

Modern Science

Moderní věda

№ 4 - 2016

scientific journal

vědecký časopis

Prague Praha

MODERN SCIENCE - MODERNÍ VĚDA

№ 4 - 2016

Incorporated in
Czech Republic
MK ČR E 21453
published bimonthly
signed for publication on the 27th of October 2016

Evidenční číslo
Česká republika
MK ČR E 21453
Vychází šestkrát do roka
Podepsáno k tisku 27. října 2016

Founder
Nemoros
Main office: Rubna 716/24
110 00, Prague 1, Czech Republic

Zakladatel
Nemoros
Hlavní kancelář: Rybná 716/24
110 00, Praha 1, Česká republika

Publisher
Nemoros
Main office: Rubna 716/24
110 00, Prague 1, Czech Republic

Vydavatel
Nemoros
Hlavní kancelář: Rybná 716/24
110 00, Praha 1, Česká republika

*The East European Center
of Fundamental Researchers
Rubna 716/24
110 00, Prague 1, Czech Republic*

*Východoevropské centrum
základního výzkumu
Rybná 716/24
110 00, Praha 1, Česká republika*

Address of release
Modern Science
Rubna 716/24 , 110 00, Praha 1
Czech Republic

Adresa redakce
Moderní věda
Rybná 716/24, 110 00, Praha 1
Česká republika

Editorial Board / Redakční rada

Dr. Iryna Ignatieva, Ph.D Diana Kucherenko, Roman Rossi

Editorial Council / Redakce

*Dr. Oleksii Hudzynskyi, Dr. Halina Aliakhnovich, Ph.D Angelina Gudkova,
Dr. Iryna Ignatieva, Ph.D Diana Kucherenko, Dr. Natalia Yakovenko,
Dr. Oleksandr Makarenko , Dr. Natalia Mamontova, Ph.D Nataliya Chahrak,
Dr. Nataliya Demyanenko, Ph.D Nataliia Ivanova, Dr. Yuriy Chernomorets*

Chief-editor / Vedoucí redaktor

Dr. Iryna Ignatieva

© Modern Science — Moderní věda. — Praha. — Česká republika, Nemoros. — 2016. — № 4.
ISSN 2336-498X

Chahrak Nataliya. Education in late life as the component of social adaptation of older adults: European and American experience 98

Medicine and physiology

Аксинорская Ольга, Дмитриева Наталия, Розуменко Марина. Роль микробного фактора в развитии верхушечного периодонтита (обзор литературы) 107

Варжапетян Сурен. Ультразвуковая характеристика медикаментозной формы ятрогенного верхнечелюстного синусита 113

Varytska Hanna, Lytvynenko Nataliia, Zaikov Sergii. The effect of time to start of treatment on treatment outcomes for patients with multidrug resistant tuberculosis depending on diagnostic methods (Xpert MTB/RIF or phenotypic methods)..... 121

Дрогомирецкая Мирослава, Ахмад Салех Халяф Салама, Белоус Марина. Выявление факторов риска формирования миофункциональных нарушений у детей 3–6 лет 129

Ковач Илона, Кравченко Лариса. Динамика изменений микробиоценоза полости рта у детей с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом после применения озонотерапии..... 135

Polischuk Serhey. experimental study the effect of kvvertulin on the processes of healing of traumatic injuries of mandible of rats on the background of dysfunction of hepatobiliary tract..... 141

Савельева Наталья. Роль факторов клеточного иммунитета в развитии хронического генерализованного пародонтита I–II степени тяжести у лиц с паразитарной инвазией 149

Ковач Илона, Хотимская Юлия, Гаспарян Оганез. Особенности микробного пейзажа полости рта у детей с острыми формами лейкемии..... 156

Philology and linguistics

Rubinska Bronislava. The choice and organization of the materials into communicative minimum for textbooks for students of non-humanities profile... 164

**РОЛЬ ФАКТОРОВ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА
В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО
ПАРОДОНТИТА I-II СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ
У ЛИЦ С ПАРАЗИТАРНОЙ ИНВАЗИЕЙ**

Наталья Савельева,

кандидат медицинских наук,

Харьковский национальный медицинский университет

Savel'eva N. Implication of the cellular immunity in the development of chronic generalized periodontitis of I-II severity in persons with parasitic invasion.

