

Denga O.V*Doctor of medical Sciences, State Establishment "The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery
National Academy of Medical Science of Ukraine"***Pyndus T.A.***The candidate of medical Sciences, Lviv medical institute***Bubnov V.V.***The candidate of medical Sciences, Odessa National Medical University***Денга О.В.***Доктор медицинских наук Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-
лицевой хирургии НАМН Украины»***Пиндус Т.А.***кандидат медицинских наук, Львовский медицинский институт***Бубнов В.В.***кандидат медицинских наук, Одесский национальный медицинский университет*

**CORRECTION OF FUNCTIONAL STATE OF IFN- γ AND IL-6 GENES IN CHRONIC
GENERALIZED PARODONTITIS ON THE BACKGROUND OF METABOLIC SYNDROME
КОРРЕКЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ IFN- γ И IL-6 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

Summary. Introduction. Regulation of the expression of many cytokines is associated with methylation or demethylation of promoters of these genes. The situation is usually complicated by the presence of various pathologies in the organism.

Purpose of the study. Estimation of the level of methylated DNA of cytokines IFN- γ and IL-6 in parodontal tissues of patients with chronic generalized parodontitis and metabolic syndrome before and after complex of prophylactic therapy.

Materials and methods. Gum tissues are taken from patients in the initial state and after the first course of prevention. A Qiagen kit, an Emplen spectrophotometer, a PyroMark Q24 pyro-sequencer and PyroMark CpG program were used to determine the content of methylated DNA when allocating DNA.

Results. Conclusions. It is shown that due to epigenetic mechanisms it is possible to increase the content of methylated DNA in the gum tissues of patients with chronic generalized parodontitis on the background of the metabolic syndrome and optimize the expression of the pro-inflammatory effect of the cytokines of the IFN- γ and IL-6 genes using a pathogenetically grounded therapeutic and prophylactic complex.

Аннотация. Показано, что за счёт эпигенетических механизмов можно увеличить содержание метилированной ДНК в тканях десны пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома и оптимизировать экспрессию провоспалительного действия цитокинов генов IFN γ и IL-6 при использовании патогенетически обоснованного лечебно-профилактического комплекса. Полученные результаты согласуются с результатами клинических наблюдений, биохимических и биофизических исследований ротовой жидкости, тканей пародонта, жирового и водного обмена в организме этих пациентов.

Основные механизмы, приводящие к развитию заболеваний пародонта тесно связаны с динамикой иммунных и воспалительных реакций пародонта на патогенные микроорганизмы, присутствующие в полости рта. В ответ на микробную агрессию активированные Th1 лимфоциты синтезируют провоспалительные цитокины, включая IFN- γ и IL-6, которые участвуют в регуляции клеточного гуморального ответа на инфекцию. Эти же цитокины при определённых условиях могут способствовать развитию хронической инфекции при пародонтите, особенно на фоне метаболического синдрома (МС). Повышение экспрессии провоспалительных цитокинов IFN- γ и IL-6 может способствовать активации остеокластогенеза, разрушению межклеточного матрикса за счёт активации металлопротеиназ

[1-5]. Регуляция экспрессии многих цитокинов связана с метилированием или деметилированием промоторов этих генов.

Целью данной работы была оценка уровня содержания метилированной ДНК цитокинов IFN- γ и IL-6 в тканях пародонта пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) и метаболическим синдромом до и после проведенной комплексной терапии.

Материалы и методы. Ткани десны были взяты у 14 пациентов с диагнозом ХГП и МС в исходном состоянии и после проведения первого курса лечебно-профилактических мероприятий (табл. 1).

