

## Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у больных хроническим генерализованным пародонтитом I-II степени тяжести на фоне паразитозов

Н.Н. Савельева

Харьковский национальный медицинский университет

## The phagocytic activity of blood neutrophils in patients with chronic generalized periodontitis of I-II severity level on the background of parasitosis

N.N. Saveleva

Kharkiv National Medical University

### Аннотация

Изложены результаты изучения фагоцитарного звена иммунитета у больных ХГП I-II степени тяжести на фоне энтеробиоза, токсокароза, лямблиоза.

Целью настоящей работы явилось изучение характера изменений в фагоцитарном звене иммунитета у больных ХГП I-II степени тяжести с паразитозами и больных ХГП без паразитозов. Исследования были проведены у 540 больных хроническим генерализованным пародонтитом I-II ст. тяжести на фоне паразитарных инвазий (основные группы). Группу сравнения составляли 90 больных ХГП I-II ст. тяжести без паразитарной инвазии. Контрольную группу составили 30 человек без патологии пародонта и хронической патологии других органов и систем, которые в период обследования считались практически здоровыми. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по их способности поглощать бактерии *S.aureus* (штамм 209), бактерицидную способность (БЦ) фагоцитов - по методу S.Nielsen. Кислородзависимую активность фагоцитов изучали в спонтанном и индуцированном зимозаном НСТ-тесте. Статистическая обработка материалов производилась с использованием методов математической статистики для анализа полученных данных.

Установлено снижение у больных ХГП I-II степени тяжести с паразитозами и у больных ХГП без паразитозов поглотительной и биоцидной способности нейтрофилов периферической крови по сравнению со здоровыми лицами. При I степени тяжести ХГП у больных без паразитозов число клеток, участвовавших в фагоцитозе (ФИ) снижено на 13,7%, число микробов поглощенных одной клеткой (ФЧ) на 17,3%, биоцидность - на 76%. Как следует из полученных данных ФЧ и ФИ у этой группы больных достоверно не отличались от значений нормы. У больных ХГП II степени тяжести без паразитозов все три изученные показатели имели статистически достоверное отличие. ФИ был снижен по сравнению с нормой

### Summary

The article presents the results of a study of phagocytic immunity chain in patients with CGP of I-II severity level on the background of enterobiasis, toxocarosis, giardiasis. The aim of this work was to study the nature of changes in the phagocytic immunity chain in patients with CGP of I-II severity level with parasitoses and patients with CGP without parasitoses. Studies were conducted on 540 patients with CGP, I-II severity level with parasitosis - (principle groups). The comparison group consisted of 90 CGP patients, I-II severity level without parasitosis, the control group - of 30 people without periodontal diseases and chronic diseases of other organs and systems. Phagocytic activity of neutrophils was assessed by their ability to absorb the *S.aureus* bacteria (strain 209), bactericidal capacity (BC) of phagocytes by the S. Nielsen method. Oxygen-dependent activity of phagocytes was studied in the spontaneous and induced zymosan HCT-test. Statistical processing of materials was made using mathematical statistical methods for the data analysis.

There was established a reduction in patients with CGP of I-II severity level with parasitosis and in patients with CGP without parasitosis of the absorption and biocidal ability of peripheral blood neutrophils compared with healthy individuals. At I degree of CGP severity in patients without parasitosis, the number of cells, involved in phagocytosis (FI) was decreased on 13.7%, the number of microbes, absorbed by one cell (FN) on 17.3%, biocide - on 76%. As follows from the obtained data FI and FN in this group of patients did not differ from normal values significantly. In patients with CGP of I-II severity level without parasitosis all three indicators studied had a statistically significant difference. FI was reduced in comparison with the norm on 20.5%, FN - on 24.2%, BC - on 152%. In patients with CGP of I-II severity level with parasitosis the significant differences from the control group were observed both at the I degree of the disease, and at II severity level of the disease. At I degree of severity

