

УДК 616.31:616.311:613

**ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ
ФАКТОРІВ ЗАХИСТУ РОТОВОЇ РІДИНИ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ
СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА**

Л.С. Кравченко, Н.О. Бас

Одеський національний медичний університет

Резюме

Оценено состояние местного иммунитета и неспецифической резистентности ротовой полости пациентов с заболеваниями слизистой оболочки полости рта. Биохимический анализ и показатели местного иммунитета ротовой жидкости свидетельствовали о выраженном ограничении адаптивных возможностей как неспецифической резистентности, так и местного иммунитета ротовой полости. Результаты показали необходимость иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении болезней слизистой оболочки полости рта.

Ключевые слова: ротовая жидкость, неспецифическая резистентность, местный иммунитет, иммуноглобулины, воспаление.

Summary

The estimation of the state of local immunity and nonspecific resistance of the oral cavity of the patients with the diseases of mucous membrane of oral cavity was conducted. Biochemical analysis and the indices of local immunity of oral liquid testified to the marked limitation of adaptive abilities, nonspecific resistance and local oral cavity immunity. Received results showed the necessity of the immunomodulatory therapy in the complex treatment of the diseases of mucous membrane of oral cavity.

Key words: oral liquid, nonspecific resistance, local immunity, immunoglobulins, inflammation.

Література

1. Данилевский Н.Ф. Заболевания слизистой оболочки полости рта / [Н.Ф. Данилевський, В.К. Леонтьев, А.Ф. Несин, Ж.И. Рахний]. - К., 2001. - С.271.
2. Борисенко А.В. Профилактика заболеваний слизистой оболочки полости рта / А.В. Борисенко, А.В. Видерская // Стоматолог.- 2004. - №3. - С.57-60.
3. Поляков С.Л. Пародонтология: новый век, новые средства лечения / С.Л. Поляков // Пародонтология.- 2009. - №3. - С.54-58.
4. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.G. Farr // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
5. Левицкий А.П. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны / А.П. Левицкий, А.И. Марченко, Т.Л. Рыбак // Лабораторное дело. - 1973. - № 10. - С.624-625.
6. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии.- М.: Медицина, 1977. - С.66-68.
7. Королюк Л.И. Метод определения каталазы/ Л.И. Королюк, И.Г. Иванова, В.Е. Майорова// Лабораторное дело.-1988.-№1.-С.16-19.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С.Чевари, И.Чава, И.Секей // Лабораторное дело. - 1985. - № 3. - С.678-681.
9. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / [А.П. Левицький, В.М. Почтар, О.А. Макаренко, Л.І. Гридiна] // Одеський медичний журнал.- 2006. - №6. - С.22-25.

10. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровин, В.В. Меньшиков.- М., Элиста: АПП «Джангар», 2001. - С.35-40.

11. Manchini G. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. Manchini, A.O. Garbinara, S.F. Heremans // Immunochemistry. – 1965. – Vol. 2. – № 6. – P. 17–20.

Проблема лікування уражень слизової оболонки порожнини рота [СОПР] привертає увагу через високу їх поширеність та недостатню ефективність методів лікування. У патогенезі захворювань СОПР важливу роль відводять стану місцевих та загальних факторів неспецифічного і специфічного захисту.

Дані літератури свідчать, що тривала взаємодія між мікробами зубного нальоту і тканинами пародонта призводить до послаблення специфічної імунної відповіді та неспецифічних факторів захисту порожнини рота [2]. В екологічно несприятливих районах у мікрофлорі порожнини рота відносно норми зменшується кількість лактобактерій і підвищується концентрація стафілококів та грибів роду *Candida*, що належать до умовно-патогенної мікрофлори і можуть викликати поверхневі ураження слизової оболонки з дефектом чи без дефекту імунітету. Послаблення резистентності слизової оболонки порожнини рота призводить до розвитку дисбактеріозу, що спонукає до застосування в лікуванні дисбіотичних змін слизової оболонки рота імунокорекції, для відновлення імунологічного гомеостазу [3]. На жаль, у літературі ми зустріли поодинокі повідомлення про значення окремих імунологічних показників у ротовій рідині хворих із захворюваннями СОПР.