Таблица 1

Лечебно-профилактический комплекс, предложенный пациентам с хроническим генерализованным пародонтитом и метаболическим синдромом

Используемые препараты	Дозировка	Сроки применения	Механизм действия
«Хлорофилин» (таблетки)	1 табл. 3 р. в день (0,8г)	7 дней	антибактериальный, антисептический, противовоспалительный, снижает холестерин, уменьшает проницаемость сосудов
«Лактусан» (сироп)	2 ч.л. 2р. в день	10 дней	пребиотик – нормализует обмен веществ, микрофлору кишечника, усиливает иммунитет и резистентность организма
«Оксифит мап»	5 кап. 1ст.л. воды, 2 р. в день во время еды	1 месяц	регулирует липидный обмен, обеспечивает ткани кислородом, улучшает обмен веществ и кровообращение, выводит токсины из организма
«Сера актив»	1 табл. 3р. в день во время еды	1 месяц	противовоспалительный, микроэлемент с витаминами В, D, Е – улучшает циркуляцию крови, нормализует жировой обмен, усвоение жиров и белков
«Квертулидон» (гель)	аппликации на ночь	1 месяц	повышает местную неспецифическую резистентность, противовоспалительный и антиоксидантный эффект
«Цикорий» (эликсир)	1 ч.л. на ¼ стакана воды	1 месяц	регулирует микробиоценоз в полости рта
«Lacalut флора» (зубная паста)	утром	в течение 1 года	противовоспалительный эффект
«Имидж» (зубная паста)	вечером	в течение 1 года	эффект микронного очищения

Примечание: лечебно-профилактические мероприятия проводились 2 раза в году.

ДНК выделяли с помощью набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Emplen и доводили до концентрации 1 мкг/мл во всех пробах. Бисульфитную обработку выделенной ДНК проводили с помощью набора EpiTect Plus Bisulfite Kits (Qiagen). Амплификацию ДНК проводили с использованием набора Qiagen, по программе: 95°C – 15 мин.; 95°C – 30 сек, отжиг праймеров – 30 сек., элонгация 72°C – 10 мин. Пиросеквенирование проводили с использованием

наборов PyroMark Gold Q24 reagent (Qiagen) на приборе PyroMark Q24. Содержание метилированной ДНК в пробе оценивали с помощью программы PyroMark CpG software 2.01. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica, versia 10.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований содержания в тканях десны пациентов с ХГП и МС метилированных ДНК генов IFN-γ и IL-6 в процессе проведения лечебно-профилактических мероприятий представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание метилированной ДНК генов IFN-γ и IL-6 у пациентов с хроническим пародонтитом на фоне метаболического синдрома в процессе лечения, M±m, %

Название	Содержание метилированной ДНК до лечения (n=14)	Содержание метилированной ДНК после первого курса лечебно-профилактических мероприятий (n=14)
IFN-γ	45,7±8,1	74,5±9,4 p<0,05
IL-6	67,8±10,6	76,2±11,2 p>0,05

Примечание: p – показатель достоверности отличий от исходного состояния.

Как видно из таблицы 2, содержание метилированной ДНК промоторов провоспалительных генов IFN-γ и IL-6 в тканях десны у пациентов с ХГП на фоне МС после проведенной терапии было

выше, чем в исходном состоянии. Причём для гена IFN-γ повышение содержания метилированной ДНК после лечения в тканях десны было достоверным. Содержание метилированной ДНК гена IL-6 в

тканях десны пациентов с ХГП и МС после получения лечебно-профилактического комплекса увеличилось в 1,12 раза, но было не достоверным для данного ограниченного количества наблюдений.

