



Реактивність лімфоїдного компонента пародонта під час використання різних пломбувальних матеріалів на тлі експериментального цукрового діабету

О. А. Варакута^{A-D}, О. Г. Куц^{*E,F}

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – дослідити особливості перебудови лімфоїдного компонента пародонта при експериментальному цукровому діабеті та при поєднанні експериментального цукрового діабету з наявністю фотополімерної або цементної пломби.

Матеріали та методи. Застосовуючи гістологічний, імуногістохімічний і лектингістохімічний методи, вивчили кількість антигенпрезентувальних клітин, T- і B-лімфоцитів у пародонті протягом 6 тижнів спостереження.

Результати. При експериментальному цукровому діабеті кількість SBA⁺-B-лімфоцитів зростає вдвічі порівняно з нормою. Поєднання фотополімерної пломби та експериментального цукрового діабету призводило до зростання кількості субпопуляції CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитів на 15–20 %. Одночасно збільшувалася кількість внутрішньоепітеліальних НРА-лімфоцитів, що вказує на активацію клітинної ланки імунітету. При експериментальному цукровому діабеті в усі строки спостереження виявляли збільшення кількості субпопуляції CD4⁺-лімфоцитів порівняно з контрольною групою. Їхня кількість становила 4,01 ± 0,01 на умовну одиницю площі.

Висновки. У тварин інтактної групи лімфоїдний компонент пародонта представлений антигенпрезентувальними клітинами, CD5⁺, CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитами епітелію ясен і лімфоцитами власної пластинки. При експериментальному цукровому діабеті спостерігали активацію антигенпрезентувальних клітин, клітинної та гуморальної ланки імунітету. Порівнюючи реактивність з боку лімфоїдного компонента ясен, найбільші зміни відзначали за наявності фотополімерної пломби на відміну від цементної, особливо щодо гуморальної ланки імунітету. При поєднанні експериментального цукрового діабету та наявності пломбувального матеріалу вираженіші зміни у структурі лімфоїдного компонента встановили за наявності фотополімерної пломби порівняно з цементною.

Реактивність лимфоидного компонента пародонта при использовании различных пломбирочных материалов на фоне экспериментального сахарного диабета

О. А. Варакута, О. Г. Куц

Цель работы – исследовать особенности перестройки лимфоидного компонента пародонта при экспериментальном сахарном диабете и при сочетании экспериментального сахарного диабета с наличием фотополимерной или цементной пломбы.

Материалы и методы. Применяя гистологический, иммуногистохимический и лектингистохимический методы, изучили численность антигенпрезентирующих клеток, T- и B-лимфоцитов в пародонте в течение 6 недель наблюдения.

Результаты. При экспериментальном сахарном диабете количество SBA⁺-B-лимфоцитов возрастает вдвое по сравнению с нормой. Сочетание фотополимерной пломбы и экспериментального сахарного диабета приводило к росту количества субпопуляций CD4⁺, CD8⁺-лимфоцитов на 15–20 %. Одновременно увеличивалось количество внутриэпителиальных НРА-лимфоцитов, что указывает на активацию клеточного звена иммунитета. При экспериментальном сахарном диабете в течение всех сроков наблюдения отмечено увеличение количества субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой. Их количество составило 4,01 ± 0,01 на условную единицу площади.

Выводы. У животных интактной группы лимфоидный компонент пародонта представлен антигенпрезентирующими клетками, CD5⁺, CD4⁺, CD8⁺-лимфоцитами эпителия десны и лимфоцитами собственной пластинки. При экспериментальном сахарном диабете отмечена активация антигенпрезентирующих клеток, клеточного и гуморального звена иммунитета. При сравнении реактивности со стороны лимфоидного компонента десен наибольшие сдвиги отмечены при наличии фотополимерной пломбы в отличие от цементной, в особенности гуморального звена иммунитета. При сочетании экспериментального сахарного диабе-

ВІДОМОСТІ ПРО СТАТТЮ



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/184436>

УДК: 616.314-002-092:612.017.1]:616.34-74]-06:616.379-008.64-092.9
DOI: 10.14739/2409-2932.2019.3.184436

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2019. – Т. 12, № 3(31). – С. 365–371

Ключові слова: пародонт, лімфоцити, пломба, дентальні фотоініціатори, цукровий діабет, щури.

*E-mail: sidorov0240@gmail.com

Надійшла до редакції: 22.08.2019 // Після доопрацювання: 02.09.2019 // Прийнято до друку: 06.09.2019

та и наличия пломбировочного материала более выраженные изменения в структуре лимфоидного компонента отмечены при наличии фотополимерной пломбы по сравнению с цементной.

