

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И КРОВИ ПРИ КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Басов А.А., Горкунова А.Р.

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г.Краснодар, Россия (350063, Краснодар, ул. Седина, 4); e-mail: son_sunytch@mail.ru

В статье приведены данные об изменении активности ферментов антирадикальной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы) и накоплении продуктов окислительной модификации в крови и ротовой жидкости у 105 человек, со вторичной адентией и 50 человек, с коморбидной соматической патологии. Установлено, что наиболее выраженные нарушения в прооксидантно-антиоксидантной системе отмечены у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, при котором отмечено снижение активности всех ферментов на местном и системном уровне, а также наиболее существенное увеличение продуктов окислительной модификации в крови (на 181,6 %) и ротовой жидкости (на 257,7 %). Результаты исследования показывают, что в ротовой полости имеются автономные механизмы, регулирующие активность ферментного звена антиоксидантной системы, что сопровождается адаптивным повышением активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы в ротовой жидкости, при хроническом генерализованном пародонтите.

Ключевые слова: пародонтит, каталаза, глутатионпероксидаза, сахарный диабет, ротовая жидкость.

ADAPTIVE CHANGES IN PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE ORAL FLUID AND BLOOD WITH COMORBID CONDITIONS

Basov A.A., Gorkunova A.R.

Kuban state medical university, Krasnodar, Russia (350063, M. Sedina street, 4), e-mail: son_sunytch@mail.ru

The article presents data on changes in enzyme activity of antiradical defense (catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase, glutathione peroxidase) and accumulation of oxidative modifications in blood and oral fluid in people (n=105) with secondary lack of teeth and in people (n=50) with comorbid somatic pathology. Found that the most pronounced abnormalities in the prooxidant-antioxidant system observed in patients with type 2 diabetes, in which decreased activity of all enzymes in the local and systemic level, as well as the most significant increase of oxidative modification in the blood (by 181.6%) and oral fluid (by 257.7%). Results of the study show that the oral cavity are autonomous mechanisms that regulate the activity of the enzyme level of the antioxidant system, which is accompanied by an adaptive increase in activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase in the oral fluid in chronic generalized periodontitis.

Keywords: periodontitis, catalase, glutathione peroxidase, diabetes, oral fluid.

Проведенные исследования показали, что у больных с сердечно-сосудистой патологией тяжесть и частота поражений тканей пародонта значительно возрастает [2, 4], что связано с имеющимися нарушениями в работе системы неспецифической защиты, ведущими к ухудшению микроциркуляции в том числе и тканях ротовой полости. Также известно, что болезни пародонта в настоящее время занимают первое место по своей проблемной значимости и актуальности в стоматологической практике после кариеса зубов [6]. Поэтому важным представляется применение современных методик обследования пародонтологического больного, что дает возможность не только правильно диагностировать тяжесть течения заболевания, но и определить этиологические факторы и патогенетические механизмы воспалительного или дистрофического процесса в пародонте [3, 5].

В последние годы все большее внимание уделяется разработке новых неинвазивных алгоритмов с использованием ротовой жидкости (РЖ) для оценки состояния антиоксидантной системы (АОС) при стоматологических заболеваниях и патологии внутренних органов, в том числе для проведения мониторинга терапии, направленной на уменьшение процессов перекисного окисления [13]. Учитывая все это, для определения ведущих лабораторных критериев следует изучить взаимосвязи показателей активности ферментов антирадикальной защиты в крови и РЖ, которая позволит повысить эффективность использования неинвазивной диагностики у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), сахарным диабетом (СД) 2 типа и пародонтитом, со вторичной адентией.

Процессы свободнорадикального окисления (СРО), которые являются универсальными и необходимы для нормальной жизнедеятельности, должны поддерживаться на физиологическом уровне, что обеспечивается АОС. Нарушение регуляции окислительного метаболизма приводит к усилению СРО, что сопровождается развитием различных патологических состояний при ИБС и СД 2 типа [15], в том числе пародонтита, осложнением которого является вторичная адентия [10, 14]. Все это обусловлено тем, что непрерывно протекающее перекисное окисление липидов обеспечивает не только постоянное обновление липидного состава клеточных мембран, но и создает угрозу их повреждения. Поддержания физиологической концентрации перекисей биомолекул в мембранах обеспечивается сбалансированным взаимодействием реакций образования активных форм кислорода (АФК) и реакций их инактивации [11], при этом свободнорадикальный гомеостаз поддерживается в том числе за счет ферментов антиоксидантного действия, обеспечивающих устранение активных форм кислорода, к которым относят супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ), глутатионзависимые ферменты (глутатионпероксидазу (ГПО и глутатионредуктазу (ГР)). Хроническое течение воспалительных и воспалительно-деструктивных заболеваний при пародонтите сопровождается нарастающей гипоксией, что приводит к поражению ферментных систем клеток и способствует ослаблению антиоксидантной защиты.

