

по эхокардиографии, исследовать калий, магний, кальций крови. Удлинение интервала QT, наличие маркеров ДСТ сердца и нарушения электролитного обмена требуют назначения патогенетической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барт Б. Я., Беневская В. Ф. Пролабирование митрального клапана // Тер. архив. – 2003. – № 1. – С. 10–15.
2. Земцовский Э. В. Соединительно-тканые дисплазии сердца. – СПб: Ассин. – 2007. – 80 с.
3. Земцовский Э. В., Реева С. В., Малев Е. Г. и др. Алгоритмы диагностики распространенных диспластических синдромов и фенотипов. Теоретические подходы и практическое применение классификации // Артер. гипертензия. – 2009. – Том 15. № 2. – С. 163–165.
4. Иванова Л. А., Король И. В., Вытклова Н. В. Синдром недифференцированной дисплазии соединительной ткани и эндокринная патология // Кубан. науч. мед. вестник. – 2008. – № 5. – С. 63–68.
5. Карпов Р. С., Яковлев В. М. Пролабирование митрального клапана // Е. И. Чазов (ред.). Болезни сердца и сосудов. – М.: Медицина. – 1992. – С. 360–371.
6. Клеменов А. В. Современные возможности патогенетического лечения недифференцированных дисплазий соединительной ткани // Нижегород. мед. журнал. – 2000. – № 3. – С. 88–92.
7. Клеменов А. В. Первичный пролапс митрального клапана. – М.: Интерика. – 2006. – 56 с.
8. Костюченко Л. Н. Нарушения калий-магниевого гомеостаза и их коррекция в ходе нутриционной поддержки больных пожилого и старческого возраста // Труд. пациент. – 2007. – Том 5. № 6–7. – С. 39–45.
9. Мазур Н. А. Внезапная смерть (стратификация риска и профилактика) // Сердце. – 2004. – Том 5. № 1. – С. 24–33.
10. Степура О. Б., Мельник О. О., Шехтер А. Б. и др. Результаты применения магниевого соли оротовой кислоты «Магнерот»

при лечении больных с идиопатическим пролапсом митрального клапана // Рос. мед. вести. – 1999. – № 2. – С. 64–69.

11. Стуров Н. В. Препараты магния – обоснование применения в кардиологической практике // Труд. пациент. – 2006. – Том 4. № 11. – С. 29–31.
12. Шолов А. М. Применение препаратов магния для профилактики ритма сердца у больных острым инфарктом миокарда // Рос. кард. журнал. – 2002. – № 1. – С. 16–19.
13. Ягода А. В., Гладких Н. Н. Малые аномалии сердца. – Ставрополь, 2005. – 246 с.
14. Яковлев В. М., Карпов Р. С., Белан Ю. Б. Нарушение ритма и проводимости при соединительно-тканной дисплазии сердца. – Омск, 2001. – 157 с.
15. Baedeker W. Mitralklappenprolarsyndrom und Rhythmusstrungen / W.Baedeker // Herz. – 1988. – Vol. 13. – P. 318–325.
16. Boudoulas H., Kolibach A. J., Baker P. Mitral valve prolapse and the mitral valve prolapse syndrome: a diagnostic classification and pathogenesis of symptoms // Am. Heart J. – 1989. – Vol. 118. – P. 796–818.
17. Farb A. Comparison of cardiac finding in patients with mitral valve prolapse who died suddenly to those who have congestive heart failure from mitral regurgitation and those with noncardiac conduction / A. Farb, A. I. Tang, J. B. Atkinson et. al. // Am. J. Cardiol. – 1992. – Vol. 70. – P. 234–239.
18. Hoshino K., Ogawa K., Hishitani T. et al. Successful uses of magnesium sulfate for torsades de pointes in children with long QT syndrome // Pediatr Int. – 2006. – Apr. № 48 (2). – P. 7.
19. Lezhitsa L. Potassium and magnesium depletion in congestive heart failure-pathophysiologi, consequences and replenishment // Clin. Calcium. – 2005. – № 15 (11). – P. 33.
20. Pasternak A. Increased plasma catecholamine levels in patients with symptomatic mitral valve prolapse / A. Pasternak, J. F. Tuberu, P. E. Puddu // Am. J. Med. – 1982.

