

УДК 616.314.17-008.1-022.7-036.4-06:612.017.1-092.9

## РОЛЬ КЛІТИННОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ НА РАНЬОМУ ЕТАПІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРІАЛЬНО-ІМУННОГО ПАРОДОНТИТУ

Демкович А.Є.

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра ортопедичної стоматології, м. Тернопіль, Україна  
e-mail: demkovych.andrii@gmail.com*

**Резюме.** У статті наведено результати досліджень показників клітинного імунного захисту, що визначали за відносною кількістю лімфоцитів з маркерами CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+ та імунорегуляторним індексом (CD4+/CD8+) в інтактних тварин і на 7-му добу розвитку експериментального бактеріально-імунного пародонтиту. Звертається увага на характерну зміну показників ланки клітинного імунітету на ранньому етапі розвитку експериментального пародонтиту. Зокрема, в період гострих проявів запальної реакції, на 7-му добу, відбувалося підвищення у крові відносної кількості CD8+, CD16+ клітин, а вміст CD3+, CD4+, CD19+ змінювався в протилежному напрямку, тобто зменшувався. При цьому імунорегуляторний індекс (CD4+/CD8+) як важливий показник імунологічної активності знижувався. Дослідивши функціональний стан клітинного імунного захисту у білих щурів із змодельованим бактеріально-імунним пародонтитом, було виявлено порушення функціонування Т-клітинної ланки імунної системи, про що свідчить зменшення відсоткового вмісту В- та Т-клітин за рахунок Т-хелперів, з підвищенням вмісту Т-кілерів у ранній період розвитку запальної реакції в пародонтальному комплексі.

**Ключові слова:** бактеріально-імунний пародонтит, імунна система, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, запалення.

**Вступ:** Проблема захворювань пародонту до теперішнього часу залишається в центрі уваги численних досліджень і є актуальною в стоматології. Це пояснюється рядом причин, у першу чергу, значною поширеністю його серед різних верств населення, зокрема частота захворювань на пародонтит у всьому світі коливається в межах 5-20 % і з віком збільшується до 75 % [1]. До основних причин низької ефективності лікування генералізованого пародонтиту можна віднести недостатнє вивчення механізмів розвитку даної патології. Серед фак-

торів ризику вирішальне значення мають порушення мікробіоцинозу порожнини рота, неадекватність імунної відповіді в системі захисту організму, недостатність антиоксидантного захисту, розлади мікроциркуляції та транскапілярного обміну в навкол зубних тканинах. Значна поширеність, прогресуючий та хронічний перебіг із частими загостреннями запальних захворювань пародонта призводять до передчасного руйнування опорного апарата і втрати зубів, що відбивається на загальному стані здоров'я людини, позначається на працездатності і психоемоційній діяльності [2]. Все вищенаведене дозволяє віднести дану патологію зубо-щелепної системи не тільки до медичної, а й до важливої соціальної проблеми. Пошук патогенетично обґрунтованих способів та технологій в комплексному лікуванні деструктивних форм пародонтиту повинний бути спрямований на відновлення гомеостазу в тканинах пародонта. Результати багаторічних спостережень переконують в необхідності впливу на імунологічні механізми, які обумовлюють, з одного боку, захист структур пародонта від шкідливих факторів зовнішнього середовища, а з іншого – самі є факторами ушкодження [3].

**Обґрунтування дослідження.** Ми вважали доцільним проаналізувати особливості клітинної ланки адаптивного імунітету при експериментальному бактеріально-імунному пародонтиті, що сприятиме поглибленню розуміння суті даного запального процесу та дасть можливість виділити провідну патогенетичну ланку. Разом з тим з'ясування характеру порушень імунологічних процесів дозволить встановити роль однієї із важливих ланок, що приводить до пошкодження структур пародонтального комплексу та веде до формування запального процесу різного ступеня тяжкості [4]. Клітинний імунітет являє собою тип імунної відповіді організму, при якому відсутня участь системи комплементу і циркулюючих

антитіл. До клітинних неспецифічних факторів захисту відносять два типи клітин: фагоцити й природні кілери. До клітинних специфічних факторів захисту, тобто адаптивного імунітету належать Т-лімфоцити та В-лімфоцити [5].