Ключевые слова: пародонт, лимфоциты, пломба, дентальные фотоинициаторы, сахарный диабет, крысы.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2019. – Т. 12, № 3(31). – С. 365–371

Reactivity of the lymphoid component of the periodontium using various filling materials against experimental diabetes mellitus

O. A. Varakuta, O. H. Kushch

The purpose. The features of the restructuring of the lymphoid component of periodontal disease in experimental diabetes mellitus and in the combination with experimental diabetes mellitus with the presence of photopolymer or cement fillings were studied in this research.

Materials and methods. The histological, immunohistochemical and lectohistochemical methods were used, the number of antigen-presenting cells, T and B lymphocytes in the periodontium during six weeks was studied.

Results. In experimental diabetes mellitus, the number of SBA⁺-B-lymphocytes doubles than normal. The combination of photopolymer fillings and experimental diabetes mellitus led to an increase in the number of subpopulations of CD4⁺-, CD8⁺-lymphocytes by 15–20 %. At the same time, the number of intraepithelial HPA⁺-lymphocytes increased, which indicates the activation of the cellular immunity unit. In experimental diabetes mellitus, during the entire observation period, there was an increase in the number of subpopulations of CD4⁺-lymphocytes, compared with the control group. Their number was 4.01 ± 0.01 per conventional unit of area.

Conclusions. In animals of the intact group, the periodoid lymphoid component is represented by antigen-presenting cells, CD5⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-lymphocytes of the gum epithelium and lymphocytes of the lamina propria. In experimental diabetes mellitus, activation of antigen-presenting cells, cellular and humoral immunity is observed. When comparing the reactivity of the lymphoid component of the gums, the greatest shifts are observed in the presence of a photopolymer filling, in contrast to the cement, especially the humoral immunity. With a combination of experimental diabetes mellitus and the presence of filling material, more pronounced changes in the structure of the lymphoid component are noted in the presence of a photopolymer filling than cement.

Key words: periodontium, lymphocytes, inlays, dental photoinitiators, diabetes mellitus, rats.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2019; 12 (3), 365–371

В останні десятиріччя в усьому світі зростає захворюваність населення не тільки на специфічні IgE-залежні алергічні захворювання, але і на псевдоалергії. Цю проблему в Україні не вивчали. Визначено, що збільшується частота розвитку алергонесприятливості до різних стоматологічних матеріалів, що розвивається унаслідок специфічних Т-лімфоцит-залежних реакцій, переважно несправжньо алергічних. Слабка імунна чутливість належить до «сірої зони». Але будь-яка латентна алергічна реакція може набути клінічного патологічного перебігу [1]. Відомо, що при алергіях і псевдоалергіях відбувається скасування оральної толерантності внаслідок хронічної ендогенної інфекції, зокрема пародонта, активуються регуляторні Т-лімфоцити та слабкоспецифічна гуморальна ланка – V₁-лімфоцити – виробники нормальних антитіл.

Подібні зсуви в лімфоїдному компоненті тканин пародонта компенсуються гомеостатичними механізмами організму, і людина десятиріччями може залишатися клінічно здоровою. Але під час лабораторного дослідження поява змін у клінічно здорових людей діагностується як латентна алергія чи безсимптомне носійство, про яке відомо з наукової літератури [2].

Тому виникла необхідність дослідити зміни у специфічній і неспецифічній лімфоцитарній гуморальній ланці тканин пародонта в експерименті в нормі та за наявності пломбувального матеріалу.

Специфічні клітинні імунні механізми забезпечуються взаємодією антигенпрезентувальних клітин із різними популяціями лімфоцитів. Основними антигенпрезен-

тувальними клітинами в епітелії та власній пластинці слизової оболонки порожнини рота є дендритні клітини. Важливість ролі дендритних клітин слизової оболонки зумовлена їхніми різноманітними функціями. Дендритні клітини слизової оболонки поглинають антиген і мігрують у вторинні лімфоїдні органи, де відбирають антигенспецифічні Т-лімфоцити з циркулювального пула та сенсibiliзують їх. Антигенпрезентувальні клітини можуть бути функціонально незрілими та зрілими. Дозріваючи, дендритні антигенпрезентувальні клітини активно експресують HLA-DR молекули, втрачають здатність до презентації антигенів і набувають здатність сенсibiliзувати Т-лімфоцити [3].

Дослідження кількісних та якісних змін характеристик імунокомпетентних клітин пародонта на основі імуногістохімічного, лектингістохімічного й морфологічного методів дає можливість зробити висновки про зміни локального імунітету.

Лікар-стоматолог, обираючи матеріали для профілактичних заходів і реставрації зубів, керується кількома критеріями: естетикою, тривалістю гарантії терапії, комфортом у праці та співвідношенням ціна – якість. Нині таким вимогам повністю відповідає пластичний фотополімерний рентгенконтрастний композит GC Gradia Direct Flo (Японія), до складу якого входить традиційна смола – диметилакрилат – BisGMA.

