

## РІВЕНЬ ІМУНОЛОГІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ПАРОДОНТИТІ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

*При експериментальному пародонтиті на тлі стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2 типу визначали стан гуморальної ланки імунної системи. Встановлено дисбаланс основних показників імуноглобулінів у сироватці крові на тлі даних патологій.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **цукровий діабет 2 типу, пародонтит, імуноглобуліни.**

ВСТУП. Актуальність проблеми пов'язана зі значним поширенням цукрового діабету (ЦД) серед населення. Дані літератури свідчать про те, що найпоширенішим є інсулінонезалежний цукровий діабет 2 типу, який у певних вікових групах перевищує епідемічний поріг та становить 12 % [2, 3, 5, 8, 15]. Цукровий діабет – це хронічне ендокринно-обмінне захворювання, зумовлене абсолютною (порушення утворення) або відносною (порушення дії) недостатністю інсуліну внаслідок дії різноманітних ендотажних факторів, що супроводжується порушенням усіх видів обміну речовин, перш за все вуглеводного з найбільш характерним його проявом – гіперглікемією, ураженням різних органів і тканин, насамперед судин та нервів [4, 6, 9, 10, 13].

Захворювання тканин пародонта є одним з ускладнень ЦД поряд із серцево-судинними патологіями, нефропатією, нейропатією та порушенням регенерації тканин [1, 3, 17, 18].

Метою даного дослідження було вивчити вплив гіперглікемії в крові на гуморальну ланку імунної системи та встановити взаємозв'язок між ними при пародонтиті на тлі стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2 типу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Було проведено дослідження на білих безпородних щурах обох статей, отриманих з віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, згідно з вимогами Правил проведення роботи з використанням експериментальних тварин [11]. Тварини отримували звичайний раціон харчування та мали цілодобовий

доступ до води. Експериментальне моделювання цукрового діабету 2 типу проводили шляхом одноразового внутрішньочеревного введення щурам масою (200±20) г розчину стрептозотоцину з розрахунку 65 мг/кг, який розводили цитратним буфером (рН 4,5), з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинаміду в дозі 230 мг/кг [16]. Для контрольної групи ми використовували тварин з тією ж масою, яким вводили аналогічний об'єм розчинника (цитратний буфер із рН 4,5). За даними ряду авторів [14], попереднє введення нікотинаміду підвищує стійкість β-клітин острівців Лангенгарса до пошкоджувальної дії стрептозотоцину, це дозволяє моделювати стан, що значною мірою відповідає змінам, характерним для ЦД 2 типу. Здійснювали контроль за рівнем глюкози у крові глюкозооксидазним методом із застосуванням наборів "Філісіт-діагностика" (Україна) на аналізаторі "Humalyser 2000", рівнем глюкози в сечі й наявністю кетонів у сечі з використанням напівавтоматичного аналізатора сечі "Combilyzerplus", ступенем толерантності до навантаження глюкозою [7].

Вплив стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2 типу на патогенез пародонтиту вивчали методом моделювання гострої травми тканин десни [12]. Щурам з вестибулярної сторони до тканин пародонта нижнього різця підводили робочу голівку ультразвукового скейлера ART (Великобританія) та протягом 60 с направляли ультразвукову хвилю частотою 50 МГц. Через 1 та 8 днів здійснювали декапітацію щурів під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Досліджували клітинну (CD-4, CD-8) ланку імунітету імунофлуоресцентним методом

за допомогою моноклональних антитіл до CD-4 і CD-8 антигенів щура, кон'югованих із флуоресцеїн ізотіоціанатом (FITC) виробництва "BeckmanCoulter" (США). Імунореактивність організму вивчали за вмістом сироваткових імуноглобулінів (Ig) А, М, G методом твердофазового імуоферментного аналізу за допомогою набору реагентів "eBioscience, Inc" із використанням аналізатора "StatFax". Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз показників клітинного імунітету вказує на суттєві відмінності між досліджуваними групами тварин. У щурів із ЦД 2 типу показник CD-4 лімфоцитів був на 28 % нижчим, ніж у здорових тварин. Дещо менше зниження відмічено стосовно CD-8 лімфоцитів – на 12 % від норми, що призвело до зниження імунорегуляторного індексу з  $1,52 \pm 0,06$  до  $1,25 \pm 0,04$ . На сьогодні рівень імунорегуляторного індексу оцінюють при зіставленні з фазою імунної відповіді. У період розпалу клінічних проявів запального процесу імунорегуляторний індекс сягає високих значень за рахунок великого відсоткового вмісту Т-хелперів (CD-4 Т-клітин). У період реконвалесценції значення показника зменшується у зв'язку з наростанням рівня CD-8 Т-клітин (кілерів). Порушення такої закономірності свідчить про неадекватність імунної реакції та можливість хронізації процесу через неповну ерадикацію збудника.

