

УДК 616.314.17-008.1: 612 – 32

Дирик В.Т., Дирик О.-О.Т.

ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ У ТВАРИН З МОДЕЛЬОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ТА ІНГАЛЯЦІЙНОМУ НАВАНТАЖЕННІ ПЕСТИЦИДІВ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

У статті представлені зміни даних імунологічних показників у крові щурів з модельованим пародонтитом при пероральному та інгаляційному впливі пестицидів стосовно значень у інтактних щурів та у тварин з модельованим пародонтитом. Доведено, що у піддослідних щурів, за впливу пестицидів, імунологічний дисбаланс виражався у збільшенні вмісту лейкоцитів, IgA на тлі зменшення IgG у сироватці крові. Застосування запропонованого нами лікувально-профілактичного комплексу дозволяло суттєво покращити стан експериментальних тварин з модельованим пародонтитом при пероральному та інгаляційному впливі пестицидів.

Ключові слова: пародонтит, пестициди, лейкоцити, імуноглобуліни.

Дана робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології ФПДО Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького «Екологія та пародонт. Взаємозв'язок захворювань тканин пародонта з загальносоматичною патологією» № державної реєстрації 0215U000045.

Вступ

Захворювання пародонта займають одне з провідних місць у структурі стоматологічних захворювань і до сьогодні представляють складну медичну та соціальну проблему [2, 3, 5]. Розповсюдженість генералізованих захворювань пародонта, за даними українських дослідників, досягає від 60% до 95%, у залежності від віку, загального стану організму, регіону проживання та умов праці [2, 3]. Особливо високий рівень розповсюдженості захворювань тканин пародонта виявлений у робітників тепличних господарств. Так, у Львівській області частота захворювань пародонта складає 80–92%, а у робітників агропромислового комплексу 85–96% [2].

Імунопатогенез запальних і дистрофічно запальних захворювань пародонта реалізується завдяки факторам клітинної і гуморальної резистентності. Встановлено, що генералізований пародонтит являє собою патологічний процес, при якому спостерігаються як системні, так і місцеві порушення в імунних механізмах, та які посилюються за впливу негативних факторів довкілля [1, 4].

Мета дослідження

Дослідити стан окремих показників імунітету у тварин з експериментальним пародонтитом за впливу перорального та інгаляційного навантаження пестицидами.

Об'єкт і методи дослідження

Досліди проведено на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 160–180 г. Під час експерименту вони перебували на стандартному раціоні віварію. У процесі роботи використано 120 тварин.

Усі етапи експериментів затверджені Комісією з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького і виконані згідно з правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин та Міжнародними вимогами щодо гуманного поводження з тваринами відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовую-

ються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Усіх піддослідних тварин було поділено на 6 груп, кожна з яких містила по 20 щурів: I група – інтактні щурі (контрольна); II група – тварини з моделлю пародонтиту. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів, через день, вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) *E. Coli* («Sigma–Aldrich», США) [3]; III група – тварини з модельованим пародонтитом, яким щоденно протягом двох тижнів за допомогою перорального зонду вводили розчинений у олії хлорпірифос («Sigma–Aldrich», США) з розрахунку 5 мг/кг; IV група – тварини з модельованим пародонтитом, які знаходились у камері з інгаляційною подачею ХПФ з розрахунку 5мг/кг. Тривалість експерименту у III та IV групах становила 14 діб; V група – щурі з пародонтитом, з пероральною експозицією пестицидів, яким, починаючи з 15-ї доби експерименту щоденно, протягом 14-ти діб призначали лікувально-профілактичний комплекс (ЛПК); VI група – щурі з пародонтитом, що зазнавали інгаляційного впливу пестицидів, яким з 15-ї доби експерименту щоденно протягом 14 діб призначали ЛПК.

Кров для досліджень відбирали після припинення експериментальних кроків з хвостової вени щурів. Під час біохімічних та імунологічних досліджень використовували сироватку крові, яку отримували шляхом центрифугування крові при 600 оборотах протягом 30 хвилин при температурі 20° С.

У сироватці крові експериментальних тварин з'ясовували кількісний склад лейкоцитів, концентрації IgA та IgG. У щурів груп дослідження визначали загальну кількість лейкоцитів шляхом підрахунку клітин за допомогою світлового мікроскопу у камері Горяєва [1, 4]. Імуноглобуліни А, G у сироватці крові експериментальних тварин визначали методом радіальної імунодифузії [1, 6].

