УДК 616.316-008.8:616.12.005.4

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И СОСТОЯНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С НАРУШЕННЫМ УГЛЕВОДНЫМ ОБМЕНОМ

Быков И.М., Басов А.А., Еремина Т.В., Хвостова Т.С., Быкова Н.И.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, e-mail: son_sunytch@mail.ru

Полученные в результате исследования результаты указывают на существенные нарушения гуморальной продукции ряда иммуноглобулинов в ротовой полости и крови у пациентов с ишемической болезнью сердца с нарушенным углеводным обменом. Отмечено повышение в ротовой жидкости иммуноглобулинов А и М в 2,06 в 3,67 раза соответственно (в сравнении с показателями контрольной группы $p<0,01$), при этом в крови содержание иммуноглобулинов А и М возрастало в 2,78 ($p<0,01$) и 1,19 ($p>0,05$) раза соответственно, что указывает на наличие локальных и системных нарушений образования иммуноглобулинов. Также выявлено снижение уровня глутатиона в ротовой жидкости и крови обследованных пациентов 32,1% на 28,9% соответственно ($p<0,05$), что происходило на фоне снижения активности ключевых ферментов (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), регулирующих обмен тиоловых соединений в организме, на местном и системном уровне в среднем на 49,1-51.9%. Полученные результаты показывают необходимость целенаправленной комплексной коррекции выраженных нарушений в работе иммунного и антиоксидантного звеньев системы неспецифической защиты в крови и ротовой полости у пациентов с пародонтитом и ишемической болезнью сердца с нарушенным углеводным обменом.

Ключевые слова: иммуноглобулины, ишемическая болезнь сердца, ротовая жидкость, глутатион, антирадикальная защита

PRODUCT FEATURES IMMUNOGLOBULIN STATE ANTI-RADICAL PROTECTION IN ORAL LIQUID AND BLOOD ISCHEMIC HEART DISEASE AND IMPAIRED CARBOHYDRATE METABOLISM

Bykov I.M., Basov A.A., Eremina T.V., Hvostova T.S., Bykova N.I.

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

The resulting research results indicate significant violations humoral production of some immunoglobulins in the mouth and blood of patients with coronary heart disease and impaired carbohydrate metabolism. An increase in the oral fluid immunoglobulins A and M to 2.06 and 3.67 times respectively (in comparison with control group $p<0,01$), wherein the content in the blood immunoglobulins A and M increased to 2.78 ($p<0.01$) and 1.19 ($p>0.05$) times, respectively, indicating the presence of local and systemic disorders formation of immunoglobulins. Also showed reduced levels of glutathione in the oral fluid and blood of patients surveyed 32.1% and 28.9%, respectively ($p<0,05$), which was accompanied by decreasing the activity of key enzymes (glutathione peroxidase and glutathione reductase) that regulate the exchange of thiol compounds in the body at the local and systemic level on average 49.1-51.9%. The results show the need for purposeful complex correction marked disturbances in the immune system and antioxidant units nonspecific protection in blood and oral cavity in patients with periodontitis and coronary heart disease and impaired carbohydrate metabolism.

Keywords: immunoglobulins, coronary heart disease, oral fluid, glutathione, antiradical protection

Медико-социальная значимость ишемической болезни сердца (ИБС) обусловлена не только широкой распространенностью данной патологии среди населения, но и высокой частотой развития различных осложнений, сопровождающихся повреждением многих органов и систем, нередко приводящих к неблагоприятным исходам, при этом в последние годы отмечено увеличения частоты встречаемости ИБС в сочетании с нарушениями углеводного обмена, в связи с чем проблема своевременного выявления и коррекции нарушений системы неспецифической защиты при стоматологических заболеваниях в сочетании с сердечно-сосудистой патологией становится все более актуальной и требует разработки новых лабораторных подходов в диагностике и мониторинге эффективности проводимой терапии.

Благодаря последним достижениям в биохимии и стоматологии продолжают со-

вершенствоваться и внедряться в клиническую практику лабораторные методы, позволяющие осуществлять неинвазивную диагностику соматических и стоматологических заболеваний с помощью исследования показателей в ротовой жидкости (РЖ), что существенно расширяет диагностические возможности и позволяет более эффективно контролировать состояние пациентов при сочетанной патологии [5].

Исследования разных лет содержат доказательства существенных изменений иммунного статуса у больных с генерализованным пародонтитом: снижение содержания Т-лимфоцитов в крови, уровня Т-хелперов (CD4) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8), резкий подъем содержания в крови естественных киллеров (CD16), снижение уровня В-лимфоцитов, накопление в крови иммуноглобулинов класса G, С3-фракции комплемента и иммунных комплексов, снижение уровня иммуноглобулина А. Аналогичные иммунологические дисфункции выделены и в патогенезе атеросклероза и связанных с ним заболеваний, в частности, ишемической болезни сердца в сочетании с нарушениями углеводного обмена.