Метою нашого дослідження було вивчення біохімічних та імунологічних показників захисту порожнини рота при захворюваннях СОПР.

Матеріал та методи дослідження

Для досягнення поставленої мети ми провели клінічне й лабораторне обстеження 25 осіб віком 12-30 років з ураженнями слизової оболонки. Діагноз установлювали на підставі об'єктивного обстеження, анамнестичних, клінічних, клініко-лабораторних та імунологічних досліджень. За результатами комплексного клініко-лабораторного обстеження всі пацієнти були поділені на 2 групи. До першої групи увійшли 13 хворих із механічною травмою СОПР (7 осіб із хронічною травматичною еритемою та 6 – із хронічною травматичною ерозією), в другу групу - 12 пацієнтів, у яких за рахунок подразників механічного, хіміко-токсичного характеру від застосування знімних конструкцій зубних протезів виникав токсичний стоматит. 12 здорових осіб цієї ж вікової категорії з відсутністю ураження слизової оболонки слугували контролем.

Об'єктом дослідження була ротова рідина. Вивчали такі показники: швидкість нестимульованого слиновиділення (в мл/хв.), біохімічні та імунологічні фактори захисту порожнини рота. Ротову рідину збирали ранком натще в центрифужні пробірки протягом 5 хв. Зберігали до проведення аналізів при -20°C . Перед дослідженням розморожували при кімнатній температурі, центрифугували при 3,5 тис. об/хв. протягом 15 хв. Біохімічний аналіз проводили в рідкій частині змішаної ротової рідини пацієнтів. Для оцінки стану неспецифічної резистентності в ротовій порожнині досліджували показники системи ПОЛ-АОС (активність СОД, каталази, вміст МДА), стан клітинних мембран (активність кислої фосфатази). Стан місцевого імунітету оцінювали за рівнем лізоциму та визначенням умісту імуноглобулінів SIgA, IgA, G у ротовій рідині.

Біохімічними методами дослідження в ротовій рідині визначали вміст білка методом Lowry et al. [4], активність кислої фосфатази методом Bessey et al. у модифікації А.П. Левицького [5] щодо визначення п-нітрофенілфосфату, який під дією ферменту гідролізується до п-

нітрофенолу жовтого кольору. Уміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за кольоровою реакцією з тіобарбітуровою кислотою за методикою І.Д. Стальної та Т.Г. Гарішвілі [6]. Активність каталази визначали за реакцією з молібденом [7]; супероксиддисмутази - за відновленням нітротетразолію до нітроформазину [8]. Стан ПОЛ-АОС описує індекс АПІ (антиоксидантно-прооксидантний індекс), який обчислюється як відношення активності каталази до вмісту МДА [9].

Для визначення лізоциму використовували індикаторний мікроорганізм *Micrococcus lysodeicticus* – НПО «Біохімреактив», С.-Петербург. Дослідження проводили фотоколориметричним методом, заснованим на різниці ступеня екстинції, при довжині хвилі 540 нм через 15 с. і 180 с. [10].

Концентрацію IgA і IgG, а також секреторного IgA (S-IgA) виявляли в ротовій рідині, користуючись методом радіальної імунодифузії за Mancini [11].

Принцип методу: зразки ротової рідини розміщують у лунки агару, який містить антитіла до імуноглобулінів одного з класів IgG, IgA в заданій концентрації. Імуноглобуліни, які дифундують із лунок до агару, при взаємодії з відповідними антитілами утворюють кільця преципітації, розмір яких тісно залежить від умісту в ротовій рідині досліджуваного імуноглобуліну.