Композиційні полімерні пломбувальні матеріали (композитні пластмаси) розроблені у США наприкінці 1950-х років і вперше застосовані у стоматології майже 40

років тому. Найбільшого поширення набули композити, органічна матриця яких представлена сополімером (продуктом взаємодії) акрилових та епоксидних смол. Таке сполучення (бісфенол – гліцидилметакрилат – BisGMA) детально описане лікарем Rafael L. Bowen із Національного бюро стандартів США.

Уперше про загрозу, яку становить для пацієнтів бісфенол А, заговорили іспанські вчені з Гранадського університету (Universidad de Granada) в 1996 році. Відомо, що композити полімеризуються за вільнорадикальним типом. Утворення вільних радикалів і затвердіння відбувається в результаті світлової реакції в порожнині рота. Під час контакту з повітрям поверхня композита вступає у взаємодію з киснем, що призводить до завершення процесу полімеризації. Отже, поверхня всіх композитів, що затверділи в повітрі, покрита шаром, який був пригнічений киснем. З одного боку, ця властивість композитів дає змогу якісно з'єднуватися попередньому шару з наступним, але верхній шар композиту завжди залишається недополімеризованим. Це призводить до реагування композитної пломби зі слиною, особливо під час жування (механічний вплив на композит), вживання гарячої їжі, а також при будь-якій стоматологічній маніпуляції з запломбованим зубом: під час відбілювання, препарування під коронкою, оброблення перекисом водню [4].

Оскільки BisGMA є похідним із дифенілола пропану, тобто з бісфенола А змішаного з метакриловою кислотою, то під дією агресивного середовища порожнини рота композит розщеплюється на складові.

Бісфенол А імітує жіночий гормон – естроген. Витікаючи з цього компонента, він потрапляє у кровообіг. Витік відбувається завжди, оскільки у слині є фермент, що розщеплює смоли. Дослідження американських учених на тваринах доводить, що бісфенол А впливає на органи та системи, які чутливі до естрогену.

Інший головний компонент BisGMA – метакрилат на 25–50 % залишається неполімеризованим після фотополімеризації, що становить токсикологічну загрозу для пацієнта, включаючи алергічний контактний стоматит.

Навіть мізерні концентрації бісфенола А та метакрилатів викликають рак простати, яєчок, молочних залоз, змінюють якісні та кількісні показники сперми, зумовлюють розвиток діабету, зниження мозкової активності, виникнення алергічних реакцій.

Теоретично препарат BisGMA має впливати і на імунну систему організму, але це питання не висвітлено в науковій літературі. Отже, виникла необхідність в експериментальному дослідженні реактивності тканин пародонта та його лімфоїдного компонента під впливом фотополімерної пломби з композита GC Gradia Direct Flo (Японія) [5].

Склоіономерний цемент можна використовувати як альтернативу фотополімерній пломбі. Склоіономерний цемент має склад, що зумовлює його самоадгезивність, тривалий строк виділення іонів фтору, високу стійкість до вологи, твердість поверхні, велику зносостійкість. Але нині не досліджено в порівняльному аспекті, які саме

пломбувальні матеріали – фотополімери чи цементи – викликають вираженішу реактивність з боку лімфоїдного компонента тканин пародонта [6].

Судинні ураження – найважливіша ознака ураження органів і систем при цукровому діабеті. У патогенезі пародонтиту при цукровому діабеті провідне місце належить ангіопатії судин пародонта, в ураженні дрібних судин головна роль належить диспротеїнемії. Останніми роками з'явилися нові дані про патогенез мікроангіопатій. Якщо традиційно вважали, що пусковим моментом та основним фактором прогресування діабетичних мікроангіопатій є порушення вуглеводного обміну, то з сучасних позицій у патогенезі мікроангіопатій істотну роль відіграють імунні механізми. На імунний механізм судинних ушкоджень указує підвищений вміст активованих Т-лімфоцитів із HLADR [7]. При діабетичних ангіопатіях визначають підвищену концентрацію імуноглобуліну IgG.

Донині не досліджували реактивність лімфоїдного компонента тканин пародонта при експериментальному цукровому діабеті та за наявності пломбувального матеріалу різного хімічного походження. В умовах зміни кількості Т-лімфоцитів можливий дисбаланс цитокінів, що призводить до порушення клітинних взаємодій. Відбуваються зміни кількості В-лімфоцитів, що секретують багато активних факторів та антитіла, які стимулюють фагоцитуючі клітини, котрі беруть участь у здійсненні цитотоксичного ефекту [8]. Не встановлені кореляційні зв'язки між кількістю CD4⁺, CD8⁺ і CD5⁺ лімфоцитів у тканинах пародонта в нормі й експерименті.