Другой не менее важной причиной прогрессирования осложнений при ИБС с нарушенным углеводным обменом является снижение потенциала антирадикальной защиты ведет к увеличению образования активных форм кислорода (АФК), роль которых в развитии сердечно-сосудистой патологии несомненна [4, 7], в том числе доказано, что супероксидный анион-радикал, а также пероксид водорода являются индукторами повреждения сосудистых гладкомышечных клеток и вызывают сосудистую дисфункцию. Усиленное образование свободных радикалов в сосудах было обнаружено при моделировании сердечно-сосудистой патологии, что обусловлено генерацией супероксидного анион-радикала в эндотелии, адвентиции и в гладкой мышце сосудов.

Наиболее уязвимыми для воздействия АФК являются как свободные серосодержащие аминокислоты, так и петидно-белковые SH-группы, окисление которых требует на 1-2 порядка более низких концентраций оксиданта, что отражается на функциональной активности белков, активные центры которых часто содержат такие аминокислоты. Следствием такой модификации аминокислот в белках является нарушение не только первичной, но вторичной и третичной структуры, что приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы в зависимости от аминокислотного состава. Известно, что сочетание кардиальной и эндокринной патологии считается прогностически неблагоприятным вследствие взаимного отягощения течения заболеваний и быстрого развития острых и хронических осложнений [6].

В этой связи представляется актуальным исследование количественного состава гуморальных факторов защиты как на системном (в периферической крови), так и на локальном (в РЖ) уровнях при ИБС в сочетании с нарушениями углеводного обмена (при сахарном диабете 2 типа).

Материалы и методы исследования

Обследование пациентов и забор материала проводили на клинических базах: отделения эндокринологии ГБУЗ "Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В.Очаповского" министерства здравоохранения Краснодарского края (г. Краснодар), МБУЗ "Городская поликлиника №7 города Краснодара" (г. Краснодар), отделения кардиологии № 3 ГБУЗ "Клинический госпиталь для ветеранов войн" (г. Краснодар), ГБУЗ "Краевая консультативная поликлиника" (г. Краснодар). Материалом для исследования были кровь и РЖ больных с ИБС с нарушенным углеводным обменом (n=25, 10 мужчин и 15 женщин в возрасте (M±m) – 61,5±2,6 года), имеющих клинические признаки пародонтита, контрольную группу составили 20 человек (12 мужчин и 13 женщин, в возрасте (M±m) – 56,3±8,7 года), без ИБС, нарушений углеводного обмена и клинической картины пародонтопатии. В крови и РЖ определяли ферментные (глутатионредуктаза (ГР), глутатионпероксидаза (ГПО)) и неферментные (глутатион) показатели антиоксидантной системы (АОС), а также содержание иммуноглобулинов А, М, G, характеризующих состояние местного иммунитета.

Активность ГПО определяли по уровню израсходованного в результате реакции окисления восстановленного глутатиона. Оставшийся после реакции восстановленный глутатион определяли с помощью 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты (реактив

Эллмана). Активность ГПО выражали в мкмоль / (мин • г белка) или мкмоль / (мин • г Hb). [1].

Активность фермента ГР измеряли по степени окисления (НАДФН+Н+) в ходе реакции восстановления окисленного глутатиона при длине волны 340 нм. Активность ГР выражали в мкмоль / (мин • г белка) или мкмоль / (мин • г Hb) [1].

Определение глутатиона проводили на основании его взаимодействия с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой. Полученные результаты выражали в мкмоль/г общего белка РЖ и мкмоль/г гемоглобина (Hb), содержащегося в гемолизате эритроцитов [1].

Определение иммуноглобулинов A, G, M человека проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) по методу [10].

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 исследования и их обсуждение

При изучении активности ферментов, регулирующих обмен тиоловых субстратов, было установлено, что в крови больных с ИБС с нарушенным углеводным обменом определяется дисбаланс в работе ГПО и ГР: активность ГПО была снижена на 51,2% ($p<0,05$), активность ГР – на 49,1% ($p<0,05$). Полученные данные подтверждаются сниженным содержанием в крови глутатиона, который был ниже контрольных значений на 28,9% ($p<0,05$), что указывает на существенное падение восстановительного потенциала низкомолекулярного звена АОС и 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 соавт.), и, безусловно, является неблагоприятным предиктором развития осложнений стоматологического и соматического характера [9].

Снижение тиоловых групп низкомолекулярного звена АОС приводит к интенсификации процессов свободнорадикального окисления, которые повреждают в крови, прежде всего, плазменные липопротеины, представляющие собой сложные комплексные соединения [8], поэтому своевременное использование в комплексной терапии препаратов с антиоксидантной направленностью представляется целесообразным у этих категорий больных [2, 3].

