

БАЛАНС ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

**Т.Г. Петрова¹, Д.Д. Цырендоржиев^{1,2}, А.В. Ефремов¹, Н.П. Карева¹,
А.Л. Шаповалова¹, Ю.Ю. Чебаненко³**

*ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»¹
ГУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН», г. Новосибирск²
Новосибирская государственная областная клиническая больница³*

Проведено сравнительное изучение про- и антиоксидантной активности сыворотки крови и ротовой жидкости 27 больных хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) не имеющих соматических заболеваний и 25 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ). Показано, что у больных ЛПЗ развиваются более значимые нарушения антиоксидантного статуса организма с активацией процессов свободнорадикального окисления, чем при ХГП. При этом у больных ХГП, по данным исследования РЖ нарушения про- и антиоксидантного статуса в большей степени выражены в ротовой полости. У больных ЛПЗ выявлены системные и местные нарушения антиоксидантного статуса с развитием окислительного стресса, что может быть критерием тяжести течения основного заболевания и его осложнений, в том числе активации воспалительного процесса пародонта и поражений слизистой оболочки ротовой полости.

Ключевые слова: воспаление, пародонтит, лимфопролиферативные заболевания, антиоксиданты, окислительный стресс.

**BALANCE OF PRO - AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES
OF BLOOD AND ORAL FLUID OF PATIENTS WITH LYMPHAPROLIFERATIVE DISEASES
T.G. Petrova, D.D. Tsyrendorzhiev, A.V. Efremov, N.P. Kareva, A.L. Shapovalova, Yu. Yu. Chebanenko
Novosibirsk State Medical University¹
Scientific Center of Clinical and Experimental Medicine, Novosibirsk²
Novosibirsk State Regional Clinical Hospital³**

Comparative study of pro- and antioxidant activities of blood serum and oral fluid from 27 patients with chronic generalized parodontitis (CGP) having no somatic diseases and from 25 patients with lymphoproliferative diseases (LPD) was conducted. Antioxidant status disturbances with activation of free-radical oxidation processes were found to be more significant in the LDP patients than in the CGP patients. Systemic and local disturbances in antioxidant status with the development of oxidative stress were observed indicating the disease severity and its complications including parodontium inflammation activation and oral cavity mucosa damage.

Key words: inflammation, parodontitis, lymphoproliferative diseases, antioxidants, oxidative stress.

В настоящее время достигнуты значительные успехи в диагностике и лечении лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ), что позволило увеличить количество и продолжительность ремиссий, сделать реальным выздоровление [11]. В то же время многие вопросы патогенеза как самих ЛПЗ, так и их осложнений до сих пор остаются слабо изученными. В частности, известно, что патологические изменения в полости рта являются постоянным синдромом при ЛПЗ. Одним из наиболее часто встречающихся осложнений ЛПЗ является активация воспалительного процесса в пародонте. Как известно, активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) является важным патогенетическим фактором, отрицательно влияющим

на течение, эффективность лечения и прогноз как воспалительных, так и опухолевых заболеваний [15]. Процессу запуска и развития СРО в организме противостоит антиоксидантная система (АОС) защиты от свободнорадикальной деградации липидной фазы мембран и липопротеинов [9]. При срыве физиологической АОС защиты (в условиях низкого поступления экзогенных антиоксидантов, воспаления, стресса, ишемии, гипер- и гипоксии) процессы СРО лавинообразно разветвляются в тканях. Нарушение окислительно-антиокислительного баланса вызывает повреждения, выявляемые на уровне мембран, затем ткани (органа) и целого организма [6], что способствует прогрессированию синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ),

одновременно стимулируя пролиферацию опухолевых клеток [2, 13].

В многочисленных исследованиях было показано, что усиление СРО в пародонте, в слюнной железе и в целом в ротовой полости происходит при антиоксидантной недостаточности [6], стрессе [10], гипокинезии, пародонтите [7] и т.д. Однако в литературе не обнаружено данных об изменениях СРО и состояния антиоксидантной защиты в ротовой полости при ЛПЗ. В связи с этим данное исследование проведено с целью изучения баланса про- и антиоксидантного статуса организма больных для установления степени системных и местных изменений СРО и антиоксидантной защиты при ЛПЗ.