Лікувально-профілактичний комплекс для піддослідних тварин V та VI груп складався з місцевого та загального лікування. Місцеве лікування передбачало зрошення ротової порожнини експериментальних тварин 0,1% розчином хлоргексидину біглюконату впродовж 2-ох тижнів, а також аплікації на ясна «Solcoseryl-dental adhesive» один раз на добу впродовж 2-ох тижнів. В свою чергу, загальне лікування відбувалося шляхом введення у харчовий раціон препарату «Хлорела» (по 0,25 г на добу) та «Бурштинової кислоти» (по 0,5 г на добу) впродовж 2-ох тижнів; до питної води додавався 0,05% розчин лізоциму гідрохлориду по 0,3 мл протягом двох тижнів.

Для об'єктивної оцінки ступеня достовірності результатів дослідження проведена статистична обробка отриманих даних з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики за допомогою персонального комп'ютера Pentium II з застосуванням пакета статистичних програм «Statgraphic 2.3» і «Microsoft Excel 2000».

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті досліджень встановлено, що у щурів I групи (інтактні тварини) вміст лейкоцитів у крові дорівнював $7,43 \pm 0,29 \times 10^9/\text{л}$, що було у 1,8 рази нижче стосовно даних у тварин з модельованим пародонтитом (III група) – $13,08 \pm 0,27\% \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$. У піддослідних тварин з модельованим пародонтитом, що зазнавали перорального впливу пестицидів (III група), вміст лейкоцитів у крові зростав до $16,25 \pm 0,29 \times 10^9/\text{л}$ та до $19,41 \pm 0,28 \times 10^9/\text{л}$ у IV групі (інгаляційний вплив пестицидів), $p < 0,01$; $p_1 < 0,01$. Слід зауважити, що у щурів IV групи вміст лейкоцитів був у 1,2 рази вище, ніж у тварин III експериментальної групи, $p_2 < 0,01$.

Вміст IgA у крові інтактних щурів I групи дорівнював $1,18 \pm 0,02$ г/л та збільшувався до

$1,43 \pm 0,06$ г/л у щурів з модельованим пародонтитом II групи, $p < 0,01$. У щурів III експериментальної групи вміст IgA у крові становив $1,94 \pm 0,04$ г/л, що було на 64,40% вище, ніж у тварин I групи, $p < 0,01$ та на 35,66% перевищував значення у II групі щурів, $p_1 < 0,01$. У піддослідних тварин IV групи вміст IgA у крові був максимальним ($2,15 \pm 0,04$ г/л) та перевищував дані у I та II групі щурів на 82,20% та на 50,34%, $p < 0,01$; $p_1 < 0,01$, відповідно. У тварин IV групи вміст IgA був на 10,82% вище, ніж у піддослідних тварин III групи, $p_2 < 0,01$.

У результаті досліджень встановлено, що у інтактних щурів I групи концентрація IgG у крові була мінімальною та складала $3,20 \pm 0,06$ г/л. У тварин з модельованим пародонтитом вміст IgG у крові дорівнював $3,91 \pm 0,05$ г/л, що було на 22,18% вище, ніж у тварин I групи, $p < 0,01$. У піддослідних тварин III групи вміст IgG у крові збільшувався до $4,12 \pm 0,03$ г/л, що було на 28,75% та на 5,37% вище, ніж у тварин I та II експериментальних груп, $p < 0,01$; $p_1 < 0,01$. Звертало увагу, що у тварин IV групи концентрація IgG у крові була максимальною ($4,41 \pm 0,04$ г/л) та перевищувала дані у інтактних тварин на 37,81% та була на 7,03% вище, ніж у щурів II групи, $p < 0,01$, $p_1 < 0,01$. У той же час, у щурів IV групи вміст IgG був на 7,03% вище, ніж у піддослідних щурів III групи, $p_2 < 0,01$.

Застосування лікувально-профілактичного комплексу призвело до зниження кількісного складу лейкоцитів ($8,13 \pm 0,27 \times 10^9/\text{л}$) у V групі піддослідних тварин (рис. 1). Однак, отримані дані на 9,42% перевищували значення у тварин I групи, $p < 0,01$, але були на 37,85% нижче, ніж у тварин з модельованим пародонтитом II групи, $p_1 < 0,01$.