Поступила 22.12.2009

Т. С. КОЧКОНЯН², А. Ф. ГАСПАРЯН², А. А. ЛАДУТЬКО¹, И. М. БЫКОВ¹,
Г. В. ШАЛАЕВА¹, Н. И. БЫКОВА¹

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ВТОРИЧНОЙ АДЕНТИИ

¹Кафедра фундаментальной и клинической биохимии
Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4;

²кафедра ортопедической стоматологии
Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Кирова, 75. E-mail: ladutkoa@mail.ru

В работе представлены результаты изучения процессов липопероксидации и состояния ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы ротовой жидкости у больных адентией. Обнаружено усиление свободнорадикальных процессов в полости рта, что было связано с накоплением ионов железа в ротовой жидкости, а также дисбалансом в работе антиоксидантной системы ротовой полости.

Ключевые слова: адентия, ротовая жидкость, окислительный стресс, антиоксидантная система.

Т. С. КОЧКОНЯН², А. Ф. ГАСПАРЯН², А. А. ЛАДУТЬКО¹, И. М. БЫКОВ¹,
Г. В. ШАЛАЕВА¹, Н. И. БЫКОВА¹

PROCESSES OF PEROXIDE OXIDATION OF LIPIDS AND CONDITION OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM
OF ORAL LIQUID BY DIFFERENT EXTENT OF SECOND ADENTIA

The labor presents the results of the study of lipid peroxidation and the state of enzymatic and not enzymatic antioxidant system links of oral fluid in patients with edentulous. Was found increased free radical processes in the oral cavity, which was associated with the accumulation of iron ions in the oral fluid, as well as imbalance in the antioxidant system in the oral cavity.

Key words: adentia, oral liquid, oxidation stress, antioxidant system.

В последние годы в решении проблемы охраны здоровья, профилактики заболеваний, сохранения активного долголетия мировая наука в целом и медицина в частности достигли огромных успехов. Стало очевидным, что генетические факторы и здоровый образ жизни являются главными условиями долголетия и здоровья. Благодаря этиологической и патогенетической профилактике предотвращаются многие заболевания, что позволило значительно увеличить продолжительность жизни людей во многих странах мира. Особенно большие успехи достигнуты в профилактике стоматологических заболеваний [19]. Стоматологическая заболеваемость в странах, имеющих профилактические программы, снизилась в 2–4 раза. Общество осознало, что в его силах до глубокой старости сохранить большинство зубов, что значительно повышает качество жизни. Это связано не только с эстетическим внешним видом, но и с нарушением физиологических процессов жевания и пищеварения при адентии [5, 19]. При потере одного или нескольких зубов оставшиеся подвергаются повышенной нагрузке. Следствием этого являются истирание и сколы эмали, появление подвижности зубов, а также повышение риска развития заболеваний желудочно-кишечного тракта, что является следствием недостаточной механической и химической обработки пищи в ротовой полости [5, 8, 17].

Анатомическое и функциональное единство полости рта, зубочелюстной системы и слюнных желез, продуцирующих и рекретирующих из крови основные компоненты, образующие смешанную слюну, обуславливают значительные изменения физико-химических свойств ротовой жидкости, развивающихся как при патологической, так и при физиологической адентии [6, 8, 17].

С возрастом количество беззубых людей значительно увеличивается. По данным [1], среди жителей Москвы и Подмосковья в возрастной группе 60–69 лет было выявлено 9,1% случаев полной потери зубов одновременно на верхней и нижней челюсти, в возрастной группе 70–79 лет таковых оказалось 16,0%, а после 90 и старше – 29,7%. Основными причинами удаления зубов у пожилых людей наряду с кариесом являются заболевания пародонта [10]. Таким образом, более 25% лиц старше 80 лет не имеют в полости рта ни одного собственного зуба, что можно трактовать как серьезные нарушения структуры и функции зубочелюстной системы, приводящие к нарушению не только ее нормального функционирования, но и всего организма в целом.

Так как удельный вес людей пожилого и преклонного возраста в обществе значительно увеличивается, а также ввиду серьезных последствий потери зубов необходимо всестороннее изучение механизмов, приводящих к их потере, а также процессов, возникающих

в полости рта после удаления и протезирования зубов [13, 16]. Большинство этих вопросов остались не решенными до настоящего времени.