на 20,5%, ФЧ – на 24,2%, БЦ – на 152%. У больных ХГП с паразитозами достоверные отличия от контрольной группы лиц наблюдались как при I степени заболевания, так при II степени тяжести заболевания. При I степени тяжести заболевания снижение ФИ у больных с паразитозами составляло 22,2 – 28,0%, ФЧ – 32,8 – 39,7%, БЦ 158–170%, при II степени ФИ – 29,3 – 34,4%, ФЧ – 41,4 – 53,5 %, БЦ – 238 – 264%. У больных ХГП I-II степени тяжести с паразитозами достоверные различия по сравнению с больными ХГП I-II степени тяжести без паразитозов соответственно касались числа поглощенных микробов одной клеткой (ФЧ) и бицидной активности нейтрофилов (БЦ). Фагоцитарный индекс (ФИ) у больных ХГП I-II степени тяжести с паразитозами достоверно не отличался от такового у больных ХГП I-II степени тяжести соответственно без паразитозов. У больных ХГП I-II степени тяжести с различными формами паразитозов снижен как индуцированный НСТ тест, так и спонтанный НСТ-тест. У больных ХГП I-II степени без паразитозов спонтанный НСТ-тест напротив повышен в сравнении как с инвазированными пациентами, так и с контрольной группой лиц.

### **Ключевые слова**

Хронический генерализованный пародонтит, паразитозы, иммунитет, фагоцитоз.

### **Введение**

В последние годы заболевания пародонта приобрели характер глобальной медико-социальной проблемы вследствие их широкого распространения и неблагоприятного влияния на уровень общего здоровья населения. Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии и патогенеза хронического генерализованного пародонтита (ХГП) целый ряд вопросов остаются нерешенными и нуждаются в дальнейшем их рассмотрении.

Многочисленными исследованиями установлено, что возникновению существенных функциональных и морфологических изменений в пародонтальном комплексе способствуют универсальные патогенетические механизмы, формирующиеся при различных заболеваниях органов и систем [1]. Ученые указывают на то, что одним из предрасполагающих факторов к развитию заболеваний пародонта являются хронически протекающие паразитарные заболевания [2-4]. Как известно, кроме прямого патологического действия, поражение населения паразитозами из-за довольно частого развития вторичного иммунодефицита приводит к частому возникновению и более тяжелому течению других заболеваний [5]. Ряд исследователей считают, что наиболее общим патологическим воздействием всех возбудителей паразитарных болезней, и в первую очередь гельминтов, на организм человека явля-

ются аллергияция и иммуносупрессия [6-12]. Аллергические реакции при всех гельминтозах сопровождаются однотипными функциональными нарушениями. Иммунологические реакции при гельминтозах, направленные на защиту организма хозяина от паразита, при переходе границы адекватного физиологического ответа, становятся иммунопатологическими и являются причиной тяжелых органных поражений, как правило, в хронической фазе инвазии [5].

### **Keywords**

Chronical generalized periodontitis, parasitosis, immunity, phagocytosis.

Очевидно, что по клиническим проявлениям болезни, в частности генерализованного пародонтита, можно предположительно судить о наличии того или иного дефекта в системе иммунитета, однако наиболее достоверную информацию о состоянии иммунной системы можно получить при проведении детального иммунологического обследования больного. Иммунодиагностика при всех процессах имеет значение для изучения этиопатогенеза заболевания, прогнозирования обострения, для выбора метода лечения и оценки его эффективности [13]. В работах последних лет показано, что высокой информативностью при различных воспалительных процессах челюстно-лицевой области отличается оценка иммунного статуса, активности иммунокомпетентных клеток, осуществляющих основные защитные реакции [14,15]. Особое внимание как объект исследования привлекает неспецифическая резистентность организма, которая первой реаги-

рует при поступлении в организм антигенов как инфекционного, так и неинфекционного происхождения. По мнению ученых, наиболее верно и целесообразно начинать изучение механизмов защиты с фагоцитоза, как наиболее ранней, срочной и эффективной неспецифической реакции организма [16], заключающейся в распознавании, активном захвате (поглощении), инактивации, разрушении микроорганизмов, поврежденных клеток и инородных частиц специализированными клетками – фагоцитами [17].