Моделювання гострого пародонтиту супроводжувалося різнонаправленими змінами показників клітинного імунітету. Зокрема, на 2-гу добу показник CD-4 у тварин склав 120 % від рівня здорових, а CD-8 – 110 %, що спричинило зростання імунорегуляторного індексу в 1,17 раза. Достовірні зміни ми відмітили і на 8-му добу: CD-4 склав 121 % від норми, CD-8 – 105 %. Такі зміни проявлялися дещо меншим збільшенням співвідношення CD-4/CD-8, яке становило  $1,74 \pm 0,04$ . Отже, у тварин спостерігали нормальний перебіг запального процесу з переважанням зростання Т-хелперів над рівнем цитотоксичних Т-лімфоцитів і, відповідно, підвищенням імунорегуляторного індексу (табл. 1).

У щурів, в яких гострий пародонтит моделювали на тлі ЦД 2 типу, зміни мали протилежний напрямок. Вміст CD-4 лімфоцитів на 2-гу добу, порівняно зі здоровими тваринами, вірогідно зменшився і становив 55 % від їх рівня, це спричинило значне зниження імунорегуляторного індексу – до  $0,97 \pm 0,04$ , що склало 64 % від показника здорових щурів. На 8-му добу експерименту показник CD-4 клітин був ще меншим, становлячи 49 % від норми, а CD-8 – 81 %. Імунорегуляторний індекс знизився ще більше і склав  $0,92 \pm 0,04$ , що на 74 % менше, ніж в інтактних тварин (табл. 1).

Таким чином, у тварин з пародонтитом на тлі ЦД 2 типу відзначили суттєве зниження CD-4 лімфоцитів, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD-4 і CD-8), що супроводжувалося достовірним зменшенням

Таблиця 1 – Показники клітинної ланки імунітету у тварин з гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу ( $M \pm m$ )

Показник група тварин	Група тварин					
	інтактні (n=10)	ЦД 2 типу (n=10)	гострий пародонтит		гострий пародонтит+ЦД 2 типу	
			2-га доба (n=7)	8-ма доба (n=7)	2-га доба (n=7)	8-ма доба (n=7)
CD-4, %	$39,43 \pm 0,73$	$28,32 \pm 0,62$ $p < 0,05$	$50,49 \pm 0,67$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$47,73 \pm 1,09$ $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$21,61 \pm 0,70$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$19,51 \pm 0,83$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
CD-8, %	$26,03 \pm 0,83$	$22,85 \pm 0,85$ $p < 0,05$	$28,59 \pm 0,67$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$27,33 \pm 0,53$ $p > 0,05$ $p_2 < 0,05$	$22,31 \pm 0,60$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$21,21 \pm 0,39$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
Імунорегуляторний індекс CD-4/CD-8	$1,52 \pm 0,06$	$1,25 \pm 0,04$ $p < 0,05$	$1,77 \pm 0,05$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$1,76 \pm 0,06$ $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$0,97 \pm 0,04$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$0,92 \pm 0,04$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1.  $p$  – достовірність різниці порівняно з інтактними тваринами.
2.  $p_1$  – достовірність різниці порівняно з тваринами, в яких моделювали цукровий діабет 2 типу.
3.  $p_2$  – достовірність різниці тварин із гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу порівняно з нормоглікемічними тваринами з гострим пародонтитом.

імунорегуляторного індексу. Виявлена недостатність клітинної ланки імунної відповіді відображає посилення взаємного негативного впливу запального процесу в пародонті й системних порушень імунного захисту за умов супутньої гіперглікемії, спричиненої моделюванням цукрового діабету 2 типу.