В последнее время значительно возрос интерес к клиническим аспектам исследования процессов свободнорадикального окисления (СРО) липидов в стоматологии. Это во многом обусловлено тем, что дефект в указанном звене метаболизма способен существенно снизить резистентность организма к воздействию на него неблагоприятных факторов внешней среды, а также создать предпосылки к формированию и ускоренному развитию ряда острых и хронических заболеваний полости рта [2, 4, 7, 10].

Цель исследования – изучить процессы перекисного окисления липидов и состояние ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы ротовой жидкости при различных степенях вторичной адентии.

Материалы и методы исследования

В рамках проведенного исследования были обследованы 45 больных (средний возраст $51,64 \pm 2,06$ года, из них 22 мужчины, 23 женщины) с различными степенями вторичной адентии и 20 практически здоровых людей (средний возраст $30,20 \pm 2,03$ года, из них 10 мужчин, 10 женщин) с интактными зубными рядами.

Реципиенты были разделены на 4 группы. Первую группу составили пациенты с частичной адентией, у которых отсутствовало не более 3 зубов ($n=25$). Во вторую вошли больные с частичной адентией, у которых отсутствовало 4–10 зубов ($n=10$). Третью группу составили пациенты с полным отсутствием зубов на верхней и нижней челюсти ($n=10$). Четвертую группу ($n=20$) составили практически здоровые люди, у которых целостность зубных рядов была сохранена.

Для проведения биохимических исследований у реципиентов собиралась нестимулированная ротовая жидкость по общепринятой методике [2, 5]. Полученную ротовую жидкость центрифугировали при 3000 оборотов/минуту в течение 15 минут. Для дальнейшего исследования использовали как супернатант, так и осадок.

Для оценки интенсивности протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающих в полости рта, использовали определение содержания вторичных продуктов липопероксидации по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Принцип метода основан на образовании окрашенного комплекса при взаимодействии вторичных продуктов липопероксидации (преимущественно малонового диальдегида), содержащихся в ротовой жидкости, с ТБК. Интенсивность окраски образующегося комплекса, измеряемая фотометрически при $\lambda = 540$ нм, прямо пропорциональна концентрации вторичных продуктов ПОЛ.

Полученные результаты выражали в микромолях малонового диальдегида на 1 л ротовой жидкости [12, 21].

Для оценки работы ферментативного звена антиоксидантной системы (АОС) ротовой жидкости проводили определение активности ферментов первой (супероксиддисмутаза – СОД) и второй (каталаза) линий антирадикальной защиты. Активность каталазы определяли колориметрическим методом [15, 20]. Принцип метода основан на способности пероксида водорода давать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Об активности каталазы судили по количеству перекиси водорода, не разрушенной ферментом. Активность фермента выражали в мкмоль/ (мин • г белка).

Активность СОД определяли по методу В. А. Костюка и соавт. [1990] [18]. 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, отнесенных к 1 г белка ротовой жидкости.

Концентрацию общего белка в ротовой жидкости определяли с помощью высокочувствительного метода М. Брэдфорд [1976] [11]. Принцип метода основан на способности белковых молекул образовывать окрашенные комплексы с красителем Кумасси G-250. Интенсивность окраски такого комплекса пропорциональна количеству белка в образце.

О состоянии неферментативного звена АОС ротовой жидкости судили по уровню небелковых тиоловых групп. Принцип метода основан на способности низкомолекулярных тиоловых соединений при взаимодействии с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой образовывать окрашенное соединение – тιο-2-нитробензойную кислоту, водный раствор которой имеет максимум поглощения при $\lambda = 412$ нм. Полученные результаты выражали в ммоль/л ротовой жидкости [3, 14, 20].

Для определения содержания ионов железа в ротовой жидкости использовали набор реагентов фирмы «Vital Diagnostics SPb» кат. № В 24.31. Принцип метода: в кислой среде белковые комплексы,

связывающие железо, диссоциируют, и железо восстанавливается до Fe^{2+} . Ион двухвалентного железа связывается с хромогеном, образуя окрашенный комплекс, концентрация которого пропорциональна концентрации железа в образце и измеряется фотометрически. Комплексы хромогена с ионами цинка и меди маскируются, образуя неокрашенные комплексы с хелатором, что обеспечивает более точное определение концентрации железа, свободное от интерференций [12].