Целью изучения фагоцитарного процесса является анализ функциональных свойств фагоцитов, их способности выполнять все стадии фагоцитоза [18]. В значительной мере он осуществляется с участием нейтрофилов [19-21].

Нейтрофилы, обладая мощным цитотоксическим потенциалом, исключительной реактивностью и высокой мобилизационной готовностью, выступают в первой линии эффекторных механизмов иммунологического гомеостаза [22].

На сегодняшний день, несмотря на интенсивное изучение влияния изменений функционального состояния иммунной системы в патогенезе ХГП, открытым остаётся вопрос об участии факторов фагоцитарного звена иммунитета в формировании данного стоматологического заболевания у лиц с паразитарными заболеваниями.

Целью настоящей работы явилось изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови как важного компонента врожденного иммунитета у больных ХГП I-II степени тяжести с паразитами- энтеробиозом, токсокарозом, лямблиозом.

### Материалы и методы

Иммунологические исследования были проведены у 62 больных с хроническим генерализованным пародонтитом I ст. тяжести и 60 больных с хроническим генерализованным пародонтитом II ст. тяжести, сочетающегося с энтеробиозом, у 60 больных с ХГП I ст. тяжести и 70 больных со II ст. тяжести, сочетающегося с токсокарозом, и 48 больных ХГП I ст. тяжести 50 больных ХГП II степени тяжести, сочетающегося с лямблиозом (основные группы).

Группу сравнения составили 60 больных ХГП I ст. тяжести и 30 больных ХГП II ст. тяжести без паразитарной инвазии. 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 исследованных группах (основной, сравнения, контрольной) включались лица в возрасте 20-40 лет. Критериями исключения являлись хронические заболевания внутренних органов, сердечно-сосудистая патология, хронические заболевания крови и эндокринной системы, аутоиммунная патология, аллергические заболевания.

Диагноз хронический генерализованный пародонтит выставлялся на основании рекомендации ВОЗ (1995), в соответствии с МКБ-10, верифицирован с учетом патогномических клинических проявлений заболевания и данных лабораторных и инструментальных методов исследования.

Диагноз энтеробиоз, токсокароз и лямблиоз больным с ХГП выставлялся на основании совокупности эпидемиологического и клинического анамнезов, клинико-лабораторных показателей и результатов копрологического и иммуноферментного анализа.

Программа иммунологических исследований включала исследование фагоцитарной активности нейтрофилов крови.

Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по их способности поглощать бактерии *S.aureus* (штамм 209). Для этого смешивали 1мл суспензии клеток ( $10^7$ ) и 1мл суспензии бактерий ( $10^9$ ) в растворе Хенкса. Смесь инкубировали 30мин при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  при постоянном помешивании. По окончании процедуры на стеклах готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому-Гимза. В препаратах подсчитывали 200 клеток, из них число клеток, которые фагоцитировали (ФИ) и число бактерий, которые поглощались одной клеткой (ФЧ).

Бактерицидную способность (БЦ) фагоцитов оценивали по методу S.Nielsen [23]. После 30-минутной инкубации лейкоцитов с *S.aureus* (1 мл лейкоцитов в концентрации  $10^7$  и 1 мл суспензии бактерий  $10^7$  в растворе Хенкса) непоглощенные бактерии отмывали центрифугированием при 1500 оборотов/мин на протяжении 10 мин. Число поглощенных, но живых стафилококков определяли после высева лизата клеток по методу Гольда на чашки Петри с мясопептонным агаром. Лизис лейкоцитов проводили путем добавления 3-кратного объема воды.

Кислородзависимую активность фагоцитов изучали в спонтанном и индуцированном зимозаном НСТ-тесте [24].

