

УДК 616.314.18-002.4-036.12-008.8-074

С.П. Ярова, А.А. Бессмертный, В.В. Пономарь

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И ЕЕ ФЕРМЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

Исследования многих авторов указывают на то, что у пациентов с диагнозом «хронический генерализованный пародонтит» (ХП) высокую диагностическую ценность имеют исследования ротовой жидкости [1, 2]. В смывах из полости рта выявляют изменения белкового состава, небелковых азотистых продуктов, аминокислот и электролитов [3]. Не подвергается сомнению и роль протеолитических ферментов в патогенезе генерализованного пародонтита [4, 5].

Целью данной работы стало изучение реологических свойств ротовой жидкости (РЖ) у больных хроническим пародонтитом и оценка активности в ней ферментной системы.

Материал и методы исследования.

Под наблюдением находились 97 больных ХП в возрасте от 24 до 78 лет. У 37 (38,1%) больных констатирована I степень тяжести, у 37 (38,1%) – II степень и у 23 (23,7%) – III степень тяжести генерализованного пародонтита.

Больным утром натощак предлагали прополоскать полость рта дистиллированной водой. Спустя 30 минут производили забор ротовой жидкости в объеме 6-7 мл в пробирки, которые помещали на ледяную баню, а затем центрифугировали в течение 10 мин. при 1500 об/мин. Для исследования использовали надосадочную жидкость.

Динамическое поверхностное натяжение (ПН) РЖ изучали с помощью метода максимального давления в пузырьке (адсорбционный тензиометр «МРТ2-Lauda», Германия). Результаты представлялись в виде тензиограмм, на которых компьютер определял точки, соответствующие $t=0,01$ с (ПН1), $t=1$ с (ПН2) и $t=100$ с (ПН3). Для определения статического (равновесного) ПН (ПН4 при

$t \rightarrow \infty$) использовали метод анализа формы осесимметричных капель (компьютерный тензиореометр «ADSA-Toronto», Канада). В исследованиях применялась быстрая стрессовая деформация расширения поверхности (при $t=12000$ с) с определением модуля вязкоэластичности (ВЭ). Время релаксации (ВР) характеризовало способность монослоя восстанавливать исходное состояние. Кроме того, подсчитывали угол наклона (УН) и фазовый угол (ФУ) тензиореограмм.

С помощью анализатора «Vitalab Flexo» (Голландия) в РЖ изучали активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), кислой (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), γ -глутаминтранспептидазы (ГТП), амилазы, аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой трансаминазы (АСТ). Интенсивность в РЖ мурамидазы (лизоцима), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы оценивали спектрофотометрически. Для определения уровня мурамидазы использовали культуру *Micrococcus lysodeicticus* [6, 7]. Уровень цитокинов в РЖ изучали иммуноферментным методом (ридер «PR2100 Sanofi diagnostic pasteur», Франция, наборы «ProCon», Россия).

Статистическая обработка полученных результатов исследований проведена на компьютере с помощью программы «Statistica».

Результаты исследования и их обсуждение.

Результаты исследования представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что существуют разнообразные корреляционные связи параметров реологических свойств ротовой жидкости с активностью в ней ферментов. Исключение составляют КФ, АСТ и амилаза. Установлены разнонаправленные соотношения динамического ПН с мурамидазой и СОД, с одной стороны, и ЛДГ, ЩФ и ГТП, с другой.

Таблица 1
Достоверность корреляционных связей параметров реологических свойств ротовой жидкости с активностью в ней ферментов у больных хроническим генерализованным пародонтитом

| Ферменты | Показатели реологических свойств РЖ | | | | | | | |
|----------|-------------------------------------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|
| | ПН1 | ПН2 | ПН3 | ПН4 | УН | ФУ | ВЭ | ВР |
| 1 | ↓<0,001 | ↓<0,001 | ↓<0,001 | ↑0,004 | ↓<0,001 | ⊗ | ↓0,033 | ↓0,002 |
| 2 | ↑0,037 | ↑0,024 | ↑0,011 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ↑0,014 | ⊗ |
| 3 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ |
| 4 | ↑<0,001 | ↑<0,001 | ↑<0,001 | ↓0,001 | ↑<0,001 | ⊗ | ⊗ | ⊗ |
| 5 | ↓0,040 | ↑0,030 | ⊗ | ↓0,034 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ |
| 6 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ |
| 7 | ↓0,003 | ↓0,010 | ↓0,002 | ⊗ | ↓0,035 | ↓0,032 | ⊗ | ↓0,043 |
| 8 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ↓0,031 | ⊗ |
| 9 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ↓0,011 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ |
| 10 | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ | ⊗ |