Полученные экспериментальные данные были обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 [9].

Результаты и обсуждение

Согласно результатам проведенных исследований в ротовой жидкости больных как частичной, так и полной адентией наблюдался процесс активации ПОЛ (таблица).

Так, содержание ТБК-РП в ротовой жидкости увеличилось на 101,8% ($p < 0,001$) при отсутствии у больных 1–3 зубов по сравнению с контрольной группой (здоровые люди с интактными зубными рядами); на 231,6% ($p < 0,001$) при отсутствии 4–10 зубов и на 289,5% ($p < 0,001$) при полной адентии.

Активация СРО с накоплением продуктов ПОЛ в полости рта пациентов с адентией может способствовать дальнейшему прогрессированию этой патологии. Продукты ПОЛ способны повреждать основные компоненты соединительной ткани, в частности, коллаген. Под воздействием свободных радикалов и продуктов СРО снижается эластичность коллагеновых волокон, нарушаются процессы их обновления, усиливаются процессы гидроксирования аминокислотных остатков в молекуле коллагена, вследствие чего увеличивается содержание оксипролина и оксализина. Это может оказывать существенное влияние на ткани пародонта, фиксирующие зубы в челюсти, и явиться причиной дальнейшей утраты зубов.

Трудно объяснить причину резкого сдвига про-/антиоксидантного равновесия в сторону прооксидантного направления самопроизвольным или спонтанным окислением. Согласно литературным данным, одной

Содержание ТБК-РП в ротовой жидкости при различных степенях вторичной адентии ($M \pm m$)

Группы обследованных	n	ТБК-РП, мкмоль/л
I (пациенты с частичной адентией, у которых отсутствовало не более 3 зубов)	25	$1,15 \pm 0,03$ $p_{1-7} < 0,001$
II (больные с частичной адентией, у которых отсутствовало 4–10 зубов)	10	$1,89 \pm 0,04$ $p_{2-7} < 0,001$ $p_{1-2} < 0,001$
III (пациенты с полным отсутствием зубов на верхней и нижней челюсти)	10	$2,22 \pm 0,03$ $p_{3-7} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
VII (практически здоровые люди)	20	$0,57 \pm 0,05$

из причин нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия в полости рта при частичной адентии может быть резкое увеличение в ротовой жидкости содержания ионов металлов, имеющих переменную валентность [2, 5].

Как показали исследования (рис. 1), в ротовой жидкости больных вторичной адентией наблюдалось увеличение содержания ионов железа. При отсутствии у больных 1–4 зубов (I группа) содержание ионов Fe^{2+} в ротовой жидкости увеличилось в среднем на 17,1% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Во II и III клинических группах содержание железа в ротовой жидкости превышало данный показатель в группе здоровых людей на 68,1% ($p < 0,001$) и 98,4% ($p < 0,001$) соответственно.

Нарушения процессов ПОЛ усугублялись развивающейся функциональной недостаточностью ферментативных и неферментативных звеньев АОС.

Такие разнонаправленные изменения между активностью ферментов первой и второй линий антирадикальной защиты свидетельствуют о дисбалансе в работе ферментативного звена АОС. Ингибирование СОД в ротовой жидкости больных адентией создает условия для накопления в полости рта активных форм кислорода (АФК). В свою очередь, увеличение интенсивности протекания свободнорадикальных процессов может обусловить торможение активности СОД вследствие необратимого восстановления меди в активном центре или окисления в нем ряда функциональных групп, в частности тиоловых. При возрастании АФК в среде вероятны конформационные перестройки молекулы фермента, приводящие к утрате им своих функциональных свойств. Увеличение активности каталазы в ротовой жидкости больных адентией может быть обусловлено как усилением синтеза фермента, так и его рекрецией слюнными железами из крови.