Annotation. The objective of this study was investigation of the cellular immune responses role in CGP of I-II severity pathogenesis in people with enterobiasis, toxocariasis and giardiasis.

The T-cell antigen sensitization periodontal tissue status was estimated by migration index (MI) of the leukocyte migration inhibition reaction (LMIR) and cytokine complex production by lymphocytes *in vitro*, which determines delayed-type hypersensitivity (DTH). All patients under the study undertook were divided into groups. The main group included 349 patients with CGP of I-II severity on the background of parasitic infestations, of which 62 patients with CGP of I severity and 64 patients with CGP of II stage, enterobiasis gravity on the background; 60 patients with CGP I severity and 60 patients with II stage on the background of toxocariasis and 48 patients suffering from CGP of I severity and 55 patients who had CGP II severity against the backdrop of giardiasis. A control group included 90 patients with CGP of I-II stage without parasitic invasion. The control group formed by 30 patients without periodontal disease and other organs and systems chronic diseases who were considered relatively healthy along the survey period.

Keywords: chronic generalized periodontitis, parasitic invasions, cellular immunity, migration index (MI), lymphocyte migration inhibition reaction (LMIR), cytokines.

Введение. Неослабевающий интерес ученых к проблеме заболеваний пародонта позволил в последние десятилетия решить целый ряд фундаментальных вопросов: установить их этиологию и патогенез, разработать методы диагностики и лечения, внедрить систему профилактических мероприятий, направленных на предупреждение рецидивов и хронизации воспалительного процесса и пр. Однако отсутствие ожидаемых результатов в лечении наталкивает на мысль о том, что многие аспекты этой проблемы все еще до конца не изучены.

К интенсивно разрабатываемым направлениям исследований на сегодняшний день относится изучение взаимосвязи между заболеваниями пародонта и соматической патологией [1].

Проведенные исследования подтвердили, что у пациентов с паразитогами хронический генерализованный пародонтит (ХГП) протекает тяжелее, нежели у пациентов без паразитарной инвазии [2].

В настоящее время паразитозы рассматриваются как заболевания, в основе патогенеза которых лежит сложный комплекс взаимосвязанных и взаимозависимых патологических процессов, являющихся следствием не только повреждаю-

шего действия самих гельминтов на организм хозяина, но и его ответной реакции, имеющей и приспособительный, и повреждающий характер [3].

Механизмы патогенного воздействия паразитов, по мнению ученых [4, 5, 6] состоят в: механическом повреждении слизистой оболочки; раздражении нервных окончаний подслизистой оболочки и стимуляции патологических рефлексов, выделении нейрорепептидов; воспалении слизистой оболочки (высвобождении протеолитических ферментов, гиалуронидазы) нарушении процессов пищеварения, всасывания; развитии дисбиоза кишечника; формировании гиповитаминоза и гипоферментоза (лактазы, инвертазы и др.); сенсбилизации организма хозяина антигенными веществами; развитии аллергических и аутоаллергических реакций в органах и тканях (в том числе в слизистой оболочке кишечника); увеличении местной и общей иммуносупрессии (метаболиты паразитов имеют иммуносупрессивное действие), формировании эндогенной интоксикации; потенцировании аллергических реакций на продукты питания (непищевая аллергия) задержке роста, похудении.

Кроме прямого патогенного воздействия, иммуносупрессия и аллергизация при паразитозах приводят к более частому возникновению и более тяжелому течению у инвазированных лиц других заболеваний и к развитию специфических клинических проявлений [7]

Исходя из общепризнанной на сегодняшний день существенной роли иммунных механизмов в патогенезе генерализованного пародонтита [8, 9] и отсутствием данных об изучении иммунологических аспектов ХГП на фоне паразитозов, особый интерес представляют исследования состояния различных звеньев иммунитета у данной категории больных.