Для оцінки стану гуморального імунітету при пародонтиті на тлі цукрового діабету 2 типу було визначено рівень IgG, IgM, IgA в сироватці крові (табл. 2). Спостерігали зниження кон-

центрації імуноглобулінів у сироватці крові щурів на тлі цієї патології. Так, після моделювання ЦД відбулись зміни показників гуморального імунітету, зокрема рівень IgG зменшився в 1,8 раза, IgM – у 2 рази та IgA – в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ). Результати наших досліджень свідчать про те, що хронічна гіперглікемія призводила до зниження резистентності гуморальної ланки імунної системи при антигенній стимуляції та до вторинних імунодефіцитних станів.

Таблиця 2 – Рівень імуноглобулінів у сироватці крові щурів з пародонтитом на тлі стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2 типу ( $M \pm m$ )

Показник	Група тварин					
	інтактні (n=10)	ЦД 2 типу (n=10)	гострий пародонтит		ЦД 2 типу+гострий пародонтит	
			2-га доба (n=6)	8-ма доба (n=6)	2-га доба (n=6)	8-ма доба (n=6)
IgG	6,75±0,14	3,8±0,08 $p < 0,05$	5,67±0,14 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	5,73±0,13 $p < 0,05$ $p_2 > 0,05$	6,03±0,19 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	5,87±0,06 $p < 0,05$ $p_2 > 0,05$
IgM	3,78±0,18	1,9±0,11 $p < 0,05$	6,08±0,15 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	3,65±0,11 $p > 0,05$ $p_2 < 0,05$	2,82±0,12 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	4,77±0,19 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$
IgA	1,77±0,06	1,03±0,05 $p < 0,05$	2,5±0,05 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	2,33±0,11 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	1,3±0,09 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	1,23±0,06 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Доведено, що у тварин з пародонтитом IgG на 2-гу добу становив 84 %, IgM – 161 %, а IgA – 141 % стосовно контрольної групи. Гіперпродукція імуноглобулінів у крові свідчила про надлишок токсинів та антигенів при пародонтиті. Тоді як на 8-му добу моделювання пародонтиту IgM, IgA дорівнювали 97 та 132 % відповідно, як ми бачимо (табл. 2), показник IgG практично не змінився та складав 85 %. Отримані результати вказують на те, що у тварин при експериментальному пародонтиті на 2-гу добу відбулась активація імуноглобулінів з крові з подальшим пригніченням механізмів адаптації, що проявлялось зменшенням синтезу IgG, IgM та IgA порівняно з контрольною групою.

При моделюванні пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу ми відзначали зниження рівня імуноглобулінів у крові вже на 2-гу добу. Так, показник IgG був у 1,2 раза нижчим, ніж у контрольній групі, IgM – в 1,2 раза, IgA – в 1,4 раза. Потрібно зауважити, що рівень імуноглобулінів у експериментальних тварин з гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу значно перевищував такий у групі щурів із цукровим діабетом 2 типу. На 8-му добу моде-

лювання пародонтиту на тлі цукрового діабету 2 типу показник IgG дещо зменшився та становив 97 %, тоді як IgM дорівнював 126 %, а IgA – 70 % відносно 2-ї доби.

**ВИСНОВКИ.** 1. У тварин з пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу відзначили суттєве зниження CD-4 лімфоцитів, порушення співвідношення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD-4 і CD-8), що супроводжувалось достовірним зменшенням імунорегуляторного індексу. Виявлена недостатність клітинної ланки імунної відповіді відображає посилення взаємного негативного впливу запального процесу в пародонті й системних порушень імунного захисту за умов супутньої гіперглікемії, спричиненої моделюванням цукрового діабету 2 типу.