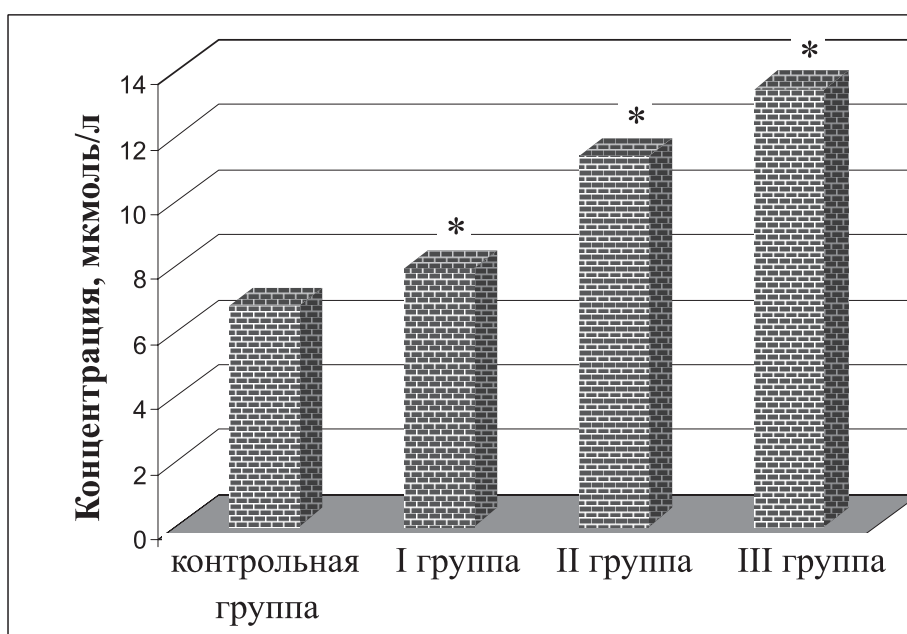


Рис. 1. Содержание ионов железа в ротовой жидкости при различных степенях вторичной адентии

Примечание: * – $p < 0,001$.

Активность фермента первой линии антирадикальной защиты – СОД в ротовой жидкости больных частичной адентией (I и II группы) была ниже по сравнению с данными в контрольной группе. Активность СОД снизилась на 20,9% ($p < 0,001$) при отсутствии у больных 1–3 зубов и на 25,3% ($p < 0,001$) при отсутствии 4–10 зубов по сравнению с активностью фермента в группе людей с интактными зубными рядами. В группе больных, страдающих полной адентией, наблюдалось наиболее выраженное снижение активности СОД. Активность фермента в III клинической группе снизилась на 34% ($p < 0,001$) по сравнению с данными в контрольной группе.

Противоположно направленные изменения были обнаружены для фермента второй линии антирадикальной защиты – каталазы. В I клинической группе активность фермента была выше на 12,8% ($p < 0,001$) по сравнению с активностью каталазы в группе людей с интактными зубными рядами, во II группе – на 20,7% ($p < 0,001$), в III – на 22,4% ($p < 0,001$).

Потеря зубов оказывает существенное влияние на состояние неферментативного звена АОС ротовой полости. У больных адентией в ротовой жидкости наблюдалось снижение содержания небелковых SH-групп (рис. 2). В I клинической группе данный показатель был на 27,2% ($p < 0,02$) меньше по сравнению с показателем в контрольной группе. Во II и III клинических группах содержание тиолов в ротовой жидкости больных было соответственно на 34,6% ($p < 0,01$) и на 51,4% ($p < 0,001$) ниже по сравнению с концентрацией небелковых SH-групп в ротовой жидкости практически здоровых людей.

Ослабление антиоксидантной защиты, накопление продуктов ПОЛ в полости рта могут быть вызваны недостаточным поступлением в организм больных адентией антиоксидантов. Из-за потери зубов у больных нарушается жевательная функция, что сказывается на протекании процессов пищеварения в дистальных отделах желудочно-кишечного тракта, а также на поступлении нутриентов в кровь и дальнейшем их использовании

