyacii metabolizma kostnoj tkani i ikh rol' v razvitii khronicheskogo generalizovannogo parodontita [The participation of pro-inflammatory cytokines in the regulation of bone metabolism and its role in the development of chronic generalized periodontitis]. *Stomatologiya. E'stetika. Innovacii*, 1, 48–54. [in Russian].
[20] Sokolova, I. I., Herman, S. I., Tomilina, T. V., Savel'eva, N. M., Slynko, Yu. O., & Skydan, K. V. (2018) *Imunolohiia v suchasnii stomatolohii [Immunology in modern dentistry]*. Kharkiv. [in Ukrainian].
[21] Kotelban, A. V. (2018) *Kliniko-imunolohichna kharakterystyka khronichnoho kataralnoho hinhivitu v ditei, khvorykh na tsukrovyi diabet, ta shliakhy yoho korektsii* (Dis…kand. med. nauk). [Clinico-immunological characteristic of chronic catarrhal gingivitis in children suffering from diabetes mellitus, and ways of its correction Dr. med. sci. diss.]. Chernivtsi. [in Ukrainian].
[22] Malekafzali, B., Sattari, M., & Keyvanfar, S. (2014) Toll Like Receptor-2 Concentration and Early Childhood Caries. *Iran J Immunol*., 11(3), 210–216. doi: IJIv11i3A7