Материал и методы

Под наблюдением находились 25 больных лимфопролиферативными заболеваниями, в том числе 9 больных лимфогранулематозом (ЛГМ) и 16 – неходжкинскими лимфомами (НХЛ), которые были объединены в основную группу. В группу сравнения вошли 27 больных хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) средней и тяжелой степени тяжести и не имеющие соматических заболеваний. Больные в обеих группах были в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст – $48,3 \pm 2,12$ года. Контрольную группу составили 12 практически здоровых лиц с интактным пародонтом.

Все обследованные больные являлись пациентами Городского гематологического центра г. Новосибирска, госпитализировавшимися в специализированное гематологическое отделение муниципального учреждения здравоохранения городской клинической больницы №2. Идентификацию морфологического варианта опухолей осуществляли в соответствии с REAL (1997) и классификацией ВОЗ (2000). Среди больных ЛПЗ в 35 % случаев диагностирована лимфома высокой степени злокачественности, в 65 % – низкой степени злокачественности.

Для диагностики воспаления пародонта применялись методы индексной диагностики состояния пародонта: оценку гигиенического состояния полости рта проводили с помощью индекса гигиены по Грину–Вермильону (1969). Для определения степени воспаления десны использовали папиллярно-маргинально-

альвеолярный индекс в модификации Парма (1964), для оценки тяжести пародонтита – пародонтальный индекс Рассела (1956). У всех пациентов было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях и согласие этического комитета на проведение исследования.

Комплексная оценка окислительно-антиокислительного статуса организма проведена путем определения общей про- (ПОА) и антиоксидантной активности (АОА) сыворотки крови и ротовой жидкости (РЖ) с расчетом коэффициента соотношения ПОА/АОА. Антиоксидантную активность сыворотки крови и РЖ определяли по методу Г.И. Клебанова и др. [3] на биохемилуминометре «Скиф-0301». Уровень АОА оценивали в условных единицах, соответствующих кратности подавления хемилуминесценции (ХЛ), индуцируемой перекисью водорода, в присутствии сыворотки крови или РЖ больного. АОА наиболее адекватно отражает состояние антиоксидантной защиты в целом, так как степень подавления ХЛ зависит от содержания в исследуемой сыворотке всего комплекса неферментативных и ферментативных компонентов антиоксидантной системы, а также от их функциональной активности. ПОА сыворотки крови и РЖ зависит от всех содержащихся в них факторов, обладающих прооксидантными свойствами. К таким факторам относят в первую очередь реактивные метаболиты кислорода, лейкотриены, кинины и некоторые цитокины, способные оказывать провоспалительное действие [5]. ПОА сыворотки крови и РЖ оценивали по действию тестируемых жидкостей на интенсивность ХЛ нейтрофилов стандартных пулированных лейкоконцентратов здоровых доноров с люминолом по методу Д.Н. Маянского и соавт. [5]. Коэффициент соотношения ПОА/АОА является расчетной величиной, позволяющей объективно оценить баланс про- и антиоксидантного статуса организма. Обследование больных и исследование АОА и ПОА сыворотки крови и РЖ проводили до лечения.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью лицензированных пакетов прикладных программ «Statistica 5.0» и «Microsoft Exel 7.0». Проводилась оценка значимости различий двух средних арифмети-

ческих значений по t-критерию Стьюдента и его достоверность.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования про- и антиоксидантной активности сыворотки крови различных групп больных свидетельствуют о значительных нарушениях баланса окислительно-антиоксидантной системы у больных ЛПЗ (табл. 1), причем ПОА сыворотки крови больных ХГП (группа сравнения) вдвое превышает контрольное значение, а показатель АОА, напротив, был в 1,44 раза ниже (в обоих случаях $p < 0,05$). Отсюда соотношение ПОА/АОА сыворотки крови у больных в 2,7 раза было выше, чем в контроле ($p < 0,05$). В то же время уровень ПОА сыворотки крови больных ЛПЗ был повышенным в 4,3 раза, тогда как ее АОА была в 2,6 раза ниже контрольного значения ($p < 0,001$). Соответственно, коэффициент соотношения ПОА/АОА сыворотки крови больных ЛПЗ превышает нормальный уровень в 10 раз, что свидетельствует о системном угнетении антиоксидантных факторов защиты и стимуляции СРО в тканях (табл. 1).

