

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.311.2-002-07:616.155.3-07]-092:612.014.46

Е.В. Безвужко, Н.В. Малко, Л.Є. Лаповець

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІНГІВІТІ, ВИКЛИКАНІ КОМБІНОВАНОЮ ДІЄЮ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І ДЕФІЦИТОМ ФТОРУ ТА ЙОДУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Запальні захворювання пародонта - найпоширеніша патологія в дитячій стоматології [2,8]. Так, за даними літератури, рівень захворюваності дітей на хронічний катаральний гінгівіт в Україні за останні роки достовірно підвищився. Помітне місце займають праці дослідників, присвячені вивченню впливу на захворювання тканин пародонта кліматогеографічних умов, низки соціально-економічних факторів, які охоплюють дію макро- і мікроелементів, солей важких металів, що потрапляють у організм дитини з водою, повітрям та їжею [5,6,8]. Водночас у науковій літературі широко обговорюється питання дефіциту окремих мікроелементів (йод, фтор, селен, залізо) в дитячому організмі та вивчаються багатогранні патогенетичні зміни в макроорганізмі, викликані дефіцитом есенційних мікроелементів [3,4,6,9].

Відомо, що 70 % токсичних речовин потрапляють у організм людини з навколишнього середовища. Тому для багатьох із них установлені гранично допустимі концентрації (ГДК), за незначного підвищення яких дитячий організм може відчувати високе ксенобіотичне навантаження зі шкідливими наслідками [2,4,6,9].

Ураховуючи патоімунні механізми формування запального процесу в пародонті, виникає необхідність поглибленого вивчення патогенезу захворювань пародонта. У розвитку запальної реакції важливим компонентом є елімінація некротичних мас, що мають усі ознаки антигенності та забезпечення процесу ремоделювання. Контроль за реалізацією цих процесів здійснює імунна система. Одними з ініціаторів такого реагування організму є макрофаги, які належать до облігатних антигенпрезентуючих клітин. Стимуляція в цих умовах імунної відповіді сприяє синтезу антитіл, активації системи комплементу, утворенню імунних комплексів із подальшим їх руйнуванням, що є важливим механізмом збереження гомеостазу [7,10,11].

Тому вивчення комбінованого впливу окремих ксенобіотиків, а також дефіциту йоду та фтору на виникнення захворювань пародонта в дітей та розробка нових схем корекції цих процесів нині актуальні та недостатньо вивчені.

Мета дослідження: оцінка імунологічних змін у крові тварин при гінгівіті за впливу комбінованої дії важких металів та дефіциту йоду і фтору.

Матеріал і методи дослідження

Експериментальний гінгівіт у щурів моделювали шляхом переведення тварин у віці 30 ± 5 діб на перекисну модель гінгівіту [12], додаючи до звичайного раціону переокиснену соняшникову олію дозою 1 мл на тварину впродовж 3-х тижнів [2]. Усього в експерименті використовували 80 щурів лінії Вістар стадного розведення, з середньою масою 54 ± 5 г, самок і самців порівну. Залежно від моделювання антропогенних умов середовища тварини були поділені на IV групи:

I група (контрольна) – 20 інтактних щурів, яких утримували на звичайній дієті віварію;

II група – 20 тварин із модельованим гінгівітом;

III група – 20 щурів – перекисна модель гінгівіту з додаванням до води солей важких металів з урахуванням їхньої молекулярної маси ($CdCl_2=0,010$ мг/л; $Pb(NO_3)_2=0,36$ мг/л) [11];

IV група – 20 щурів – перекисна модель гінгівіту + солі важких металів + дефіцит йоду + дефіцит фтору. Дефіцит йоду в організмі щурів викликався додаванням до води мерказоліну з розрахунку 50 мг/кг маси тіла на добу впродовж 3-х тижнів [11].

Дефіцит фтору моделювали шляхом утримання тварин на низькокалорійній дієті з виключенням продуктів, що містять багато фтору.

Забій та збір крові проводили під ефірним наркозом через 21 добу після початку експерименту. У сироватці крові визначали вміст IgG, IgA, IgM та прозапальних цитокінів II-1 β , II-6, ФНП- α імуноферментним методом із використанням аналізатора

«Stat Fax» (USA). Загальну кількість лейкоцитів у периферичній крові з'ясували за загальноприйнятою методикою [7,10].

