

Zalyubovska O. I., Tiupka T. I., Zlenko V. V., Avidzba Yu. N., Minaieva A. O., Bagmut I. Yu. Аналіз імунологічних показників та їх патогенетичних роль у розвитку запальних захворювань порожнини рота = Analysis of immunological parameters and their pathogenic role in the development of inflammatory diseases of the oral cavity Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(10):616-624. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.189959>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/4027>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author(s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.09.2016. Revised 24.09.2016. Accepted: 30.10.2016.

УДК 616.314.18-002.4.-037-031.81-615.37

АНАЛІЗ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ТА ЇХ ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ У РОЗВИТКУ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА

О. І. Залюбовська, Т. І. Тюпка, В. В. Зленко, Ю. Н. Авідзба, А. О. Мінаєва*,
І. Ю. Багмут **

Харківський національний медичний університет

*Національний фармацевтичний університет

**Харківська медична академія післядипломної освіти

Реферат

Встановлено, що розвиток експериментального гінгівіту та пародонтиту у білих щурів супроводжується порушеннями як клітинної, так і гуморальної ланок імунної системи, і полягають у вірогідному зменшенні вмісту загальних зрілих Т-лімфоцитів (CD3⁺) та Т-лімфоцитів-хелперів (CD4⁺), збільшенні Т-супресорів (CD8⁺) та зниженні відносного вмісту В-лімфоцитів (CD20⁺). Застосування екзогенного мелатоніну при запальних захворюваннях пародонту призводить до нормалізації клітинної і гуморальної ланок імунітету експериментальних тварин.

Ключові слова: запалення, гінгівіт, періодонтит, імунотерапія.

**ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND THEIR PATHOGENETIC
ROLE IN THE DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY DISEASES
OF THE ORAL CAVITY**

**O. I. Zalyubovska, T. I. Tiupka, V. V. Zlenko, Yu. N. Avidzba, A. O. Minaieva *,
I. Yu. Bagmut****

**Kharkiv National Medical University
National University of Pharmacy, Kharkiv
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education**

Abstract

It was established that the development of experimental gingivitis and periodontitis in white rats accompanied by disturbances both cellular and humoral immune system, and are as credible reduction of total mature T lymphocytes (CD3 +) and T-lymphocytes (CD4 +), increasing T suppressors (CD8 +) and decrease the relative content of B cells (CD20 +). The use of exogenous melatonin in inflammatory periodontal disease leads to normalization of cellular and humoral immunity experimental animals.

Key words: inflammation, gingivitis, periodontitis, immunotherapy.

Проблеми етіології, патогенезу і лікування захворювань пародонту на сьогодні звертають увагу багатьох дослідників. Це пов'язано з широкою розповсюдженістю і недостатньою ефективністю рекомендованих методів лікування. Як відомо, у патогенезі запальних захворювань пародонту значна роль належить імунному стану організму. Встановлено, що недостатність імунної відповіді призводить до зниження протимікробної резистентності пародонту, зростанню мікробної інтервенції і розвитку прогресуючого запального процесу. Застосування лікарських засобів, які нормалізують функцію імунної системи, сприяють більш швидкому завершенню патологічних процесів у пародонті [1, 2].

Сучасний рівень знань вказує на те, що в патогенезі захворювань пародонту важливе значення мають інфекційний, травматичний, судинний фактори. Але провідним чинником, що визначає тяжкість запалення і особливості його перебігу в пародонті, вважається порушення механізмів імунної регуляції як на системному, так і на локальному рівнях [1].

Сукупність неспецифічних та імунологічних регуляторних ланок запального процесу представляє собою універсальне явище, завдяки якому реалізується не тільки захисна функція запалення, але і його ушкоджуючий вплив на тканинні структури [3]. Є достатньо даних про те, що хронічний пародонтит протікає на тлі зміненого імунного статусу організму [4, 5]. Наприкінці ХХ століття в літературних джерелах з'явилися повідомлення швейцарських дослідників про імуотропні властивості мелатоніну. У цих дослідженнях аналізувалась здатність гормону протистояти імунодепресії, що супроводжує гострий стрес, вірусні захворювання, старіння [6], але про можливість корекції імунного статусу при експериментальному пародонтиті не повідомлялося.

