

ацетата свинця и цитрата серебра в 1,04 раза больше по сравнению с контрольной группой, но в 1,28 раз больше по сравнению с группой влияния ацетата свинца ($p < 0,05$). Коэффициент масса печени к массе эмбриона в группе совместного влияния ацетата свинца и цитрата золота достоверно меньше в 1,23 раза по сравнению с контрольной группой и в 1,03 раза больше по сравнению с группой влияния ацетата свинца. Увеличение коэффициента масса печени к массе эмбриона в группах совместного влияния ацетата свинца и цитратов металлов по сравнению с группой свинцовой интоксикации отражает нарастание компенсаторных реакций органа в условиях воздействия солями тяжелых металлов.

Выводы. Таким образом, обнаружено, что низкие дозы ацетата свинца вызывают уменьшение весовых показателей печени будущего потомства. При введении цитратов серебра и золота на фоне влияния ацетата свинца наблюдается увеличение массы печени по сравнению с весовыми показателями группы влияния свинца и увеличение коэффициента масса печени к массе эмбриона, что свидетельствует о нарастании компенсаторных механизмов органа в условиях влияния солями тяжелых металлов.

Ключевые слова: ацетат свинца, наноаквахелат серебра, наноаквахелат золота, эмбриогенез, печень.

Harets V.I., Belska Yu.O., Shatorna V.F.

Morphological State of Fetal Liver under the Influence of Silver and Gold Citrate on a Background of Lead Intoxication

Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipropetrovsk, Ukraine
garetsvira@gmail.com

Abstract. The last decade is characterized by the emergence and growth of negative trends in the health and reproduction of the people of Ukraine. On health indicators primarily affects the ecological situation, determined the degree of environmental contamination by salts of heavy metals and other chemicals. The priority overall problem of preserving public health are health care of pregnant and her fetus. Under the influence of lead acetate on the mother during pregnancy there are negative changes in the liver of offspring. Thus the study of substances with protective properties due to the negative impact of lead on the liver of embryo is an urgent task of the research. The aim of the study was to identify modifying properties of silver and gold citrates on the morphological status of the rat embryos liver. **Materials and methods.** Experimental work performed on 24 white mature female rats Wistar weighing 180-200 grams aged 95-110 days. In experimental models used a solution of lead acetate and solutions of silver and gold

citrate obtained by aquanotechnology. All rats were divided into 4 groups: I group - animals which were injected by solution of lead acetate at concentration 0,05 mg/kg; II group - animals which were injected by lead acetate at concentration of 0,05 mg/kg and silver citrate at concentration 2 mcg/kg; III group - animals which were injected by lead acetate at concentration 0,05 mg/kg and gold citrate at concentration 1.5 mcg/kg; The fourth group (control) - animals which were injected by distilled water. Solutions of metals were injected enterally using tube once a day, at the same time, from the first to the 19th day of pregnancy. On the 20th day of pregnancy was performed operative slaughter. Embryos were fixed at 7% solution of neutral formalin for further histological and morphometric study. After fixation fetal liver removed, weighed and calculated ratio of liver weight to the mass of the embryo. **The results.** The weight of the liver in group under the influence of lead acetate in 2.5 times less in comparison with control group. Under the combined influence of lead acetate and silver citrate the weight of liver more in 1.16 times in comparison with control group and in 2.3 times more in comparison with group of lead intoxication. Indicator of liver weight in group of combined influence of lead acetate and gold citrate in 1.6 times less in comparison with control group, but in 1.5 times more in comparison with group of lead intoxication. The ratio of liver weight to the mass of the embryo in the group lead influence in 1.3 times less than in control group. Ratio of liver weight to the mass of the embryo in the group of combined influence of lead acetate and silver citrate in 1.04 times less in comparison with control group and in 1.28 times more than in group of lead influence. Ratio of liver weight to the mass of the embryo in the group of combined influence of lead acetate and gold citrate in 1.23 times less in comparison with control group and in 1.03 times more than in group of lead intoxication. **Conclusions.** Thus, found that low doses of lead acetate causing a reduction in liver weight indicators of future offspring. In case of injection of silver and gold citrates on a background exposure of lead acetate, causes an increase in liver weight compared to weight performance group lead exposure and increased liver weight ratio to the mass of the embryo, indicating that enabled compensatory mechanisms agency of organ in case of the influence of heavy metal salts.

