

УДК 616.724-002-092:615.37:577.27

DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2025-2-21>

Дмитро КОВАЛЬЧУК

аспірант кафедри стоматології, Харківський національний медичний університет,
dokovalchuk.po22@knmu.edu.ua

ORCID: 0000-0002-2801-2113

ДИНАМІКА СИРОВАТКОВОГО ФНП-А ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ СКРОНЕВО-НИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ СУГЛОБІВ

Скронево-нижньощелепний суглоб (СНЩС) – складна анатомічна структура, особливо вразлива до запальних процесів у зв'язку з подвійним функціональним навантаженням та складною іннервацією. Запальні ураження СНЩС супроводжуються болем, порушенням функції та можуть призводити до системних змін. Одним із ключових патогенетичних чинників запалення є фактор некрозу пухлин α (ФНП- α), який відіграє важливу роль у запуску й підтриманні прозапальної відповіді. На сьогодні відсутня достатня кількість досліджень, що б комплексно вивчали динаміку ФНП- α у сироватці крові за умов індукованого запалення саме в ділянці СНЩС. У низці досліджень доведено участь ФНП- α у розвитку запальних процесів у різних тканинах, зокрема пульпі зуба, периапікальних ураженнях та суглобах. ФНП- α стимулює секрецію інших прозапальних цитокінів, активує клітини імунної системи, сприяє резорбції кісткової тканини. Карагінан використовується як надійний агент для моделювання гострої фази запалення в експериментальних тварин. Однак недостатньо робіт, які б досліджували зміну рівня ФНП- α саме при карагінановому запаленні СНЩС.

Мета роботи – з'ясувати динаміку концентрації ФНП- α у сироватці крові щурів за умов експериментального карагінан-індукованого запалення скронево-нижньощелепних суглобів.

Матеріали та методи дослідження. Експеримент проведено на 36 щурах лінії WAG, яким у ділянку СНЩС вводили карагінан або фізіологічний розчин. Тварини були поділені на 6 груп, забір крові здійснювався на 3-й, 1-й, 3-й, 7-й та 15-й добах. Рівень ФНП- α у сироватці визначали методом імуноферментного аналізу.

Результати та їх обговорення. Уже на 3-тю годину після введення карагінану відзначено тенденцію до зростання ФНП- α , із максимальними значеннями на 3-тю добу (збільшення у 2,55 раза порівняно з контролем). Починаючи з 7-ї доби, рівень ФНП- α знижувався, майже досягаючи контрольних значень на 15-ту добу. Динаміка рівнів ФНП- α свідчить про класичний двофазний характер запалення.

Карагінанова модель ефективно і відтворювано імітує гостре запалення СНЩС та може бути корисною у подальших дослідженнях патогенезу й оцінки ефективності протизапальної терапії в стоматології.

Висновки. Внутрішньосуглобове введення карагінану до СНЩС викликає виражену системну прозапальну реакцію з підвищенням рівня ФНП- α у сироватці крові. Пік вмісту ФНП- α спостерігається на 3-тю добу, що узгоджується з активною фазою цитокінового запалення. На 15-у добу рівень наближається до показників контролю, що свідчить про зменшення активності запалення.

Ключові слова: скронево-нижньощелепний суглоб, запалення, фактор некрозу пухлин α , карагінан, щури, цитокіни.

Dmytro Kovalchuk. DYNAMICS OF SERUM TNF- α IN EXPERIMENTAL CARRAGEENAN-INDUCED INFLAMMATION OF THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT

The temporomandibular joint (TMJ) is a complex anatomical structure highly susceptible to inflammatory processes due to its dual functional load and intricate innervation. Inflammatory lesions of the TMJ are associated with pain, impaired function, and may lead to systemic changes. A key pathogenetic factor in inflammation is tumor necrosis factor- α (TNF- α), which plays a critical role in initiating and sustaining the pro-inflammatory response. Currently, there is a lack of comprehensive studies examining the dynamics of TNF- α in blood serum under conditions of induced inflammation specifically in the TMJ region. Several studies have confirmed the involvement of TNF- α in inflammatory processes in various tissues, including dental pulp, periapical lesions, and joints. TNF- α stimulates the secretion of other pro-inflammatory cytokines, activates immune system cells, and promotes bone tissue resorption. Carrageenan is a reliable agent for modeling the acute phase of inflammation in experimental animals. However, there is insufficient research investigating changes in TNF- α levels specifically in carrageenan-induced TMJ inflammation.