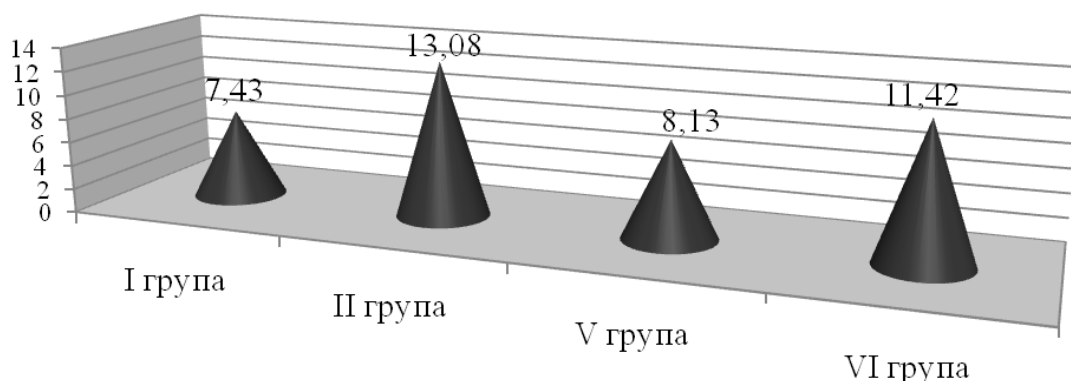


Рис. 1. Вміст лейкоцитів у сироватці крові експериментальних щурів у результаті застосування ЛПКе.

У експериментальних тварин VI групи досліджували зниження кількості лейкоцитів у крові до $11,42 \pm 0,28 \times 10^9/\text{л}$. При цьому, отримані дані були на 53,70% нижче, ніж у інтактних тварин I групи, $p < 0,01$, але на 12,70% менше, ніж у щурів II групи з модельованим пародонтитом, $p_1 < 0,01$.

У результаті застосування ЛПК, у тварин V гру-

пи рівень IgA у сироватці крові становив $1,23 \pm 0,05$ г/л, що було на 13,99% нижче, ніж у щурів II групи з модельованим пародонтитом, $p_1 < 0,05$, однак залишалось на 4,23% вище стосовно значень у інтактних тварин I групи, $p > 0,05$. Рівень IgG у піддослідних тварин V групи знижувався до $3,36 \pm 0,04$ г/л та був на 14,07% менше, ніж у щурів II групи,

$p_1 < 0,01$, але на 5,0% вище стосовно значень у інтактних тварин I групи, $p > 0,05$.

У тварин VI групи, в результаті застосування ЛПК, рівень IgG становив $3,40 \pm 0,03$ г/л, що було на 13,08% нижче стосовно даних у щурів з модельованим пародонтитом II групи, $p_1 < 0,05$, але на 6,25% вище стосовно даних у інтактних тварин I групи, $p < 0,05$. Після застосування ЛПК, рі-

вень IgA у сироватці крові експериментальних тварин VI групи знизився до $1,47 \pm 0,03$ г/л, а отримані значення були на 24,57% вище, ніж у інтактних тварин I групи, $p < 0,01$ та дорівнювали даним у щурів з модельованим пародонтитом II групи, $p_1 > 0,05$ (рис. 2).

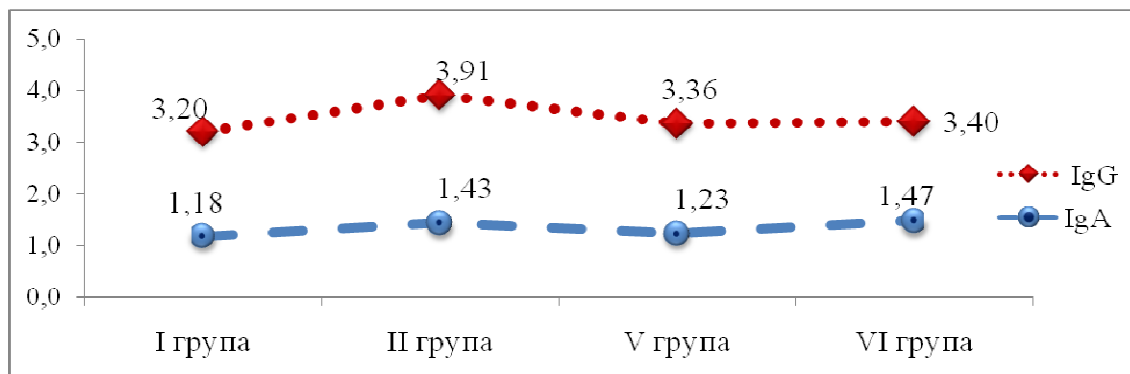


Рис. 2. Концентрація IgA, IgG у сироватці крові експериментальних тварин у результаті застосування ЛПК.