В связи с вышеизложенным целью настоящей исследования являлась оценка выраженности перекисидации и нарушений ферментного звена АОС в РЖ и крови при ИБС, СД 2 типа и хроническом генерализованном пародонтите, осложненного вторичной адентией.

Материалы и методы

В ходе выполнения работы было обследовано 155 человек, страдающих ИБС с нормальным углеводным обменом, СД 2 типа и хроническим генерализованным пародонтитом (с частичным отсутствием зубов), находившихся на лечении в отделении кардиологии 3 ГБУЗ «Клинический госпиталь для ветеранов войн» (г. Краснодар), отделении

эндокринологии ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края (г. Краснодар), ГБУЗ «Краевой клинический стоматологический центр» министерства здравоохранения Краснодарского края (г. Краснодар); Стоматологической поликлинике ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России (г. Краснодар); ГБУЗ «Краевая консультативная поликлиника» (г. Краснодар). Биохимический анализ РЖ и крови проводили в строгом соответствии с требованиями, регламентируемыми существующей нормативной базой медико-биологических исследований с участием человека, представленной в ФЗ «Об охране здоровья граждан» от 27.02.2003 года. Все обследованные и пролеченные пациенты заполняли «Добровольное информируемое согласие», где конкретно, четко и понятно излагалась суть проводимого исследования, разъяснялись его цели, обращалось внимание на пользу данного исследования и на возможные риски.

Первая группа была сформирована из 48 мужчин и 57 женщин (в возрасте – $42,8 \pm 3,9$ года, $n=105$), страдающих патологией пародонта, но не имеющих клинических и лабораторных признаков коморбидной патологии. Во вторую группу включили 14 мужчин и 11 женщин (в возрасте $71,6 \pm 1,8$ года, $n=25$) с нормальным углеводным обменом, страдающих патологией пародонта в сочетании с ИБС. В третью группу включили 9 мужчин и 16 женщин (в возрасте – $64,9 \pm 2,2$ года, $n=25$), страдающих патологией пародонта и СД 2 типа. Контрольную группу составили 25 человек (мужчин 12 и женщин 13, в возрасте – $56,3 \pm 8,7$ года) без патологии пародонта, не имеющих клинических и лабораторных признаков ИБС и СД 2 типа, соизмеримых по полу и возрасту с другими обследованными группами.

Для оценки выраженности СРО в биожидкостях определяли реагирующие с тиобарбитуровой кислотой продукты перекисидации (ТБК-РП), среди показателей ферментного звена антирадикальной защиты изучали активность СОД, КАТ, ГПО, ГР.

Определение продуктов окислительной модификации биомолекул проводили на основании количественной оценки окрашенного комплекса, образующегося при взаимодействии вторичных продуктов окислительной модификации, содержащихся в РЖ и плазме крови, с тиобарбитуровой кислотой. Полученные результаты выражали в микромолях ТБК-РП на 1 л РЖ или плазмы крови [7].

Активность СОД в РЖ и гемолизате эритроцитов определяли по методу [9] и выражали в условных единицах, отнесенных к 1г белка РЖ или гемоглобина (Hb) в крови. Определение активности КАТ в РЖ и гемолизате эритроцитов проводили колориметрическим методом [8], и выражали в мкмоль/ (мин • г белка) в РЖ или мкмоль / (мин • г Hb) в крови. Определение активности ГПО в РЖ и гемолизате эритроцитов проводили с помощью 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты, активность ГПО

выражали в мкмоль / (мин • г белка) в РЖ или мкмоль / (мин • г Hb) в крови [1]. Определение активности глутатионредуктазы (ГР) в РЖ и гемолизате эритроцитов проводили с помощью GSH и восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН+Н⁺), активность фермента выражали в мкмоль / (сек • г белка) в РЖ или мкмоль / (сек • г Hb) в крови [1, 12].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с методами, принятыми в вариационной статистике, с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008, достоверным считали различие при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате выполненного исследования показано, что во всех группах пациентов – 1, 2 и 3 наблюдались выраженные изменения в прооксидантно-антиоксидантной системе на местном уровне (табл. 1). Оценивая количественно с помощью ТБК-РП состояние пероксидации в ротовой полости, было выявлено, что наиболее значительные нарушения встречались в группе 3, которые в 3,58 раза превышали показатели контрольной группы ($p < 0,05$), а также были выше значений в группе 1 и группе 2 на 61,7 % и 59,0 %, соответственно, что указывает на ведущую роль эндокринной патологии в развитии нарушений окислительного гомеостаза в ротовой полости и может быть связано как с рекреторной функцией слюнных желез и накоплением в РЖ глюкозы при декомпенсации СД, так и с выраженными нарушениями функционирования гематосаливарного барьера при диабете в условиях формирования макро- и микрососудистых осложнений.