The aim of the study is to investigate the dynamics of TNF- α concentration in the blood serum of rats under conditions of experimental carrageenan-induced TMJ inflammation.

Materials and Methods. The experiment was conducted on 36 WAG rats, with carrageenan or saline injected into the TMJ region. The animals were divided into 6 groups, with blood samples collected at 3 hours, and on days 1, 3, 7, and 15. TNF- α levels in serum were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results and Discussion. As early as 3 hours after carrageenan injection, a trend toward increased TNF- α levels was observed, with peak values on day 3 (a 2.55-fold increase compared to the control). From day 7, TNF- α levels began to decrease, nearly reaching control values by day 15. The dynamics of TNF- α levels indicate a classic biphasic inflammatory response. The carrageenan model effectively and reproducibly mimics acute TMJ inflammation and may be valuable for further studies on pathogenesis and evaluation of anti-inflammatory therapy efficacy in dentistry.

© Д. Ковальчук, 2025

Стаття поширюється на умовах ліцензії CC BY 4.0

Conclusions. *Intra-articular carrageenan injection into the TMJ induces a pronounced systemic pro-inflammatory response with elevated TNF- α levels in blood serum. The peak TNF- α concentration is observed on day 3, consistent with the active phase of cytokine-mediated inflammation. By day 15, levels approach those of the control, indicating a reduction in inflammatory activity.*

Key words: *temporomandibular joint, inflammation, tumor necrosis factor-alpha, carrageenan, rats, cytokines.*

Вступ. Сконево-нижньощелепний суглоб (СНЩС) – це структура, яка зустрічається тільки у ссавців і необхідна для руху щелепи. За своєю будовою і функцією суглоб становить собою складний анатомічний утвір, представлений голівкою нижньої щелепи, нижньощелепною ямкою, суглобним горбиком скроневої кістки, внутрішньосуглобним диском і суглобною капсулою. Допоміжний апарат суглоба складається із внутрішніх і зовнішніх капсульних зв'язок. Внутрішні зв'язки фіксують суглобний диск до скроневої кістки і до шийки нижньої щелепи. До скронево-нижньощелепного суглоба також належать латеральна, клиноподібно-нижньощелепна і шило-нижньощелепна зв'язки. Основне завдання цих анатомічних утворів – обмеження рухів у суглобі. Активний компонент СНЩС – це м'язи: жувальний, скроневий, медіальний крилоподібний, латеральний крилоподібний, щелепно-під'язиковий, двочеревцевий і підборідно-під'язиковий. Різні рухи в СНЩС здійснюються висококоординованою діяльністю всіх елементів, насамперед діяльністю жувальних м'язів, регульованих нервовою системою [1].

Запальні захворювання СНЩС спричиняють постійний біль, який у деяких випадках є серйозним, і є скронево-нижньощелепним розладом, що може спричинити центрально-нервові ефекти, такі як періодичні м'язові спазми, гіпералгезія та іррадіація болю. Захворювання СНЩС охоплює м'які тканини, включаючи синовіальну оболонку, капсулу та ретродискальну тканину, а також тверді тканини, включаючи мишечок нижньої щелепи та хрящ, що його покриває, і спричиняє трансформацію позаклітинного матриксу.

Багато прозапальних медіаторів беруть участь у запальних захворюваннях суглобів, таких як оксид азоту, цитокіни, ейкозаноїди, біогенні аміни, нейропептиди, хемокіни, гамма-інтерферон, протеази, коагуляційний шлях, система кінінів, шлях комплементу та фібринолітична оксигенолітична реакція [2]. ФНП- α є членом величезного сімейства цитокінів, який вважається прозапальною речовиною, що виробляється багатьма макрофагами та іншими клітинами, що належать до вродженого імунітету [3].

