



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118428** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61K 36/00
A61K 45/08 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 7/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2017 01443</p> <p>(22) Дата подання заявки: 16.02.2017</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.08.2017</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.08.2017, Бюл.№ 15</p>	<p>(72) Винахідник(и): Годованець Оксана Іванівна (UA), Котельбан Анастасія Василівна (UA), Коваль Галина Данилівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ХРОНІЧНОГО КАТАРАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ В ДІТЕЙ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження хронічного катарального гінгівіту в дітей на тлі цукрового діабету шляхом визначення рівня імунологічних показників, а саме прозапального цитокіну IL-1 β , причому визначають рівні експресії мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A, TLR-2 та TLR-4 у букальному епітелії методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

UA 118428 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до стоматології, і може бути використана для дослідження та діагностики захворювань тканин пародонта з метою визначення етіопатогенезу хронічного катарального гінгівіту в дітей, хворих на цукровий діабет.

На сьогодні стоматологічна захворюваність характеризується високою поширеністю серед дитячого населення [О.І. Остапко, 2011; Н.І. Смоляр і співавт., 2012; Л.Ф. Каськова і співавт., 2012; О.В. Деньга і співавт., 2014]. За даними Н.О. Савичук (2015), захворювання тканин пародонта діагностуються у 30-50 % 12-річних та 55-96 % 15-річних дітей, а в їх структурі переважає хронічний генералізований катаральний гінгівіт. Частота та тяжкість основних стоматологічних нозологій є значно вищими у дітей, обтяжених соматичними захворюваннями, зокрема, патологією ендокринної системи [О.О. Бабіна, 2000; К.О. Карачевська, 2007; І.В. Ковач і співавт., 2012].

Цукровий діабет (ЦД) є найнебезпечнішим серед ендокринних захворювань. Він посідає четверте місце в структурі всіх хвороб ендокринної системи серед дитячого населення в Україні й найчастіше стає причиною розвитку тяжких хронічних ушкоджень органів та систем [І.І. Дедов і соавт., 2010; Н.Б. Зелінська, 2015; В.Л. Mealy, 2006; R.G. Nelson, 2008]. До класичних клінічних ускладнень ЦД відносять ретинопатію, нефропатію, нейропатію та макросудинні захворювання. В 1993, Лое запропонував ще одне ускладнення - захворювання тканин пародонта.

На думку багатьох дослідників, особливу роль у патогенезі запальних захворювань тканин пародонта відіграють імунологічні механізми. Провідну роль у цьому відіграють цитокіни, що діють як біохімічні месенджери, регулюють запальні реакції, ініціюють імунну відповідь та вказують на взаємодію між системами, клітинами в цілому [Л.О. Хоменко та співавт., 2013]. Відомо, що цитокіни утворюють взаємопов'язані сітки, каскадно ініціюють вивільнення один одного, можуть бути синергістами, антагоністами та мають певні особливості при кожній окремо взятій патології [А.С. Красніцька та співавт., 2013; Е.І. Александров, 2014].

У літературі досліджували рівні показників цитокінового профілю серед пацієнтів за умов катарального гінгівіту (IL-1 β , IL-8, IL-6, ФНО, ІФ- γ , IL-4). Запальні медіатори, на думку дослідників, є центральною ланкою патогенезу захворювань тканин пародонта [Л.О. Хоменко та співавт., 2013; А.С. Красніцька та співавт., 2013; F. Javed, 2013].

Важливу роль серед факторів вродженого імунітету, відіграють паттерн розпізнавальні рецептори, серед яких особливе місце займають толл-подібні рецептори - toll-like receptors (TLRs) [А.С. Сімбірцев, 2005; Л.М. Теблоєва та співавт., 2012]. Дані ефектори мають фагоцитарними і кілерними-активностями, забезпечують мережу сигналів, активуючих і направляючих антигенспецифічну відповідь клітинами адаптивної імунної системи. Ці клітини служать містком між патогенасоційованими молекулярними структурами і антигенспецифічними клітинами адаптивного імунної відповіді, транслюють сигнали специфічних спадково закодованих рецепторів у розчинні медіатори, які зв'язуються з Т- і В- клітинами через специфічні цитокіни - хемокінові рецептори [Е.В. Сорокіна, 2012; Н.М. Бережна, 2013; D. Terhorst et al., 2010].

Існуючі методи дослідження в дитячій пародонтології не в повній мірі оцінюють імунологічний стан тканин пародонта в дітей, хворих на цукровий діабет, зокрема показники цитокінового профілю та вродженого імунітету.

Аналогом корисної моделі є спосіб дослідження хронічного катарального гінгівіту [Патент 78719, Україна, МПК А61С 7/00. Спосіб діагностики хронічного катарального гінгівіту у дітей з захворюваннями щитоподібної залози / Дуда О.В, Хоменко Л.О., Остапко О.І.; Заявник Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця. - заява № u201212023 від 19.10.2012, опубл. 25.03.2013, бюл. № 6], в якому визначають рівні IL-2, -4, -6, -8, -10, ФНП- α , інтерферон (ІФН- γ) у сироватці крові та в супернатантах мононуклеарних клітин.

Недоліками аналога-способу є інвазивність методики, відсутність даних щодо показників вродженого імунітету та наявності автоімунної природи запального процесу в тканинах пародонта.

Прототипом корисної моделі є спосіб дослідження захворювань тканин пародонта на тлі цукрового діабету (Изучение иммунологических показателей сыворотки крови больных генерализованным пародонтитом на фоне сахарного диабета II типа / [С.П. Ярова, В.В. Саноян, А.Ю. Белоус, Д.Е. Склярченко] // Вісник проблем біології та медицини. - 2009. - № 4. - С. 177-180), в якому визначають рівні імунологічних показників сироватки крові (sIg, IL-1 β , IL-2, IL-4, TNF α).