**Мета дослідження** з'ясувати патогенетичну роль клітинного адаптивного імунітету в розвитку експериментального бактеріально-імунного пародонтиту на ранніх етапах.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено в умовах віварію на білих беспородних клінічно здорових самцях-щурах масою 150-200 г. Тварини перебували на стандартному раціоні, збалансованому за основними елементами харчування. Експерименти проводилися із дотриманням загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребтних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001). Дослідні тварини були поділені на дві групи: перша група – інтактні тварини (n=10); друга група – тварини із експериментальним пародонтитом на 7-му добу дослідження (n=8). Експериментальний бактеріально-імунний пародонтит у дослідних тварин викликали шляхом введення у тканини пародонтального комплексу суміші мікроорганізмів, розведеної яєчним протеїном [6]. З метою посилення імунної відповіді одночасно проводилась ін'єкція у лапку щура повного ад'юванта Фрейнда. Для виконання подальших досліджень відбирали кров піддослідних тварин. Показники клітинного імунітету визначали методом який ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл (МКАт), мічених флюоресцентою міткою, з поверхневими антигенами лімфоцитів [7]. У крові визначали відносну кількість лімфоцитів з маркерами CD3+ – (загальні Т-лімфоцити), CD4+ – (Т-хелпери), CD8+ – (цитотоксичні клітини, Т-кілери), CD19+ – (В-лімфоцити), CD16+ – (натуральні кілери, NK-клітини) та імунорегляторний індекс (CD4+/CD8+). Отримані результати статистично опрацьовували із застосуванням параметричних і непараметричних методів статистики за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 10.0 («Statsoft», США) [8]. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм U-критерієм Манна-Уїтні [9].

**Результати та їх обговорення.** Уведення у тканини пародонта суміші мікроорганізмів з протеїном призвело до розвитку гіпе-

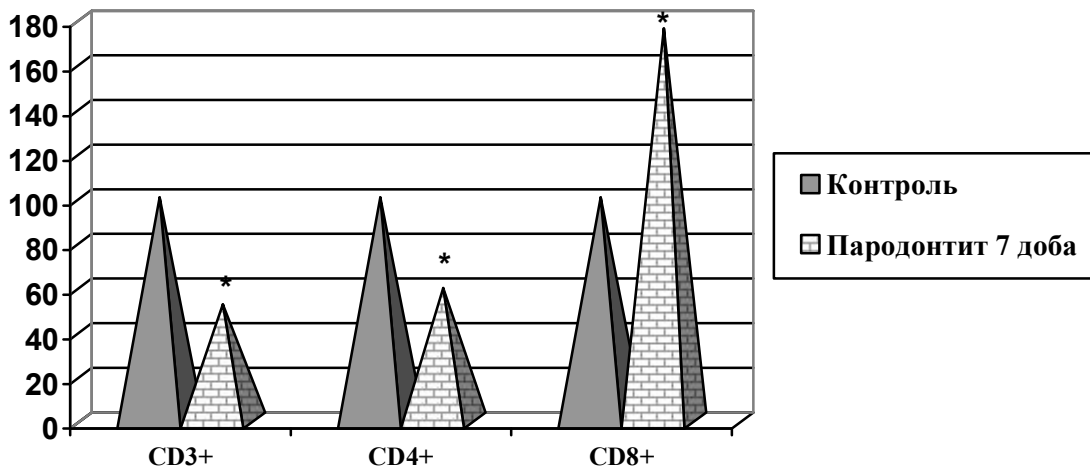
рергічного запального процесу, який супроводжувався виразними змінами з боку м'яких тканин нижньої щелепи, набряком та гіперемією слизової оболонки і за характером прояву був подібним до таких, що спостерігаються у людини [10]. Як відомо, лімфоцити презентують специфічні для кожної субпопуляції поверхневі маркерні молекули (CD), властивості яких залежать не тільки від типу і стадії диференціювання, але і від їх функціонального стану, що дозволяє визначити їх роль в розвитку та протіканні різних імунних реакцій у відповідь на бактеріальну інвазію [11]. Кількісні зміни субпопуляцій лімфоцитів у крові тварин із експериментальним бактеріально-імунним пародонтитом на 7-му добу, порівняно із інтактними тваринами, відображено в (таб.1).