Дослідження проводили із дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001). Отримані результати опрацьовані статистично.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз табл. 1 показав, що вміст лейкоцитів у периферичній крові інтактних щурів складав $(7,40 \pm 0,29) \cdot 10^9/n$, що було на 78,92 % менше відносно даних тварин II групи з модельованим гінгівітом $(13,24 \pm 0,28) \cdot 10^9/n$, $p < 0,01$. Уміст лейкоцитів у крові щурів III групи з гінгівітом, які зазнавали впливу важких металів $(18,46 \pm 1,18) \cdot 10^9/n$, був на 149,46 % та на 39,42 % вище відносно даних тварин I та II груп відповідно ($p, p_1 < 0,01$). У IV групі тварин, де на фоні гінгівіту щурі перебували під дією важких металів та дефіциту йоду і фтору, вміст лейкоцитів у крові був на 235,0 % та на

87,23 % вище відносно відповідних значень у щурів I та II груп ($p, p_1 < 0,01$).

У тварин II групи (модельований гінгівіт) визначали підвищення вмісту імуноглобулінів у сироватці крові відносно даних у щурів I групи (інтактні): по IgG – на 270,53 %, IgA – на 112,19 % та IgM – на 214,45 % ($p < 0,01$).

У тварин III групи виявляли підвищення рівнів IgG – на 282,14 %, IgA – на 129,26 % та IgM – на 283,13 % відносно значень у щурів I групи ($p < 0,01$) та підвищення вмісту IgG – на 3,13 % ($p_1 > 0,05$), IgA – на 8,04 % ($p_1 > 0,05$) та IgM – на 21,83 % ($p_1 < 0,01$) відносно даних у тварин II групи.

У тварин IV групи досліджували подальше зростання рівнів аналізованих імуноглобулінів відносно даних I групи: по IgG – на 308,92 % ($p_1 < 0,05$), IgA – на 182,92 % та IgM – на 295,18 % ($p < 0,01$). Отримані значення вмісту імуноглобулінів у сироватці крові у щурів IV групи були по IgG – на 10,36 % ($p_1 < 0,05$), IgA – на 33,33 % ($p_1 < 0,05$) та по IgM – на 23,37 % ($p_1 < 0,01$) більше відносно відповідних значень у щурів II групи.

Таблиця 1
Показники імунологічного статусу в сироватці крові тварин груп дослідження

Групи дослідження	Лейкоцити, $10^9/n$	IgG, г/л	IgA, г/л	IgM, г/л	IL-6 пг/мл	ФНП-α пг/мл	IL-1β пг/мл
I група (інтактні тварини)	$7,40 \pm 0,29$	$1,12 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,01$	$0,83 \pm 0,02$	$10,55 \pm 0,18$	$10,60 \pm 0,44$	$5,88 \pm 0,46$
II група (модель гінгівіту)	$13,24 \pm 0,28$ $p < 0,01$	$4,15 \pm 0,29$ $p < 0,01$	$0,87 \pm 0,03$ $p < 0,01$	$2,61 \pm 0,17$ $p < 0,01$	$12,17 \pm 0,13$ $p < 0,01$	$12,52 \pm 0,24$ $p < 0,01$	$6,29 \pm 0,41$ $p > 0,05$
III група (модель гінгівіту+солі важких металів)	$18,46 \pm 1,18$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$4,28 \pm 0,31$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	$0,94 \pm 0,04$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	$3,18 \pm 0,19$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$13,54 \pm 0,24$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$12,98 \pm 0,23$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	$6,84 \pm 0,36$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$
IV група (модель гінгівіту+солі важких металів+ йододефіцит+ фтородефіцит)	$24,79 \pm 1,26$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$4,58 \pm 0,21$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$1,16 \pm 0,03$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$3,28 \pm 0,18$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$15,24 \pm 0,24$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$16,26 \pm 0,52$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$9,85 \pm 0,31$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примітка: p – достовірна різниця значень відносно даних I групи (інтактні тварини)
 p_1 – достовірна різниця значень відносно даних II групи (модель гінгівіту)

Аналіз умісту цитокінів у сироватці крові експериментальних тварин показав, що в групі щурів із модельованим гінгівітом (II група) вміст прозапальних цитокінів був вищим відносно даних у групі інтактних щурів (I група): по IL-6 – на 15,36 % ($p < 0,01$), по ФНП-α – на 18,11 % ($p < 0,01$) та по IL-1β – на 6,97 % ($p < 0,05$). У щурів III групи, де модельований гінгівіт комбінувався із впливом важких металів, вміст у крові IL-6 був на 28,34 %, ФНП-α – на 22,45 % та по IL-1β – на 16,32 % вище відповідних значень у I групі ($p < 0,01$) та перевищував аналогічні дані у тварин II групи: по IL-6 – на 11,26 % ($p_1 < 0,01$), по ФНП-α – на 3,67 % ($p_1 > 0,05$) та по IL-1β – на 8,74 % ($p_1 > 0,05$). У IV групі, де на тлі гінгівіту експериментальні тварини зазнавали впливу солей важких металів та дефіциту йоду і фтору, виявляли зростання вмісту IL-6

– на 44,45 % ($p < 0,01$) та на 25,23 % ($p_1 < 0,01$), ФНП-α – на 53,39 % ($p < 0,01$) та на 25,22 % ($p_1 < 0,01$), IL-1β – на 67,51 % ($p < 0,01$) та на 56,59 % ($p_1 < 0,01$) відносно значень I та II групи щурів відповідно.