Метою роботи стало вивчення змін імунного статусу організму щурів при експериментальному гінгівіті та пародонтиті у щурів під впливом екзогенного мелатоніну.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження виконані на 80 білих нелінійних щурах масою 180-220 г, які знаходилися на стандартному харчовому і водному раціоні згідно з санітарно-гігієнічними нормами [7]. Досліди проводили з дотриманням Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) й «Загальними етичними принципами дослідів на тваринах» (Україна, 2001).

Тварин було розподілено на 5 груп: 1-ша група – інтактні тварини; 2-га група – щури з експериментальним гінгівітом; 3-тя – щури з експериментальним гінгівітом, яким проводили зрошення порожнини рота водним розчином мелаксену – синтетичного аналогу мелатоніну (Melaxen®, «Unipharm, Inc.», USA) у дозі 30 мг/кг 1 раз на добу; 4 група – щури з експериментальним пародонтитом; 5 група – щури з експериментальним пародонтитом, яким проводили зрошення порожнини рота водним розчином мелаксену (тривалість експерименту складала 90 діб: 60 діб – моделювання пародонтиту; 30 діб – лікування мелаксеном).

Експериментальний гінгівіт викликали у два етапи: попереднім створенням стану дисбактеріозу ротової порожнини (внутрішньошлункове введення лінкомицину у дозі 60 мг/кг протягом 5 днів) та подальшим локальним ураженням ясен та тканин присінку рота аплікаціями суспензії бджолиної отрути (1 мг/кг у дозі 2 мл два рази на день протягом 3 днів). Аплікації отрути та лікувального засобу проводили у двох ділянках присінку рота: між нижньою губою і різцями нижньої щелепи (підборіддя) та між молярами верхньої і нижньої щелеп та щокою справа. Лікування починали з

наступного дня після закінчення відтворення патології [8].

Експериментальний пародонтит у щурів викликали шляхом використання дієти легкої консистенції з високим вмістом вуглеводів за О.І. Євдокимовим у модифікації О. І. Сукманського та О. А. Макаренко [9]. Склад цієї дієти наступний: пшеничне борошно – 34%, сухе знежирене коров'яче молоко –30%, крохмаль – 20%, цукор – 15%, поварена сіль – 1%. Для прискорення моделювання додатково до раціону харчування щурів додавали переокиснену соняшникову олію (1 мл на одного щура), яку отримували шляхом її нагрівання у присутності 2% сульфату міді протягом 6-10 годин до досягнення перекисного числа вище 30 од. [10].

Дослідження проводили з використанням моноклональних антитіл до CD3+, CD4+, CD8+ та CD20+ структурам виробництва «Caltag laboratories», США.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням комп'ютерної програми “Statistica V.6.0”.

Результати дослідження та їх обговорення. Оцінка імунного статусу щурів з експериментальним гінгівітом та пародонтитом показала, що усі ланки імунітету змінюються у різній мірі та мають різну спрямованість.

Аналіз отриманих результатів дослідження клітинної ланки імунітету свідчив про зменшення вмісту загальних Т-лімфоцитів (CD3⁺) у тварин як з експериментальним гінгівітом, так і з експериментальним пародонтитом, але в різній мірі (табл. 1, 2).

Так, при експериментальному гінгівіті вміст загальних Т-лімфоцитів (CD3⁺) менший у 2 рази за показник у інтактному контролі.

При експериментальному пародонтиті на 60 добу експерименту зменшення вмісту CD3⁺ було більш вираженим – у 2,5 рази порівняно з показником інтактного контролю. На 90 добу експерименту у щурів з пародонтитом показник CD3⁺ був дещо більшим, але відрізнявся від інтактного контролю в 1,7 рази.

Крім того, при експериментальному гінгівіті було відзначено зменшення вмісту Т-хелперів (CD4⁺) в 1,6 рази.

У тварин з експериментальним пародонтитом теж спостерігали зменшення цього показника на 60 та 90 добу – у 2,6 та 1,6 рази відповідно.

При експериментальному запаленні тканин пародонту вміст Т-супресорів (CD8⁺) навпроти різко збільшився: при експериментальному гінгівіті – у 2,6 рази; на 60 та 90 добу експериментального пародонтиту – у 2,8 та 2,1 рази відповідно, порівняно з показником в інтактному контролі.

