

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ФЛЕГМОНАМИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Швец О.В., Гайворонская Т.В., Есауленко Е.Е.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: esaulenkoe@bk.ru

В работе представлена оценка изменений показателей, характеризующих состояние системы антиоксидантной защиты ротовой жидкости, на фоне развития флегмон челюстно-лицевой области и в динамике лечения. В результате проведенных исследований было определено увеличение общей антиоксидантной активности во 2-е сутки лечения на 60%, при этом исходное значение не отличалось от контрольного значения соответствующего параметра. На 6-е сутки терапии вновь был зарегистрирован значительный рост рассматриваемого показателя, составивший 94% от контроля. Определение уровня ТБК-реактивных продуктов показало также увеличенные на 42–67% значения их содержания в ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области. Активность ферментов системы антиоксидантной защиты изменялась разнонаправленно. На этапе поступления больных 2 групп в стационар отмечались увеличенная на 55% каталазная активность и сниженная активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы на 45%, 44% и 38% соответственно. При этом в процессе лечения отмечалось восстановление нормальных значений активности ферментов антирадикальной защиты. Представленные в работе данные указывают на развитие нарушений окислительного гомеостаза в ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области, характеризующихся интенсификацией свободнорадикальных повреждений биомолекул и дисбалансом ферментного звена системы антиоксидантной защиты, сохраняющихся в процессе лечения, что является показанием для дополнительного назначения метаболической терапии антиоксидантной направленности действия.

Ключевые слова: смешанная слюна, ротовая жидкость, флегмоны, челюстно-лицевая область, антиоксидантная система, окислительный стресс.

OXIDATIVE HOMEOSTASIS IN ORAL FLUID IN PATIENTS WITH PHLEGMONS OF THE MAXILLOFACIAL REGION

Shvets O.V., Gayvoronskaya T.V., Esaulenko E.E.

Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: esaulenkoe@bk.ru

The paper presents an assessment of changes in indicators characterizing the state of the antioxidant defense system of the oral fluid in patients with phlegmon of the maxillofacial region and in the dynamics of treatment. As a result of the studies, an increase in the total antioxidant activity by 60% on the 2nd day of treatment was determined, while the initial value did not differ from the control value of the corresponding parameter. On the 6th day of therapy, we registered a significant increase in the considered indicator, which amounted to 94% of the control. Determination of the level of TBA-reactive products also showed an increase in values by 42–67%. The activity of enzymes of the antioxidant defense system changed in different directions. At the stage of admission of patients in group 2 to the hospital, we noted an increase in catalase activity by 55% and a decrease in the activity of superoxidisimutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase by 45%, 44%, and 38%, respectively. At the same time, in the course of treatment, restoration of normal values of the activity of antiradical defense enzymes was noted. The data presented in this paper indicate the development of violations of oxidative homeostasis in the oral fluid of patients with phlegmons of the maxillofacial region, characterized by an intensification of free radical damage to biomolecules and an imbalance in the enzyme link of the antioxidant defense system that persists during treatment, which is an indication for additional metabolic therapy of antioxidant action.

Keywords: mixed saliva, oral fluid, phlegmon, maxillofacial area, antioxidant system, oxidative stress.

Нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса является ключевым патогенетическим звеном воспалительных процессов, характерных и для гнойных хирургических заболеваний челюстно-лицевой области [1]. С учетом наличия выраженных