Висновки

За результатами проведених досліджень установлено, що мінімальні імунологічні зміни, за даними аналізованих показників, відбулися в II групі тварин із модельованим гінгівітом, а максимальні – в IV групі, де експериментально моделювали гінгівіт із комбінованою дією антропогенних факторів, що підкреслює значимість ксенобіотиків у поєднанні з дефіцитом есенційних мікроелементів у інтенсифікації запального процесу в організмі тварин.

Перспективи подальших досліджень

Розробити лікувально-профілактичний комплекс для корекції імунологічного стану тварин із модельованим гінгівітом на тлі несприятливих чинників довкілля для корекції імунологічного стану в експерименті.

Література

1. Виноградов В.М. Фармакологія с рецептурой. – 5-е изд., испр. / В.М. Виноградов, Е.Б. Каткова, Е.А. Мухин. - СПб.: Спецлит, 2009. – 864 с.
2. Савичук О. В. Клінічна ефективність комплексної профілактики карієсу і гінгівіту у дитячого населення екологічно несприятливих регіонів / О. В. Савичук, Ю. П. Немирович, І. М. Голубева // Новини стоматології. – 2007. – № 3. – С. 82-84.
3. Комар В.М. Стан здоров'я, фізичний та нервово-психічний розвиток дітей, що мешкають у регіоні з підвищеним вмістом фтору у питній воді: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.21 «Стоматологія» / Комар В.М. – К., 2008. – 29 с.
4. Крюченко Н.О. Наличие фтора в подземных водах Украины и заболевания, связанные с ним / Н.О. Крюченко // Пошукова та екологічна геохімія. – 2001. – № 1. – С. 9-13.
5. Леус П.О. Пілотний проект: Оптимізація системи стоматологічної допомоги дитячому населенню / П.О. Леус // Вісник стоматології. – 2010. – №2. – С. 141-146.
6. Лозовий М.П. Результати моніторингу вивчення впливу стану атмосферного повітря на здоров'я дитячого населення / М.П. Лозовий, А.В. Нікітіна, Л.І. Кузьменко // Науковий вісник НМУ ім. О.О. Богомольця. – 2010. – № 27. – С. 143-145.
7. Посібник з лабораторної імунології / [Л.Є.Лаповець, Б.Д. Луцик, В.М. Акімова та ін.]. – Львів, 2014. – 300 с.
8. Остапко О.І. Вплив чинників довкілля на рівень стоматологічного здоров'я дітей України / О.І. Остапко // Науковий вісник НМУ ім. О.О. Богомольця. – 2007. – С. 162-164.
9. Петровська М. Здоров'я населення Львівської області як результат реакції на зміни природного середовища / М. Петровська // Вісник Львівського ун-ту. Серія геогр. - 2011. - Вип. 39. – С. 267-277.
10. Хаитов Р.М. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей; под. ред. Р.М. Хаитова. – М.: Медпрессинформ, 2002. – 624 с.
11. Яковлев М.Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных / М.Ю. Яковлев // Успехи современной биохимии. – 2003. - №1. – С. 31-40.
12. Экспериментальные методы воспроизведения гингивита: метод. реком. / [А.П. Левицкий, О.В. Деньга, О.А. Макаренко и др.]. – Одесса, 2013. - С. 14.
13. World Health Organization. Oral Health Surveys Methods.- 5th Ed. – WHO Yeneva, 2013.

Стаття надійшла
22.05.2014 р.

Резюме

Дослідження сироватки крові щурів дозволило встановити, що при інтоксикації організму токсичними речовинами, а також при дефіциті йоду та фтору підвищується вміст імуноглобулінів і прозапальних цитокінів у сироватці крові тварин. Причому ступінь збільшення аналізованих параметрів зазнавав інтенсивніших змін не тільки за наявності гінгівіту в експериментальних тварин, а і виразно підвищувався за комбінованого впливу солей важких металів, а також при йодо- і фтородефіциті.

Ключові слова: гінгівіт, щурі, сироватка крові, токсичні фактори.

Резюме

Исследование сыворотки крови крыс позволило установить, что при поступлении токсических веществ в организм, а также на фоне дефицита йода и фтора повышается уровень иммуноглобулинов и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови животных. Причем степень увеличения анализируемых параметров испытывала более интенсивные изменения не только при наличии гингивита у экспериментальных животных, но и отчетливо возрастала при комбинированном воздействии солей тяжелых металлов, а также при йодо- и фтородефиците.