Мета роботи

Вивчити особливості перебудови лімфоїдного компонента пародонта при експериментальному цукровому діабеті та при поєднанні експериментального цукрового діабету з наявністю фотополімерної або цементної пломби.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – щелепи лабораторних статевозрілих щурів. Щурів поділили на 6 груп: група 1 – інтактна; група 2 – з наявністю фотополімерної пломби; група 3 – з наявністю цементної пломби (склоіономерний полімер з низькою розчинністю в порожнині рота); 4 – з експериментальним цукровим діабетом; група 5 – з наявністю фотополімерної пломби на тлі експериментального цукрового діабету; 6 група – тварини з цементною пломбою на тлі цукрового діабету.

Інтактні тварини відповідного віку утворили контрольні групи. Протягом роботи з експериментальними тваринами дотримувалися вимог біоетики згідно з положенням «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986). Під час моделювання експериментального цукрового діабету загинули 6 тварин.

Тваринам експериментальних груп встановлювали фотополімерну чи цементну пломбу на латеральну по-

верхню верхнього лівого різця ближче до ясенної кишені. Методика встановлення пломби детально описана в попередній роботі. Оскільки в щурів різці ростуть постійно, а цукровий діабет розвивається протягом 2 тижнів, взяття матеріалу виконували через 2, 4 і 6 тижнів. У щурів стрептозоточиновий цукровий діабет викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозоточину фірми «Sigma» з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготований на 0,1 М цитратному буфері, рН = 4,5). Розвиток цукрового діабету протягом 14 днів контролювали за збільшенням рівня глюкози у крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження виконували на тваринах із рівнем глюкози понад 14 ммоль/л. У 2 тварин рівень глюкози був менший ніж 9 ммоль/л, їх вивели з експерименту. Знечулених тварин виводили з експерименту з 13:00 до 14:00 години шляхом декапітації. Для дослідження брали фрагменти щелеп протягом декількох хвилин після забиття. Матеріал фіксували в рідині Буена та в 10 % розчині формаліну, декальцінували, зневоднювали, заливали парафіновою сумішшю та виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5 мкм.

Для оглядової мікроскопії та підрахування загальної кількості лімфоцитів гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозинном. Імуногістохімічним методом виявляли субпопуляції Т- і В-лімфоцитів, співвідношення між ними. Для ідентифікації лімфоцитів використовували моноклональні антитіла до CD4⁺-хелперів, CD5⁺-В₁-лімфоцитів, CD8⁺-цитотоксичних лімфоцитів антигенів виробництва Thermo Scientific із системами демаскування антигена, детекції того самого виробника.

Застосовували лектингістохімічний метод із використанням панелі лектинів: лектин сої (SBA) – для визначення В-лімфоцитів, лектин виноградного слимака (HPA) – для виявлення цитотоксичних лімфоцитів і $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів. Для вивчення дендритних клітин застосовували лектин сочевиці (LCA).

Для кількісного обрахунку дендритних клітин і лімфоцитів використовували морфометричну сітку Глаголева в модифікації С. Б. Стефанова, підраховували кількість клітин в епітелії ясен і власній пластинці на умовній одиниці площі 10 000 мкм² при імерсійному збільшенні мікроскопа (об. 100, ок. 10).

У дослідження залучили 81 тварину, згідно з біоетичною концепцією «3 R» щодо зменшення кількості тварин в експерименті за умови отримання необхідного експериментатору статистично вірогідного результату. Статистичне опрацювання кількісних результатів виконали методами варіаційної статистики. Для перевірки нормальності розподілу даних використовували W-критерій Шапіро–Уїлка. Дані наведені як $M \pm m$ (середнє арифметичне та стандартна помилка середнього).

Результати

В епітелії слизової оболонки рота й міжзубних ясеневих сосочках функцію антигенпрезентувальних клітин виконують клітини Лангерганса. У тварин інтактної групи

LCA-антигенпрезентувальні клітини розташовуються внутрішньоепітеліально. Розміри тіла клітин – до 15 мкм. Клітини мають невеликі відростки, ядра безбарвні. На цитоплазматичній мембрані спостерігали нашарування часточок бензидину, що підтверджує наявність рецепторів до лектину сочевиці. Клітини розташовані рівномірно в товщі епітеліальних клітин у приблизному співвідношенні 1 дендритна клітина Лангерганса на 30–40 епітеліальних клітин. На умовну одиницю площі припадає 23–26 клітин. При експериментальному цукровому діабеті спостерігали спочатку збільшення кількості LCA-антигенпрезентувальних клітин на 20 % наприкінці 2 тижня експерименту, а потім зменшення на 4 і 6 тижнів порівняно з нормою. Ймовірно, такі зміни пов'язані з фазністю розвитку патологічного процесу та дисбалансом у представленні антигенів лімфоцитам, що, як відомо з джерел наукової літератури, супроводжується посиленням запального процесу бактеріальної природи [9]. У тварин із фотополімерною та цементною пломбами не виявили вірогідні відмінності за кількістю клітин Лангерганса в епітелії ясен порівняно з контрольною групою протягом усіх строків спостереження.