Keywords: lead acetate, silver nanoaquachelate, gold nanoaquachelate, embryogenesis, liver.

Надійшла 22.06.2015 року.

УДК: 616.311.2 – 018.7

Гасюк Н.В., Єрошенко Г.А.

Характеристика поліморфних варіантів ядерного фактора транскрипції NFκB1 як предикторів розвитку генералізованого пародонтиту

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Резюме. В статті приведені результати молекулярно-генетичного дослідження патогенетичних механізми виникнення запальних захворювань тканин пародонта через поліморфізм ядерного фактора транскрипції NFκB, який контролює експресію генів імунної відповіді, апоптозу і клітинного циклу. Отримані дані дають можливість стверджувати, що визначені поліморфні варіанти гену NF-κB1 дають можливість формування груп ризику на захворюваність генералізованим пародонтитом. Контингент осіб з генотипом (Del/del) рекомендуємо взяти під диспансерний нагляд. Особи з поліморфним варіантом NF-κB1 (Del/Ins) складають групу ризику у випадку наявності шкідливих звичок та супутньої соматичної патології, що є предикторами для розвитку індукованого генералізованого пародонтиту на тлі судинних розладів власної пластинки ясен. Особи із поліморфним варіантом NF-κB1 (Ins/Ins), складають групу ризику у випадку впливу місцевих несприятливих факторів та наявних зубо-щелепних аномалій і деформацій.

Приведений розподіл поліморфних варіантів дає можливість прогнозування та своєчасного попередження виникнення генера-

лізованого пародонтиту

Ключові слова: генотип, пародонтит, поліморфізм, ядерний фактор транскрипції.

Дисертаційна робота є фрагментом проектів науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава) «Роль запальних захворювань зубощелепного апарату в розвитку хвороб, пов'язаних із системним запаленням», номер державної реєстрації №0112U0011538, та «Комплексне дослідження генетично обумовлених особливостей NFκB-опосередкованої сигнальної трансдукції, що визначає розвиток хронічного системного запалення, у хворих на метаболічний синдром та цукровий діабет 2 типу» номер державної реєстрації №0111U001774. Автор є співвиконавцем даних проектів.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Проблема прогностичних критеріїв виникнення та своєчасної діагностики запальних хвороб тканин пародонта є надзвичайно актуальною, оскільки визначається особливостями клінічного перебігу патологічного процесу, показниками лабораторної діагностики, та супроводжується вираженими деструктивними змінами у тканинах пародонта і ранньою втратою зубів [2].

Етіологія виникнення різних форм генералізованого пародонтиту пов'язана з впливом агресивної грамнегативної і анаеробної мікрофлори на тлі зниження захисних сил організму, серед яких провідну роль відіграє функціональний стан нейтрофілів і факторів неспецифічного захисту [6, 8, 9].

На сьогодні встановлено, що деструкція тканин пародонта при генералізованому пародонтиті відбувається в результаті руйнування тканинних елементів протеїназами, вільними радикалами і шляхом пригнічення репаративних процесів цитокинами, що виділяють поліморфноядерні лейкоцити при порушенні їх функціональної активності, зумовленої або генетичними, або набутими вторинно факторами [1, 3].

Тактика комплексної ранньої діагностики генералізованого пародонтиту є дискусійним питанням серед фахівців і має ряд особливостей в виборі того чи іншого об'єму діагностичних заходів.

Останнім часом у літературі акцентується увага на необхідності розробки спеціального комплексу діагностичних та лікувальних пародонтологічних втручань [2, 6], до складу якого входять професійна гігієна із прищліфовуванням і поліруванням шийок і коренів зубів, хірургічні втручання в тканинах пародонта із використанням тканиносумісних остеопластичних препаратів для відновлення структури кісткової тканини альвеолярного відростка, ортодонтичне і ортопедичне лікування за показаннями [5, 7].