Статистическая обработка материалов производилась с использованием методов математиче-

ской статистики для анализа полученных данных [25]. В частности, методы оценки, с помощью которых с определенной вероятностью сделаны выводы относительно параметрам 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 [26,27].

### Результаты

Изучение фагоцитарного звена иммунитета выявило снижение у больных ХГП I и II степени тяжести с паразитогами и больных ХГП без паразитозов поглотительной и биоцидной способности нейтрофилов периферической крови, по сравнению со здоровыми лицами (табл.1).

При I степени тяжести ХГП у больных без паразитозов число клеток, участвовавших в фагоцитозе (ФИ) снижено на 13,7%, число микробов поглощенных одной клеткой (ФЧ) на 17,3%, биоцидность на 76%. Как следует из полученных данных ФЧ и ФИ у этой группы больных достоверно не отличались от значений нормы. У больных ХГП II степени тяжести без паразитозов все три изученные показатели имели статистически достоверное отличие. ФИ был снижен по сравнению с нормой на 20,5%, ФЧ – на 24,2%, БЦ

– 152%. У больных ХГП, протекающем на фоне паразитарной инвазии достоверные отличия от контрольной группы лиц наблюдались как при I степени заболевания, так при II степени тяжести заболевания. При I степени тяжести заболевания снижения ФИ у больных с паразитогами составляло 22,2 – 28,0%, ФЧ – 32,8 – 39,7%, БЦ 158- 170%, при II степени ФИ – 29,3 – 34,4%, ФЧ – 41,4 – 53,5 %, БЦ – 238 – 264%.

У больных ХГП I и II степени тяжести с паразитогами достоверные различия по сравнению с больными ХГП I и II степени тяжести без паразитозов соответственно касались числа поглощенных микробов одной клеткой (ФЧ) и биоцидной активности нейтрофилов (БЦ). Фагоцитарный индекс (ФИ) больных ХГП I и II степени тяжести с паразитогами достоверно не отличался от такового больных ХГП I и II степени тяжести соответственно без паразитозов.

Исследование активности нейтрофилов в продукции активных форм кислорода показало, что у больных ХГП I и II степени тяжести с паразитогами и больных ХГП I и II степени без паразитозов она достоверно снижена по сравнению со здоровыми лицами (табл. 2).

Обращает на себя внимание, что у больных ХГП I и II степени тяжести с различными формами паразитозов снижен как индуцированный НСТ тест, так и спонтанный НСТ-тест. У больных ХГП I и II степени без паразитозов спонтанный НСТ-тест напротив повышен как по сравнению с лицами страдающими паразитогами, так и контрольной группой лиц, что объясняется на-

**Таблица 1. Фагоцитарная и биоцидная активность нейтрофилов периферической крови больных ХГП I-II степени в сочетании с паразитогами**

Группы больных	Фагоцитарный индекс (ФИ)%	Фагоцитарное число (ФЧ)	БЦ (число бактерий, выживших после фагоцитоза) %
ХГП I ст + энтеробиоз	57,1 ± 5,5 *	3,7±0,4 *,**	13,0 ± 1,4 *,**
ХГП I ст + токсокароз	59,8 ± 5,7*	3,9±0,4*	12,9 ± 1,4 *,**
ХГП I ст + лямблиоз	55,3 ± 5,2*	3,5±0,4 *,**	13,5 ± 1,4 *,**
ХГП I степени	66,3 ± 6,1	4,8 ± 0,5	8,8 ± 0,9
ХГП II ст + энтеробиоз	51,8±5,3*	3,0±0,3 *,**	17,1 ± 1,8 *,**
ХГП II ст + токсокароз	54,3±5,6*	3,4±0,4 *,**	16,9 ± 1,8 *,**
ХГП II ст + лямблиоз	50,4±5,1*	2,7±0,3 *,**	18,2 ± 1,9 *,**
ХГП II степени	61,1±6,4*	4,4±0,4*	12,6 ± 1,4*
Контрольная группа лиц	76,8 ± 7,3	5,8 ± 0,6	5,0 ± 0,5

Примечание: \*  $p < 0,05$  между показателями больных ХГП и здоровыми лицами; \*\*  $p < 0,05$  между показателями больных ХГП с паразитогами и больных ХГП без паразитозов.