Выявленное нами гиперметилование промоторов провоспалительных цитокинов после проведенной терапии больных пародонтитом может приводить к снижению экспрессии этих цитокинов в очаге воспаления. Механизм гиперметилирования этих генов в результате проведенной терапии точно неизвестен, т.к. может быть результатом многовекового воздействия. Можно предположить, что гиперметилование провоспалительных генов связано с активацией противовоспалительных цитокинов и активацией метилтрансфераз подавляющих экспрессию генов IFN- γ и IL-6. Возможен и другой механизм связанный активацией экспрессии некодирующих микро-РНК, активирующих активность метилтрансфераз. Гиперметилование гена IL-6 после терапии может сопровождаться снижением его экспрессии в очаге воспаления, снижением тканевой деструкции модулированной IL-6, которая реализуется через продукцию металлопротеиназ, активацию Т-клеток. Следует отметить взаимосвязь между повышением экспрессии IL-6, метилированием промотора IL-6 и развитием ожирения [2]. Поэтому гиперметилование промотора IL-6 и снижение его экспрессии может сопровождаться потерей жировой массы. Повышенная экспрессия IFN- γ обусловленная гипометилированием промотора этого гена, может способствовать активации макрофагов и нейтрофилов в очаге воспаления и развитию повреждения пародонта. Кроме того, повышенная экспрессия IFN- γ может подавлять функции гена SIRT1, который является одним из главных регуляторов клеточного метаболизма и расхода энергии. Таким образом, гиперметилование промотора гена IFN- γ , которое было выявлено в результате проведенной терапии, способствует оптимизации провоспалительного действия этого цитокина, способствует уменьшению воспалительных реакций в тканях пародонта и может влиять на регуляцию метаболизма и энергетического баланса клеток.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что за счёт эпигенетических механизмов можно увеличить содержание метилированной ДНК в тканях десны пациентов с ХГП и МС и оптимизировать экспрессию провоспалительного действия цитокинов генов IFN- γ и IL-6, используя лечебно-профилактический комплекс, включавший в себя препараты антибактериального, антисептического, противовоспалительного характера, снижающий холестерин, уменьшающий проницаемость сосудов, улучшающий циркуляцию крови и нормализующий жировой обмен. Полученные результаты согласуются с результатами клинических наблюдений, биохимических и биофизических исследований ротовой жидкости, тканей пародонта, жирового и водного обмена в организме этих пациентов.

Список литературы

1. Kohei Ishida, Tetsuo Kobayashi, Satoshi Ito. Interleukin-6 Gene Promoter Methylation in Rheumatoid Arthritis and Chronic Periodontitis. Journal of Periodontology. 2011; 83(7):917-25. -DOI: 10.1902/jop.2011.110356.
2. Na YK, Hong HS, Lee WK2, Kim YH, Kim DS. Increased methylation of interleukin 6 gene is associated with obesity in Korean women. Mol Cells. 2015; 38(5):452-6. doi: 10.14348/molcells.2015.0005. Epub 2015 Apr 28.
3. Aumuller E, Remely M, Baeck H. Interleukin-6 CpG Methylation and Body Weight Correlate Differently in Type 2 Diabetes Patients Compared to Obese and Lean Controls. J Nutrigenet Nutrigenomics. 2015; b8(1):26-35. doi: 10.1159/000381714. Epub 2015 Jun 10.
4. Hong-Peng Zuo, Ying-Yu Guo, Lin Che [and all]. Hypomethylation of Interleukin-6 Promoter is Associated with the Risk of Coronary Heart Disease. Arq Bras Cardiol. 2016; 107(2):131-136.
5. Sanceau J, Wijdenes J., Revel M. IL-6 and IL-6 receptor modulation by IFN-gamma and tumor necrosis factor-alpha in human monocytic cell line (THP-1). Priming effect of IFN-gamma. J Immunol October 15. 1991; 147(8):2630-2637.

С.Р.Гаджиева

(доктор химических наук)

Бакинский Государственный Университет

Э.М.Кадырова

(кандидат хим.наук, доцент)

Бакинский Государственный Университет

Э.А.Елчиева

(докторант)

Бакинский Государственный Университет

Х.Ф.Гаджиева

(кандидат хим.наук)

Бакинский Государственный Университет

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ГЯНДЖА-ГАЗАХСКОЙ ЗОНЫ АЗЕРБАЙДЖАНА

Summary:

Solving the problems of environmental safety in the use of pesticides in agriculture, despite the measures being taken, remains one of the most urgent problems of preserving the environment and producing quality food