У тварин із поєднанням експериментального цукрового діабету і наявністю фотополімерної пломби на 6 тижнів спостережень виявили стовщення епітеліального пласта, а LCA-антигенпрезентувальні клітини Лангерганса набували більшого розміру (до 20 мкм) і візуально мали більше відростків, що вказує на їхній активніший функціональний стан.

Також антигенпрезентувальні клітини виявляли в рихлій волокнистій сполучній тканині власної пластинки; розмір – 20–25 мкм, неправильної форми, з 5–6 відростками. На цитоплазматичній мембрані виявляли рецептори до манози, тому клітина має коричневий колір. Ядро неправильної форми та безбарвне. У тварин інтактної групи кількість LCA-антигенпрезентувальних клітин на умовну одиницю площі становить 11–12. Показник залишається стабільним протягом усіх строків спостереження.

Підраховуючи лімфоцити у сполучній тканині пародонта тварин інтактної групи, визначили, що їхня кількість становить $25,06 \pm 0,09$ на умовну одиницю площі. В умовах модельованого експериментального цукрового діабету їхня кількість зростає на 10–15 % від 2 до 6 тижня експерименту. Лімфоцити розташовуються дифузно або утворюють невеликі скупчення з 3–5 клітин.

Дослідження кількості HPA-лімфоцитів, які ідентифікуються як цитотоксичні, як-от $\gamma\delta$ -Т-лімфоцити, в епітелії ясен свідчить про функції клітинного імунітету й забезпечення оральної толерантності. У тварин інтактної групи їхня кількість на умовну одиницю площі становить 10–11 клітин. При експериментальному цукровому діабеті кількість HPA-лімфоцитів на 2 тижні спостереження збільшується, а потім зменшується. Тобто на початку патологічного процесу цитотоксичні реакції в епітелії активуються, а потім пригнічуються.

За наявності фотополімерної пломби кількість HPA-лімфоцитів зменшується, а за наявності цементної

пломби залишається в нормах показників інтактної групи.

Зменшення кількості цитотоксичних лімфоцитів в епітелії та власній пластинці вказує на послаблення цитотоксичного захисту та зниження регуляторного потенціалу в підтримці росту й регенерації слизової оболонки.

У тварин інтактної групи В-лімфоцити, що мають рецептори до лектину сої, мають діаметр 11–12 мкм. На поверхні цитоплазматичної мембрани виявили нашарування часточок бензидину коричневого кольору. Отже, такі лімфоцити ідентифікували саме як В-лімфоцити.

CD5⁺-V₁-лімфоцити продукують основний клас антитіл імунної системи слизових – IgA-антитіла, які є імуноглобуліновими рецепторами V₁-лімфоцитів. Лектин сої приєднується до проліл-тріонінових і проліл-серінових амінокислотних послідовностей важких ланцюгів названих імуноглобулінових рецепторів цих лімфоцитів. SBA⁺-В-лімфоцити розташовуються здебільшого у власній пластинці під епітелієм прикріплення, ближче до базальної мембрани, епітелію прикріплення.

При експериментальному цукровому діабеті кількість SBA⁺-В-лімфоцитів зростає вдвічі порівняно з нормою, що відповідає даним інших авторів [10]. Вони розташовані у власній пластинці навколо судин. За наявності пломбувального матеріалу фотополімерної природи кількість SBA⁺-В-лімфоцитів зростає, як і у групі з експериментальним цукровим діабетом. При поєднанні експериментального цукрового діабету та наявності фотополімерної пломби кількість SBA⁺-В-лімфоцитів коливається в межах показників 4 і 5 груп, становлячи $12,07 \pm 0,30$ на умовну одиницю площі. За наявності цементної пломби кількість SBA⁺-В-лімфоцитів лімфоцитів суттєво не відрізнялася від показників контрольної групи. При поєднанні експериментального цукрового діабету й цементної пломби кількість SBA⁺-В-лімфоцитів відповідає показникам групи з експериментальним цукровим діабетом.

Протягом імуногістохімічного дослідження виявили: серед окремих субпопуляцій лімфоцитів під час індукованого цукрового діабету переважали CD5⁺-лімфоцити. Це вказує на активацію неспецифічної гуморальної ланки імунітету. CD5⁺-лімфоцити середнього діаметра розташовуються в товщі власної пластинки, під базальною мембраною епітелію ясен та епітелію прикріплення. Лімфоцити розташовуються поодинокі або утворюючи контакти з лімфоцитами інших субпопуляцій [11]. За наявності фотополімерної пломби визначили збільшення кількості CD5⁺-лімфоцитів порівняно з нормою на 20–25 % – від 8 до 10 лімфоцитів на умовну одиницю площі. За наявності цементної пломби показники кількості CD5⁺-лімфоцитів статистично не відрізняються від показників контрольної групи. Наявність цементної пломби суттєво не змінює кількість CD5⁺-лімфоцитів у групі з експериментальним цукровим діабетом.

