

СОСТОЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ВТОРИЧНОЙ АДЕНТИИ

Корочанская С.П., Гизей Е.В., Совмиз М.М., Горкунова А.Р.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, e-mail: Svetlana61med@.yandex.ru

Изучено состояние компонентов антирадикальной и антибактериальной защиты ротовой жидкости при вторичной полной и частичной адентии. Установлено, что вторичная адентия вызывает дисбаланс в работе ферментативного звена антиоксидантной системы вследствие снижения активности супероксиддисмутазы, увеличения активности каталазы, роста коэффициента КА/СОД и создает угрозу развития окислительного стресса. Выявлено ослабление антибактериальной функции ротовой жидкости, о чем свидетельствует изменения показателей локального иммунитета и неспецифической резистентности ротовой полости (снижение содержания sIgA, увеличение содержания IgG и IgM, падение активности лизоцима).

Ключевые слова: вторичная адентия, ротовая жидкость, антиоксидантная защита, антибактериальная защита, каталаза, СОД, иммуноглобулины, лизоцим

STATE OF THE COMPONENTS OF ANTIRADICAL AND ANTIBACTERIAL PRO- TECTION OF THE ORAL FLUID IN SECONDARY ADENTIA

Korochanskaya S.P., Gizey E.V., Sovmiz M.M., Gorkunova A.R.

Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: Svetlana61med@.yandex.ru

We studied the condition of the components of antiradical and antibacterial protection of the oral fluid in secondary adentia partial and edentulous. It was found that secondary adentia cause disbalance in the work of enzymic link of antioxidant system in the course of decreased superoxide dismutase activity, increased catalase activity, growth coefficient KA / SOD and poses a threat to the development of oxidative stress. Weakening of antimicrobial function of the oral fluid was revealed as evidenced by changes in index local immunity and nonspecific resistance of the oral cavity (decrease in sIgA, increase in IgG and IgM, fall in activity of lysozyme).

Keywords: secondary adentia, oral fluid, antioxidant protection, antibacterial protection, catalase, SOD, immunoglobulins, lysozyme

При изучении метаболических процессов, протекающих в зубочелюстной системе, особое значение приобретает биохимическое исследование РЖ – смешанной слюны, которая омывает зубы и слизистую оболочку полости рта, является поставщиком различных соединений, влияющих на состояние зубов и гомеостаз ротовой полости, а также отражает метаболические сдвиги, протекающие в зубочелюстной системе [2].

Адентия как частичная, так и полная, согласно литературным данным [1,3], вызывает количественные и качественные изменения ротовой жидкости

В последние годы в патогенезе заболеваний ротовой полости повышенное внимание

уделяется нарушению свободнорадикального окисления (СРО) - генерации активных форм кислорода (АФК). Одним из основных способов неспецифической защиты жизнеспособности является устойчивость живых клеток к свободнорадикальному повреждению [7]. Важную роль в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия играют ферментативные антиоксиданты, которые являются важным звеном защиты от потенциально опасных активных форм кислорода.

Цель исследования: изучить показатели антиоксидантной и антибактериальной защиты ротовой жидкости пациентов с различной степенью адентии.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 48 пациентов с вторичной адентией различной степени без выраженной соматической патологии в возрасте от 20 до 69 лет и 20 практически здоровых людей с интактными зубными рядами (контрольная группа). Все пациенты были разделены на 3 группы. I группу составили пациенты с вторичной частичной адентией, у которых отсутствовало не более 3 зубов (20 человек, средний возраст $33,5 \pm 2,5$ лет); II группу составили лица с отсутствием 4-10 зубов (18 человек, средний возраст составил $53,4 \pm 2,9$ года); III клиническая группа – пациенты с полным отсутствием зубов на верхней и нижней челюстях (10 человек, средний возраст $61,5 \pm 1,98$ года). На каждого пациента, включенного в исследование, была заведена специальная карта обследования, в которую вносились все данные клинического, рентгенологического и лабораторного (биохимического) исследования.

Биохимическим материалом исследования являлась нестимулированная ротовая жидкость (РЖ). Взятие образцов ротовой жидкости у пациента осуществлялось во время максимальной секреции слюны в утренние часы (с 9 до 11 часов) натошак или через 1,5-2 часа после приема пищи. За один час перед взятием ротовой жидкости пациентом осуществлялось полоскание рта дистиллированной водой. Перед сбором ротовой жидкости исключали факторы, влияющие на секрецию слюнных желез (физические нагрузки, эмоциональный стресс, жевательные резинки, курение) [1]. Полученную ротовую жидкость центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 15 минут. Для дальнейшего исследования использовали как супернатант, так и осадок.

Определение иммуноглобулинов (sIgA, IgG, IgM) в ротовой жидкости наблюдаемых пациентов проводили по методу NagayanS. [5], оценку содержания иммуноглобулинов проводили турбидиметрическим методом, основанным на фотометрической оценке рассеяния света образующимися комплексами "антиген-антитело", с использованием стандартных диагностических наборов (козьи моноклональные антитела к sIgA, IgG, IgM для турбидиметрической оценки иммуноглобулинов) компании Biosystems 3.A. Расчет результатов анализа производили по калибровочной кривой, построенной на основании значений абсорбции для каждой концентрации калибратора конкретного класса иммуноглобулина. Концентрация

определяемого иммуноглобулина высчитывали при помощи интерполяции значения абсорбции пробы ротовой жидкости на калибровочную кривую.