изменений системы антиоксидантной защиты, продукции активных форм кислорода и других радикалов, интенсификации окислительных повреждений биомолекул, оценка маркеров окислительного стресса представляется перспективным направлением лабораторной диагностики в области мониторинга течения и оценки тяжести состояния больных [2]. Кроме того, метаболическая коррекция окислительных нарушений у больных потенциально может позволить повысить эффективность лечения, снизить сроки очищения и заживления гнойных ран, нивелировать вероятность развития осложнений. В частности, для антиоксидантной и антигипоксикантной терапии, подходящей для дезинтоксикации в условиях гнойных хирургических заболеваний, разработан ряд препаратов на основе янтарной кислоты и кофакторов энергетического обмена [3]. Для диагностики окислительного стресса разработано множество способов, основанных на определении содержания отдельных антиоксидантов или продуктов окислительных модификаций биополимеров, активности ферментов системы антирадикальной защиты [4]. Одной из сложностей лабораторной диагностики в данном случае является многокомпонентность системы неспецифической резистентности организма, когда изменение одного из показателей не всегда объективно отражает состояние всей системы. Для исключения подобных ошибок выполняют комплексный анализ максимального количества маркеров окислительного стресса, отражающих разные стороны его развития, или полагаются на интегральные показатели, такие как общая антиоксидантная активность или вычислительные параметры, включающие сразу несколько маркеров [5, 6]. В последнее время актуальным направлением является неинвазивная диагностика, основанная на определении биохимических показателей смешанной слюны (ротовой жидкости) или других биологических жидкостей организма. Показана возможность определения широкого спектра показателей для оценки состояния больных с соматическими заболеваниями, но очевидно, что основные перспективы связаны с исследованием местных патологических процессов при стоматологических заболеваниях. Химический состав ротовой жидкости сильно зависит от ряда параметров, таких как время сбора, наличие стимуляции саливации, прием пищи и питьевой режим, чистка зубов, употребление жевательных резинок, курение и иное, но особенно сильное влияние оказывает наличие воспалительных процессов в ротовой полости. Поэтому интерес представляет поиск закономерностей изменений ротовой жидкости при заболеваниях полости рта для разработки информативных и неинвазивных способов лабораторной диагностики [7, 8].

Цель исследования – оценка изменений показателей, характеризующих состояние системы антиоксидантной защиты ротовой жидкости, на фоне развития флегмон челюстно-лицевой области и в динамике лечения.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено с участием 20 больных флегмонами челюстно-лицевой области (2-я группа) разной локализации одонтогенного происхождения и 20 относительно здоровых добровольцев-доноров (1-я группа, контрольная). Больные проходили лечение на базе отделения челюстно-лицевой хирургии государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клиническая больница скорой медицинской помощи города Краснодара» министерства здравоохранения Краснодарского края. Лечение больных включало оперативное вмешательство, заключающееся во вскрытии гнойного очага, санировании и дренировании гнойной раны, медикаментозную терапию (антибиотикотерапию), симптоматическое лечение (использование нестероидных противовоспалительных средств). Ротовую жидкость у больных собирали в 1-й день – на момент поступления больного в стационар, до выполнения оперативного вмешательства; во 2-й день – на следующий день после оперативного разрешения гнойного воспалительного процесса, в 4-й и 6-й дни стационарного наблюдения. Сбор ротовой жидкости выполняли методом сплевывания в сухую чистую пробирку из полимерного материала без применения методов стимуляции саливации. Биоматериал собирали всегда в одно и то же время – в 10–11 часов утра – пик секреции слюны. С учетом особенностей патологического процесса и выполнения травмирующего оперативного лечения была высока вероятность попадания крови в состав смешанной слюны, однако для минимизации ее влияния на менее концентрированный состав жидкости полости рта старались собрать ротовую жидкость, лишенную следов крови. При наличии заметных на глаз следов крови образцы исключались из лабораторного этапа исследования.