Однак традиційні методи діагностики та прогнозування розвитку різних форм генералізованого пародонтиту не завжди ефективні та своєчасні, не дозволяють до кінця вирішити поставлені перед клініцистами завдання через циклічність та непередбачуваність перебігу патологічного процесу, швидкопрогресуючу деструкцію тканин пародонта, токсичні та алергічні реакції.

Метою нашого дослідження стало визначення предикторів розвитку генералізованого пародонтиту на основі приведеної характеристики поліморфних варіантів ядерного фактора транскрипції NF-κB1.

Матеріал і методи дослідження

Діагностичне обстеження 45 осіб із інтактним пародонтом проводили згідно зі Стандартами діагностики і лікування стоматологічних хворих (Наказ МОЗ України «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальностями «ортопедична стоматологія», «терапевтична стоматологія», «хірургічна стоматологія», «ортодонція», «дитяча терапевтична стоматологія», «дитяча хірургічна стоматологія» від 28.12.2002 №507 та наказ МОЗ України «Про затвердження нормативів надання медичної допомоги та показників якості медичної допомоги» від 28.12.2002 № 507).

Виділення поліморфної ділянки гена NF-κB1 проводили із клітин букального епітелію обстежених шляхом полімеразної ланцюгової реакції. Забір матеріалу проводили стерильними одноразовими стоматологічними брашми, з подальшим внесенням в епандорфи з реактивом «ДНК-експрес» (НПФ «ЛіТех», Росія). Геномну дезоксирибонуклеїнову кислоту виділяли за допомогою набору «ДНК-експрес» (ЛіТех, Москва).

Поліморфну ділянку гена NF-κB1 (rs28362491) ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Кінцевий об'єм реакційної суміші склав 25 мкл та містив:

- специфічні олігонуклеотидні праймери – по 66 нг кожного, прямий – 5'-TGGGCACAAGTCGTTTATGA-3';
- зворотній – 5'-CTCGAGCCGGTAGGGAAG-3';
- 2,5 мкл 10-кратний буфер для ампліфікації;
- 2 мМ хлориду магнію;
- 0,2 мМ суміші дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP);

– 2,5 од. Тақ ДНК-полімерази;

– 20-50 нг геномної ДНК.

У пробірці зверху нашаровували 25 мкл мінерального масла. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» (ООО „ДНК-Технологія”, Росія).

Для ідентифікації алелей проводили рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції PflMI (СибЭнзим, Росія) при 37°C.

Продукти розщеплення поліморфної ділянки гена NF-κB1 виявляли за допомогою горизонтального електрофорезу в 2% агарозному гелі в однократному TBE (50 мМ трис-Н₃ВО₃ та 2 мМ ЕДТА, рН 8.0), протягом 2 годин при напрузі 2V на 1 см гелю. В якості маркеру молекулярної ваги ДНК використовували pBR322/Alu I. Гелі забарвлювали етидіумом бромідом із наступною візуалізацією результатів в УФ-світлі. Отримані результати клінічних та комплексних морфологічних досліджень проаналізовані з використанням ряду методів біологічної статистики. Статистичні дослідження виконані у відділі статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України». Обробка даних проводилась за допомогою ліцензійної програми Statistica компанії StatSoft.

Аналіз поліморфних варіантів гена NF-κB1 проводили за допомогою популяційно-статистичного методу. При статистичному опрацюванні результатів, молекулярно-генетичного дослідження, згідно із визначеним генотипом (Del/Del), (Del/Ins), (Ins/Ins), за основу для зв'язування генетичної структури популяції брали закон генетичної рівноваги Харді-Вайнберга. На підставі цього закону, згідно з даними щодо частоти прояву в популяції рецесивного фенотипу, що має гомозиготний генотип розраховували поширеність поліморфних варіантів NF-κB1 у обстежених групах. Статистичне обґрунтування вірогідності відмінностей розподілу генотипів проводили за допомогою критерію χ^2 із поправкою на безперервність Єтца [4].