ФНП- α є ключовим медіатором запальної відповіді та відіграє центральну роль в інтеграції як вродженого, так і адаптивного імунітету. Попри умовний розподіл імунної системи на дві підсистеми – вроджену й адаптивну – їх взаємодія настільки тісна, що розгляд у відриві є переважно

дидактичним і не відображає реальної біологічної складності. ФНП- α потенціює активацію Т- і В-лімфоцитів, що, у свою чергу, через секрецію цитокінів і хемокінів опосередковують зворотний вплив на клітини вродженого імунітету, зокрема макрофаги та природні кілери. Макрофаги, як антигенпрезентуючі клітини, ініціюють каскад імунних реакцій, тоді як природні кілери забезпечують швидку цитотоксичну відповідь на інфекційні та трансформовані клітини.

Ця міжклітинна взаємодія формує посилений запальний каскад і сприяє подальшій активації адаптивної ланки імунітету, представленої переважно Т- і В-лімфоцитами, що відповідають за специфічне клітинне розпізнавання та гуморальну відповідь шляхом продукції антитіл. Крім імуномодулюючого ефекту, ФНП- α стимулює синтез простагландинів, індукує лихоманку та активує вивільнення білків гострої фази запалення, зокрема С-реактивного білка. Він також підсилює експресію генів прозапальних цитокінів і хемокінів, а також активує ендотеліальні клітини, що сприяє змінам судинної проникності й посиленню кровотоку в уражених тканинах. Додатково, ряд досліджень демонструє, що ФНП- α у синергії з іншими інтерлейкінами може посилювати остеокластогенез і кісткову резорбцію [3].

ФНП- α бере участь у запаленні зубної пульпи, який синтезується багатьма клітинами у відповідь на бактеріальну інфекцію. Він сприяє залученню імунних клітин і посилює запалення, що призводить до пошкодження тканин запаленої пульпи. Підвищення рівня ФНП- α значною мірою пов'язане зі ступенем запалення пульпи [4]. Фібробласти з пульпи виділяють протизапальний ІЛ-10 для модуляції запалення шляхом пригнічення секреції прозапальних цитокінів, таких як ІЛ-6, через інгібування шляху NF- κ B, тим самим обмежуючи запалення пульпи [5].

Інтерлейкіни тісно пов'язані із запальними процесами, і в контексті некрозу пульпи та основних механізмів цього патологічного стану ФНП- α відіграє ключову роль у резорбції кісткової тканини в межах периапікальних уражень [6; 7]. ФНП- α має вирішальне значення для модуляції запальної відповіді в тканинах пульпи, будучи невід'ємною частиною таких патологічних процесів, як некроз пульпи, як детально описано Taira et al. та ін. [6]. Після активації запальними стимулами ФНП- α зв'язується зі специфічними рецепторами на клітинах-мішенях, ініціюючи сигнальний каскад, що

призводить до експресії прозапальних цитокінів та активації остеокластів, які відповідають за резорбцію кісткової тканини [8]. Крім того, активація ФНП- α через шлях позаклітинної сигнально-регульованої кінази не тільки сприяє диференціюванню одонтогенних клітин, але й посилює остеокластичну активність [6; 8; 9].

Тому дослідження динаміки концентрації ФНП- α у сироватці крові при моделюванні запалення скронево-нижньощелепних суглобів є актуальною проблемою.

Мета: з'ясувати динаміку рівнів ФНП- α у сироватці крові при експериментальному карагінановому запаленні скронево-нижньощелепних суглобів.

Матеріали та методи. Експериментальне дослідження проводилось на 36 статевозрілих самцях щурів лінії WAG, масою 180–200 г. Утримання тварин здійснювалося у стандартних умовах віварію з природним освітленням та вільним доступом до корму і води. Протягом усього періоду експерименту дотримувалися оптимальних параметрів мікроклімату: температура – 19-23 °С, відносна вологість – 50-75 %.

Усі процедури відповідали вимогам національних «Загальних етичних принципів дослідження тварин» (Україна, 2001 р.) та положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

Тварини були розподілені на шість груп по шість особин: п'ять дослідних та одну контрольну. Це дозволило використовувати мінімально необхідну кількість тварин для отримання статистично значущих результатів.