Об активности лизоцима судили по его способности разрушать лиофилизированные клетки *Micrococcus Lysodeikticus*. Степень мутности раствора, полученного после смешивания культуры *M. Lysodeikticus*, растворенного в 0,067 М фосфатном буфере (pH = 6,2), и супернатанта ротовой жидкости, пропорциональна количеству лизоцима в образце. Активность фермента выражали в мг/мл ротовой жидкости [4].

Активность СОД определяли по методу В.А. Костюка и соавт. [5]. Метод основан на способности СОД тормозить реакцию аутоокисления кверцетина за счет дисмутации супероксидного анион-радикала, образующегося при окислении кверцетина в присутствии N,N,N1,N1-тетраметилэтилендиамина в аэробных условиях. Удельную активность СОД выражали в условных единицах (усл. ед.) на 1г белка ротовой жидкости.

Активность каталазы определяли колориметрическим методом по М.А. Королюку и соавт. [5]. Принцип метода основан на способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Об активности каталазы судили по количеству перекиси водорода, не разрушенной ферментом.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с методами, принятыми в вариационной статистике с использованием программы STATISTICA версия 6.0. О достоверности отличий средних величин изучаемых показателей сравниваемых групп судили по величине t-критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно полученным данным (табл. 1), в ротовой жидкости пациентов как с частичной, так и с полной адентией наблюдались значительные отклонения активности ферментов антирадикальной защиты.

Таблица 1

Активность ферментов антирадикальной защиты ротовой жидкости при разных видах вторичной адентии ($M \pm m$)

Группы обследованных пациентов	n	Активность СОД (ед/г белка)	Активность каталазы (мкмоль/ мин/гбелка)	Коэффициент Кат/СОД
К	20	22,95± 0,93	63,1±1,48	2,8±0,1
I	20	17,98 ±0,39*	71,49±0,33*	4,0±0,1*
II	18	17,1±0,18*	75,72±0,35*	4,4±0,05*
III	10	15,15±0,36*	77,23±0,56*	5,1±0,13*

Примечание: * - достоверность отличий от контроля ($p < 0,001$ во всех случаях).

Из представленных данных следует, что активность этих ферментов в ротовой жидкости пациентов, страдающих вторичной адентией различной степени выраженности, изменялась разнонаправлено по сравнению с контрольной группой. Так, активность супероксиддисмутазы у лиц контрольной группы составляла $22,95 \pm 0,39$ ед/г белка, а каталазы $63,1 \pm 1,48$ мкмоль/мин/г белка..

Потеря 1-3 зубов сопровождалась увеличением активности каталазы на 13,2%, активность СОД у этой группы пациентов наоборот снижалась на 21,7%. При вторичной адентии, обусловленной потерей от 4 до 10 зубов динамика изменений ферментативной активности СОД сохранялась, активность каталазы возрастала на 20% по сравнению с КА пациентов с интактным зубным рядом, падение активности СОД составляло 25,5%. Еще резче эти изменения проявлялись у пациентов с полной адентией, при этом КА достигала $77,23 \pm 0,56$ мкмоль/ мин/г, что оказалось на 22,2% выше, чем у пациентов контрольной группы, активность СОД в этих условиях падала до $15,15 \pm 0,36$ ед/г, т.е. на 34% соответственно.

Разбалансированность системы АРЗ приводила к изменению коэффициента КА/СОД. Он возрастал тем резче, чем более выражены были отклонения в ферментативном звене антиоксидантной системы. Максимальной величины коэффициент достигал у пациентов с полной адентией, где отмечены самые значительные отклонения в активности каталазы и СОД. Изменения активности ферментов антирадикальной защиты в условиях вторичной адентии различной выраженности свидетельствуют о серьезном дисбалансе в работе фермента-

тивного звена антиоксидантной системы [9]. Ингибирование СОД в ротовой жидкости пациентов с вторичной адентией создает условия для накопления в полости рта активных форм кислорода (АФК), при этом вероятны конформационные перестройки молекулы фермента, приводящие к снижению его функциональных свойств [10]. Увеличение активности каталазы в ротовой жидкости пациентов в этих условиях может быть обусловлено как усилением синтеза фермента, так и его повышенной секрецией в ротовую жидкость. Характер изменений активности ферментов антирадикальной защиты в условиях вторичной адентии различной выраженности свидетельствует о серьезном дисбалансе в работе ферментативного звена антиоксидантной системы. Наши данные согласуются с литературными данными [8].

К наиболее информативным методам оценки состояния местного иммунитета в полости рта относится определение компонентов иммунной системы организма. Важную роль в защите слизистой оболочки полости рта от повреждающих факторов, является секреторный иммуноглобулин А (slgA), отвечающий за местную защиту. SlgA может связывать токсины и вместе с лизоцимом проявляет бактерицидную и антивирусную активность. Снижение концентрации SlgA указывает на недостаточность функции местного иммунитета.