Результати дослідження та їх обговорення

У обстеженій групі, яку склали пацієнти із інтактним пародонтом генотип (Del/del) гомозигота, мали 5 осіб (11%), що дає можливість формування групи ризику на захворюваність генералізованим пародонтитом, та рекомендуємо взяти даний контингент осіб під диспансерний нагляд. Оскільки, найбільш виражені клінічні прояви запально-дистрофічних змін в тканинах пародонта, характеристика яких відповідала клінічній картині швидкопрогресуючого пародонтиту спостерігали саме у осіб із даним генотипом. За результатами кореляційного аналізу, із визначенням коефіцієнта кореляції Спірмена ($p < 0,05$), отримані дані щодо відсутності кореляційних зв'язків між визначеними параметрами у осіб із поліморфним варіантом (Del/Del). Відсутність кореляції в даному випадку свідчить, що незалежно від того, як змінюються показники (РМА, наявна чи відсутня супутня соматична патологія та ін.), умовно головний, в даному випадку генотип (Del/Del) є незмінним і визначальним фактором, що обумовлює розвиток генералізованого пародонтиту, клінічна картина якого відповідає швидкопрогресуючому.

У осіб із генотипом (Del/Ins) визначено наявність прямого кореляційного зв'язку за Спірменом ($p < 0,05$) між імуногістохімічним профілем індивідуума та наявною супутньою соматичною патологією із коефіцієнтом кореляції ($r = +0,60$), між шкідливою звичкою (куріння) та індексом РМА ($r = 0,17$), що вказує на безпосередню роль даних параметрів у виникненні та розвитку генералізованого пародонтиту. 23 (51%) особи у контрольній групі із поліморфним варіантом NF-κB1 (Del/Ins) складають групу ризику у випадку наявності шкідливих звичок супутньої соматичної патології, що в перспективі створює передумови для розвитку індукованого генералізованого пародонтиту на тлі судинних розладів власної пластинки ясен.

Відсутній достовірний, як прямий так і зворотній кореляційний зв'язок за Спірменом ($p < 0,05$), між параметрами в генотипі (Ins/Ins), що також дає можливість припущення, що патогенетичні механізми ГП у осіб із даним поліморфним варіантом несуть генетичну складову, проте особливості

Таблиця 1. Розподіл поліморфних варіантів генів NF-κB1 пацієнтів із інтактним пародонтом

Характеристика обстежених	Гомозигота (D/D)	Гетерозигота (D/I)	Гомозигота (I/I)
Пацієнти із інтактним пародонтом (45 осіб)	5 (11%)	23 (51%)	17 (38%)
Вірогідність розвитку генералізованого пародонтиту	Висока	Помірна	Низька

Примітка: - розподіл генотипів поліморфізмів (ins/ins, ins/del, del/del) визначали у відповідності із законом генетичної рівноваги Харді-Вайнберга; - вірогідність відмінностей визначено за критерієм χ^2 із поправкою на безперервність Yates

клінічних проявів є більш доброякісними та характеризуються хронічним тривалим перебігом в порівнянні із поліморфними варіантом (Del/Del). 17 осіб (33%) осіб контрольної групи із поліморфним варіантом NF-κB1 (Ins/Ins), складають групу ризику у випадку впливу як місцевих несприятливих факторів, так і та наявних зубо-щелепних аномалій і деформацій (табл. 1).

Висновок

Отже, що визначені поліморфні варіанти гену NF-κB1 дають можливість формування груп ризику на захворювання ГП. Контингент осіб з генотипом (Del/del) рекомендуємо взяти під диспансерний нагляд. Особи з поліморфним варіантом NF-κB1 (Del/Ins) складають групу ризику у випадку наявності шкідливих звичок та супутньої соматичної патології, що є предикторами для розвитку індукованого ГП на тлі судинних розладів власної пластинки ясен. Особи із поліморфним варіантом NF-κB1 (Ins/Ins), складають групу ризику у випадку впливу місцевих несприятливих факторів та наявних зубо-щелепних аномалій і деформацій.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується розглянути патогенетичні механізми виникнення продуктивних процесів слизової оболонки порожнини рота через поліморфізм ядерного фактора транскрипції NF κB1, який контролює експресію генів імунної відповіді, апоптозу і клітинного циклу.