Щурам внутрішньосуглобово вводили по 0,02 мл 1% розчину карагінану (Sigma-Aldrich, США) та 0,02 мл 0,9% фізіологічного розчину (контрольна група) в обидва скронево-нижньощелепні суглоби. Ін'єкцію здійснювали голкою 29 G, орієнтуючи її позаду виличного відростка скроневої кістки з подальшим просуванням до верхньої суглобової щілини [10; 11].

Карагінан – велика молекула і широко використовується для штучного індукування запалення в суглобах тваринних моделей. Багато вчених використовували карагінан для індукції штучного артриту. Карагінан є сульфатованим полісахаридом, який виділяється з червоних морських водоростей (наприклад, *Chondrus crispus*). Однією з основних переваг карагінану є здатність викликати локалізовану, контрольовану та відтворювану запальну відповідь, що робить його зручним і ефективним інструментом для створення моделей запалення. Ін'єкція карагінану внутрішньосуглобово активує імунну відповідь, що супроводжується вивільненням прозапальних медіаторів таких як

ФНП- α , інтерлейкіни (ІЛ-1, ІЛ-6), простагландини, гістамін, серотонін.

Тривалість експерименту становила 15 діб. Евтаназію проводили шляхом передозування тіопенталу натрію (40 мг/кг) із наступним тотальним кровопусканням із серця на 3-й годині, 1-й, 3-й, 7-й та 15-й добах дослідження.

Зразки периферичної крові відбирали у стерильні пробірки. Після згортання (через 15–20 хв) кров центрифугували при 3000 об/хв упродовж 10 хв. Отриману сироватку відділяли, заморожували та зберігали до подальшого аналізу.

Рівень ФНП- α у сироватці визначали методом імуноферментного аналізу з використанням мікропланшетного рідера Stat Fax 2100 (Awareness Technology, Inc.) та набору Rat ELISA Kit (MyBioSource, США).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення «STATISTICA 13.0». Різницю між показниками контрольної та дослідних груп оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. У ході дослідження встановлено, що внутрішньосуглобове введення карагінану в ділянку СНЩС у щурів супроводжується істотним підвищенням рівня ФНП- α у сироватці периферичної крові в порівнянні з контрольною групою (табл.).

На 3-тю годину після ін'єкції спостерігалась тенденція до зростання рівня ФНП- α ($5,14 \pm 0,05$ пг/мл проти $4,11 \pm 0,11$ пг/мл у контролі), що свідчить про ранню активацію прозапального цитокінового каскаду. Вже на 1-шу добу рівень ФНП- α зростав у 2,25 раза ($9,25 \pm 0,27$ пг/мл; $p < 0,001$), а максимальне значення фіксувалося на 3-ю добу – підвищення у 2,55 раз порівняно з контролем ($10,48 \pm 0,08$ пг/мл; $p < 0,001$).

Надалі, починаючи з 7-ї доби, рівень ФНП- α поступово знижувався, проте залишався достовірно вищим за контрольний ($8,23 \pm 0,07$ пг/мл; $p < 0,01$). На 15-ту добу спостерігалось майже повне повернення показників до фізіологічної норми ($4,18 \pm 0,13$ пг/мл), що може свідчити про зменшення інтенсивності запального процесу або його завершення.

Отримані результати свідчать про виражену системну прозапальну реакцію у відповідь на локальне введення карагінану в ділянку СНЩС у щурів. Найбільш інтенсивне підвищення рівня ФНП- α зафіксовано на 3-тю добу після введення, що узгоджується з класичною уявою про двофазний характер карагінан-індукованого запалення. Перша фаза триває до 2–3 годин і обумовлена вивільненням гістаміну, серотоніну та брадикініну, тоді як друга фаза (3–72 години) є наслідком активного синтезу прозапальних цитокінів, простагландинів та активації клітинного імунітету.