**Таблица 2. Показатели НСТ-теста больных ХГП I-II степени в сочетании с паразитозами**

Группы больных	НСТ-тест сп., %	НСТ-тест инд., %	индекс НСТ инд/НСТ сп
ХГП I ст + энтеробиоз	10,5 ± 1,01**	23,1 ± 2,17*	2,20 ± 0,21**
ХГП I ст + токсокароз	10,6 ± 1,01**	23,6 ± 2,17*	2,22 ± 0,21**
ХГП I ст + лямблиоз	10,1 ± 1,01**	22,9 ± 2,11*	2,26 ± 0,21**
ХГП I степени	14,6 ± 1,12*	25,1 ± 2,12*	1,71 ± 1,56*
ХГП II ст + энтеробиоз	9,0 ± 0,93**	19,9 ± 1,92*	2,21 ± 0,20**
ХГП II ст + токсокароз	9,1 ± 0,93**	20,1 ± 1,93*	2,33 ± 0,22**
ХГП II ст + лямблиоз	8,6 ± 0,92*,**	18,3 ± 1,86*,**	2,12 ± 0,21*,**
ХГП II степени	16,1 ± 1,13*	23,7 ± 2,11*	1,47 ± 0,12*
Контрольная группа лиц	11,1 ± 1,03	29,3 ± 2,13	2,63 ± 0,25

Примечание: \*  $p < 0,05$  между показателями больных ХГП и здоровыми лицами; \*\*  $p < 0,05$  между показателями больных ХГП с паразитозами и больных ХГП без паразитозов.

личием у таких больных инфекционных агентов, вызывающих постоянную продукцию активных форм кислорода. У больных ХГП I и II степени тяжести с паразитозами такой возбуждающий фактор (микробный) нейтрофилов также присутствует, однако повышения спонтанной продукции активных форм кислорода не происходит, по-видимому, из-за подавления метаболизма иммунокомпетентных клеток и их биоэнергетических ресурсов токсическими продуктами жизнедеятельности гельминтов и лямблий.

Одновременное снижение показателей спонтанного и индуцированного НСТ-тестов указывает на глубокое поражение бактерицидных систем фагоцитов.

Известно, что разрушение поглощенных микробов и вирусов фагоцитами происходит с привлечением кислород-зависимых механизмов, в результате действия на поглощенный объект надпероксидных анионов ( $O_2^-$ ), перекиси водорода ( $H_2O_2$ ), синглетного кислорода ( $1O_2$ ),

гидроксильных радикалов (ОН), образование которых происходит в результате активации метаболических процессов в клетке. Снижение бактерицидной активности фагоцитов способно приводить к выживанию бактерий, их размножению и хронизации воспалительного процесса.

### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что хронический генерализованный пародонтит I-II ст тяжести у больных с паразитозами протекает на фоне снижения фагоцитарной и биоцидной активности нейтрофилов крови ассоциированной со сниженной способностью клеток продуцировать активные формы кислорода.

Наблюдаемые расстройства в фагоцитарном звене являются важным фактором снижения общей иммунореактивности больных и благоприятным фоном для прогрессирования пародонтита.

### Литература

1. Романенко И.Г. Генерализованный пародонтит и метаболический синдром. Единство патогенетических механизмов развития. Крымский терапевтический журнал 2011; N 1: 60-67.
2. Особенности развития заболеваний пародонта у больных с кишечными паразитомами. Пародонтология : рецензируемый научно-практический ежеквартальный журнал для стоматологов 2009; № 3: 21-24.
3. Ронь Г.И. Особенности течения заболеваний слизистой оболочки полости рта и пародонта у пациентов с хронической описторхозной инвазией. Проблемы стоматологии 2011; №2: 24-27.
4. Савельева Н.Н. Некоторые аспекты взаимосвязи между хроническим генерализованным пародонтитом, заболева-

ниями языка и паразитарной инвазией. Эксперим. і клініч. медицина. 2014; № 4: 204-212.