2. Існує прямий зв'язок рівня глюкози в крові щурів та показників імуноглобулінів класів А, G, M. Доведено, що при гострому пародонтиті на тлі стрептозотоциніндукованого цукрового діабету 2 типу порушується функціональність імунної системи, що проявляється дисбалансом імуноглобулінів у кров'яному руслі та зниженням резистентності гуморальної ланки імунної системи.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева О. А. Роль коррекции общего и местного иммунного статуса и биохимических показателей ротовой жидкости в комплексной терапии пародонтита при сахарном диабете : дисс. ... канд. мед. наук / О. А. Алексеева. – Рязань, 2001. – 169 с.
2. Бажора Ю. І. Механізми макромолекулярних взаємодій у системному гомеостазі при формуванні первинної імунної відповіді в експерименті / Ю. І. Бажора, Ю. В. Петрашевич // Бук. мед. вісник. – 2001. – 5, № 3. – С. 162–167.
3. Воложин А. И. Патогенетические механизмы поражения пародонта при сахарном диабете / А. И. Воложин // Стоматология нового тысячелетия : сб. тезисов. – М. : Авиаиздат, 2002. – С. 130–131.
4. Горбачева И. А. Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // Стоматология. – 2004. – № 3. – С. 13–15.
5. Демидова И. Сахарный диабет 2 типа: патогенез и лечение / И. Демидова // Врач. – 2000. – № 1. – С. 16–19.
6. Джураева Ш. Ф. Распространенность и интенсивность заболеваний пародонта при сахарном диабете / Ш. Ф. Джураева, Ш. С. Анварова, Г. Г. Ашуров // Стоматология Таджикистана. – Душанбе, 2006. – № 4. – С. 40–42.
7. Ибрагимов Т. И. Прогнозирование эффективности лечения пародонтита на фоне сахарного диабета / Т. И. Ибрагимов, И. Ю. Лебедеко, С. Д. Арутюнов // Terramedica. – 2001. – № 4 (24). – С. 30–32.
8. Кирилюк М. Л. Сучасні клініко-патофізіологічні аспекти цукрового діабету 2 типу / М. Л. Кирилюк, О. Д. Гавловський // Інтегративна антропологія. – 2009. – № 2 (14). – С. 40–44.
9. Лянова Д. К. Роль иммунной активации в развитии воспалительных заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом / Д. К. Лянова, Ф. Ю. Даурова // Пародонтология. – 2006. – № 1. – С. 22–26.
10. Мащенко И. С. Иммунологические и гормональные аспекты патогенеза генерализованного пародонтита / И. С. Мащенко // Вісник стоматології. Спеціальний випуск. – 2003. – № 1. – С. 19–24.
11. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
12. Пат. на корисну модель № 65771. Спосіб моделювання пародонтиту / Мачоган В. Р., Авдеев О. В. – 2011. – Бюл. № 23.
13. Слонова В. М. Роль иммуновоспалительной активации в развитии воспалительных заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом / В. М. Слонова, А. И. Галабуева, Л. В. Цокова // Сборник научных трудов центра социально-гуманитарного образования СОГУ. – Владикавказ, 2008. – С. 156–162.
14. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 / А. А. Спасов, М. П. Воронкова, Г. Л. Снигур [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 3. – С. 12–18.
15. Islam S. Experimental rodent model of type 2 diabetes: a review / S. Islam, D. T. Loots // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2009. – № 31(4). – P. 249–261.
16. Islam S. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study / S. Islam, H. Choi // Pharmacology. – 2007. – № 79. – P. 243–249.
17. Loe H. Periodontal Disease. The sixth Complication of Diabetes Mellitus / H. Loe // Diabetes Care. – 1999. – 16. – P. 329–334.
18. Teng Y. T. The role of acquired immunity and periodontal disease / Y. T. Teng // Crit. Res. Oral. Biol. Med. – 2003. – 14. – P. 237–252.

Е. М. Дуда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## УРОВЕНЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

### Резюме

При экспериментальном пародонтите на фоне стрептозотоцининдуцированного сахарного диабета 2 типа определяли состояние гуморального звена иммунной системы. Установлено дисбаланс основных показателей иммуноглобулинов в сыворотке крови на фоне данных патологий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 2 типа, пародонтит, иммуноглобулины.

**LEVEL OF IMMUNE ADAPTATION IN THE SERUM OF RATS  
WITH PERIODONTITIS ON THE BACKGROUND OF TYPE 2 DIABETES**

**Summary**

*In experimental paradontitis in the background of streptozotocin-induced diabetes type 2 status was determined humoral immune system. Established imbalance of key indicators immunoglobulins in serum on the background this pathologies.*

KEY WORDS: **diabetestype 2, periodontaldisease, immunoglobulins.**

Отримано 29.04.14

**Адреса для листування:** К. М. Дуда, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.