Целью настоящей работы явилось изучение роли и места клеточных иммунных реакций в патогенезе ХГП I- II степени тяжести у лиц с паразитозами.

Материалы и методы. Было обследовано 349 человек, страдающих ХГП I и II степени тяжести заболевания, протекающего на фоне паразитарной инвазии: I степени тяжести заболевания 62 человека с энтеробиозом, 60 человек с токсокарозом, 48 человека с лямблиозом; II степени тяжести — 64 человека с энтеробиозом, 60 человек с токсокарозом, 55 человек с лямблиозом (основная группа).

Группу сравнения составили 90 человек ХГП I и II степени без паразитарной инвазии: I степень тяжести заболевания — 60 человек, II степень тяжести — 30 человек.

Контрольную группу составили 30 человек без патологии пародонта и хронической патологии других органов и систем, которые в период обследования считались практически здоровыми. С целью исключения возрастной множественности патологии в исследованные группы (основную, сравнения, контрольную) включались лица в возрасте 20–40 лет. Критериями исключения являлись хронические заболевания внутренних органов, сердечно-сосудистая патология, хронические заболевания нервной и эндокринной систем, аутоиммунная патология, аллергические заболевания.

Диагноз генерализованный пародонтит выставлялся на основании рекомендаций ВОЗ (1995), в соответствии с МКБ-10, верифицирован с учетом патогно-

монических клинических проявлений заболевания и данных лабораторных и инструментальных методов исследования. Постановку диагноза осуществляли на основании жалоб больных, данных анамнеза, клинического осмотра, определения индексов (индекса гигиены Грин-Вермильона (ОНИ-S), индекса РМА Парма, ПИ Рассела, индекса кровоточивости при зондировании по Мюллеману и рентгенологических показателей в соответствии с систематикой болезней пародонта по Н.Ф.Данилевскому).

Диагноз энтеробиоз, токсокароз и лямблиоз больным с ХГП был поставлен на кафедре паразитологии ХМАПО МЗ Украины в соответствии с общепринятыми критериями и методическими указаниями.

О состоянии Т-клеточной сенсibilизации организма тканевыми антигенами пародонта судили по миграционному индексу (МИ) реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) и продукции лимфоцитами крови в культуре *in vitro* комплекса цитокинов, определяющих развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Лейкоциты из периферической крови пациентов выделяли на 3 % желатине, лимфоциты — на градиенте фиколл-верографин (плотность 1,077) по стандартной методике.

РТМЛ ставили в классическом варианте [10].

МИ в РТМЛ вычисляли при внесении в реакцию 0,1 мл стандартного раствора АГ пародонта (0,1 мг/мл белка). АГ пародонта получали методом водно-солевой экстракции ткани пародонта 3М раствором КСI [11]. Контролем служили реакции, в которые какой-либо АГ не вносился или вносился раствор антигена тонкого кишечника. Параллельно ставилась РТМЛ с АГ пародонта, в которой использовались лейкоциты от больных гингивитом.

Уровень продукции лимфоцитами цитокинов (ИЛ-8, ИНФ- γ , ФНО₃, ГМ-КСФ) под влиянием АГ пародонта изучали в культуре клеток *in vitro*. Культивирование мононуклеаров (2×10^6 кл/мл) осуществляли в плоскодонных планшетах (0,2 мл) в среде RPMI — 1640, содержащей 10% сыворотки плодов коровы и 80 мкг/мл гентамицина при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. В культуры мононуклеарных клеток (в 1 мл) вносили 0,1 мл стандартного раствора АГ пародонта (0,1 мг/мл белка) и культивировали 6 часов, после чего определяли методом ИФА содержание в культурной среде отдельных цитокинов. В контрольные образцы АГ-пародонта не вносили. В работе использовали тест-системы Вектор-Бест (Кольцово, Новосибирск).

