

М. Л. Байда <https://orcid.org/0000-0003-0676-8830>

З. Л. Сольвар <https://orcid.org/0000-0003-2695-7911>

ХАРАКТЕРИСТИКА ОКРЕМИХ КОМПОНЕНТІВ ГУМОРАЛЬНОЇ ТА КЛІТИННОЇ ЛАНОК ІМУНІТЕТУ У КРОВІ МУРЧАКІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

УДК 611-092.4/9:616.314.18-002.4

М. Л. Байда, З. Л. Сольвар

ХАРАКТЕРИСТИКА ОКРЕМИХ КОМПОНЕНТІВ ГУМОРАЛЬНОЇ ТА КЛІТИННОЇ ЛАНОК ІМУНІТЕТУ У КРОВІ МУРЧАКІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

Патогенез пародонтиту є асоційованим із захворюванням мікробіоти порожнини рота, запаленням організму, а також екологічними й генетичними факторами ризику. Встановлено, що імунні реакції імунної системи людини визначають схильність до пародонтозу. Однак точна роль різних імунних клітин у пародонтиті, роль імунітету в руйнуванні альвеолярної кістки та специфічні сигнальні шляхи, залучені в імунну регуляцію за пародонтиту, залишаються неясними.

Метою дослідження було встановити стан окремих компонентів гуморальної та клітинної ланок імунітету у крові мурчаків за експериментального пародонтиту.

Одержані результати показали достовірне зниження кількості Т-лімфоцитів на всі доби експериментального моделювання хвороби на тлі підвищення вмісту В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів, що свідчить про депресію клітинних механізмів захисту організму й активацію гуморальної ланки імунної відповіді за розвитку експериментального пародонтиту.

Ключові слова: експериментальний пародонтит, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, циркулюючі імунні комплекси.

UDC 611-092.4/9:616.314.18-002.4

M. L. Baida, Z. L. Solvar

CHARACTERISTICS OF INDIVIDUAL COMPONENTS OF THE HUMORAL AND CELLULAR LINKS OF IMMUNITY IN THE BLOOD OF GUINEA PIGS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

The pathogenesis of periodontitis mainly involves the disease-associated oral microbiota, inflammation of the body and environmental and genetic risk factors. It has been established that the immune reactions of the human immune system determine susceptibility to periodontal disease. However, the precise role of different immune cells in periodontitis, the role of immunity in alveolar bone destruction, and the specific signaling pathways involved in immune regulation in periodontitis remain obscure.

The aim of the study is to establish the state of individual components of the humoral and cellular links of immunity in the guinea pigs' blood with experimental periodontitis.

Research materials and methods. Experimental studies were conducted on 46 guinea pigs (males) weighing 180–220 g, divided into 5 groups of 9 animals in each except for the first (10 animals).

The model of experimental periodontitis was reproduced following the method of O. N. Voskresensky, determination of the content of T- and B-lymphocytes in the blood – following the method of Chernushenko E. F., Kogosova L. S., determination of circulating immune complexes in blood – following the method of V. V. Menshikova.

Statistical processing of the obtained data was carried out through the Student's t-test.

The obtained results showed a significant decrease in the number of T-lymphocytes for all days of the experimental simulation of the disease against the background of an increase in the content of B-lymphocytes and circulating immune complexes which indicates the depression of the cellular mechanisms of the body's defense and the activation of the humoral link of the immune response during the development of experimental periodontitis.

Key words: experimental periodontitis, T-lymphocytes, B-lymphocytes, circulating immune complexes.

Актуальність теми. Пародонтит, що уражає майже 10–15 % людей у всьому світі, є поширеним хронічним захворюванням, яке характеризується запаленням пародонту та деструкцією альвеолярної кістки [1]. Патогенез пародонтиту є асоційованим із захворюванням мікробіоти порожнини рота, запаленням організму, а також екологічними та генетичними факторами ризику [2, 3]. Це захворювання викликається патогенними бактеріями в некротичних пульпах і кореневих

каналах, що спричиняє реакцію вродженої та адаптивної імунної системи періапикальних тканин [4].