Висновки

Таким чином, застосування опрацьованого лікувально-профілактичного комплексу, на нашу думку, викликало більш виражений позитивний ефект у тварин V експериментальної групи, де пародонтопатогенні явища комбінувались з пероральним впливом пестицидів, що підтверджувалось покращенням імунологічного статусу, у порівнянні з даними у тварин II групи з модельованим пародонтитом та незначно відрізнялись від даних у інтактних щурів. У тварин з модельованим пародонтитом, які зазнавали інгаляційного впливу пестицидів (VI група), значення імунологічних показників дорівнювали даним у щурів з модельованим пародонтитом та не досягли референтних значень, що, ймовірно, потребує додаткових корегуючих заходів.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчити динаміку показників загального та місцевого імунітету у працівників агропромислових підприємств, хворих на генералізований пародонтит, що працюють в умовах відкритого та закритого ґрунтів за впливу пестицидів.

Реферат

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ У ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОЙ И ИНГАЛЯЦИОННОЙ НАГРУЗКЕ ПЕСТИЦИДОВ

Дырык В. Т., Дырык О.-О.Т.

Ключевые слова: пародонтит, пестициды, лейкоциты, иммуноглобулины.

В статье представлены изменения данных иммунологических показателей в крови крыс с моделированным пародонтитом при пероральном и ингаляционном воздействии пестицидов относительно значений у интактных крыс и у животных с моделированным пародонтитом. Доказано, что у подопытных крыс, из-за влияния пестицидов иммунологический дисбаланс выражался в увеличении содержания лейкоцитов, IgA на фоне уменьшения IgG в сыворотке крови. Применение предложенного нами лечебно-профилактического комплекса позволяло существенно улучшить состояние экспериментальных животных с моделированным пародонтитом при пероральном и ингаляционном воздействии пестицидов.

Література

1. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология: Учебное пособие / Г. Н. Дранник. – Одесса : Астропринт, 1999. – 604 с.
2. Заболотний Т. Д. Генералізований пародонтит / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко. – Львів : ГалДент, 2011. – 240 с.
3. Левицкий А. П. Гепато-оральный синдром / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко. – Симферополь, 2012. – 140 с.
4. Сукманский О. И. Метод дифференциальной оценки эмиграции лейкоцитов в полость рта / О. И. Сукманский, Р. Д. Барабаш, С. Я. Клебанская // Патолог. физиол. и эксперим. терапия. – 1980. – № 5. – С. 76–77.
5. Пудяк В. Є. Імунологічні аспекти хвороб пародонта та внутрішніх органів / В. Є. Пудяк, Ю. Л. Бандрівський, Н. Н. Бандрівська // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 2. – С. 41–44.
6. Manchini G. M. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. M. Manchini, A. O. Garbonara // Immunochemistry. – 1965. – Vol. 6. – P. 234–235.

References

1. Drannik G. N. Klinicheskaja immunologija i allergologija: Uchebnoe posobie / G. N. Drannik. – Odessa : Astroprint, 1999. – 604 s.
2. Zabolotnij T. D. Generalizovaniy parodontit / T. D. Zabolotnij, A. V. Borisenko. – L'viv : GalDent, 2011. – 240 s.
3. Levickij A. P. Gepato-oral'nyj sindrom / A. P. Levickij, S. A. Dem'janenko. – Simferopol', 2012. – 140 s.
4. Sukmanskij O. I. Metod differencial'noj ocenki jemigracii lejkcocitov v polost' rta / O. I. Sukmanskij, R. D. Barabash, S. Ja. Klebanskaja // Patolog. fiziol. i jeksperim. terapija. – 1980. – № 5. – S. 76–77.
5. Pudjak V. Є. Imunologichni aspekti hvorob parodonta ta vnutrishnih organiv / V. Є. Pudjak, Ju. L. Bandrivs'kij, N. N. Bandrivs'ka // Visnik naukovih doslidzhen'. – 2011. – № 2. – S. 41–44.
6. Manchini G. M. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. M. Manchini, A. O. Garbonara // Immunochemistry. – 1965. – Vol. 6. – P. 234–235.

Summary

DYNAMICS OF IMMUNOLOGICAL INDICATORS AND WAYS OF THEIR CORRECTION IN ANIMALS WITH SIMULATED PERIODONTITIS BY ORAL AND INHALATION LOAD WITH PESTICIDES

Dyryk V. T., Dyryk O.-O. T.