Примітка: 1 – мурамидаза, 2 – ЛДГ, 3 – КФ, 4 – ЩФ, 5 – ГТП, 6 – амилаза, 7 – СОД, 8 – каталаза, 9 – АЛТ, 10 – АСТ;
↑ - прямая связь, ↓ - обратная связь, ⊗ - отсутствие связи.

ФУ тензиореограмм обратно зависит от активности СОД ($p=0,032$), активность каталазы коррелирует только с вязкоэластичными свойствами РЖ ($p=0,031$), а АЛТ – с равновесным (статическим) ПН при $t \rightarrow \infty$ ($p=0,011$). Релаксационные характеристики смывов с полости рта при ХП имеют обратные связи с активностью мурамидазы ($p=0,002$) и СОД ($p=0,043$), т.е. именно с теми ферментами, уровень которых у такой категории больных угнетается.

Среди всех изученных энзимов только активность ЩФ воздействует на интегральное состояние реологических свойств РЖ ($p=0,015$). По данным однофакторного дисперсионного анализа, активность мурамидазы определяет параметры ПН1 ($p=0,004$), ПН2 ($p=0,023$), ПН3 ($p<0,001$), УН ($p<0,001$) и ФУ ($p=0,044$), ЩФ – ПН1 ($p=0,002$), ПН2 ($p<0,001$) и УН ($p=0,002$), каталазы – межфазное натяжение при $t=100$ с ($p=0,008$), ЛДГ и КФ – ФУ (соответственно $p=0,028$ и $p=0,003$).

Как показывает анализ, существуют обратные зависимости ПН1 и ПН2 от активности СОД (соответственно $p=0,034$ и $p=0,049$), ПН3 – мурамидазы ($p<0,001$), ВЭ – каталазы ($p=0,045$) и АСТ ($p=0,019$). С учетом сказанного можно сделать следующее заключение: показатели ПН3 тензиореограмм >56 мН/м ($>M+3m$ больных) указывают на низкую активность в РЖ мурамидазы (лизоцима), которая имеет диагностическую значимость при ХП.

Содержание в РЖ провоспалительных цитокинов IL1 β и TNF α прямо достоверно коррелирует с параметрами ПН1, ПН2, ПН3, УН, ВЭ и ВР, но обратно соотносится с равновесным ПН (ПН4). В свою очередь, концентрация иммунорегуляторного IL4 имеет позитивную связь со статической межфазной активностью (при $t \rightarrow \infty$), а негативную – с ПН2 (при $t=1$ с) и модулем ВЭ. Лишь ФУ тензиореограмм не определяется содержанием в РЖ цитокинов. На наш взгляд, об изменениях цитокиновой сети при ХП могут указывать показатели ПН4 <40 мН/м ($<M-3m$ больных) и ВЭ >28 мН/м ($>M+3m$).

Однофакторный дисперсионный анализ показывает влияние содержания IL1 β в РЖ больных ХП на такие ее реологические свойства: ПН1 ($p=0,001$), ПН2 ($p<0,001$), ПН3 ($p<0,001$), ПН4 ($p=0,002$) и ВЭ ($p=0,010$), TNF α – на ПН1 ($p<0,001$), ПН2 ($p<0,001$), ПН3 ($p<0,001$) и ПН4 ($p=0,017$), IL4 – только на ПН2 ($p=0,012$). Релаксационные свойства РЖ при ХП от цитокиновой

сети не зависят. По данным регрессионного анализа (рис. 1), ПН3 прямо зависит от содержания IL1 β и TNF α (соответственно $p=0,009$ и $p=0,001$), а ПН4 – обратно ($p=0,016$ и $p=0,010$).