Статистическая обработка материалов производилась с использованием методов математической статистики для анализа полученных данных [12]. В частности, методы оценки, с помощью которых с определенной вероятностью сделаны выводы относительно параметров распределения; для определения расхождения между средними значениями использовали параметрический t-критерий Стьюдента и непараметрический — Т-критерий Вилкоксона. Проверка найденных расхождений проводилась на уровне значимости $p < 0,05$. Кроме того, статистическая обработка результатов была осуществлена с помощью Microsoft Excel

2007 и программы “MedStat”, согласно рекомендаций к статистической обработке медико-биологических данных [13, 14].

Результаты и обсуждение. В реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ)- показатель, который отражает тканевую сенсibilизацию организма) было обнаружено, что добавление антигена пародонта (АГП) к лейкоцитам больных ХГП I степени с паразитами и больных ХГП I степени без паразитов не влияло на их миграционную активность (табл. 1).

Таблица 1

Степень сенсibilизации лимфоцитов больных ХГП I и II степени с паразитами и больных ХГП I и II степени без паразитов АГ пародонта по данным РТМЛ

| Группы больных | Миграционный индекс |
|------------------------|---------------------|
| ХГП I ст + энтеробиоз | 1,00 ± 0,04 |
| ХГП I ст + токсокароз | 1,02 ± 0,04 |
| ХГП I ст + лямблиоз | 1,00 ± 0,04 |
| ХГП I степени | 1,07 ± 0,04 |
| ХГП II ст + энтеробиоз | 0,74 ± 0,03*** |
| ХГП II ст + токсокароз | 0,75 ± 0,03*** |
| ХГП II ст + лямблиоз | 0,70 ± 0,03*** |
| ХГП II степени | 1,03 ± 0,04 |
| Больные гингивитом | 1,10 ± 0,04 |

Примечание: * — $p < 0,05$ между показателями больных ХГП и здоровыми лицами; ** — $p < 0,05$ между показателями больных ХГП с паразитами и больными ХГП без паразитов.

Миграционный индекс (МИ) у больных ХГП с паразитами снижался на 7,3-9,1%, у больных ХГП без паразитов на 2,8%. У больных ХГП обеих групп, по сравнению с больными гингивитом, снижение индекса миграции лейкоцитов было статистически недостоверным ($p > 0,05$). При II степени тяжести пародонтита у больных ХГП с различными формами паразитов в отличие от больных ХГП без паразитов наблюдалось достоверное снижение миграционного индекса ($p < 0,05$) (табл. 1). У больных ХГП с лямблиозом он снижался на 36,4%, у больных ХГП с энтеробиозом — на 32,8%, у больных ХГП с токсокарозом — на 31,9%, у больных ХГП без паразитарной инвазии — на 6,4%. Достоверных различий в степени сенсibilизации лимфоцитов больных ХГП с разными формами паразитов не было выявлено. При этом достоверные различия выявлялись между значениями индекса миграции у больных ХГП с паразитами и больных ХГП без паразитов (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных ХГП с паразитами отмечается лимфоцитарная сенсibilизация, которая развивается при II степени тяжести заболевания и клеточные иммунные реакции включаются в уже протекающий воспалительный процесс в тканях пародонта. Сенсibilизирующими факторами при этом могут выступать как измененные воспалением ткани пародонта, так и микробы, экспрессирующие тканевые АГ мимикрии. Представляется, что оба эти фактора выступают в синергизме и потенцируют друг друга.

Учитывая, что в Т-клеточных иммунных реакциях центральное место занимают сенсibilизированные Т-лимфоциты, в следующей серии исследований мы изучили их медиаторные функции, с которыми связаны их эффекторные проявления.

Известно, что взаимодействие тканевых антигенов с сенсibilизированными Т-лимфоцитами способно приводить к их активации и продукции целой гаммы провоспалительных цитокинов: ИНФ γ , ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-8, ФНО α , ГМ-КСФ, МИФ, МАХФ. Под влиянием этих факторов происходит концентрация лимфоцитов, гранулоцитов и макрофагов в месте нахождения тканевого антигена, их активация и выброс в окружающие ткани провоспалительных цитокинов, литических ферментов, активных форм кислорода и других биологически активных веществ. Воздействие этих веществ на ткань приводят к развитию и поддержанию воспаления и дегенеративно-деструктивным процессам.