**Таблиця 1**  
**Показники клітинного імунітету крові білих щурів з експериментальним бактеріально-імунним пародонтитом (M±m)**

Показники	Контроль. Інтактні тварини	Тварини із пародонтитом на 7-му добу дослідження
Кількість тварин	10	8
CD3+ (%)	45,94±0,73	23,91±0,60 (p<0,01)
CD4+ (%)	33,32±0,56	19,77±0,57 (p<0,01)
CD8+ (%)	15,70±0,74	27,58±0,67 (p<0,01)
CD19+ (%)	11,65±0,39	7,21±0,28 (p<0,01)
CD16+ (%)	9,63±0,40	14,15±0,36 (p<0,01)
CD4+/CD8+	2,17±0,11	0,72±0,04 (p<0,01)
Примітка: p – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин		

Відомо, що в імунних реакціях ключову роль відіграють Т-лімфоцити, які розпізнають антигени за участі клітинних рецепторів. У щурів з експериментальним бактеріально-імунним пародонтитом у період гострої фази запального процесу, зокрема на 7-му добу дослідження, нами виявлено значне зниження в крові (у 1,92 раза; p<0,01) вмісту загальних Т-лімфоцитів (Т-активних клітин) відносно інтактної групи (рис.1).

При дослідженні хелперної ланки (CD4+) клітинного імунітету, яка регулює якісний склад популяцій лімфоцитів, було виявлено, що відносна кількість їх була у 1,69 раза (p<0,01) нижча, порівняно з контрольною групою тварин.



**Рис. 1 – Зміни відносної кількості CD3+, CD4+, CD8+ у крові щурів при експериментальному бактеріально-імуному пародонтиті на 7-му добу дослідження (у % від контролю)**

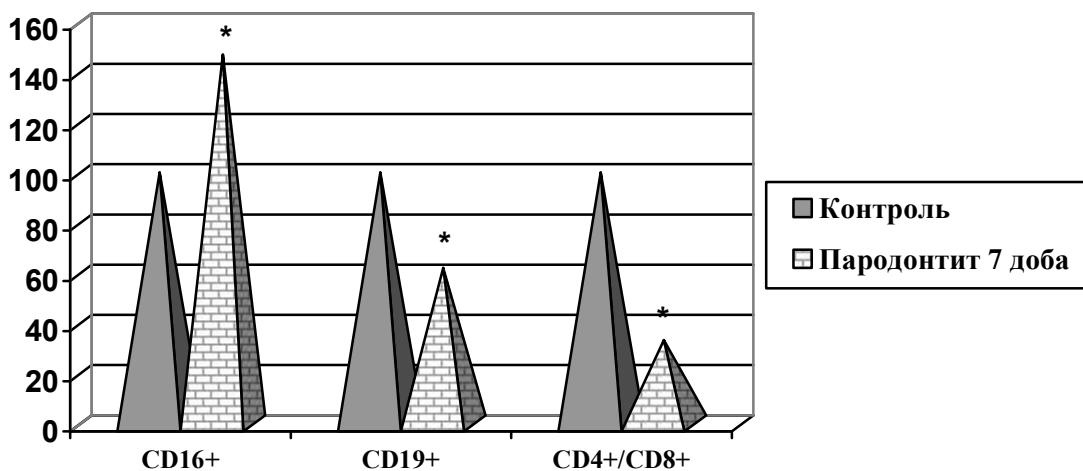
Примітки: \* – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин ( $p < 0,01$ )

Що стосується змін вмісту Т-ефекторів, які виконують функції як кілерів, так і супресорів (CD8+), то кількість їх у крові тварин за даних умов експерименту змінювалася у протилежному напрямку. Так, у щурів другої експериментальної групи, даний показник збільшився у 1,76 раза ( $p < 0,01$ ) відносно інтактних тварин (рис. 1). Саме дані клітини пригнічують активність клітинного і гуморального імунітету, впливаючи на механізми міжклітинної взаємодії. Наявність їх у крові в гострій фазі запального процесу свідчить про активацію імунологічної реактивності у відповідь на антигенну стимуляцію. Наслідком зниження вмісту Т-хелперів та підвищення вмісту Т-супресорів у крові піддослідних тварин стали зміни імунорегуляторного індексу (CD4+/CD8+). При порівнянні співвідношен-

ня CD4+/CD8+ у крові експериментальних тварин виявилось, що воно переважало в 3,01 раза ( $p < 0,01$ ) у щурів з експериментальним бактеріально-імуним запаленням в пародонтальному комплексі, відносно контрольної групи. (рис. 2).