При анализе активности основных ферментов АОС на локальном уровне были выявлены патологические изменения для КАТ и СОД в РЖ обследованных больных: в группе 1 активность КАТ снижалась на 13,6 % ($p < 0,05$), активность СОД повышалась на 14,2 % ($p < 0,05$), в группе 2 снижалась активность КАТ на 19,6 % ($p < 0,05$) и активность СОД – на 29,1 % ($p < 0,05$), в группе 3 уменьшение активности КАТ составило 34,0 % ($p < 0,05$), активности СОД – 40,2 % ($p < 0,05$), что позволяет говорить о наличии в ротовой полости собственной локальной АОС, позволяющей автономно регулировать с помощью ферментов антирадикальной защиты интенсивность процессов СРО. Такая организация ферментного звена АОС в РЖ обеспечивает дополнительную антиоксидантную протекцию слизистой ротовой полости в случае снижения антиоксидантной емкости крови при соматических заболеваниях. Следует отметить несколько большие резервы антиоксидантной защиты у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом без коморбидных состояний, а также адаптационным повышением у них активности СОД, что позволяет на определенном этапе нивелировать повреждающее воздействие супероксидного анион-радикала на слизистую ротовой полости.

Показатели продуктов окислительной модификации и активности ферментного звена АОС в РЖ у пациентов с патологией пародонта, ИБС и СД 2 типа (M±m)

показатели	группа 4	группа 1	группа 2	группа 3
ТБК-РП, мкмоль/л	0,52±0,05	1,15±0,02*	1,17±0,03*	1,86±0,04*
ГР, мкмоль/(г·с)	30,69±0,42	35,2±0,98*	31,16±0,49	26,22±0,96*
ГПО, мкмоль/(г·мин)	50,17±1,19	53,02±1,31	45,24±0,75*	38,01±1,47*
СОД, ед./г	22,53±0,39	25,70±0,83*	15,98±0,71*	13,48±0,45*
КАТ, мкмоль/(мин·г)	63,12±1.48	54,51 ± 1,24	50,72±1,06*	41,67±0,92*

Примечание. *– $p < 0,05$ в сравнении с показателями контрольной группы.

Данные предположения подтверждаются изменением активности ферментов, регулирующих обмен SH-содержащих веществ. Установлено, что в РЖ больных со стоматологической патологией без коморбидных соматических состояний идет увеличение активности ГПО и ГР на 5,7 % ($p > 0,05$) и 14,7 % ($p < 0,05$) соответственно, носящие компенсаторный характер и направленные на адаптивное повышение уровня восстановительных эквивалентов в ротовой полости, при усилении процессов СРО у пациентов, с частичной адентией. Тогда как, при сердечно-сосудистой и эндокринной патологии, определяется выраженный дисбаланс в работе ГПО и ГР (табл. 1), особенно выраженный при СД 2 типа, проявляющийся сонаправленным снижением активности ферментов тиолового цикла. В группе 2 активность ГР была статистически значимо не изменялась, тогда, как активность ГПО была снижена на 9,8 % ($p < 0,05$), а у больных СД 2 типа активность ГР была меньше контрольных значений на 14,6 % ($p < 0,05$), активность ГПО – на 24,2 % ($p < 0,05$), что говорит о невозможности рециркуляции у таких больных не только тиоловых эндогенных антиоксидантов, но также и возможном нарушении регенерации других классов низкомолекулярных субстратов с антиоксидантной активностью и является неблагоприятным предиктором развития осложнений у таких категорий больных. Кроме того, изученные ферменты, регулирующие утилизацию активных форм кислорода (супероксидного анион-радикала и пероксида водорода) в РЖ, участвуют как в защите от окислительного воздействия на ткани полости рта, так и поддерживают вспомогательные реакции локального иммунитета, предупреждая развитие поздних осложнений при стоматологической патологии и коморбидных соматических заболеваниях.

При изучении состояния ферментного звена АОС в крови было установлено, что нарушения прооксидантно-антиоксидантной системы в группах с коморбидной соматической патологией носят еще более выраженный характер, чем в РЖ. Однако при вторичной адентии патологические процессы в зубо-челюстной системе приводят к гораздо меньшим

патобиохимическим сдвигам (за исключением ТБК-РП и активности ГР) и недостоверным изменениям на системном уровне (табл. 2).