Key words: periodontitis, pesticides, leukocytes, immunoglobulins.

People working in greenhouses demonstrate especially high prevalence of periodontal diseases. In Lviv region the frequency of periodontal diseases reaches up to 80–92%, and is particularly higher in workers of agroindustrial enterprises running up to 85–96%.

The immunological pathogenesis of the inflammatory and dystrophic-inflammatory periodontal diseases is triggered by the factors of cellular and humoral resistance. It has been established that generalized periodontitis is a pathological process resulted from both systemic and local impairment of immune mechanisms that in turn increases the influence of negative environmental factors.

The purpose of this work was to investigate the state of some indices of immunity in animals with experimental periodontitis under the influence of peroral and inhalation loading with pesticides.

Materials and methods. The experiments were conducted on white outbred rats-males weighing 160–180 g. During the experiment they were kept on the standard ration of vivarium. The study involved 120 animals. All animals were divided into 6 groups. All stages of the experiments were approved by the Bioethics Commission of Danylo Halytskyi Lviv National Medical University and carried out in accordance with the rules of the humane attitude to the experimental animals and International standards on the humane treatment of animals in accordance with the European Convention for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes (Strasbourg, 2005).

All experimental animals were divided into 6 groups, 20 rats in each of them. We evaluated white blood count of the experimental animals and IgA and IgG concentrations.

The treatment and preventive complex designed for the experimental animals of V and VI groups consisted of local and general treatment. The local treatment included irrigation of the oral cavity with 0.1% solution of chlorhexidine digluconate for 2 weeks, and gum appliques of "Solcoseryl–dental adhesive" once a day for 2 weeks. In turn, the general treatment included the administration of the diet supplement "Chlorella" (0.25 g per day) and "Succinic acid" (0.5 g per day) for 2 weeks; 0.05% solution of lysozyme hydrochloride in 0.3 ml for 2 weeks was added into drinking water.

To estimate the degree of reliability of our results the statistical processing of the findings obtained was conducted with methods of variation statistics.

Results and their discussion. The use of therapeutic and preventive complex (TPC) resulted in the decrease of quantitative content of leukocytes ($8.13 \pm 0.27 \times 10^9/l$) in the experimental animals of V. However, the obtained data by 9.42% exceeded the value in animals of I group, $p < 0.01$, but was by 37.85% lower than in animals with simulated periodontitis of II group, $p_1 < 0,01$.

The experimental animals of VI group demonstrated the decrease of leukocytes in the blood to $11.42 \pm 0.28 \times 10^9/l$. In this case, the obtained data were lower by 53,70% than in the intact animals of I group, $p < 0.01$, but by 12.70% less than in rats with simulated periodontitis of II group, $p_1 < 0,01$.

As a result of the use of therapeutic and preventive complex, the animals of V group, the level of IgA in the blood was 1.23 ± 0.05 g/l, which was by 13.99% lower than in rats with simulated periodontitis of II group, $p_1 < 0,05$, still remaining by 4.23% higher relative to the values in intact animals of I group, $p > 0.05$. The level of IgG in the experimental animals of V group decreased to 3.36 ± 0.04 g/l and was by 14.07% less than in rats of II group, $p_1 < 0.01$, but was by 5.0% higher compared to the values in the intact animals of I group, $p > 0.05$.

In animals of VI group, as a result of the use of TPC, the level of IgG amounted 3.40 ± 0.03 g/l, which was by 13.08% lower relative to the data in rats with simulated periodontitis of II group, $p_1 < 0,05$, but by 6.25% higher compared to the data in intact animals of I group, $p < 0.05$. After the use of TPC, the level of IgA in the serum of the animals of VI group decreased to 1.47 ± 0.03 g/l, and the obtained values were by 24.57% higher than in the intact animals of I group, $p < 0.01$ and were equal to the indices in rats with simulated periodontitis of II group, $p_1 > 0.05$.

Conclusions. Thus, the use of the treatment and preventive complex we designed can lead to more pronounced positive effect in the animals of V experimental group, where periodontopathogenic phenomena were combined with oral influence of pesticides. This was confirmed by the improvement of immunological status and compared with the data in the animals of II group with simulated periodontitis and was not significantly different from data in the intact rats. In the animals with simulated periodontitis subjected to inhalation influence of pesticides (VI group), the values of immunological parameters equal data in the rats with simulated periodontitis and do not reached the reference values that, probably, requires additional corrective measures.