У тварин інтактної групи на тлі загальної кількості лімфоцитів переважали Т-лімфоцити, які представлені CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитами. Цитотоксичні CD8⁺-лімфоци-

ти траплялися як внутрішньоепітеліально, так і в товщі власної пластинки, здебільшого навколо судин. Кількість НРА-цитотоксичних лімфоцитів корелює з кількістю CD8⁺-лімфоцитів. Кількість цитотоксичних CD8⁺-лімфоцитів зростає в експериментальних групах протягом усіх строків спостереження за винятком групи, тваринам якої встановлена цементна пломба.

CD4⁺-лімфоцити поодинокі траплялися в товщі власної пластинки. При експериментальному цукровому діабеті протягом усіх строків спостереження визначали збільшення кількості субпопуляції CD4⁺-лімфоцитів порівняно з контрольною групою. Їхня кількість становила $4,01 \pm 0,01$ на умовну одиницю площі, подібний результат спостерігали й інші автори [12].

Наявність фотополімерної пломби поєднувалася зі збільшенням кількості CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитів порівняно з контрольною групою. Лімфоцити розташовувалися у власній пластинці невеликими скупченнями з 3–5 клітин. Активація лімфоїдної ланки пародонта описана в роботах інших науковців [13]. Поєднання фотополімерної пломби й експериментального цукрового діабету призводило до збільшення кількості субпопуляцій CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитів на 15–20 %. Водночас збільшувалася кількість внутрішньоепітеліальних НРА-лімфоцитів, що вказує на активацію клітинної ланки імунітету, ймовірно, у відповідь на активацію оральної мікрофлори, що закономірно відбувається при зростанні рівня глюкози у біологічних рідинах.

Встановлення цементної пломби показує відсутність статистично вірогідних відмінностей за кількістю лімфоцитів різних субпопуляцій. Кількість лімфоцитів за наявності цементної пломби й експериментального цукрового діабету відповідає кількості лімфоцитів у групі 4.

Обговорення

Отже, лімфоїдний компонент пародонта представлений антигенпрезентувальними клітинами, морфофункціональна активність яких збільшується при експериментальному цукровому діабеті, що проявляється збільшенням кількості рецепторів до лектину сочевиці, і від того – збільшенням часточок бензидину, тому клітини набувають темно-коричневого кольору. Функціональна активність клітин збільшується також за наявності фотополімерної пломби та при поєднанні експериментального цукрового діабету та фотополімерної пломби. Наявність цементної пломби не призводить до значущого підвищення активності антигенпрезентувальних клітин.

При експериментальному цукровому діабеті взаємодія між мікроорганізмами порожнини рота й імунною системою відіграє одну з головних ролей у зміні локальної імунної відповіді. Зміни у механізмах імунних процесів супроводжуються вираженими змінами у будові пародонта. При експериментальному цукровому діабеті відбуваються зміни в усіх тканинах пародонта: в епітелії – деструктивні порушення поверхневих шарів, зменшення ступеня кератинізації; це свідчить про зниження

захисної функції оболонки рота, що продемонстровано в попередніх роботах. У сполучній тканині спостерігають лімфоїдно-макофагальну інфільтрацію, з'являються повні клітини у стадії дегрануляції. Найбільші зміни виявили в гуморальній ланці імунітету: відбувається активація неспецифічного та специфічного гуморального імунітету, не виключений розвиток аутоімунного процесу, що потребує продовження вивчення, але частково висвітлено в дослідженнях [14]. На активацію гуморальної ланки імунітету вказує зростання кількості CD4⁺-популяції лімфоцитів, що відповідає даним інших дослідників [15]. Активацію клітинної ланки імунітету виявили при експериментальному цукровому діабеті та у групі експериментальних тварин із фотополімерною пломбою, а також при поєднанні фотополімерної пломби й експериментального цукрового діабету. Зміни клітинного імунітету призводять до зниження індексу CD4⁺/CD8⁺. Потребує продовження вивчення питання щодо дослідження популяцій Т-хелперів 1 і 2 типів.

Висновки

1. Лімфоїдний компонент пародонта представлений антигенпрезентувальними клітинами, CD5⁺, CD4⁺, CD8⁺-лімфоцитами епітелію ясен і лімфоцитами власної пластинки.

2. При експериментальному цукровому діабеті спостерігали активацію антигенпрезентувальних клітин, клітинної та гуморальної ланки імунітету.

3. Порівнюючи реактивність лімфоїдного компонента ясен, найбільші зміни визначили за наявності фотополімерної пломби на відміну від цементної, особливо щодо гуморальної ланки імунітету.