Таблиця 1

Концентрації ФНП-α у сироватці крові щурів (пг/мл) за експериментального карагінанового запалення скронево-нижньощелепних суглобів (M ± m, n=6)

Термін дослідження	Концентрації ФНП-α у сироватці крові
Контроль	4,1100±0,1123
3 година	5,1400±0,0524
1-а доба	9,2548±0,2746***
3-я доба	10,4836±0,0786***
7-а доба	8,2311±0,0652**
15-а доба	4,1800±0,1321

Примітка: ** – достовірність різниці 99,00% ($p < 0,01$); *** – достовірність різниці 99,90% ($p < 0,001$) порівняно з контролем

Значне зростання рівня ФНП-α, починаючи з 1-ї доби, вказує на ранню активацію макрофагів і моноцитів, що є типовим при індукованому запаленні. ФНП-α є ключовим медіатором запального каскаду, який ініціює вивільнення інших цитокінів (ІЛ-1β, ІЛ-6), адгезивних молекул, хемокінів, а також сприяє активації ядерного фактора транскрипції NF-κB. Пік рівня ФНП-α на 3-тю добу свідчить про розвиток другої фази запалення, яка характеризується інфільтрацією тканин нейтрофілами, активацією клітинної імунної відповіді та посиленням ангиогенезу [12].

Поступове зниження рівня ФНП-α до 7-ї доби і майже повне його нормалізація до 15-ї доби може вказувати на завершення запальної відповіді або перехід її в хронічну фазу з менш вираженим цитокіновим профілем. Аналогічна динаміка відзначена в роботах, присвячених моделюванню асептичного артрити за допомогою карагінану, в тому числі у суглобових тканинах, аналогічних за структурою до СНЩС.

Особливої уваги заслуговує вибір моделі саме скронево-нижньощелепного суглоба. СНЩС має ряд анатомо-фізіологічних особливостей, зокрема подвійне навантаження (жувальне і мовленнєве), наявність диска та складну іннервацію, що підвищує його вразливість до запальних процесів. Карагінан дозволяє ефективно моделювати локальний запальний процес у цій ділянці, не порушуючи системного гомеостазу.

У стоматологічній практиці запальні ураження СНЩС (артрит, артроз, синовіт) становлять значну клінічну проблему. Зважаючи на це, використання достовірних тваринних моделей запалення СНЩС є важливою для вивчення патогенезу і тестування протизапальних засобів, включно з нестероїдними протизапальними препаратами, кортикостероїдами, хондропротекторами та новими біотехнологічними засобами (екзосоми, біоактивні наночастинки тощо).

Карагінанова модель у запропонованому дослідженні підтверджує свою адекватність як для відтворення гострого запалення СНЩС, так і для кількісної оцінки змін рівня прозапальних медіаторів у системному кровотоці. Паралелі з результатами інших досліджень, включаючи роботи Sang-Hun Shin et al. [13], підтверджують високу відтворюваність моделі та доцільність її застосування в експериментальній стоматології.

Отримані результати узгоджуються з даними літератури, що вказують на здатність карагінану індукувати гостру фазу запалення через активацію прозапальних медіаторів, зокрема ФНП-α, ІЛ-1, ІЛ-6, простагландинів і факторів транскрипції. Спостережувана динаміка змін рівня ФНП-α у сироватці крові демонструє класичну фазову картину запалення: початковий підйом, пік активності на 2–3 добу, поступове зниження й резолюція процесу до 15-ї доби.

Висновки. Наше дослідження продемонструвало, що карагінанова модель запалення СНЩС у щурів є ефективною експериментальною платформою для вивчення системної прозапальної відповіді. Внутрішньосуглобове введення 1 % розчину карагінану призводить до достовірного підвищення концентрації ФНП-α у сироватці периферичної крові з максимумом на 3-тю добу експерименту. Динаміка рівня ФНП-α свідчить про активацію гострої фази запалення з подальшим поступовим згасанням до 15-ї доби, що демонструє завершення або хронізацію процесу.

Перспективи подальших досліджень. Результати проведеного дослідження відкривають низку перспектив для подальших наукових розвідок у вивченні механізмів дії ФНП-α. Одним із ключових напрямів майбутніх досліджень може стати глибше аналізування взаємодії ФНП-α з клітинними рецепторами. Це дозволить краще зрозуміти специфіку його цитотоксичної дії.