Лабораторные биохимические исследования ротовой жидкости включали определение общей антиокислительной активности железоманганическим способом, содержания малонового диальдегида по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Последняя методика основана на образовании окрашенных продуктов (ТБК-реактивных продуктов, ТБК-РП) при реакции тиобарбитуровой кислоты с карбонильными продуктами окислительных модификаций липидов, основным из которых является малоновый диальдегид, поэтому часто данный показатель характеризуют просто как концентрация малонового диальдегида. Из ферментов системы антиоксидантной защиты определяли активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, каталазы и супероксиддисмутазы. Активность глутатионпероксидазы определяли, основываясь на способности использовать восстановленный глутатион, концентрацию которого определяли по реакции с дитиобиснитробензойной кислотой, в реакции с трет-бутил гидропероксидом [9]. Активность глутатионредуктазы оценивали по способности восстанавливать окисленную форму глутатиона, при этом регистрировали

снижение оптической плотности за счет расщепления НАДФН+Н⁺ [9]. Каталазную активность определяли по скорости разложения пероксида водорода, которую регистрировали по снижению оптической плотности реакционной смеси в УФ-области спектра при $\lambda=260$ нм. Активность супероксиддисмутазы оценивали по способности фермента ингибировать аутоокисление кверцетина, происходящее в условиях генерации супероксидного анион-радикала [10].

Статистическую обработку данных осуществляли с применением программы Stat Plus (Версия 7) для Windows, используемой в качестве надстройки к Microsoft Excel. Сравнение показателей выполняли с помощью непараметрических критериев, с учетом отличного от нормального характера распределения показателей. Для сравнения показателей 1-й и 2-й групп рассчитывали критерий Манна–Уитни, для сравнения показателей 2-й группы на разных сроках наблюдения – критерий Уилкоксона, при этом различия считали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование общей антиоксидантной активности ротовой жидкости железовосстанавливающим способом показало, на наш взгляд, неожиданные изменения у больных флегмонами челюстно-лицевой области. Обычно развитие окислительного стресса характеризуется снижением защитного потенциала антиоксидантной системы, что проявляется снижением антиокислительного потенциала крови, накоплением прооксидантных факторов и продуктов окислительных модификаций биомолекул, дисбалансом ферментного звена антирадикальной защиты. В ротовой жидкости было зарегистрировано увеличение анализируемого показателя во 2-е сутки лечения на 60%, при этом исходное значение, полученное на момент поступления больных в стационар, не отличалось от контрольного значения соответствующего параметра (рис. 1). В 4-е сутки исследования уровень общей антиоксидантной активности возвращался к исходным значениям и также не отличался от показателя контроля, однако на 6-е сутки терапии вновь был зарегистрирован значительный рост рассматриваемого показателя, составивший 94% от контроля. Таким образом, ни на одном из этапов исследования не было определено сниженного значения данного показателя, что можно попытаться объяснить активным вымыванием компонентов разрушаемых клеток и тканей в ходе воспалительного процесса. При этом с клеточным содержимым могут вымываться вещества, обладающие восстановительной активностью. Данное предположение косвенно подтверждается резким увеличением антиоксидантной активности после выполнения оперативного вмешательства, которое само по себе является сильным травмирующим фактором. Выявленный характер изменений затрудняет интерпретацию исследований антиоксидантного потенциала ротовой

жидкости у больных стоматологического профиля. Известно, что на фоне соматических и стоматологических заболеваний широкого спектра анализируемый показатель на местном уровне имеет тенденцию к снижению, что часто служит ключевым признаком окислительного стресса и тяжести патологического процесса. С учетом данных, представленных в нашем исследовании, следует более осторожно относиться к оценке антиоксидантной активности, которую иногда принимают за интегральный показатель. Может существенно помочь совместный анализ показателя не только ротовой жидкости, но и плазмы крови, т.е. анализ состояния системы антиоксидантной защиты на местном и системном уровнях.

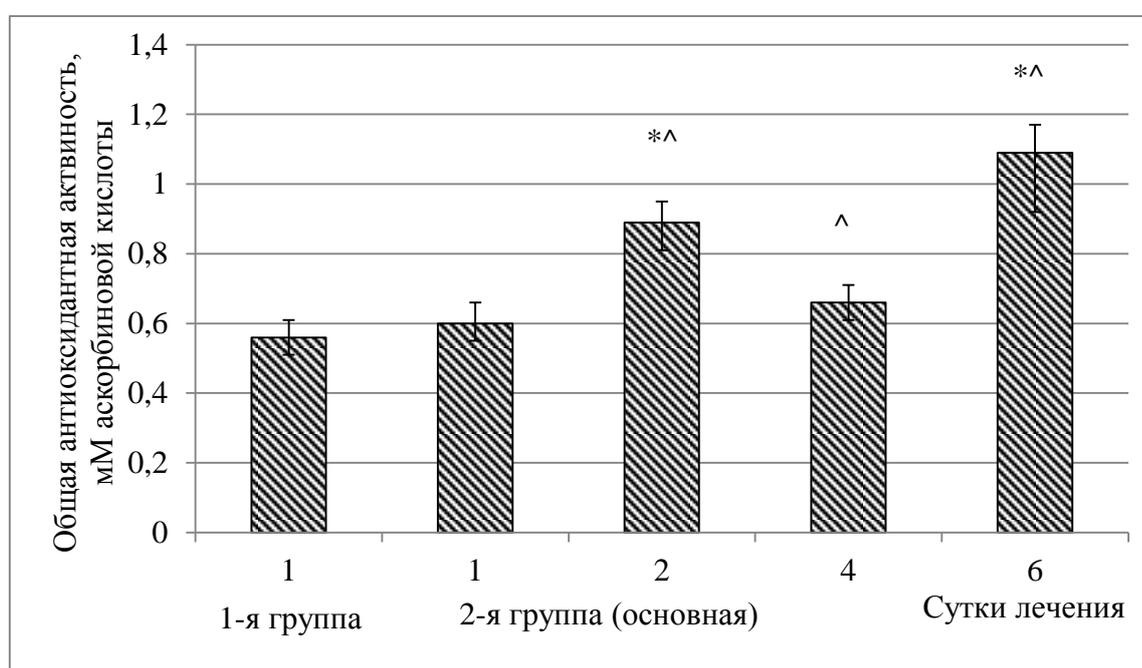


Рис. 1. Общая антиоксидантная активность ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области (Me (p0,25/p0,75))

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении значений показателя контрольной и основной групп, ^ – $p < 0,05$ при сравнении значений показателя в разные сроки лечения.

Определение уровня ТБК-реактивных продуктов показало увеличенные значения их содержания в ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области. Очевидно, что сниженного значения данного показателя относительно контрольной группы быть не может, поэтому его увеличение, в отличие от общей антиоксидантной активности – вполне ожидаемый результат. Данный результат может быть обусловлен как накоплением продуктов окислительных модификаций биомолекул в ротовой жидкости при интенсификации в ней

свободнорадикальных процессов, так и вымыванием продуктов оксидативного стресса из поврежденных тканей полости рта. На всех этапах нашего исследования уровень ТБК-реактивных продуктов в ротовой жидкости больных 2-й группы превышал контрольные значения аналогичного показателя на 42–67% без каких-либо статистически значимых тенденций к росту или снижению в процессе терапии (рис. 2).

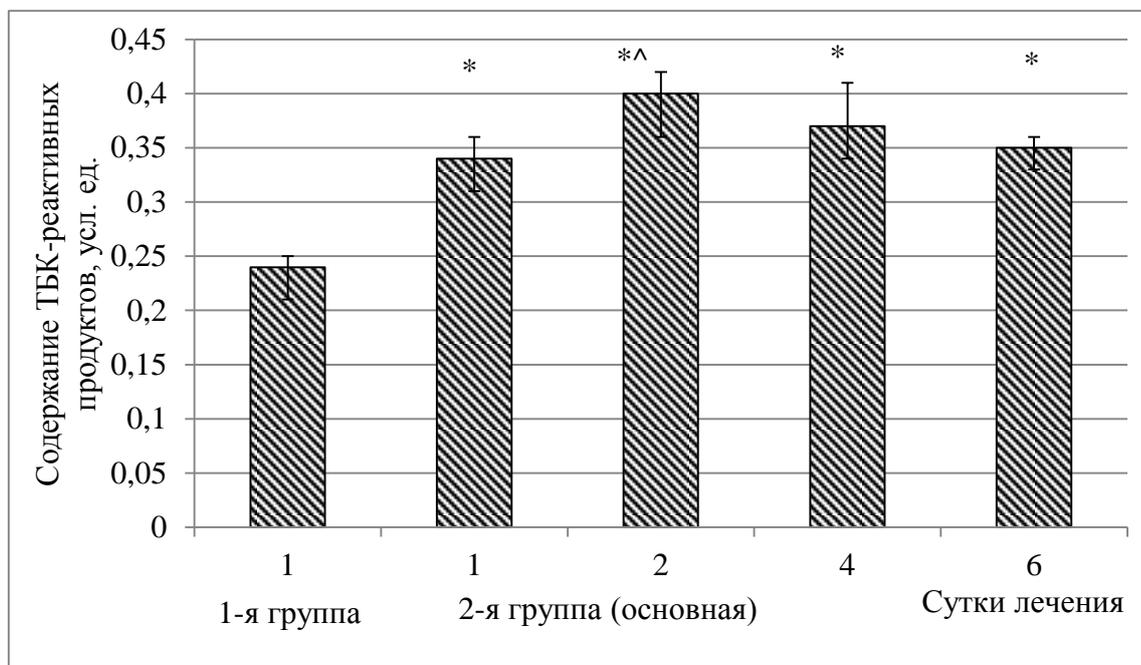


Рис. 2. Содержание ТБК-реактивных продуктов в ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области ($Me (p_{0,25}/p_{0,75})$)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении значений показателя контрольной и основной групп, ^ – $p < 0,05$ при сравнении значений показателя в разные сроки лечения.

Активность ферментов системы антиоксидантной защиты изменялась разнонаправленно. На этапе поступления больных 2-й группы в стационар отмечались увеличенная на 55% каталазная активность и сниженная активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы на 45%, 44% и 38% соответственно. Данные представлены относительно соответствующих показателей контрольной группы, составивших 18 мкмоль/(л*мин) для активности каталазы, 22% ингибирования окисления кверцетина для супероксиддисмутазной активности, 5,4 мкмоль/(л*мин) для активности глутатионпероксидазы, 15,7 мкмоль/(л*мин) для активности глутатионредуктазы (медианные значения). В процессе лечения активность глутатионпероксидазы не претерпевала существенных изменений и на протяжении всех 6 дней наблюдения оставалась ниже

контрольных цифр на 35–46%. Активность глутатионредуктазы на 27% увеличивалась на 4-е сутки лечения относительно исходного значения соответствующего показателя, однако оставалась сниженной по сравнению с контролем на 22%. Каталазная активность, увеличенная исходно, продолжала увеличиваться, достигая значений, в 2 раза превышающих контрольные, на 2-е сутки исследования. Однако на 4-е и 6-е сутки наблюдения уровень активности данного фермента снижался до уровня значения аналогичного показателя испытуемых лиц 1-й группы. Активность супероксиддисмутазы, сниженная исходно, возростала уже на 2-е сутки лечения, также достигая уровня значения соответствующего показателя контрольной группы.

Изменения активности показателей ферментного звена показали наличие признаков улучшения функционального состояния системы антиоксидантной защиты ротовой жидкости, что было незаметно при рассмотрении изменений общей антиоксидантной активности и содержания ТБК-реактивных продуктов, отсутствие которых после проведения традиционного лечения указывает на сохранение выраженных метаболических нарушений, характерных для оксидативного стресса.

Заключение

Представленные в работе данные указывают на развитие значительных нарушений окислительного гомеостаза в ротовой жидкости больных флегмонами челюстно-лицевой области, характеризующихся интенсификацией свободнорадикальных повреждений биомолекул и дисбалансом ферментного звена системы антиоксидантной защиты. В процессе проведения лечения по традиционной схеме, включающей оперативное вмешательство, санацию и дренирование гнойного очага, антибиотикотерапию и симптоматическое медикаментозное лечение, сохранялись выраженные проявления окислительного стресса, несмотря на признаки восстановления нормальных значений активности ферментов антирадикальной защиты. На наш взгляд, это служит существенным показанием для дополнительного назначения метаболической терапии антиоксидантной направленности действия, что может повысить эффективность терапии в целом. Другим важным результатом являются неоднозначные изменения общей антиоксидантной активности ротовой жидкости, затрудняющие интерпретацию данных лабораторных исследований. Показано, что рассматриваемый показатель может увеличиваться в ротовой жидкости на фоне окислительного стресса, поэтому для объективной оценки состояния систем поддержания окислительного гомеостаза целесообразно проводить комплексное определение показателей крови и смешанной слюны.

Список литературы

1. Кабанова А.А., Походенько-Чудакова И.О. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность ротовой жидкости у пациентов с одонтогенными флегмонами различной распространенности // *Стоматолог*. Минск. 2011. № 2 (2). С. 39-44.
2. Dursun E., Akalin F.A., Genc T., Cinar N., Erel O., Yildiz B.O. Oxidative stress and periodontal disease in obesity. *Medicine (Baltimore)*. 2016. Т. 95. № 12. P. e3136. DOI: 10.1097/MD.00000000000003136.
3. Гаврилюк Л.А., Похиленко А.В. Влияние антиоксидантной терапии на состояние ферментной редокс-системы глутатиона пациентов с флегмонами // *Научная дискуссия: вопросы медицины*. 2016. № 3 (34). С. 6-12.
4. Быков И.М., Попов К.А., Егорова И.А., Сторожук А.П. Оценка показателей тиолового метаболизма плазмы крови больных воспалительными заболеваниями органов малого таза при проведении антиоксидантной коррекции // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018. Т. 13. № 2. С. 402-406. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13062.
5. Bykov I.M., Berberidy N.P., Popov K.A., Ermakova G.A., Tsymbalyuk I.Yu., Esaulenko E.E., Denisova Ya.E., Azimov E.A. Comparison of the effectiveness of various sulphur-containing hepatoprotectors against chronic alcoholization. *Medical News of North Caucasus*. 2019. Т. 14, № 3. P. 523-527. DOI: 10.14300/mnnc.2019.14129.
6. Chaniotakis I., Charalampidis P.S., Gaitanis G., Kalfakakou V., Simos I., Evangelou A., Bassukas I.D. Serum anti-oxidative reserves during cellulitis: a pilot study. *Eur. J. Dermatol.* 2017. 27 (4). P. 431-433. DOI: 10.1684/ejd.2017.3045.
7. Быков И.М., Мелконян К.И., Алексеенко Е.А., Попов К.А. Перспективы неинвазивной диагностики нарушений свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при сахарном диабете 2 типа // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. № 3-4. С. 531-534.
8. Basov A.A., Akopova V.A., Bykov I.M. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2013. Т. 15. № 2. С. 84-86.
9. Popov K.A., Bykov I.M., Tsymbalyuk I.Yu., Bykov M.I., Sidorenko A.N., Storozhuk P.G., Ovsyannikov V.G., Pavlyuchenko I.I. Changes in state of the thiol linkages of an antioxidant system during ischemia and reperfusion, against a background of vascular exclusion in the rat liver. *Medical News of North Caucasus*. 2018. Т. 13. № 3. P. 525-529. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13096.
10. Карпищенко А.И. *Медицинские лабораторные технологии*. Справочник. СПб.: Интермедика, 2002. 600 с.