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб дослідження хронічного катарального гінгівіту на тлі цукрового діабету у дітей шляхом визначення рівнів експресії мРНК

IL-1 β , IL-10, IL-17A, TLR-2 та TLR-4 у букальному епітелії методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

Спільними ознаками корисної моделі та прототипу є визначення рівня імунологічних показників, а саме прозапального цитокіну IL-1 β .

5 Відмінними ознаками прототипу та корисної моделі є визначення рівнів експресії мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A, TLR-2 та TLR-4 у букальному епітелії методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: цукровий діабет, гінгівіт, цитокіни, TLR, букальний епітелій.

10 Теоретичні передумови здійснення способу, що заявляється.

Розробка даного способу ґрунтується на комплексному підході вивчення експресії мРНК прозапальних, протизапальних цитокінів та показників вродженого імунітету ротової порожнини дітей, хворих на цукровий діабет, за умов хронічного катарального гінгівіту.

15 Встановлено, що відправною точкою запуску запалення у тканинах пародонта є наявність TLR у зовнішній мембрані нейтрофілів, макрофагів, кератиноцитів, які забезпечують молекулярну рецепцію патогена із подальшим включенням важливих компонентів спадкового імунітету. Після реагування з мікробними агентами більшість TLR індукують продукцію цитокінів прозапальної ланки, зокрема IL-1 β , який підвищує хемотаксис, фагоцитоз, гемопоез, проникність судинної стінки, цитотоксичну і бактерицидну активність. Однак, у більшості випадків IL-1 β діє не самостійно, а в поєднанні з іншими цитокінами, особливо, IL-6, IL-17, IL-22, ФНП α та ІФН γ .

IL-17 відіграє ключову роль у регуляції гемопоетичної та імунної систем. Нещодавно було встановлено важливе значення IL-17 у патогенезі захворювань автоімунної природи.

25 Підвищена продукція прозапальних цитокінів індукує експресію цитокіну з вираженим протизапальним ефектом - IL-10. Він гальмує проліферативну відповідь Т-клітин на антигени і мітогени, а також пригнічує секрецію активованими моноцитами IL-1 β , TNF- α і IL-6, бере участь у гуморальному компоненті імунної відповіді, відповідаючи за антипаразитарний захист.

Дисбаланс продукції про- і протизапальних цитокінів спостерігається при різних запальних і аутоімунних захворюваннях.

30 Отже вивчення цих показників є актуальним при дослідженні хронічного катарального гінгівіту у дітей на тлі цукрового діабету.

Спосіб здійснюється наступним чином.

35 Дітям, хворим на хронічний катаральний гінгівіт, на тлі цукрового діабету рекомендують ретельне полоскання ротової порожнини дистильованою водою протягом хвилини. Далі проводять забір букального-епітелію вранці, за 4 години до вживання їжі, шляхом зішкребу епітеліальних клітин з внутрішньої сторони щоки разовим зондом з синтетичним ворсом, та поміщають його в стерильну одноразову пробірку типу «Епіндорф» з транспортним середовищем.

40 Визначають рівень експресії імунологічних показників мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A та TLR-2, TLR-4 у букальному епітелії методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР) з використанням набору "Trizol RNA Prep 100" (Ізоген Lab., LTD, Росія).

Приклади використання корисної моделі

45 Було проведено дослідження 30 дітей, хворих на хронічний катаральний гінгівіт, на тлі цукрового діабету з використанням запропонованого способу.

Рівні експресії імунологічних показників мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A та TLR-2, TLR-4 у букальному епітелії визначали у двох групах дітей: I група - діти, хворі на хронічний катаральний гінгівіт, на тлі цукрового діабету, II група - здорові діти. Причому визначені показники були перераховані: для групи здорових дітей їх прирівняли до 1 та згідно цього отримали значення показників для досліджувальної групи дітей.

50 У результаті дослідження було встановлено, що рівні експресії імунологічних показників мРНК IL-1 β , IL-17A, TLR-2 та TLR-4 підвищуються, а рівень експресії мРНК IL-10 знижується відносно показників здорових дітей, що представлено в наступній таблиці.

Таблиця

	IL-1 β	IL-17A	IL-10	TLR-2	TLR-4
I група	73,1904 \pm 7,5421	16,2823 \pm 1,2234	0,4012 \pm 0,0527	90,0755 \pm 13,4187	75,5568 \pm 17,3306
II група	1 \pm 0,1302	1 \pm 0,2853	1 \pm 0,1174	1 \pm 0,1579	1 \pm 0,1421

55

Отже, з таблиці видно, що рівні експресії імунологічних показників мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A, TLR-2 та TLR-4 є достатньо чутливими щодо даного захворювання.

5 Технічний результат. Запропонований спосіб дозволяє ефективно проводити дослідження хронічного катарального гінгівіту в дітей на тлі цукрового діабету, проводити повноцінну етіопатогенетичну діагностику захворювань тканин пародонта та обґрунтувати вибір лікувально-профілактичних заходів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 Спосіб дослідження хронічного катарального гінгівіту в дітей на тлі цукрового діабету шляхом визначення рівня імунологічних показників, а саме прозапального цитокіну IL-1 β , який **відрізняється** тим, що визначають рівні експресії мРНК IL-1 β , IL-10, IL-17A, TLR-2 та TLR-4 у

15

букальному епітелії методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601