О местных изменениях СРО и антиоксидантной защиты судили по изменению показателей ПОА и АОА в ротовой жидкости больных ХГП и лимфомами (табл. 2). У больных лимфомами ПОА РЖ превышала нормальный уровень 3,4 раза ($p < 0,001$), а в группе сравнения – в 2,8 раза ($p < 0,01$). При этом выявлено, что прооксидантный потенциал РЖ больных ЛПЗ достоверно выше, чем у пациентов с ХГП ($p < 0,05$). В то же время АОА РЖ больных ХГП был ниже контроля в 1,4 раза, тогда как при ЛПЗ – в 2,23 раза (в обоих случаях $p < 0,05$). Соответственно, коэффициент соотношения ПОА/АОА РЖ больных ХГП и ЛПЗ превышает нормальные показатели в 4,33 раза и в 8 раз ($p < 0,001$).

Сравнительный анализ показателей ПОА и АОА сыворотки и РЖ показал, что у больных ЛПЗ развиваются более значимые нарушения антиоксидантного статуса организма с активацией процессов СРО, чем при ХГП. При этом у больных ХГП, судя по данным исследования РЖ, нарушения про- и антиоксидантного статуса в большей степени выражены в ротовой полости, тогда как у пациентов с ЛПЗ эти изменения сопровождались как на системном, так и на мест-

Таблица 1

Показатели про- и антиоксидантной активности сыворотки крови и их соотношение в сыворотке крови больных групп сравнения ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n=12)	Группа сравнения (n=27)	Основная группа (n=25)
ПОА, имп/Нф	$0,21 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,04^*$	$0,90 \pm 0,05^{*x}$
АОА, усл.ед.	$7,8 \pm 0,02$	$5,4 \pm 0,08^*$	$2,88 \pm 0,14^{*x}$
ПОА/АОА, усл.ед.	$0,03 \pm 0,008$	$0,08 \pm 0,02^*$	$0,34 \pm 0,05^{*x}$

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля, ^x – различия статистически значимы по сравнению с группой сравнения ($p < 0,001$).

Таблица 2

Показатели про- и антиоксидантной активности сыворотки крови и их соотношение в сыворотке крови больных групп сравнения ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n=12)	Группа сравнения (n=27)	Основная группа (n=25)
ПОА, имп/Нф	$0,33 \pm 0,03$	$0,93 \pm 0,05^*$	$1,12 \pm 0,03^{*x}$
АОА, усл.ед.	$10,1 \pm 0,62$	$7,1 \pm 0,6^*$	$4,52 \pm 0,09^{*x}$
ПОА/АОА, усл.ед.	$0,03 \pm 0,004$	$0,13 \pm 0,01^*$	$0,24 \pm 0,02^{*x}$

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля, ^x – различия статистически значимы по сравнению с группой сравнения ($p < 0,001$).

ном уровне. Кроме того, следует отметить, что нарушения про- и антиоксидантного статуса не зависят от нозологической формы и морфологического варианта ЛПЗ. Так, средние значения интегральных показателей (АОА, ПОА и коэффициент их соотношения) у больных ЛГМ и НХЛ статистически не отличались друг от друга, поэтому они были объединены в одну группу.