Відносно зміни вмісту натуральних кілерів (NK-клітин, CD16+) в сироватці крові експериментальних тварин з пародонтитом слід зазначити, що їх вміст на 7-му добу досліду значно перевищував (у 1,47 раза;  $p < 0,01$ ) показники, які були у тварин контрольної групи (рис. 2).

При визначенні загальних В-лімфоцитів (CD19+) у крові виявилось зниження їх у тварин із експериментальним пародонтитом на 7-му добу в 1,62 раза ( $p < 0,01$ ) відносно тварин інтактної групи.



**Рис. 2 – Зміни відносної кількості CD16+, CD19+ та імунорегуляторного індексу (CD4+/CD8+) у крові щурів при експериментальному бактеріально-імуному пародонтиті на 7-му добу дослідження (у % від контролю)**

Примітки: \* – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин ( $p < 0,01$ )

**Висновки.** 1. Розвиток експериментального бактеріально-імунного пародонтиту супроводжується порушенням функціональної активності Т- та В-клітинної ланки імунної системи щурів, про що свідчить зниження процентного вмісту Т-лімфоцитів за рахунок Т-активних клітин, Т-хелперів, В-лімфоцитів та збільшення Т-кілерів і NK-клітин.

2. Порушення клітинного імунного захисту організму при експериментальному бактеріально-імунному пародонтиті у тварин є суттєвою патогенетичною ланкою розвитку деструктивного запального процесу в пародонтальному комплексі.

#### Література:

1. Димитрова А. Г. Оценка эффективности различных иммуномодуляторов в комплексном лечении генерализованого пародонтита у лиц молодого возраста (18-25 лет) / А.Г. Димитрова, Ю.Г. Коленко // Современная стоматология. – 2013. – № 2. – С. 38-39.
2. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw / V. Thuniger-Math, B. S. Michalowicz, J. S. Hodges [et al.] // J. Periodontol. – 2014. – Vol. 85, № 2. – P. 226-233.
3. Алгоритм виникнення й розвитку генерализованого пародонтиту та пародонтозу схема комплексного лікування генерализованого пародонтиту / Г. М. Мельничук, А. М. Політун, Л. Є. Ковальчук [та ін.] // Современная стоматология. – 2013. – № 1. – С. 35-40.
4. Long-term clinical and hematologic effects of non-surgical treatment on aggressive periodontitis / X. E. Wang, L. Xu, H. X. Meng [et al.] // Zhonghua Kou Qiang. – 2013. – Vol. 48, № 8. – P. 467-471.
5. Induction of immune response and prevention of alveolar bone loss with recombinant Porphyromonas gingivalis peptidylarginine deiminase / C. Zhu, J. Yang, J. Sun [et al.] // Arch. Oral Biol. – 2013. – Vol. 58, №12. – P. 1777-1783.
6. Демкович А. Є. Патогенетичні основи моделювання пародонтиту у тварин / А. Є. Демкович, Ю. І. Бондаренко // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2015. – № 1 (22). – С. 54-57.
7. Bunders M. Age-related standards for total lymphocyte, CD4+ and CD8+ T cell counts in children born in Europe / M. Bunders, M. Cortina-Borja, M. L. Newell // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2005. – Vol. 24, № 7. – P. 595–600.
8. Орлов А. И. Математика случая: Вероятность и статистика – основные факты: учебное

пособие / А. И. Орлов. – М.: МЗ-Пресс, 2004. – 100 с.

9. Berger. R. L., Casella. G. Statistical Inference 2<sup>nd</sup> ed. – Florida: Duxbury Press. – 2001. – 374 p.

10. Demkovych A. Oxidative modification of proteins in the process of experimental periodontitis development / A. Demkovych, Yu. Bondarenko, P. A. Hasiuk // Interventional Medicine and Applied Science. – 2017. – № 9 (4). – P. 218-221.