IgG является основным сывороточным иммуноглобулином и практически не определяется в слюне здоровых людей среднего возраста, поступление его в РЖ наблюдается лишь при повышении проницаемости гематопаренхиматозного барьера слизистой обо-

лочки десны, которое наблюдается вследствие инволютивных изменений [6].

При исследовании содержания секреторного IgA, а также IgG и IgM при адентии различной степени выраженности были вы-

явлены значительные отклонения. Анализ содержания секреторного IgA в РЖ пациентов с разной выраженностью адентии свидетельствовал о его прогрессирующем достоверном снижении (табл. 2).

Таблица 2

Изменения содержания иммуноглобулинов в ротовой жидкости со вторичной адентией разных видов (M±m, p)

Группа	sIgA, г/л	IgG, г/л	IgM, г/л
К	0,096±0,004	0,044±0,001	0,01±0,001
I	0,080±0,002*	0,051±0,001*	0,017±0,001*
II	0,071±0,001*	0,058±0,001*	0,023±0,001*
III	0,060±0,002*	0,059±0,001*	0,027±0,001*

Примечание: * - достоверность отличий от контроля (p<0,001 во всех случаях)

Имело место не только уменьшение концентрации sIgA в ротовой жидкости пациентов всех клинических групп относительно контроля (интактный зубной ряд), но и достоверность межгрупповых различий с наиболее выраженным дефицитом sIgA в группе пациентов с полной адентией. Наблюдаемые изменения свидетельствуют о недостаточности местной иммунной защиты в полости рта, прямо коррелирующей с выраженностью адентии.

Наряду с этим отмечено достоверное нарастание концентрации иммуноглобулинов класса G, что отражает прогрессирующую напряженность в местном иммунитете при частичной и полной потере зубов и свидетельствует о возможных нарушениях у данных пациентов трофических и микроциркуляторных процессов, что, несомненно, будет негативно сказываться на репаративных процессах.

Сходный характер изменений обнаружен и в отношении концентрации в слюне IgM, возрастание содержания которого коррелировало с увеличением степени выраженности адентии. Возможным механизмом наблюдаемого увеличения концентрации в РЖ как IgM, так и IgG при адентии может быть повышенный избирательный их транспорт через эпителиальный барьер, обусловленный дефицитом секреторного IgA.

Бактерицидные свойства ротовой жидкости обусловлены не только иммуноглобулинами, но и минорными гликопротеинами и, прежде всего, лизоцимом [4]. При исследовании активности лизоцима в ротовой жидкости пациентов с вторичной адентией нами было установлено, что адентия приводит к уменьшению активности фермента, а следовательно, снижению неспецифической резистентности ротовой жидкости (табл.3).

Таблица 3

Зависимость активности лизоцима ротовой жидкости от степени адентии

Группа	Число наблюдений (n)	Активность лизоцима в мкг/мл (M±m)	% падения активности
К	20	19,1±0,01	—
I	20	15,3±0,01*	21%
II	18	11,2±0,02*	42,1%
III	10	10,3±0,01*	47,4%

Примечание: * - достоверность отличий от контроля (p<0,001).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с разной выраженностью адентии наблюдаются существенные нарушения показателей локального иммунитета и неспецифической резистентности в полости рта, подтверждающие развитие у них вторичной иммунной недостаточности, которая может приводить к ухудшению репаративных процессов, осложняя адаптацию при различных видах протезирования.

Заключение

Таким образом, вторичная адентия сопровождается дисбалансом в работе ферментного звена антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует снижение активности СОД (от 21,7% до 34%), увеличение активности каталазы (на 20 – 25,5%) и рост интегрального показателя КА/СОД. Эти нарушения напрямую коррелировали со степенью вторичной адентии.

Вторичная адентия приводит к ослаблению антибактериальной функции ротовой жидкости и способствует развитию вторичной иммунной недостаточности, о чем свидетельствуют нарушения показателей локального иммунитета и неспецифической резистентности (падает содержание sIgA, снижается активность лизоцима).

Список литературы

1. Быков И.М., Ладутько А.А., Есауленко Е.Е., Еричев И.В. Биохимия ротовой и десневой жидкости (учебное пособие). – Краснодар, 2008. – 100 с.
2. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медия, 2011. – 208 с.
3. Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Бабичев А.В. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости. – М., 2006. – 312 с.
4. Дорофейчук В.Г., Потехин Б.П. Возможности использования лизоцима в онкологии // Педиатрическая фармакология. – 2010. - №4. – С.37-39.
5. Камышников В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили. – М.: МЕДпресс-информ. – 2005. – 320 с.
6. 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.
7. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
8. 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.
9. Brock G.R., Butterworth C.J., Matthews J.B., Chappie I.L. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health // J. Clin. Periodontol. 2004. – Vol. 31, № 7. – P. 515-521.
10. Diab-Ladki R., Pellat B., Chahine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases // Clin. Oral. Invest. – 2003. – Vol.7. – P. 103-107.