Таким образом, реологические свойства ротовой жидкости у больных хроническим генерализованным пародонтитом имеют корреляционные связи с активностью ферментов, причем динамическое ПН определяют все цитокины, мурамидаза, ЩФ и СОД, вязкоэластичность – цитокины, мурамидаза, ЛДГ и каталаза, реологичность – только провоспалительные IL1 β и TNF α , а с иммунорегуляторным IL4 связаны межфазное натяжение смывов полости рта при $t=1$ с, активность мурамидазы, амилазы и АЛТ, обладающих цитокстимулирующим действием.

Литература

1. Комарова В.И. Зависимость уровня активности нитратредуктазного комплекса ротовой жидкости подростков от уровня гигиены полости рта и индекса КПУ / [Комарова В.И., Геншпринг Э.М., Темкин Э.С., Храмов В.А.] // *Стоматология*. - 2005. - №2. - С.21-22.
2. Шатохина С.Н. Морфологическая картина ротовой жидкости: диагностические возможности / Шатохина С.Н., Разумова С.Н., Шабалин В.Н. // *Стоматология*. - 2006. - №4. - С.14-18.
3. Храмов В.А. Уровень аминокислот и имидазольных соединений в ротовой жидкости человека / Храмов В.А., Пригода Е.В. // *Стоматология*. - 2002. - №6. - С.10-11.
4. Polymorphisms in genes coding for enzymes metabolizing smoking-derived substances and the risk of periodontitis / Kim J.S., Park J.Y., Chung W.Y. [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* - 2004. - Vol.31, №11. - P.959-964.
5. Screening of periodontitis with salivary enzyme tests / Nomura Y., Tamaki Y., Tanaka T. [et al.] // *J. Oral Sci.* - 2006. - Vol.48, №4. - P.177-183.
6. Akalin F.A. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls / Akalin F.A., Toklu E., Renda N. // *J. Clin. Periodontol.* - 2005. - Vol.32, №3. - P.238-243.
7. Use of aspartate aminotransferase in diagnosing periodontal disease: a comparative study of clinical and microbiological parameters / [Barbosa e Silva E., Salvador S.L., Fogo J.C., Marcantonio R.A.] // *J. Oral Sci.* - 2003. - Vol.45, №1. - P.33-38.

**Стаття надійшла
29.05.2013 р.**

Резюме

Реологические свойства ротовой жидкости больных хроническим генерализованным пародонтитом связаны с активностью ферментов, коррелирующих между собой, причем динамическое поверхностное натяжение определяют все цитокины, мурамидаза, щелочная фосфатаза и супероксиддисмутаза; вязкоэластичность – цитокины, мурамидаза, лактатдегидрогеназа и каталаза; реологичность – только провоспалительные интерлейкин 1 β и туморонекротический фактор α , а с иммунорегуляторным интерлейкином 4 связаны межфазное натяжение смывов полости рта при $t=1$ с, активность мурамидазы, амилазы и аланиновой трансаминазы.

Ключевые слова: хронический пародонтит, ротовая жидкость, реология, ферменты.

Резюме

Реологічні властивості ротової рідини хворих на хронічний генералізований пародонтит пов'язані з активністю ферментів, що корелюють між собою, причому динамічний поверхневий натяг визначають усі цитокіни, мурамідаса, лужна фосфатаза й супероксиддисмутаза; в'язкоеластичність – цитокіни, прозапальні інтерлейкін 1β і туморонекротичний фактор α , а з імунорегуляторним інтерлейкіном 4 пов'язані міжфазний натяг змивів порожнини рота при $t=1$ с, активність мурамідаси, амілази й аланінової трансамінази.

Ключові слова: хронічний пародонтит, ротова рідина, реологія, ферменти.

Summary

Rheological properties of mouth liquid of patients with generalized chronic parodontitis has connections with fermentative correlate to each other and at the same time dynamic superficial tension is determined by all cytokines, muramidase, alkaline phosphatase, superoxide dismutase; viscose-elastic is determined by cytokines, proinflammatory interleykin 1β and factor of tumor necrosis α . Immunoregular interleykin 4 has connection with interphase tension of mouth cavity wash off (when $t=1$ °C) and with activity of muramidase, amylase and alanin transaminase.

Key words: chronic parodontitis, mouth liquid, rheology, ferments.