11. Proteomics for the discovery of biomarkers and diagnosis of periodontitis: a critical review / Y. A. Guzman, D. Sakellari, M. Arsenakis [et al.] // Expert Rev. Proteomics. – 2014. – Vol. 11, № 1. – P. 31-41.

УДК 616.314.17-008.1-022.7-036.4-06:612.017.1-092.9

## РОЛЬ КЛЕТОЧНОЙ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАКТЕРИАЛЬНО-ИММУННОГО ПАРОДОНТИТА

Демкович А.Е.

*ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», кафедра ортопедической стоматологии, г. Тернополь, Украина,  
e-mail: demkovych.andrii@gmail.com*

**Резюме.** В статье приведены результаты исследований показателей клеточного иммунного защиты, определяли по относительному количеству лимфоцитов с маркерами CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+ и иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) в интактных животных и на 7-е сутки развития экспериментального бактеріально-імунного пародонтита. Обращается внимание на характерное изменение показателей звена клеточного иммунитета на раннем этапе развития экспериментального пародонтита. В частности, в период острых проявлений воспалительной реакции, на 7-е сутки, происходило повышение в крови относительного количества CD8+, CD16+ клеток, а содержание CD3+, CD4+, CD19+ менялся в противоположном направле-

нии, то есть уменьшался. При этом иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+) как важный показатель иммунологической активности снижался. Исследовав функциональное состояние клеточного иммунного защиты у белых крыс с смоделированным бактериально-иммунным пародонтитом, были выявлены нарушения функционирования Т-клеточного звена иммунной системы, о чем свидетельствует уменьшение процентного содержания В- и Т-клеток за счет Т-хелперов, с повышением содержания Т-киллеров в ранний период развития воспалительной реакции в пародонтальном комплексе.

**Ключевые слова:** бактериально-иммунный пародонтит, иммунная система, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, воспаление.

UDC 616.314.17-008.1-022.7-036.4-06:612.017.1-092.9

## THE ROLE OF THE CELLULAR IMMUNE DEFENSE OF THE ORGANISM AT THE EARLY STAGE OF THE EXPERIMENTAL BACTERIAL-IMMUNE PERIODONTITIS DEVELOPMENT

A.Ye. Demkovych

*Horbachevsky Ternopil State Medical University, Department of Prosthetic Dentistry, Ternopil, Ukraine*  
e-mail: demkovych.andrii@gmail.com

**Abstract.** The article presents the results of research on the parameters of cellular immune protection determined by the relative number of CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+ and immunoregulatory index (CD4+/CD8+) markers in intact animals, and on the 7<sup>th</sup> day of the experimental bacterial-immune periodontitis. The study has been conducted under vivarium conditions on

white, non-breeding, clinically healthy male rats. Experimental animals were divided into two groups: the first group – intact animals (n = 10); the second group - animals with experimental periodontitis on the 7<sup>th</sup> day of the study (n = 8). Experimental bacterial-immune periodontitis in experimental animals was induced by introducing into the tissue of the periodontal complex a mixture of microorganisms diluted with egg protein. Indicators of cellular immunity were determined by the method based on the interaction of monoclonal antibodies labeled with a fluorescence label with surface antigens of the lymphocytes. The obtained results were statistically analyzed using parametric and nonparametric statistical methods. Attention has been paid to the characteristic change in the indicators of cell immunity at the early stage of the development of the experimental periodontitis. In particular, in the period of acute manifestations of inflammatory response, at 7<sup>th</sup> day, there was an increase in the relative number of CD8+, CD16+ cells in the blood, and the content of CD3+, CD4+, CD19+ changed in the opposite direction, actually decreased. In this case, the immunoregulatory index (CD4+/CD8+) as an important indicator of immunological activity was reduced. After the investigation of the functional state of cellular immune defense in white rats with simulated bacterial-immune periodontitis, the violation of the functioning of the T-cell line of the immune system has been revealed, as evidenced by a decrease in the percentage of B- and T-cells due to T-helper cells, with an increase in the T-killers in the early period of development of inflammatory reaction in the periodontal complex.

**Key words.** bacteria-immune periodontitis, immune system, T-lymphocytes, B-lymphocytes, inflammation.

Стаття надійшла до редакції 25.02.2018 р.