Статистичну обробку результатів проводили за t-критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами дослідження визначено, що наявність патології СОПР супроводжується збільшенням кількості умовно-патогенної флори в ротовій порожнині, що негативно впливає на показники місцевого імунітету, посилює порушення кількісного співвідношення факторів, які

характеризують гомеостаз порожнини рота, що створює передумови для прогресування стоматологічної захворюваності.

На клінічному огляді 13 пацієнтів із травмованою СОПР була встановлена така клінічна картина: у 8 (61,5%) не спостерігали запальних явищ у тканинах пародонта; у 3 хворих (23,0%) виявили пародонтит I-II ступенів і тільки у 2 хворих (15,3%) - III ступінь пародонтиту.

Огляд СОПР у хворих II групи засвідчив наявність у переважної більшості (8 із 12 - 66,6%) симптомів запального процесу. Виявлено зміну кольору слизової оболонки (гіперемія різної інтенсивності – від незначного почервоніння до яскраво-червоного забарвлення). Ці зміни супроводжувалися у 25% випадків набряком, а у 50% виявлено пекучість і сухість. У 2 хворих (16,6%) виявили посилення ознак дисбактеріозу у вигляді збільшення кількості грибів роду *Candida*. У всіх обстежених осіб контрольної групи СОПР була рожевого кольору, без видимих патологічних змін та ознак гіперемії. У ротовій рідині пацієнтів II групи визначено достовірне зниження активності основних ферментів фізіологічного антиоксидантного захисту порожнини рота – каталази в середньому на 52,38% і СОД - на 56% ($P < 0,05$) (табл.1).

Таблиця 1

Зміни показників неспецифічної резистентності в ротовій рідині пацієнтів із захворюваннями слизової оболонки порожнини рота

Групи Показник	Контрольна (n=12)	I група (n=13)	II група (n=12)
Активність каталази, мкат/л P P ₁	0,42±0,06	0,34±0,04 >0,05	0,22±0,02 <0,05 <0,05
Активність СОД, у.о./л P P ₁	0,50±0,05	0,40±0,06 >0,05	0,28±0,03 <0,05 >0,05
Уміст МДА, мкмоль/л P P ₁	0,27±0,02	0,35±0,03 >0,05	0,46±0,02 <0,05 <0,05
	1,55	0,97	0,47
Активність кислої фосфатази, мккат/л P P ₁	0,48±0,05	0,66±0,07 >0,05	0,98±0,07 <0,05 <0,05
Уміст білка, г/л P P ₁	1,68±0,06	2,19±0,10 <0,05	2,97±0,12 <0,05 <0,05

Примітка. У табл. 1-2: P – вірогідність у порівнянні з контрольною групою;

P₁- вірогідність між I і II групами.

Зниження активності антиоксидантної системи в ротовій рідині пацієнтів II групи спричинює підвищення інтенсивності ПОЛ, про що свідчить підвищення вмісту МДА в 1,7 разу в ротовій рідині в порівнянні з вмістом у пацієнтів контрольної групи. Індекс АПІ, який характеризує стан ПОЛ-АОС, у ротовій рідині осіб II групи знижується в середньому з 1,55 (у здорових) до 0,46, що підтверджує зсув рівноваги цієї системи в бік інтенсифікації ПОЛ.

У ротовій рідині пацієнтів II групи виявили достовірне підвищення активності кислої фосфатази у 2 рази, що свідчить про порушення цілості клітинних мембран тканин порожнини рота і є характерною ознакою запалення. Поряд із цим, у ротовій рідині пацієнтів II групи підвищено вміст білка в середньому в 1,76 разу в порівнянні з особами контрольної групи.

Слід зазначити, що в ротовій рідині пацієнтів I групи значення активності антиоксидантних ферментів каталази і СОД були в 1,5 разу вище, ніж у пацієнтів II групи, а рівень МДА в 1,3 разу нижчий. Унаслідок цього АПІ визначався в середньому в 2 рази більшим. Активність КФ у ротовій рідині пацієнтів I групи знаходиться в межах нормальних значень. При цьому вміст білка підвищений у 1,3 разу в порівнянні з нормою.