Хоча патогенез пародонтиту включає полімікробну синергію та дисбактеріоз, бактеріальних колоній, асоційованих із зубним нальотом, є недостатньо, щоб викликати захворювання; насправді це запальна реакція господаря на полімікробний виклик, який зрештою викликає пошкодження тканин і втрату кісткової тканини – характерну ознаку пародонтиту [5].

Встановлено, що імунні реакції імунної системи людини визначають схильність до пародонтозу. Ряд типів запальних і стромальних клітин були причетні до цього деструктивного процесу [5, 6]. Спровокований

© М. Л. Байда, З. Л. Сольвар, 2023

Стаття поширюється на умовах ліцензії



патогенами та тривалим запаленням пародонтит модулюється імунною системою, особливо прозапальними клітинами, такими як Т-хелпери (Th) 17. Походзячи із клітин CD4+ Th, клітини Th 17 відіграють центральну роль, оскільки вони стимулюють і регулюють запалення пародонта. Недавні дослідження показали, що Т-клітини можуть збиратися в місцях інфекції, таким чином обмежуючи генерацію імунної відповіді та резорбцію кістки в періапикальній ділянці [7].

Роль плазматичних клітин та їх попередників, В-лімфоцитів, залишається недостатньо вивченою, незважаючи на їх високу кількість у прогресуючих пародонтальних ураженнях [8]. За даними досліджень, плазматичні та В-клітини разом становлять приблизно 60 % від загальної кількості лейкоцитів, присутніх у пародонтальних ураженнях, пов'язаних із втратою кісткової тканини [9]. Завдяки своїй ролі в гуморальному імунитеті В-клітини / плазматичні клітини в принципі можуть виконувати захисну функцію в разі пародонтиту. Наприклад, утворення імуноглобулінів може сприяти контролю дисбіотичної мікробіоти в пародонтальних кишнях і запобігати проникненню бактерій у сполучну тканину ясен, тим самим обмежуючи запалення та захворювання. Однак точно встановлено, що пародонтит прогресує, незважаючи на індукцію специфічних гуморальних відповідей на пародонтальні бактерії у хворих. Імовірно, це пов'язано з низькою спорідненістю антитіл та/або їх несприятливими функціональними характеристиками (наприклад, слабкою опсонофагоцитарною здатністю) [9, 10].

Різні дослідження показали підвищення сироваткових титрів IgG проти пародонтальних патогенів за хронічного пародонтиту. Імунні комплекси та відкладення IgG з активними факторами комплементу були виявлені в пацієнтів із пародонтитом [11], спричиненим збільшенням кількості остеокластів у гребені альвеолярної кістки, що свідчить про їх участь у гострій фазі деструкції пародонту [12].

Однак точна роль різних імунних клітин у пародонтиті, роль імунітету в руйнуванні альвеолярної кістки та специфічні сигнальні шляхи, залучені в імунну регуляцію за пародонтиту, залишаються невиясненими.

Мета дослідження – з'ясувати роль і стан окремих показників імунної системи в крові мурчаків за умов розвитку експериментального пародонтиту (ЕП).

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проводилися на 46 мурчаків (самцях) масою 180–220 г, поділених на 5 груп, по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин). До I групи (контроль) входили інтактні морські свинки, до II – тварини з експериментальним пародонтитом ЕП (4-та доба), до III – мурчаки на 7-му добу модельного процесу, до IV – тварини з експериментальним пародонтитом (14-та доба), до V – мурчаки на 24-ту добу експерименту.

З метою детального аналізу показників у різні доби експерименту умовно виділяли два періоди розвитку експериментального пародонтиту: ранній і пізній. Ранній період стосувався групи тварин з ЕП на 4-ту та 7-му доби експерименту. Пізній – мурчаки на 14-ту та 24-ту доби експериментальної моделі хвороби.

Модель експериментального пародонтиту відтворювали за методом О. Н. Воскресенського [13], визна-

чення вмісту Т- і В-лімфоцитів у крові – за методом Чернушенко Е. Ф., Когосової Л. С. [14], визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у крові – за методом Меньшикова В. В. [15].

Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985). Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати досліджень та обговорення. Проведені експериментальні дослідження показали достовірне зростання вмісту В-лімфоцитів у крові мурчаків залежно від тривалості експерименту. У ранній період експериментального пародонтиту (тварин другої та третьої груп) виявлено поступове підвищення вмісту В-лімфоцитів відповідно на 17,3 % ($p \leq 0,05$) і на 32,74 % ($p \leq 0,05$) проти інтактних тварин. Тенденція до зростання цього показника зберігалась і в пізній період розвитку ЕП (на 14-ту та 24-ту доби), вміст В-лімфоцитів зазнавав зростання відповідно на 27,6 % ($p \leq 0,05$) і 25,6 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контрольною групою (рис. 1). Одержані результати підтверджують існуючі уявлення про те, що В-клітини опосередковують деструктивні ефекти за пародонтиту, беручи участь в індукції патологічної втрати кісткової тканини за цієї патології.

Для більш комплексної оцінки гуморальної ланки імунітету було проведено визначення циркулюючих імунних комплексів у крові експериментальних тварин. Результати проведених досліджень показали прогресуюче зростання ЦІК уже в ранній період експерименту (4-та і 7-ма доби), що становило відповідно 25,6 % ($p \leq 0,05$) і 28,8 % ($p \leq 0,05$) від контролю з досягнення максимальних величин на 24-ту добу моделювання хвороби – 32,5 % ($p \leq 0,05$) порівняно з інтактними тваринами (рис. 1), що може свідчити про їх ушкоджувальний вплив і участь у патогенезі експериментального пародонтиту.

Стан клітинної імунної відповіді ми визначали на основі встановлення вмісту Т-лімфоцитів у крові тварин за умов розвитку експериментального пародонтиту в різні періоди формування експерименту (на 4-ту, 7-му, 14-ту, 24-ту доби). У ранній період виявлено початкове зниження вмісту Т-лімфоцитів на 20,5 % ($p \leq 0,05$) на 4-ту добу ЕП та на 30 % ($p \leq 0,05$) на 7-му добу порівняно з I групою тварин, з досягненням стійкої депресії в пізній період формування експерименту, особливо на 24-ту добу моделювання хвороби: цей показник був нижчий на 25,3 % ($p \leq 0,05$) порівняно з величинами контролю (рис. 1). З літературних джерел відомо, що запалення ініціюється резидентними клітинами, зокрема епітеліальними клітинами та фібробластами, які рекрутують імунні клітини. Зниження кількості Т-лімфоцитів за умов розвитку ЕП можна трактувати як пригнічення клітинної ланки імунної відповіді, що підтверджує роль реакції клітин організму серед основних причин пошкодження тканин пародонту й розвитку дисфункційного та затяжного запалення, яке слугує лише для живлення та підтримки дисбактеріозу [12].

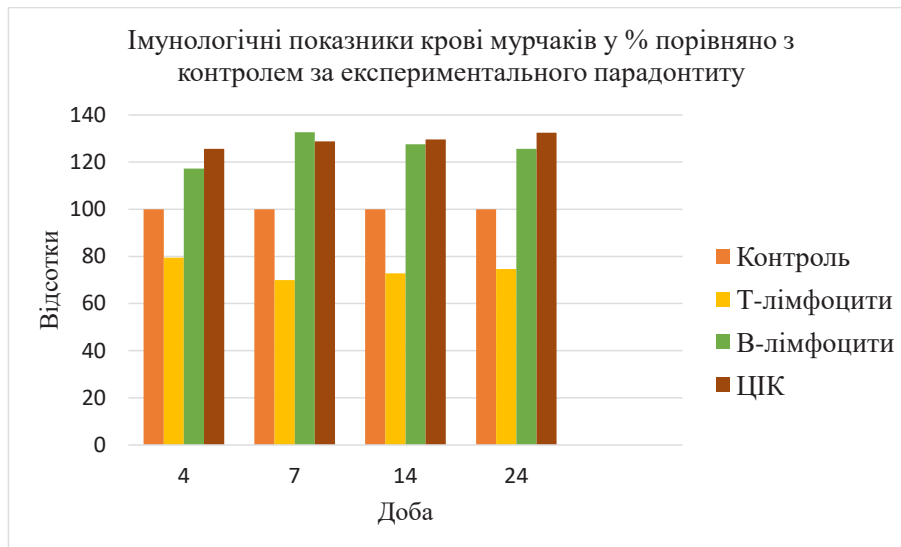


Рис. 1. Імунологічні показники крові мурчаків у % порівняно з контролем за експериментального пародонтиту