Література

1. Айала Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – М.: Книга по требованию, 2012. – 294 с.
2. Григорян А. С. Болезни пародонта / Григорян А. С., Грудянов А. И., Рабухина Н. А. - М.: «Медицинское информационное агентство». - 2004. - 320 с.
3. Григорян А. С. Ключевые звенья патогенеза заболеваний пародонта в свете данных цитоморфометрического метода исследования / А. С. Григорян, А. И. Грудянов // Стоматология. – 2001. – № 1. - С. 5 -8.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA / Реброва О. Ю. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
5. Kinane D. F. Periodontal manifestations of systemic disease / D. F. Kinane, G. J. Marshall // Aust. Dent. J. - 2001. - № 46 (1). - P. 2 – 12.
6. The interleukin-1 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis / S. Reichert, H. K. Machulla, J.

Klapproth, U. Zimmermann // J. Periodontal Res. – 2008. – Vol. 43, № 1. – P. 40 - 47.

7. Schulz S. Single nucleotide polymorphisms in interleukin-1 gene cluster and subgingival colonization with *Aggregatibacter actinomycetem-comitans* in patients with aggressive periodontitis // S. Schulz, J.M. Stein, U. Zimmermann // Hum. Immunol. - 2011. - № 72 (10). - P. 940-946.

8. The del/del genotype of the nuclear factor-kappaB -94ATTG polymorphism and its relation to aggressive periodontitis / S. Schulz, L. Hierse, W. Altermann [et al.] // J. Periodontal Res. - 2010. - № 45 (3). - P. 396-403.

9. The effect of periodontal therapy on TNF-alpha, IL-6 and metabolic control in type 2 diabetics // J. Talbert, J. Elter, H.L. Jared [et al.] // J. Dent. Hyg. Spring. – 2006. – P. 802 – 807.

Резюме. В статье приведены результаты молекулярно-генетического исследования патогенетических механизмов возникновения воспалительных заболеваний тканей пародонта через полиморфизм ядерного фактора транскрипции NF κB 1, который контролирует экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. Полученные данные дают возможность утверждать, что определенные полиморфные варианты гена NF-κB1 дают возможность формирования групп риска на заболеваемость генерализованным пародонтитом. Контингент лиц с генотипом (Del/Del) рекомендуем взять под диспансерное наблюдение. Лица с полиморфным вариантом NF-κB1 (Del/Ins) составляют группу риска в случае наличия вредных привычек и сопутствующей соматической патологии, являются предикторами для развития индуцированного пародонтита на фоне сосудистых расстройств собственной пластинки десен. Лица с полиморфным вариантом NF-κB1 (Ins/Ins), составляют группу риска в случае влияния местных неблагоприятных факторов и имеющихся зубо-челюстных аномалий и деформаций.

Приведенный распределение полиморфных вариантов дает возможность прогнозирования и своевременного предупреждения возникновения генерализованного пародонтита

Ключевые слова: генотип, пародонтит, полиморфизм, ядерный фактор транскрипции.

Hasiuk N.V., Yeroshenko H.A.

Characteristic of Polymorphic Variants of NF^κB1 Nuclear Factor Transcription as Predictors of Generalized Periodontitis Development

Abstract. In the article results of molecular genetic studies of pathogenetic mechanisms of inflammatory diseases periodontal tissues through polymorphism nuclear transcription factor NF κB1, which controls the expression of immune response genes, apoptosis and cell cycle. The data make it possible to state that certain polymorphic variants of the gene NF-κB1 enable the formation of groups at risk of morbidity of generalized parodontitis. The contingent of people with genotype (Del/del) to recommend under medical observation. Persons with polymorphic variant of NF-κB1 (Del/Ins) constitute risk in the event of bad habits and concomitant somatic pathology that are predictors for the development of general parodontitis induced vascular disorders against the background of lamina propria gums. Persons with polymorphic variant of NF-κB1 (Ins / Ins), constitute a risk group in case of adverse impact of local factors and existing teeth-jaw abnormalities and deformities.

Adjusted distribution of polymorphic variants enables timely prediction and prevention of generalized periodontitis

Keywords: genotype, periodontitis, polymorphism, nuclear factor transcription.

Надійшла 22.06.2015 року.