Ключевые слова: гингивит, крысы, сыворотка крови, токсические факторы.

UDC 616.311.2-002-07:616.155.3-07]-092:612.014.46

E.V. Bezbushko, N.V. Malko, L.E. Lapovets'

CHANGES OF INDEXES OF IMMUNE SYSTEM OF RATS AT EXPERIMENTAL GINGIVITIS, WHICH ARE CAUSED BY COMBINED ACTION OF HEAVY METALS AND FLUORIDE AND IODINE DEFICIENCY

Danylo Halytskyi Lviv national medical university

Summary

It is known that 70 % of toxic substances enter the human body from the environment. Therefore, for a significant part of them there are maximum possible concentrations (MPC), with a slight increase which the child's body may experience high xenobiotics and result of negative consequences.

Therefore, the study of the combined effect of some xenobiotics and iodine deficiency and fluoride on the occurrence of parodontium disease in children and the development of new schemes correction for correcting these processes, today are relevant and not enough studied.

The aim of the study is to evaluate the immunological changes in blood of animals with gingivitis under the influence of the combined action of heavy metals and fluorine and iodine deficiency.

Materials and methods. Experimental gingivitis in rats was designed by a translation of animals aged 30±5 days on the model of peroxide of gingivitis with adding to the ordinary ration peroxidate sunflower oil in a dose of 1 ml per animal for three weeks. During experiment it was used 80 rats of Wistar line of breeding herd, with an average weight of 54±5g, males and females equally.

Depending on the modeling of anthropogenic of environmental conditions, the animals were divided into four groups:

I group (control) - 20 intact rats, which were kept on a regular diet of the vivarium;

II group – 20 animals with simulated gingivitis;

III group – 20 rats- the model of peroxide of gingivitis with adding to water heavy metals salts based on their molecular weight ($\text{CdCl}_2=0.010$ mg/l; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2= 0.36$ mg/l);

IV group – 20 rats - the model of peroxide of gingivitis+ heavy metals salts+ iodine deficiency + fluorine deficiency. The deficiency of iodine in rats was caused by adding merkazolol to water, at the rate of 50 mg/kg body weight per day for three weeks.

Results of research and their discussion. The content of leukocytes in the peripheral blood of intact rats was $(7.40\pm 0.29) \cdot 10^9/l$, that was on 78.92 % less relative to the data of animals II group with simulated gingivitis ($(13.24\pm 0.28) \cdot 10^9/l$, $p<0.01$). The content of leukocytes in the blood of rats from III group with gingivitis, which were exposed to heavy metals $(18.46\pm 1.18) \cdot 10^9/l$, was on 149.46 % and 39.42 % higher relative to the data of animals in groups I and II, respectively ($p, p_1<0.01$). In IV group of animals against the background of gingivitis, rats were under the influence of heavy metals and iodine and fluorine deficiency, content of leukocytes in the blood was on 235.0 % and 87.23 % higher relative to the corresponding values in rats I and II groups ($p, p_1<0.01$).

The animals of II group (simulated gingivitis) were determined by the increase of concentration of immunoproteins in the serum, in relation to data in rats of I group (intact): IgG - on 270.53 %, IgA - on 112.19 % and IgM - on 214.45 % ($p<0.01$).

The animals of III group were determined the increased levels of IgG - on 282.14 %, IgA - on 129.26 % and IgM - on 283.13 % relative to the values in rats from I group ($p<0.01$) and increase of the content of IgG – on 3.13 % ($p_1>0.05$), IgA – on 8.04 % ($p_1>0.05$) and IgM - on 21.83 % ($p_1<0.01$) in relation to data in animals of II group.

The animals of IV group were explored further increase of levels analtube of immunoproteins in relation to data I group: IgG - on 308.92 % ($p_1<0.05$), IgA - on 182.92 % and IgM - on 295.18 % ($p<0.01$).

The obtained values of the content of immunoproteins in the serum of rats in iv group were for IgG – on 10.36 % ($p_1<0.05$), IgA – on 33.33 % ($p_1<0.05$) and IgM - on 23.37 % ($p_1<0.01$) greater relative to the corresponding values in rats in II group.

Conclusions. In result of studies it is established that the minimum of immunological changes according to analtube indicators was noted in group II of animals with simulated gingivitis, and the maximum - in group IV, where experimentally simulated gingivitis with the combined action of anthropogenic factors that, in turn, emphasizes the importance of xenobiotics, combined with deficiency of essential microelements, to intensify inflammatory process in the organism of animals.

Key words: gingivitis, rats, blood serum, toxic factors.