Разом з цим, імунорегуляторний показник ($CD4^+/CD8^+$) зменшився порівняно з інтактним контролем при експериментальному гінгівіті у 4 рази, на 60 та 90 добу експериментального пародонтиту – у 5,9 та 3,5 рази відповідно, що свідчить про розвиток імунодефіцитного стану у щурів з відтвореними запальними захворюваннями пародонту – гінгівітом та пародонтитом. Причому Т-клітинний дефіцит розвивається як за рахунок Т-хелперів, так і цитотоксичних Т-супресорів.

Застосування екзогенного мелатоніну при експериментальному гінгівіті позитивно впливало на показники клітинної ланки імунітету, що проявлялося підвищенням вмісту $CD3^+$ та $CD4^+$, зниженням $CD8^+$, внаслідок чого імунорегуляторний показник ($CD4^+/CD8^+$) збільшився майже у 2 рази у порівнянні з нелікованою контрольною патологією.

Застосування екзогенного мелатоніну при експериментальному пародонтиті протягом 30 діб призвело до повної нормалізації стану клітинної ланки імунітету. Показники вмісту загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів та Т-супресорів не відрізнялися зі статистичною вірогідністю від показників інтактного контролю у той же термін. Імунорегуляторний індекс також нормалізувався, що вказувало на відсутність імуних порушень в організмі щурів, яких лікували мелатоніном.

Таблиця 1

Показники клітинної ланки імунітету при експериментальному гінгівіті та за умов застосування екзогенного мелатоніну, ($M \pm m$; $n=10$)

Показники $M \pm m$	Групи		
	I інтактні щури	II контрольна патологія (щури з гінгівітом)	III щури з гінгівітом + мелатонін
$CD3^+$, $\times 10^6/\text{л}$	0,47 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01*	0,38 \pm 0,02*#
$CD4^+$, $\times 10^6/\text{л}$	0,31 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02*	0,28 \pm 0,02#
$CD8^+$, $\times 10^6/\text{л}$	0,17 \pm 0,01	0,45 \pm 0,02*	0,34 \pm 0,01*#
$CD4^+/CD8^+$	1,82 \pm 0,04	0,44 \pm 0,03*	0,82 \pm 0,03*#

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі контрольних тварин;
3. n – кількість тварин у групі.

Показники клітинної ланки імунітету при експериментальному пародонтиті та за умов застосування екзогенного мелатоніну, (M±m; n=10)

Показники M±m	Групи		
	I інтактні щури	II контрольна патологія (щури з експериментальним пародонтитом)	III щури з пародонтитом+ мелатонін
60 доба			
CD3 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,47±0,01	0,19±0,02*	0,22±0,01*
CD4 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,31±0,02	0,12±0,02*	0,15±0,03*
CD8 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,17±0,01	0,53±0,02*	0,48±0,01*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,82±0,04	0,23±0,03*	0,31±0,03*
90 доба			
CD3 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,51±0,02	0,30±0,02*	0,49±0,05 [#]
CD4 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,29±0,01	0,18±0,01*	0,30±0,01 [#]
CD8 ⁺ , x10 ⁶ /л	0,20±0,01	0,42±0,02*	0,21±0,02 [#]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,45±0,02	0,42±0,04*	1,42±0,01 [#]

Примітки:

- * – p<0,05 у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – p<0,05 у порівнянні з показником в групі контрольних тварин;
- n – кількість тварин у групі.

Аналіз отриманих результатів дослідження гуморальної ланки імунітету тварин з відтвореними запальними захворюваннями пародонту показав наявність змін і в цьому секторі імунітету. Це проявлялося у зменшенні відсоткового вмісту В-лімфоцитів (CD20⁺) у порівнянні з інтактним контролем (де цей показник склав 14,03±0,56) при експериментальному гінгівіті на 14%; на 60 та 90 добу експериментального пародонтиту – на 20% та 11% відповідно.

Застосування мелатоніну при експериментальному гінгівіті та пародонтиті призводило до підвищення рівня В-лімфоцитів до рівня інтактного контролю.

Висновки. Розвиток пародонтиту виникає на тлі змін як клітинної, так і гуморальної ланок загального імунного статусу, що полягає у вірогідному зменшенні

вмісту загальних зрілих Т-лімфоцитів (CD3⁺) та Т-лімфоцитів-хелперів (CD4⁺); збільшенні Т-супресорів (CD8⁺) та зниженні відносного вмісту В-лімфоцитів (CD20⁺). Застосування екзогенного мелатоніну при експериментальному запаленні пародонту призводить до нормалізації імунного статусу: показники вмісту загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів та Т-супресорів та В-лімфоцитів не відрізнялися з статистичною вірогідністю від показників інтактного контролю.