5. Бодня Е.И. Клинико-иммунологические аспекты паразитарных болезней. Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология 2007; №8: 18-24.

6. Бессонов А.С. Современное состояние и перспективы развития паразитологии в XXI веке. Мед. паразитол. и паразитарные болезни 1998; № 2: 3-7.

7. Астафьев Б.А. Иммунопатологические проявления и осложнения гельминтозов. М.: Медицина, 1987, 125 с.

8. Бодня Е.И. Адаптационная роль стрессорной реакции паразитарной этиологии у человека. Пробл. мед. науки та освіти 2000; № 4: 53-55.

9. Астафьев Б.А. Достижения отечественной науки в изучении патогенеза гельминтозов. Мед. паразитол. и паразитарные болезни 1998; № 2: 8–12.
10. Озерецковская Н.Н. Эозинофилия крови и иммуноглобулинемия E: особенности регуляции при гельминтозах и аллергических болезнях. Мед. паразитол. и паразитарные болезни 1997; № 2: 3–9.
11. Пішак В. П. Сучасні аспекти імунопаразитології. Буков. мед. вісник 2002; Т. 6, № 1: 8–19.
12. Chaker E., Bel Hadj S., Khaled S. et al. Digestive parasitic diseases. A continuous current problem. Tunis Med. 1995; Vol. 73, № 1: 53–56.
13. Хаитов Р.М. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии. Иммунология. – 2001; № 4: 4-6.
14. Бажанов Н.Н. и др. Использование иммунологических показателей для оценки тяжести течения пародонтита и эффективности лечения. Стоматология 1996; Т. 75, №1: 15-18.
15. Максимовский Ю.М., Чиркова Т.Д., Ульянова М.А. Особенности активационного состава иммунокомпетентных клеток крови пародонта при катаральном гингивите. Стоматология 2003; № 5: 20-22.
16. Мазурин А.В. Пропедевтика детских болезней. СПб.: Фолиант, 2000, 926 с.
17. Висмонт Ф.И. Воспаление (патофизиологические аспекты): уч. метод. Пособие. Мн.: БГМУ, 2006, 48 с.
18. Скачкова Н.К. Современное представление о фагоцитозе. Лабораторна діагностика 2012; № 3: 58-64.
19. Ананенко А.А. Биохимические механизмы реакции фагоцитоза в норме и патологии у детей. Вопр. охраны мат. 1983; Т.28, No8: 37-41.
20. Долгушин И.И. Нейтрофилы и гомеостаз. РАН: Ур. отд. Екатеринбург: УрО РАН, 2001, 283 с.
21. Клебанов Г.И., Крейнина М.В., Чукаева И.И. и др. Изменение активности супероксиддисмутазы в процессе стимуляции полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови. Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 1990; Т.109, No4: 334-336.
22. Крюковская Г.М., Матвеева М.В., Марюшина Т.О. и др. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов при применении Immuniti Ur у собак с хронической гастроэнтеропатией. Journal of Small Animal Practice 2012; Т.109, № 2: 44-45.
23. Nielsen S.L. Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of staphylococcus aureus in human neutrophil granulocytes. APMIS 1995; № 103: 460-468.
24. Вискман М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: Методические рекомендации. Казань: Казанский НИИЭМ, 1979, 11с.
25. Гмурман В. Е. Теория вероятностей и математическая статистика. М.: Высшее образование, 2007, 479 с.
26. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Изд-во Практика, 1999, 459 с.
27. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990, 352 с.

Сведения об авторе:

Савельева Наталья Николаевна – доцент кафедры стоматологии Харьковского национального медицинского университета, к.м.н. Украина, 61124, Харьков, пр. Гагарина 171А, кв.21  
saveleva\_nn@ukr.net +38(050) 501-91-72

Поступила 15.03.2017 г.