4. При поєднанні експериментального цукрового діабету та наявності пломбувального матеріалу вираженіші зміни у структурі лімфоїдного компонента встановили за наявності фотополімерної пломби порівняно з цементною.

Перспективи подальших досліджень. Для дослідження реактивності лімфоїдного компонента пародонта передбачається вивчення Т-хелперів різних підкласів імуногістохімічним методом у нормі та в експерименті.

Фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи ЗДМУ «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі та експерименті» (№ держреєстрації 0109U003986).

Подяка

Автори статті висловлюють подяку завідувачу кафедри патологічної анатомії ЗДМУ і співробітникам кафедри за допомогу під час проведення імуногістохімічної реакції.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Варакута О. А., асистент каф. пропедевтичної та хірургічної стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Куц О. Г., д-р біол. наук, професор, зав. каф. нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-3827-3752

Сведения об авторах:

Варакута О. А., ассистент каф. пропедевтической и хирургической стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Куц О. Г., д-р биол. наук, профессор, зав. каф. нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Varakuta O. A., Assistant of the Department of Surgical and Propedeutic Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Kushch O. H., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Шабанов П. Д., Мокренко Е. В. Противовоспалительные и иммунокорригирующие свойства трекрезана при разных способах введения в модели воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2015. Т. 14. № 4. С. 5-11.
- [2] Мокренко Е. В., Шабанов П. Д. Лечение зубными пастами воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта у крыс. *Педиатр*. 2015. Т. 6. № 2. С. 81-85.
- [3] Шабанов П. Д., Мокренко Е. В. Состояние оксидативного статуса крови и тканей при воспалительно-дегенеративных поражениях мягких тканей пародонта у крыс после применения зубных паст и их отдельных компонентов. *Медицинский академический журнал*. 2015. Т. 15. № 2. С. 55-61.
- [4] Жулев Е. Н., Кочубейник А. В., Лапшин Р. Д. Экспериментальное моделирование воспалительных заболеваний пародонта. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 1. Ч. 4. С. 744-747.
- [5] Морфологическая характеристика тканей пародонта у больных сахарным диабетом после хирургического лечения с использованием эрбиевого лазера / С. И. Вырмаскин, Т. А. Федорина, Д. А. Трунин, В. П. Кириллова. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2015. Т. 17. № 2. Ч. 2. С. 284-287.
- [6] Минералогическая стоматология как междисциплинарная область исследования: некоторые итоги и перспективы развития / С. Л. Вотяков и др. *Проблемы стоматологии*. 2017. Т. 13. № 1. С. 3-16.
- [7] Крючков Д. Ю., Романенко И. Г., Джерелей А. А. Лечение генерализованного пародонтита у больных с метаболическим синдромом. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2016. № 2. С. 116-125.
- [8] Динамика функциональной активности клеточных показателей при комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома / И. В. Фирсова и др. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2015. № 1. С. 50-52.
- [9] Корневская Н. А. Биосовместимость композиционных пломбировочных материалов. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2016. Т. 15. № 3. С. 7-17.
- [10] Grumezescu A. M. Nanobiomaterials in Dentistry: Applications of Nanobiomaterials. Elsevier, 2016. Vol. 11. 498 p. doi: <https://doi.org/10.1016/C2015-0-00414-2>
- [11] Lamster I., Pagan M. Periodontal disease and the metabolic syndrome. *International Dental Journal*. 2017. Vol. 67. Issue 2. P. 67-77. doi: 10.1111/idj.12264
- [12] Relation of periodontitis and metabolic syndrome with gestational glucose metabolism disorder / Bullon P. et al. *Journal Of Periodontology*. 2014. Vol. 85. Issue 2. P. e1-e8. doi: 10.1902/jop.2013.130319
- [13] Rochester J., Bolden A. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives*. 2015. Vol. 123. Issue 7. P. 643-650. doi: 10.1289/ehp.1408989
- [14] Monitoring bisphenol A and estrogenic chemicals in thermal paper with yeast-based bioreporter assay / Rajasärkkä J. et al. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406. Issue 23. P. 5695-5702. doi: 10.1007/s00216-014-7812-x

[15] Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives? / Rosenmai A. et al. *Toxicological Sciences*. 2014. Vol. 139. Issue 1. P. 35-47. doi: 10.1093/toxsci/kfu030