Література:

1. Шкільняк Л. І., Зализюк-Крапівна А. А. Сконево-нижньощелепний суглоб. Особливості функціональної анатомії та гістоструктури при дисфункції. *Український стоматологічний альманах*. 2015. № 1. С. 78–83.
2. Lee M. J., Han K. J., Kwon H. J., Jung H. S., Cho S. W. Effects of hyaluronan on carrageenan-induced synovitis in rat TMJ. *Anatomy & Cell Biology*. 2010. Vol. 43, no. 2. P. 125–131. DOI: <https://doi.org/10.5115/acb.2010.43.2.125>
3. Silva L. B., et al. The Role of TNF- α as a Proinflammatory Cytokine in Pathological Processes. *The Open Dentistry Journal*. 2019. Vol. 13, no. 1. P. 332–338. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874210601913010332>
4. Hirsch V., Wolgin M., Mitronin A. V., Kielbassa A. M. Inflammatory cytokines in normal and irreversibly inflamed pulps: A systematic review. *Archives of Oral Biology*. 2017. Vol. 82. P. 38–46.
5. Alrshedan A., et al. Tumor Necrosis Factor Superfamily 14 Regulates the Inflammatory Response of Human Dental Pulp Stem Cells. *Current Issues in Molecular Biology*. 2024. Vol. 46, no. 12. P. 13979–13990. DOI: <https://doi.org/10.3390/cimb46120836>
6. Taira T. M., Lima V., Prado D. S., Silva T. A., Issa J.P.M., da Silva L.A.B., et al. NLRP12 attenuates inflammatory bone loss in experimental apical periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2019. Vol. 98, no. 4. P. 476–484. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034518820289>
7. Agrawal S., Taneja S., Shetty D., Gopikrishna V., Bhalla V. K. Evaluating the concentration of MMP-9 and TNF- α in pulpal blood at various stages of pulpal inflammation in diabetics: a cross sectional study. *European Endodontic Journal*. 2023. Vol. 8, no. 4. P. 286–292. DOI: <https://doi.org/10.14744/eej.2023.41736>
8. Zhang Y., Lian M., Zhao X., Cao P., Xiao J., Shen S., et al. RICK regulates the odontogenic differentiation of dental pulp stem cells through activation of TNF- α via the ERK and not through NF- κ B signaling pathway. *Cell Biology International*. 2021. Vol. 45, no. 3. P. 569–579. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbin.11498>
9. Brasil da Silva C.W.L., et al. Can the interleukin TNF- α be used as a biomarker for pulp necrosis? *Acta Odontologica Scandinavica*. 2025. Vol. 84. P. 93–94. DOI: <https://doi.org/10.2340/aos.v84.43034>
10. Denadai-Souza A., et al. Participation of peripheral tachykinin NK1 receptors in the carrageenan-induced inflammation of the rat temporomandibular joint. *European Journal of Pain* (London, England). 2009. Vol. 13, no. 8. P. 812–819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2008.09.012>
11. Goulart A.C., et al. Study of the Inflammatory Process Induced by Injection of Carrageenan or Formalin in the Rat Temporomandibular Joint. *Brazilian Oral Research*. 2005. Vol. 19, no. 2. P. 99–105. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-83242005000200005>
12. Lv G., Zhu G., Xu M., Gao X., Xiao Q. Inhibition of carrageenan-induced dental inflammatory responses owing to decreased TRPV1 activity by Dexmedetomidine. *Journal of Inflammation* (London, England). 2020. Vol. 17. Article 18. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12950-020-00245-5>
13. Shin S. H., You J. C., Ahn J. H., Kim Y. H., Yoon J. U., Cho A. R., Kim E. J. Anti-inflammatory effects of dexmedetomidine on human amnion-derived WISH cells. *International Journal of Medical Sciences*. 2020. Vol. 17, no. 16. P. 2496–2504. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.49909>

Дата надходження статті: 05.07.2025

Дата прийняття статті: 15.08.2025

Опубліковано: 14.11.2025