Досліджуючи фактори місцевого імунітету порожнини рота всіх хворих, виявили зниження вмісту лізоциму в ротовій рідині в порівнянні зі здоровими (табл.2). У пацієнтів із хронічними механічними травмами вміст лізоциму знизився в середньому на 28,6%, тоді як у пацієнтів із токсичним стоматитом - у 2 рази.

Таблиця 2

Показники факторів захисту порожнини рота в пацієнтів із захворюваннями слизової оболонки порожнини рота

Групи Показник	Контрольна (n=12)	I група (n=13)	II група n=12
Швидкість слиновиділення, мл/хв. P P ₁	0,50±0,02	0,38±0,03 <0,05	0,27±0,02 <0,05 <0,05
Концентрація лізоциму, мкг/мл P P ₁	0,28±0,05	0,20±0,02 >0,05	0,14±0,06 <0,05 <0,05
Концентрація IgA, мг/мл P P ₁	0,12±0,03	0,09±0,02 >0,05	0,05±0,02 >0,05 >0,05
Концентрація IgG, мг/мл P P ₁	0,08±0,01	0,10±0,01 >0,05	0,15±0,01 <0,05 <0,05
Уміст S-IgA, мг/мл P P ₁	0,40±0,05	0,24±0,02 <0,05	0,17±0,02 <0,05 <0,05

Отримані результати свідчать про те, що в пацієнтів 2 групи антибактеріальна активність ротової рідини знижена, внаслідок чого збільшується кількість умовно-патогенної мікрофлори в порожнині рота.

Аналіз показників специфічних факторів захисту порожнини рота визначив, що провідним маркером стоматологічного здоров'я є S-IgA. Для хворих 1 групи характерне зниження вмісту S-IgA в порівнянні з практично здоровими людьми в 1,6 разу ($0,24 \pm 0,02$ мг/мл і $0,40 \pm 0,05$ мг/мл відповідно), тоді як у хворих II групи – в 2,4 разу ($0,17 \pm 0,02$ мг/мл і $0,40 \pm 0,05$ мг/мл, $p < 0,001$).

За результатами досліджень IgA виявлявся тільки в $\frac{1}{4}$ досліджуваних здорових людей, а частота його визначення у хворих коливалася від 40 до 57%. При порівнянні середньостатистичних значень рівня IgA визначена тенденція до зниження цього показника у хворих 1 групи в порівнянні з контрольною групою; при токсичному стоматиті різниця була статистично достовірною. У розвитку токсичного стоматиту виявлено також підвищення рівня IgG майже у 2 рази (з $0,08 \pm 0,01$ мг/мл до $0,15 \pm 0,01$ мг/мл).

Швидкість нестимульованого слиновиділення при визначених стоматологічних патологіях суттєво нижча, ніж у практично здорових. Слід зазначити, що у хворих на токсичний стоматит швидкість слиновиділення була найнижчою.

Аналізуючи отримані дані, можна дійти висновку, що у хворих із захворюваннями СОПР визначаються зміни у функціональному стані слизової оболонки, які проявлялися порушеннями в системі ПОЛ-АОС (зниженням активності каталази і СОД, підвищенням рівня МДА), зниженням активності антибактеріального захисту порожнини рота (падіння рівня лізоциму); інтенсифікацією запальних процесів у ротовій порожнині. Ці зміни, очевидно, можуть свідчити як про напругу систем антимікробного захисту в порожнині рота хворих СОПР, так і про зрив

механізмів регуляції гомеостазу. Зміна мікробіоценозу порожнини рота в них підсилює антигенну завантаженість, спричиняючи пригнічення імунної системи.

Отже, результати досліджень свідчать про необхідність проведення в пацієнтів із захворюваннями СОПР не тільки корекції мікробіологічних змін у порожнині рота, але й заходів щодо відновлення імунологічного гомеостазу.

Використання імуномодельючої терапії в комплексному лікуванні захворювань СОПР сприятиме нормалізації місцевого імунітету хворих.