Література:

1. Безрукова И. В. Микробиологические и иммунологические аспекты этиопатогенеза быстро прогрессирующего пародонтита (обзор литературы) / И. В. Безрукова // Пародонтология. – 2000. – № 3. – С. 3–8.
2. Takahashi K. Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with aggressive periodontitis / K. Takahashi, H. Ohyama, M. Kitanaka // J. Periodontol. 2001. – № 72 (4). – P. 425–437.
3. Garlet G. P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Reappraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints / G. P. Garlet // J. Dent Res. – 2010. – Vol. 89. – P. 1349–1363.
4. Berglundh T. Some local and systemic immunological features of prepubertal periodontitis / T. Berglundh, B. Wellfelt, B. Liljenberg // J. Clin. Periodontol. 2001. – № 28 (2). – P. 113–120.
5. Факторы местной резистентности и иммунологической реактивности полости рта: способы их клиничко-лабораторной оценки (обзор литературы) / Л. М. Цепов [и др.] // Пародонтология. 2005. – № 1 (34). – С. 31–36.
6. Малиновская Н. К. Мелатонин: вчера, сегодня, завтра / Н. К. Малиновская // Клиническая медицина. – 2002. – №6. – С. 71–73.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожемякін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.] – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
8. Пат. 31011 U Україна, МПК (2006) А61Р 31/00 А 61К 35/56 А 61С 7/00. Спосіб моделювання гінгівіту / Левицький А. П., Селиванська І. О., Макаренко О. А.; заявник і патентовласник Інститут стоматології АМН України. – № U 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. №6. – 3 с.

9. Сукманский О. И. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита / О. И. Сукманский, О. А. Макаренко // Вісник стоматології. – 2006. – № 2. – С. 2 – 3.

10. Левицкий А. П. Перекисная модель стоматита / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, В. Н. Почтарь, В. Е. Завадский // Вісник стоматології - 2005. - №4. - С. 7-10.

References

1. Bezrukov IV Microbiological and immunological aspects of etiopathogenesis of rapidly progressive periodontitis (literature review) / IV // Bezrukov Periodontology. - 2000. - № 3. - P. 3-8. (Rus.)

2. Takahashi K. Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with aggressive periodontitis / K. Takahashi, H. Ohyama, M. Kitanaka // J. Periodontol. 2001. – № 72 (4). – P. 425– 437.

3. Garlet G. P. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Reappraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints / G. P. Garlet // J. Dent Res. – 2010. – Vol. 89. – P. 1349–1363.

4. Berglundh T. Some local and systemic immunological features of prepubertal periodontitis / T. Berglundh, B. Wellfelt, B. Liljenberg// J. Clin. Periodontol. 2001. – № 28 (2). – P. 113–120.

5. Factors local resistance and immunological reactivity of the oral cavity: methods for their clinical and laboratory evaluation (review) / LM Tsepov [et al.] // Periodontology. 2005. - № 1 (34). - P. 31- 36. (Rus.)

6. Malinovskaya NK Melatonin: yesterday, today and tomorrow / NK Malinovskaya // Clinical medicine. - 2002. - №6. - P. 71- 73. (Rus.)

7. Scientific and practical advice on keeping laboratory animals and work with them / [Kozhemyakin M., A. Khromov, Filonenko MA, Sayfedinova GA] - К .: Avicenna, 2002. - 156 p. (Ukr.)

8. Pat. 31,011 U Ukraine, IPC (2006) A61R A 61K 31/00 35/56 7/00 A 61C. Method simulation gingivitis / Levitsky AP, Selyvanska IO, Makarenko O. A .; patent owner Dentistry Institute of Medical Sciences of Ukraine. - U number 200711608; appl. 22.10.2007; publ. 25.03.2008, Bull. №6. - 3 p. (Ukr.)

9. Sukmansky OI Experimental model of generalized periodontitis / OI Sukmansky, OA Makarenko // News stomatologії. - 2006. - № 2. - P. 2 - 3. (Rus.)

10. Levitsky AP peroxidation model stomatitis / AP Levitsky, OA Makarenko VN
Pochtar, VE Zawadzki // News stomatologii - 2005. - №4. - P. 7-10. (Rus.)