Учитывая это, нами было изучена активность мононуклеаров крови больных в продукции основных провоспалительных цитокинов, участвующих в Т-клеточных иммунных реакциях. С этой целью культуры мононуклеаров крови больных были активированы тканевыми АГ пародонта и через 6 часов было изучено содержание отдельных цитокинов в культуральной среде.

Было установлено, что под влиянием АГ-пародонта мононуклеары крови больных ХГП II степени с паразитозами усиливают продукцию ИЛ-2 в 6,3–7,4 раза, ИЛ-8 — в 9,4–10,6 раз, ФНО β — в 4,7–5,1 раза, ИНФ γ — в 4,4–4,9 раза, ГМ-КСФ — в 5,4–6,1 раза, по сравнению с мононуклеарами крови не стимулированными антигенным материалом (табл. 2).

В культуре мононуклеаров больных ХГП II степени без паразитозов под влиянием АГ-пародонта такого усиления продукции цитокинов не наблюдалось. Количество ИЛ-2, ФНО β , ИЛ-8 — увеличивалось в 3 раза, ИНФ γ — в 1,5 раза, ГМ-КСФ — в 1,2 раза. Наблюдаемое незначительное повышение продукции цитокинов было статистически недостоверным и соответствовало таковому в культурах мононуклеаров лиц контрольной группы (табл. 2).

У больных ХГП I степени с паразитозами и больных ХГП I степени без паразитозов добавление в культуру мононуклеаров АГ пародонта не приводило к достоверному повышению продукции цитокинов. Уровень содержания цитокинов в культурах мононуклеаров, в которые вносили антигенный материал не отличался от содержания в культурах мононуклеаров, в которые АГ материал не вносили ($p > 0,05$).

Полученные данные указывают на то, что в патогенезе ХГП у лиц с паразитарной инвазией в отличие от больных ХГП без паразитарной инвазии участвуют Т-клеточные иммунные реакции гиперчувствительности замедленного типа, для которых характерна как сенсibilизация Т-клеток, так и продукция сенсibilизированными Т-лимфоцитами определенного цитокинового коктейля. Подтверждением этого также является инфильтрация пародонта и окружающего его тканей макрофагальными элементами и лимфоцитами.

Уровень продукции цитокинов в культуре мононуклеаров крови больных ХГП II степени с паразитами и больных ХГП II степени без паразитозов

| Группы больных | Цитокины, пг/мл | | | | |
|---------------------------|--|--|---|--|---|
| | ИЛ-2 | ИЛ-8 | ФНО β | ИНФ γ | ГМ-КСФ |
| ХГП IIст + энтеробиоз | 321,7 \pm 79,8 ^{*,**} 45,1 \pm 9,8 | 320,1 \pm 78,6 ^{*,**} 31,9 \pm 7,4 | 82,4 \pm 18,3 ^{*,**} 17,5 \pm 4,5 | 115,7 \pm 30,4 ^{*,**} 24,1 \pm 7,8 | 60,7 \pm 14,3 ^{*,**} 11,1 \pm 2,9 |
| ХГП IIст + токсокароз | 313,6 \pm 78,6 ^{*,**} 49,6 \pm 9,7 | 318,2 \pm 78,4 ^{*,**} 33,6 \pm 7,5 | 82,9 \pm 18,1 ^{*,**} 17,6 \pm 4,5 | 110,2 \pm 30,1 ^{*,**} 24,6 \pm 7,8 | 60,5 \pm 14,2 ^{*,**} 11,1 \pm 2,9 |
| ХГП IIст + лямблиоз | 334,6 \pm 79,9 ^{*,**} 44,8 \pm 9,8 | 327,7 \pm 78,8 ^{*,**} 30,9 \pm 7,8 | 88,4 \pm 18,3 ^{*,**} 17,3 \pm 4,5 | 120,2 \pm 30,6 ^{*,**} 24,3 \pm 7,8 | 66,5 \pm 14,3 ^{*,**} 10,9 \pm 2,8 |
| ХГП II степени | 81,0 \pm 22,6 58,5 \pm 10,7 | 57,2 \pm 16,8 41,9 \pm 13,5 | 26,5 \pm 4,9 19,1 \pm 4,5 | 45,0 \pm 12,6 30,1 \pm 8,8 | 13,7 \pm 2,9 11,6 \pm 2,9 |
| Контрольная группа лиц | 73,5 \pm 16,7 69,7 \pm 15,6 | 51,9 \pm 12,7 47,5 \pm 12,6 | 21,2 \pm 4,3 20,1 \pm 4,2 | 33,6 \pm 8,5 33,4 \pm 8,5 | 12,2 \pm 2,6 12,1 \pm 2,6 |