Как известно, ключевым патогенетическим звеном воспалительного процесса пародонта при ХГП является повышенная миграция лейкоцитов в полость рта, обусловленная высоким содержанием микробных антигенов и других хемотаксических факторов. Причем между тяжестью ХГП и размером миграции фагоцитов существует прямая зависимость [4]. Фагоцитирующие клетки (нейтрофилы и макрофаги) saniруют очаг воспаления через продукцию активных метаболитов кислорода (АМК) и лизосомальных ферментов, способствуя росту прооксидантного потенциала в зоне поражения [8]. Данная ситуация, суть которой наиболее точно характеризует термин «окислительный стресс», которая типична не только для воспаления, но и опухолевых процессов [5]. Однако каковы механизмы системных и местных нарушений антиоксидантного статуса организма и повышения прооксидантного потенциала у больных ЛПЗ? Доказанным фактом является то, что опухолевая ткань способна к накоплению природных и естественных антиоксидантов, в результате чего в самой опухоли происходит подавление перекисного окисления липидов, а в нормальных тканях снижается антиоксидантная защита и повышается уровень АМК с запуском процессов СРО [12]. Кроме того, явление «окислительного стресса» рассматривается как проявление СЭИ, в развитие которого вносят вклад как сама опухоль, так и методы ее лечения (химиотерапия, лучевая терапия) [13, 15]. С другой стороны, с современных позиций к важным патогенетическим механизмам канцерогенеза и опухолевой прогрессии относится дисбаланс цитокинового профиля с преимущественной гиперпродукцией провоспалительных цитокинов [1, 16]. Повышенный уровень IL-1 β , IL-6, TNF- α вносит определенный вклад в развитие и поддержание окислительного стресса при опухолевых заболеваниях [14].

В целом, из полученных результатов можно сделать вывод о том, что при ЛПЗ характерны системные и местные нарушения антиоксидантного статуса с развитием окислительного стресса, усугубляющие характер течения основного заболевания и его осложнений, в частности, в виде активации воспалительного процесса пародонта и поражений слизистой оболочки ротовой полости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3, № 1. С. 8–19.
2. Дорохин К.М., Спас В.В. Патофизиологические аспекты синдрома эндогенной интоксикации // Анестезиология и реанимация. 1994. № 1. С. 56–60.
3. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. Антиоксидантная активность сыворотки крови // Вестник РАМН. 1999. № 2. С. 15–22.
4. Максимовский Ю.М., Чиркова Т.Д., Фролова Т.А. и др. Клинико-иммунологические особенности патогенеза катарального гингивита (Сообщение 1) // Стоматология. 2003. № 3. С. 24–27.
5. Маянский Д.Н., Цырендоржиев Д.Д., Макарова О.П. и др. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Определение биоцидности лейкоцитов: Методические рекомендации. Новосибирск, 1996. Ч.2. 47 с.
6. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
7. Невельский М.Я. Вільнорадикальні окислення – ведучий фактор в стоматологічній патології та обґрунтування методів його корекції // Вестник проблем биологии и медицины. 1998. № 1. С. 17–24.
8. Петрович Ю.А., Лемецкая Т.И., Пузин М.Н. Интегральный коэффициент, характеризующий свободнорадикальное окисление и антиоксидантную защиту, и новый «остаточный» коэффициент, отражающий результативность применения антиоксидантов при пародонтите // Стоматология. 2001. № 1. С. 38–41.
9. Сергеева Т.В., Безбородова О.А., Якубовская Р.И. Антиоксиданты – место в онкологии // Российский онкологический журнал. 2003. № 5. С. 48–53.
10. Тарасенко Л.М., Девяткина Т.А., Цебржинский О.И. и др. Реакция слюнных желез на острый стресс // Физиологический журнал. 1990. № 2. С. 104–106.
11. Трапезников Н.Н., Аксель Е.М., Бармина Н.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения России в 1996 г. // Русский медицинский журнал. 1998. Т. 6, № 10. С. 3–7.
12. Halliwell B., Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine // Oxford University Press. Oxford, 1998. 980 p.
13. Ray G., Husain S.A. Role of lipids, lipoproteins and vitamins in women with breast cancer // Clin. Biochem. 2001. Vol. 34. P. 71–76.
14. Roy D., Sarkar S., Felty Q. Levels of IL-1 beta control stimulatory/inhibitory growth of cancer cells // Front. Biosci. 2006. Vol. 11. P. 889–898.
15. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis // Free Radical Biol. and Med. 1990. Vol. 8. P. 583–599.
16. Szlosarek P., Kellie A.C., Balkwill F.R. Tumour necrosis factor- α as a tumour promoter // Eur. J. Cancer. 2006. Vol. 42, № 6. P. 745–750.

Поступила 17.12.07