Аналогичные изменения активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы отмечены и в ходе исследований изменения в РЖ, при этом они были выражены даже в большей степени, чем в крови, что говорит о потенциальной возможности использования неинвазивных методов диагностики нарушений окислительного метаболизма при ИБС с нарушенным углеводным обменом, основанных на изучении показателей РЖ. Уровень глутатиона на фоне такого дисбаланса ферментов АОС был снижен на 32,1% ($p<0,05$). Подобный подход позволит более рационально проводить мониторинг их состояния в амбулаторных условиях.

При изучении иммунологического звена системы неспецифической защиты установлено отсутствие достоверных изменений содержания в РЖ иммуноглобулина G, тогда как концентрация секреторного иммуноглобулина A достоверно превышала уровень контрольной группы в 2,06 раза ($p<0,01$). Также отмечено повышение в РЖ иммуноглобулина M в 3,67 раза (в сравнении с показателями контрольной группы $p<0,01$), при этом в крови содержание иммуноглобулинов A и M возрастало в 2,78 ($p<0,01$) и 1,19 ($p>0,05$) раза соответственно, что указывает на наличие локальных и системных нарушений образования иммуноглобулинов. Характер изменения иммуноглобулинов основных классов при заболеваниях пародонта у больных ИБС с нарушенным углеводным обменом во многом обусловлен биологическим объектом исследования: на локальном уровне наиболее выраженные изменения связаны с иммуноглобулином M. Следует отметить также относительно низкую диагностическую значимость определения иммуноглобулина G на локальном уровне при патологии сердечно-сосудистой системы.

На основании проведенных экспериментов необходимо отметить, что большее ди-

агностическое значение для оценки уровня окислительного стресса и дисбаланса местного иммунитета в организме имеет определение в РЖ глутатиона, иммуноглобулинов М и А в наибольшей степени отражающих тяжесть патологического процесса у пациентов при сочетанном течении пародонтита и ИБС с нарушенным углеводным обменом.

Заключение

Таким образом, устойчивость организма к окислительному повреждению определяется организованной, взаимодополняющей работой всех механизмов защиты от АФК. Можно сказать, что, судя по полученным результатам, у больных ИБС с нарушенным углеводным обменом имеется выраженная разобщенность функционирования ферментов антирадикальной защиты, приводящее в свою очередь к снижению антиоксидантного потенциала низкомолекулярного звена АОС, что проявляется, прежде всего, в уменьшении содержания глутатина во всех биологических жидкостях.

Следует отметить сочетанное нарушение в работе иммунного и антиоксидантного звеньев системы неспецифической защиты при ИБС с нарушенным углеводным обменом. На основании полученных результатов, можно сказать, что изучение ведущих показателей ферментного и неферментного звеньев АОС в РЖ, а также иммуноглобулинов А и М позволяет достаточно точно оценивать потенциал неспецифической защиты организма, что может быть использовано в диагностическом алгоритме для неинвазивной диагностики окислительного стресса и иммунологической дисфункции при ИБС с нарушенным углеводным обменом.

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. Басов А.А., Быков И.М. Сравнительная характеристика антиоксидантного потенциала и энергетической ценности некоторых пищевых продуктов // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 77-80.

3. Быков И.М., Павлюченко И.И., Луговая И.А., Басов А.А., Федосов С.Р. Сравнительная антиоксидантная емкость некоторых отечественных и импортных чайных напитков // Успехи современного естествознания. 2005. № 10. С. 40.

4. Губарева Е.А., Каде А.Х., Павлюченко И.И., Быков И.М., Зингилевский К.Б., Басов А.А., Макарова М.О., Старицкий А.Г., Борисенко В.Г. Прогностическая значимость определения активности ферментов антирадикальной защиты у больных с острым инфарктом миокарда // Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – № 3-4. – С. 104-106.

5. Литвинова М.Г., Басов А.А., Быков И.М. Показатели свободнорадикального окисления в крови и ротовой жидкости у больных при ишемической болезни сердца и сахарном диабете 2-го типа // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 3. – С. 94-98.

6. Павлюченко И.И., Басов А.А., Быков И.М., Орлова С.В. Интегральные методы оценки уровня эндогенной интоксикации и перекисного окисления биомолекул при острых и хронических заболеваниях // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 551-554.

7. Chui P.C., Guan H.P., Lehrke M., Lazar M.A. PRARy regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1 // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 2244-2256.

8. Furnkranz A., Schober A., Bochkov V.N. et. al. Oxidized phospholipids trigger atherogenic inflammation in murine arteries // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2005. – Vol. 25. – P. 633-641.

9. Li S., Zheng M.Q., Rozanski G.J. Glutathione homeostasis in ventricular myocytes from rat hearts with chronic myocardial infarction // Exp.Physiol. – 2009. – Vol. 94, N 7. – P. 815-824.

10.Mancini G., Carbonara A., Heremans G. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. // Immunochemistry. – 1965. – V.2., N3. – P.235-254.