Примечание: над чертой — содержание цитокинов в АГ-стимулированной культуре. Под чертой — в АГ-не содержащей культуре.

* — $p < 0,05$ между показателями больных ХГП и здоровыми лицами; ** — $p < 0,05$ между показателями больных ХГП с паразитами и больными ХГП без паразитозов.

Развитию реакции гиперчувствительности замедленного типа у больных ХГП, по-видимому, способствует паразитарная инвазия, для которой характерна сенсibilизация организма и индуцирование аллергических реакций всех типов (I, II, III, IV), а также расстройства в механизмах Т-клеточной и цитокиновой регуляции иммунных процессов.

References:

1. Prodanchuk A. I., Kijun I. D., Krojtor M. O. Periodontal disease and somatic pathology. *Bukovyns'kyj medychnyj visnyk*. 2012;2(16):164–168.
2. Savel'eva N. N. Nature of clinical chronic generalized periodontitis patients with lyamblioznoy invasions *Visnyk mors'koi' medycyny*. 2013;4(61):34–40.
3. Garyuk G. I., Bodnya E. I., Filatova I. V., Golovko A. N. Parasitosis man: modern aspects influence the reactivity and relevance in rhinosinusitis in children. *Zhurnal vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob*. 2009;4:72–77.
4. Avdjuhyna T. Y., Konstantynova T. N., Kucherja T. V. ta in. Giardiasis. Benefits. *Moscva*; 2003:31.
5. Toropova N. P., Safronova N. A., Sinjavskaja O. A. Dermatoses and parasitic diseases in children and adolescents: aspects of pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, treatment and prevention. *A Practical Guide for Physicians*. Ekaterinburg: Ural; 2004:60.
6. Herrstrom P., Henricson K. A., Raberg A. et al. Allergic disease and infestation of *Enterobius vermicularis* in Swedish children 4–10 years of age. *J. Investig. Allergol. Clin. immunol*. 2001;11(3):157–160.
7. Sergiev V. P. Parasitic diseases: new and old problems. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i imunobiologii*. 1991;5:3–6.

8. Zabolotnyj T. D., Borysenko A. V., Markov A. V., Shylivs'kyj I. V. ta in. Generalizovany periodontitis. L'viv : GalDent, 2011. — 239 c.

9. Matvijiv T. I., Gereljuk V. I. Evaluation of the oral cavity immune status, pro- and antiinflammatory cytokines for the patients with chronical generalised periodontitis on the basis of systemic antibiotic therapy of other somatic patholog. Visnyk ukrai'ns'koi' medychnoi' stomatologichnoi' akadem. Aktual'ni problemy suchasnoi' medycyny. 2013; 3(13):54–58.

10. Frimel' G. Reaction inhibition of migration of leukocytes. Immunological methods. Moskva. Meditsina; 1987:308-310.

11. Verner Kh. Preparation of tissue extracts (ZM-by KCl). Immunological methods. Moskva. Meditsina ;1987:442-450.

12. Gmurman V. E. Theory of Probability and Mathematical Statistics. Moskva, Vysshee obrazovanie; 2007: 479 c.

13. Lakin G. F. Biometrics. Moskva, Vysshaya shkola; 1990:352.

14. Glants S. Biomedical Statistics. Moskva, Izdatel'stvo Praktika; 1999;459.