Таблица 2

Показатели продуктов окислительной модификации и активности ферментного звена АОС в крови при пародонте, ИБС и СД 2 типа (M±m)

показатели	группа 4	группа 1	группа 2	группа 3
ТБК-РП, мкмоль/л	2,55±0,10	3,48±0,17*	5,46±0,11*	7,18±0,14*
ГР, мкмоль/(г·с)	22,29±0,41	20,85±0,32*	19,24±0,25*	14,72±0,62*
ГПО, мкмоль/(г·мин)	0,63±0,08	0,54±0,06	0,49±0,02	0,38±0,07*
СОД, ед./г	23,58±0,51	24,17±0,45	15,88±0,24*	12,76±0,21*
КАТ, мкмоль/(мин·г)	69,39±0,93	68,58±1,04	50,31±0,49*	42,26±0,44*

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями контрольной группы.

Выявлено снижение активности ферментов АОС при коморбидных состояниях: активность КАТ была снижена в группе 2 на 27,5 % ($p < 0,05$), группе 3 – на 39,1 % ($p < 0,05$), в то же время активность СОД уменьшалась еще в большей степени, чем КАТ в группе 2 на 32,7 % ($p < 0,05$), группе 3 – на 45,9 % ($p < 0,05$). Аналогичные изменения были отмечены и при исследовании активности ГПО и ГР. Необходимо отметить, что при СД 2 типа наблюдалось достоверное снижение активности обоих ферментов тиолового цикла, что можно объяснить их гликозилированием, приводящим к нарушению нативной структуры. Все это свидетельствует о выраженных нарушениях обезвреживания не только свободных радикалов, но и реактивных молекул (пероксидов), которые могут значительно утяжелять течение заболеваний, что приводило к достоверному у таких больных повышению продуктов окислительной модификации биомолекул на 114,1% во второй группе и 181,6 % в третьей группе.

Выводы

Таким образом, изменения показателей ферментного звена АОС в РЖ и крови выражены значительно сильнее при коморбидных состояниях, особенно при СД 2 типа, что проявляется нарушением всех звеньев окислительного метаболизма в крови и РЖ со снижением потенциала эндогенной АОС, за счет существенного ингибирования ферментов всех линий антирадикальной защиты. Все вышеописанное указывает на увеличение рисков развития осложнений в пародонте при коморбидных состояниях и требует более тщательного контроля состояния системы неспецифической защиты в ротовой полости и превентивных мероприятий, направленных на коррекцию локальных нарушений в РЖ у пациентов с длительно текущей соматической патологией с целью предупреждения развития стоматологических осложнений.

Список литературы

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. Рекомендации. – СПб.: Фолиант, 2000. – 104 с.
2. Банченко Г.В. Сочетанные заболевания слизистой оболочки полости рта и внутренних органов. – М.: Медицина, 1979. – 190 с.
3. Быков И.М., Ладутько А.А., Есауленко Е.Е., Еричев И.В. Биохимия ротовой и десневой жидкости (учебное пособие). – Краснодар, 2008. – 100 с.
4. Воложин А.И. Патогенетические механизмы поражения пародонта при сахарном диабете // Стоматология нового тысячелетия: Сб. тезисов. – М.: Авиаиздат, 2002. – С. 130-131.
5. Гильмияров Э.М. Клинико-метаболическая база данных по хроническому генерализованному пародонтиту // Стоматология. – 2008. – № 5. – С.23-26.
6. Зяблицкая М.С., Мкртумян А.М. Роль полиморфизмов гена рецептора витамина D в этиопатогенезе пародонтита // Российский стоматологический журнал. – 2012. – № 5. – С.53-57.
7. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
8. Королюк М.А., Иванов Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.П. Метод определения активности каталазы //Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С.16-19.
9. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.И. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 2. – С.88-91.
10. Кочконян Т.С., Гаспарян А.Ф., Ладутько А.А., Быков И.М., Шалаева Г.В., Быкова Н.И. Процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы ротовой жидкости при различных степенях вторичной адентии // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – Т. 116, – № 2. – С.46-50.
11. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРГА, 2008. – 284 с.
12. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов //Лабораторное дело. – 1989. – № 4. – С. 19-21.

13. Ben-Zvi I., Green Y., Nakhoul F. Effects of Diabetes Mellitus, Chronic Renal Failure and Hemodialysis on Serum and Salivary Antioxidant Status // *Nephron Clin. Pract.* – 2007. – Vol. 105. – P. 114-120.
14. Horton A.L. Periodontal disease, oxidative stress, and risk for preeclampsia / A.L. Horton, K.A. Boggess, K.L. Moss et al. // *Periodontology.* – 2010. – Vol. 81, – № 2. – P. 199-204.
15. Mayer-Davis E.J. Type 2 diabetes in youth: epidemiology and current research toward prevention and treatment // *J. Am. Diet. Assoc.* – 2008. – Vol. 108, – N 4, Suppl 1. – P. S45-S51.

Рецензенты:

Лапина Н.В., д.м.н., профессор, доцент кафедры ортопедической стоматологии, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар;

Павлюченко И.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар.