

ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТНОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ПАТОЛОГИИ ПАРОДОНТА И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С НОРМАЛЬНЫМ И НАРУШЕННЫМ УГЛЕВОДНЫМ ОБМЕНОМ

Басов А.А., Аكوпова В.А., Лапина Н.В.

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

В результате проведенных исследований ротовой жидкости при сочетанной патологии пародонта и ишемической болезни сердца с нормальным и нарушенным углеводным обменом выявлены нарушения в работе ферментного звена антиоксидантной системы ротовой полости, проявляющиеся снижением активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы, которые имели выраженные обратные корреляционные взаимосвязи с показателями клинического состояния пародонта (от -0,89 до -0,99, $p < 0,05$), что позволяет использовать ротовую жидкость для определения потенциала системы антиоксидантной защиты на местном уровне, а также при оценке с помощью неинвазивных лабораторных методов риска развития осложнений у больных с сердечно-сосудистой патологией, что позволит своевременно проводить коррекцию лечебных мероприятий и повысит эффективность мониторинга показателей метаболизма при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: пародонт, каталаза, глутатионпероксидаза, антиоксидантная система, ротовая жидкость.

RESULTS OF ANTIOXIDANT ENZYMES OF ORAL LIQUID PERIODONTAL PATHOLOGY AND CORONARY ARTERY DISEASE WITH NORMAL AND IMPAIRED CARBOHYDRATE METABOLISM

Basov A.A., Akopova V.A., Lapina N.V.

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

The studies of oral fluid with combined periodontal disease and coronary artery disease with normal and impaired carbohydrate metabolism revealed irregularities in the level of antioxidant enzyme system of the oral cavity, manifested by decreased activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, which had a significant inverse correlations with performance clinical periodontal status (from -0.89 to -0.99, $p < 0,05$), which allows the use of oral fluid to determine the capacity of the antioxidant defense system at the local level as well as in assessing the risk of complications in cardiovascular pathology noninvasive laboratory methods that allow for timely correction of therapeutic measures and increase the efficiency of monitoring indicators of metabolic diseases of the cardiovascular system.

Keywords: periodontal, catalase, glutathioneperoxidase, antioxidant system, oral fluid.

Введение

Нарушение в работе прооксидантно-антиоксидантной системы, нередко связанное с дисбалансом функционирования ее ферментного звена, приводит при многих заболеваниях к повышению интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО), что сопровождается формированием окислительного стресса (ОС), являющегося при патологии сердечно-сосудистой системы (ССС) одной из основных причин развития поздних осложнений [8, 13-16]. 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 [3, 12]. В ряде исследований показано, что

тяжесть и частота поражений тканей пародонта значительно возрастает у больных с сердечно-сосудистой патологией [2, 4], что обусловлено нарушениями в системе неспецифической защиты и ухудшением микроциркуляции. Принимая во внимание вышеизложенное, важным для определения ведущих лабораторных критериев представляется изучение взаимосвязи клинического состояния пациентов и показателей активности ферментов антирадикальной защиты (ФАРЗ) в крови и РЖ, которая позволит повысить эффективность применения неинвазивной диагностики при ишемической болезни сердца (ИБС) и сахарном диабете (СД) 2 типа. Известно, что для полноценной антиоксидантной протекции организма необходимо согласованное действие всех ФАРЗ, поэтому снижение их активности в условиях гипоксии при ИБС и СД 2 типа может иметь решающее значение в формировании дальнейшего повреждения клеточных структур, что связано с избыточным образованием свободных радикалов и реактивных молекул.

Целью настоящей работы была оценка взаимосвязи между дисбалансом функционирования ферментного звена АОС в РЖ и клиническим состоянием пародонта при ИБС и СД 2 типа.

Материалы и методы

В ходе выполнения работы было обследовано 75 человек, страдающих ИБС с нормальным и нарушенным углеводным обменом в сочетании с патологией пародонта, находившихся на лечении в отделении эндокринологии ГБУЗ «Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В.Очаповского» департамента здравоохранения Краснодарского края (г. Краснодар), МБУЗ «Городская поликлиника №7 города Краснодара» (г. Краснодар), отделении кардиологии 3 ГБУЗ «Клинический госпиталь для ветеранов войн» (г. Краснодар), ГБУЗ «Краевая консультативная поликлиника» (г. Краснодар).

В первую группу (n=25) включили 14 мужчин и 11 женщин (в возрасте $(M \pm m)$ – $71,6 \pm 1,8$ года) с нормальным углеводным обменом, страдающих патологией пародонта в сочетании с ИБС. Во вторую группу (n=25) включили 10 мужчин и 15 женщин (в возрасте $(M \pm m)$ – $61,5 \pm 2,6$ года) с нарушенным углеводным обменом, страдающих патологией пародонта в сочетании с ИБС. В третью группу (n=25) включили 9 мужчин и 16 женщин (в возрасте $(M \pm m)$ – $64,9 \pm 2,2$ года), страдающих патологией пародонта и СД 2 типа. В контрольную группу включили 25 человек (мужчин 12 и женщин 13, в возрасте $(M \pm m)$ – $56,3 \pm 8,7$ года) без патологии пародонта, не имеющих клинических и лабораторных признаков ИБС и СД 2 типа, соизмеримых по полу и возрасту с другими обследованными группами.

С целью повышения объективности определения клинического состояния тканей пародонта проводили ее оценку с помощью клинических индексов [7]. Состояние пародонта оценивали количественно с помощью комплексного периодонтального индекса (КПИ, П.А. Леус, 1988). Оценку нуждаемости в лечении болезней пародонта проводили с помощью

индекса, регистрирующего клинические признаки, которые могут подвергнуться обратному развитию (CRITN, ВОЗ, 1980), также использовали папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА, %), позволяющий судить о протяженности и тяжести гингивита (Parma S., 1960), выраженность воспаления оценивали по индексу кровоточивости десневой борозды (ИКД, Muhleman, 1971).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) в РЖ и гемолизате эритроцитов определяли по методу [10] и выражали в условных единицах, отнесенных к 1г белка РЖ или гемоглобина в крови. Определение активности каталазы (КАТ) в РЖ и гемолизате эритроцитов проводили колориметрическим методом [9], и выражали в мкмоль/ (мин • г белка) в РЖ или мкмоль / (мин • г Hb) в крови.

Определение активности глутатионпероксидазы (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, 5]. Определение активности глутатионредуктазы (ГР) в РЖ и гемолизате эритроцитов проводили с помощью GSH и восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН+H⁺), активность фермента выражали в мкмоль / (мин • г белка) в РЖ или мкмоль / (мин • г Hb) в крови [1, 11]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с методами, принятыми в вариационной статистике [6], с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008, достоверным считали различие при $p < 0,05$). Для оценки корреляционных взаимосвязей отдельных изучаемых параметров использовали коэффициент Пирсона (r).

Результаты и обсуждение

В ходе проведенных исследований установлено, что в группах 1, 2 и 3 наблюдались выраженные изменения клинических показателей, отражающих состояние пародонта (табл. 1). Оценивая количественно с помощью КПИ состояние ротовой полости, было выявлено, что наиболее значительные нарушения встречались в группе 3, которые на 69,8% превосходили показатели в группе 1 и на 10,4% — в группе 2, а значения контрольной группы были ниже этих значений в 27,3 раза ($p < 0,05$). Индекс CRITN оказался достаточно высоким в группе 2 и превышал показатели в группе 3 на 2,4%, в группе 1 — на 23,6%, а данные контрольной группы 4 — в 8 раз ($p < 0,05$). ИКД в группе больных СД 2 типа, отличающегося наиболее сильными нарушениями микроциркуляции тканей пародонта, превосходил данные в группе 2 на 16,4%, в группе 1 — на 73,3%, данные контрольной группы — в 11,5 раза ($p < 0,05$). ПМА индекс практически не отличался у пациентов в группах 2 и 3, и на 11,6% был выше, показателей группы 1 (табл. 1).

При анализе отношения клинических данных и длительности заболевания установлена

прямая корреляционная взаимосвязь, для которой коэффициенты корреляции составили: $r_{(\text{стаж заболевания})/(\text{КПИ, СРITN, ИКД ПМА})} = 0,85^*, 0,94^*, 0,82^*, 0,94^*$ соответственно (*- $p < 0,05$), что указывает на увеличение рисков развития осложнений в пародонте с увеличением стажа заболеваний ССС 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.

Изучение активности ферментов, регулирующих обмен тиоловых субстратов, показало, что в РЖ больных с патологией ССС определяется дисбаланс в работе ГПО и ГР (табл. 1): в группе 1 активность ГР была снижена на 6,7% ($p < 0,05$), активность ГПО – на 9,2% ($p < 0,05$), у больных 2-й группы активность ГР была меньше контрольных значений на 36,2% ($p < 0,05$), активность ГПО – на 37,3% ($p < 0,05$), в 3-й группе уменьшение активности ГР и ГПО составило 21,5% ($p < 0,05$) и 23,7% ($p < 0,05$) соответственно, что говорит о невозможности рециркуляции у таких больных не только тиоловых эндогенных антиоксидантов, но также и возможно нарушенной регенерации других классов низкомолекулярных субстратов с антиоксидантной активностью (фенольные, первичные амины, полиолы и др.), и, безусловно, является неблагоприятным предиктором развития осложнений у таких категорий больных.

Таблица 1

Показатели ферментного звена АОС и клиническая характеристика пациентов с патологией пародонта и ИБС с нормальным и нарушенным углеводным обменом (M±m)

показатели	группа 4	группа 1	группа 2	группа 3
Длительность заболевания, лет	0,00	10,26±1,13*	12,81±1,34*	8,45±0,98*
индекс КПИ, код	0,14±0,05	2,25±0,39*	3,46±0,85*	3,82±0,58*
индекс СРITN, код	0,32±0,11	2,08±0,24*	2,57±0,29*	2,51±0,43*
ПМА, %	9,74±1,82	49,14±3,62*	53,61±4,95*	54,86±3,09*
ИКД, усл. ед.	0,21±0,09	1,39±0,20*	2,07±0,38*	2,41±0,15*
ГР, мкмоль/(г*с)	33,41±0,68	31,16±0,49*	21,30±1,67*	26,22±0,96*
ГПО, мкмоль/(г*мин)	49,83±1,62	45,24±0,75*	31,26±0,59*	38,01±1,47*
СОД, ед./г	23,36±1,43	15,98±0,71*	12,19±0,52*	13,48±0,45*
КАТ, мкмоль/(мин*г)	65,29±1,51	50,72±1,06*	32,86±0,93*	41,67±0,92*

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

При сравнительном анализе активности ферментного звена в РЖ было выявлено снижение активности КАТ и СОД в крови обследованных больных: в группе 1 активность КАТ в РЖ

снижалась на 22,3% ($p < 0,05$), активность СОД – на 31,6% ($p < 0,05$), в группе 2 активность КАТ снижалась на 49,7% ($p < 0,05$), активность СОД – на 47,8% ($p < 0,05$), в группе 3 активность КАТ снижалась на 36,2% ($p < 0,05$), активность СОД – на 42,3% ($p < 0,05$), что позволяет говорить о наличии в ротовой полости собственной локальной АОС, позволяющей автономно регулировать с помощью ФАРЗ 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.

При анализе взаимосвязей показателей функционирования ферментного звена АОС в РЖ и клинического состояния пародонта было установлено, что наибольшая обратная корреляция была между клиническими индексами и показателями активности антирадикальных ферментов первой (СОД) и второй (КАТ) линий защиты: $r_{\text{СОД}/(\text{КПИ, СРПН, ИКД ПМА})} = -0,98^*, -0,99^*, -0,96^*, -0,97^*$ соответственно ($*-p < 0,05$), $r_{\text{КАТ}/(\text{КПИ, СРПН, ИКД ПМА})} = -0,94^*, -0,93^*, -0,92^*, -0,89^*$ соответственно ($*-p < 0,05$). Полученные результаты указывают на ведущее значение ферментов регулирующих утилизацию активных форм кислорода (супероксидного анион-радикала и пероксида водорода), как в реализации локальных защитных механизмов при ОС, предупреждающих развитие поздних осложнений при патологии ССС, так и в поддержании вспомогательных реакций местного иммунитета.

Выводы

Таким образом, полученные результаты состояния локальной системы неспецифической защиты организма указывают на преобладание дисбаланса в работе ФАРЗ в РЖ при ИБС с нормальным и нарушенным углеводным обменом, что связано с выраженным снижением емкости АОС и усилением процессов перекисного окисления биомолекул. Выявленные корреляционные взаимосвязи показателей клинических индексов состояния пародонта и активности ФАРЗ позволяют рекомендовать последние для включения в неинвазивный алгоритм диагностики ОС при сочетанной стоматологической и сердечно-сосудистой патологии. Изменения показателей АОС в РЖ показывают необходимость дифференцированного подхода при коррекции метаболических нарушений в ротовой полости у пациентов с этими патологическими состояниями, в связи с этим целесообразно назначение в дополнение к традиционной стоматологической терапии местных препаратов с антиоксидантной направленностью, в том числе тиолсодержащих средств, позволяющих уменьшить повреждающее действие активных форм кислорода на слизистую оболочку ротовой полости.

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. – 104с.
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.–100с.
4. Воложин А.И. Патогенетические механизмы поражения пародонта при сахарном диабете //Стоматология нового тысячелетия: Сб. тезисов. – М.: Авиаиздат, 2002. – С.130-131.
5. Гаврилова А.В., Хмара Н.Ф. Определение активности глутатионпероксидазы при насыщающих концентрациях субстрата // Лабораторное дело.– 1986. – № 12. – С. 721-724.
6. Герасимов А.Н. Медицинская статистика (учебное пособие) //Москва, «Медицинское информационное агентство». – 2007. – 475с.
7. Григорьян А.С., Грудянов А.И., Рабухина Н.А., Фролова О.А. Болезни пародонта: патогенез, диагностика, лечение. – М., 2004. – 320 с.
8. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет в пожилом возрасте: диагностика, клиника, лечение. Практическое руководство для врачей. Москва. – 2011. – 90 с.
9. Королюк М.А., Иванов Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.П. Метод определения активности каталазы //Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С.16-19.
10. 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.
11. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов //Лабораторное дело.– 1989.- № 4.– С.19-21.
12. 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.
13. Garcia-Caballero M, Tinahones FJ, Cohen RV, editors. Diabetes surgery.fst ed. Madrid: McGraw Hill. – 2010. – P.140-141.
14. Laihia J.K., Jansen C.T., Ahotupa M. Lucigenin and linoleate enhanced chemiluminescent assay for superoxide dismutase activity // Free Radic. Biol, and Med. – 1993. – Vol. 14. – P.457-461.
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, N4, Suppl 1.–P.S45-S51.

16. StoupeL E., Jottrand M. La mort subite Cardiaque / Rev. med. Bruxelles.2001. – V.22, N6. – P.488-496.

Рецензенты:

Каде А.Х., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Краснодар.

Быков И.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Краснодар.