Висновки. Таким чином, проведене комплексне імунологічне дослідження ланок гуморального та клітинного імунітету в крові інтактних мурчаків і у тварин у різні періоди розвитку експериментального пародонтиту показали роль визначення вмісту Т- і В-лімфоцитів та ЦІК для характеристики особливостей змін функ-

ціонального стану імунної системи, їх ролі в патогенезі цієї моделі хвороби та діагностики пародонтиту. На підставі одержаних нами результатів досліджень можна зробити висновок про те, що в умовах розвитку ЕП відбуваються зміни імунної системи із супресією клітинної та стимуляцією гуморальної ланок імунітету.

ЛІТЕРАТУРА

1. He W, You M, Wan W, Xu F, Li F, Li A. Point-Of-Care Periodontitis Testing: Biomarkers, Current Technologies, and Perspectives. *Trends Biotechnol.* 2018; 36 (11): 1127–1144. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.05.013>.
2. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current Understanding of Periodontal Disease Pathogenesis and Targets for Host-Modulation Therapy. *Periodontol 2000.* 2020; 84 (1): 14–34. DOI: 10.1111/prd.12331.
3. Teles F, Wang Y, Hajishengallis G, Hasturk H, Marchesan JT. Impact of Systemic Factors in Shaping the Periodontal Microbiome. *Periodontol 2000.* 2021; 85 (1): 126–160. DOI: 10.1111/prd.12356.
4. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal Diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3: 138–170. DOI: 10.1038/nrdp.2017.38.
5. Zhu M, Belkina AC, DeFuria J et al. B cells promote obesity-associated periodontitis and oral pathogen-associated inflammation. *J Leukoc Biol.* 2014; 96: 34357. DOI: 10.1189/jlb.4A0214-095R.
6. Oliver-Bell J, Butcher JP, Malcolm J et al. Periodontitis in the absence of B cells and specific anti-bacterial antibody. *Mol Oral Microbiol.* 2014; 30 (1): 160–169. DOI: 10.1111/omi.12082.
7. Park H, Li Z, Yang XO et al. A Distinct Lineage of CD4 T Cells Regulates Tissue Inflammation by Producing Interleukin 17. *Nat Immunol.* 2005; 6 (11): 1133–1141. DOI: 10.1038/ni1261.
8. Bunte K, Beikler T. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (14): 339–346. DOI: 10.3390/ijms20143394.
9. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR et al. Development, Cytokine Profile and Function of Human Interleukin 17-Producing Helper T Cells. *Nat Immunol.* 2007; 8 (9): 950–957. DOI: 10.1038/ni1497.
10. Dutzan N, Abusleme L. eds. *T Helper 17 Cells as Pathogenic Drivers of Periodontitis.* Cham: Springer International Publishing; 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2021.742925.
11. Kuramoto A, Yoshinaga Y, Kaneko T et al. The formation of immune complexes is involved in the acute phase of periodontal destruction in rats. *J Periodontol Res.* 2012; (47): 455–462. DOI: 10.3389/fimmu.2021.591236.
12. Marques CPC, Maor Y, De Andrade MS, Rodrigues VP, Benatti BB. Possible evidence of systemic lupus erythematosus and periodontal disease association mediated by toll-like receptors 2 and 4. *Clin Exp Immunol.* 2016; 183: 187–192. DOI: 10.1111/cei.12708.
13. Voskresensky ON. Preclinical study of means of prevention and treatment of periodontitis (periodontoprotectors). Guidelines. K.: Avicenna. 2002; 16 (in Ukrainian).
14. Chernyshenko IF, Kogosova LS. Immunology and immunopathology of pulmonary diseases. Guidelines. K.: Zdorovja. 1981; 208 (in Ukrainian).
15. Menshukov VV. Laboratory methods of clinical investigations. Guidelines. Medicina 1987; 292 (in Ukrainian).

Надійшла до редакції 07.12.2023

Прийнята до друку 20.12.2023

Електронна адреса для листування bayda_t@ukr.net