References

- [1] Shabanov, P. D., & Mokrenko, E. V. (2015). Protivovospalitelnye i immunokorrigirujushhie svojstva trekrezana pri raznyh sposobah vvedenija v modeli vospalitelno-degenerativnyh porazhenij mjagkih tkanej parodonta [Anti-inflammatory and immune correcting properties of trekrezan in different modes of administration in a model of inflammatory and degenerative damages of soft parodont tissues]. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*, 14(4), 5-11. [in Russian].
- [2] Mokrenko, E. V., & Shabanov, P. D. (2015). Lechenie zubnymi pastami vospalitelno-degenerativnyh porazhenij mjagkih tkanej parodonta u krys [Treatment of inflammatory and degenerative damages of the smooth parodont tissue with tooth pastes in rats]. *Pediatr*, 6(2), 81-85. [in Russian].
- [3] Shabanov, P. D., & Mokrenko, E. V. (2015). Sostojanie oksidativnogo statusa krovi i tkanej pri vospalitelno-degenerativnyh porazhenijah mjagkih tkanej parodonta u krys posle primenenija zubnyh past i ih otdelnyh komponentov [The oxidative status of blood and tissues in inflammatory and degenerative damage to the smooth parodontium tissue in rats after using of tooth pastes and their separate components]. *Medical academic journal*, 15(2), 55-61. [in Russian].
- [4] Zhulev, E. N., Kochubejnik A. V., & Lapshin R. D. (2015). Jeksperimentalnoe modelirovanie vospalitelnyh zabolevanij parodonta [Experimental modeling of inflammatory periodontal diseases]. *Fundamental research*, 1, Part 4, 744-747. [in Russian].
- [5] Vyrmaskin, S. I., Fedorina, T. A., Trunin, D. A., & Kirillova, V. P. (2015). Morfologicheskaja harakteristika tkanej parodonta u bolnyh saharnym diabetom posle hirurgicheskogo lechenija s ispolzovaniem jerbievogo lazera [Morphological characteristics of periodontal tissues in patients suffering from diabetes after surgical treatment using erbium laser]. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 17(2), 284-287. [in Russian].
- [6] Votjakov, S. L., Mandra, Ju. V., Kiseleva, D. V., Grigorev, S. S., Ron, G. I., & Panfilov, P. E., et al. (2017). Mineralogicheskaja stomatologija kak mezhdisciplinarnaja oblast issledovanij: nekotorye itogi i perspektivy razvitiija [Mineralogical stomatology as an interdisciplinary research field: recent results and development prospects]. *Actual problems in dentistry*, 13(1), 3-16. [in Russian].
- [7] Krjuchkov, D. Ju., Romanenko, I. G., & Dzherelej, A. A. (2016). Lechenie generalizovannogo parodontita u bolnyh s metabolicheskim sindromom [Treatment of generalized periodontitis in patients with metabolic syndrome]. *Ulyanovsk Medico-biological Journal*, 2, 116-125. [in Russian].
- [8] Firsova, I. V., Starikova, I. V., Trigolos, N. N., Makedonova, Ju. A., Marymova, E. B., & Chaplieva E. M. (2015). Dinamika funkcionalnoj aktivnosti kletocznyh pokazatelej pri kompleksnom lechenii bolnyh hronicheskim generalizovannym parodontitom na fone metabolicheskogo sindroma [Dynamics of the functional activity of cellular parameters in comprehensive treatment of chronic generalized periodontitis accompanied by metabolic syndrome]. *Volgograd Journal of Medical Research*, 1, 50-52. [in Russian].
- [9] Korenevskaya, N. A. (2016). Biosovmestimost kompozicionnyh plombirovochnykh materialov [Biocompatibility of composite filling materials]. *Vestnik Of Vitebsk State Medical University*, 15(3), 7-17. [in Russian].
- [10] Grumezescu A. M. (2016). Nanobiomaterials in Dentistry: Applications of Nanobiomaterials. Elsevier, 11. doi: <https://doi.org/10.1016/C2015-0-00414-2>
- [11] Lamster, I., & Pagan, M. (2016). Periodontal disease and the metabolic syndrome. *International Dental Journal*, 67(2), 67-77. doi: 10.1111/idj.12264
- [12] Bullon, P., Jaramillo, R., Santos-Garcia, R., Rios-Santos, V., Ramirez, M., Fernandez-Palacin, A., & Fernandez-Riejos, P. (2014). Relation of periodontitis and metabolic syndrome with gestational glucose metabolism disorder. *Journal Of Periodontology*, 85(2), e1-e8. doi: 10.1902/jop.2013.130319
- [13] Rochester, J., & Bolden, A. (2015). Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives*, 123(7), 643-650. doi: 10.1289/ehp.1408989
- [14] Rajasärkkä, J., Koponen, J., Airaksinen, R., Kiviranta, H., & Virta, M. (2014). Monitoring bisphenol A and estrogenic chemicals in thermal paper with yeast-based bioreporter assay. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 406(23), 5695-5702. doi: 10.1007/s00216-014-7812-x
- [15] Rosenmai, A., Dybdahl, M., Pedersen, M., Alice van Vugt-Lussenburg, B., Wedebye, E., Taxvig, C., & Vinggaard, A. (2014). Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives?. *Toxicological Sciences*, 139(1), 35-47. doi: 10.1093/toxsci/kfu030