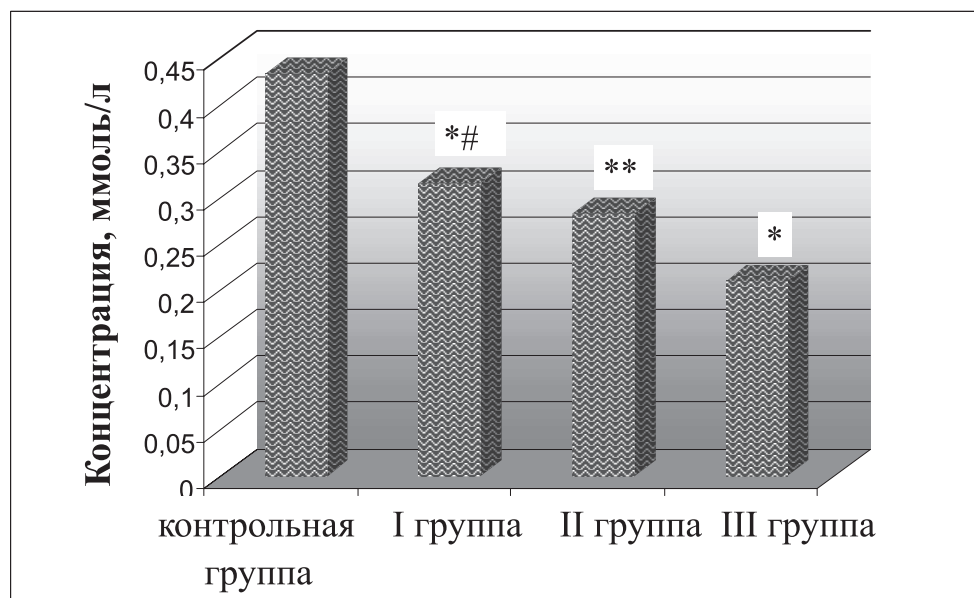


Рис. 2. Содержание небелковых тиоловых групп в ротовой жидкости при различных степенях вторичной адентии

Примечание: * – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, *# – $p < 0,02$.

тканями человеческого организма. Избыточное образование инициаторов СРО может истощать пул ферментативных антиоксидантов, которые, выполнив роль ловушек свободных радикалов, превращаются в неактивные продукты. Ухудшение микроциркуляции тканей пародонта, наблюдаемое при адентии [10], уменьшает приток антиоксидантов, что усиливает дисбаланс в работе АОС.

Таким образом, в ротовой жидкости больных с различными степенями вторичной адентии наблюдаются активация СРО биомолекул, смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону прооксидантного направления, истощение ферментативного (тиолы) и ферментативного (СОД) звеньев АОС, а также компенсаторное повышение активности каталазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алимский А. В., Вусатый В. С., Прикулс В. Ф. Особенности распространения заболеваний пародонта среди лиц пожилого и преклонного возраста Москвы и Подмосквья // *Стоматология*. – 2004. – № 1. – С. 55–57.
2. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости. Учебное пособие / Под ред. Ф. Н. Гильмиевой. – М.: Известия. – 2006. – 312 с.
3. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. – СПб: Фолиант, 2000. – 104 с.
4. Бабина А. О., Бондаренко В. В., Гранько М. А. Источники активных форм кислорода в тканях ротовой полости в норме и при патологии // *Стоматология*. – 1999. – № 5. – С. 9–11.
5. Быков И. М., Ладутько А. А., Есауленко Е. Е., Еричев И. В. Биохимия ротовой и десневой жидкости (учебное пособие). – Краснодар, 2008. – 100 с.
6. Вавилова Т. П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.
7. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // *Соросовский образовательный журнал*. – 2000. – № 12. – С. 13–19.

8. Воложин А. И., Филатова Е. С., Петрович Ю. А. Оценка состояния пародонта по химическому составу полости рта // *Стоматология*. – 2000. – № 1. – С. 13–16.

9. Герасимов А. Н. Медицинская статистика: Учебное пособие. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – 480 с.

10. Грудянов А. И., Овчинникова В. В., Серебрякова Л. Е. Зависимость показателей перекисного окисления в слюне от тактики локального применения диклоран-желе при пародонтите // *Стоматология*. – 2002. – № 4. – С. 31–34.

11. Досон Р., Эллиот Д., Джонс К. Справочник биохимика: Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544 с.

12. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.

13. Кишкун А. А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 976 с.

14. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 800 с.

15. Королюк М. А., Иванов Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. П. Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

16. Коротько Г. Ф. Рекреция ферментов и гормонов эндокринными железами // *Успехи физиол. наук*. – 2003. – Т. 34. № 2. – С. 21–32.

17. Коротько Г. Ф. Секреция слюнных желез и элементы салива-диагностики. – М.: ИД «Академия естествознания», 2006. – 191 с.

18. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. И. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // *Вопросы медицинской химии*. – 1990. – № 2. – С. 88–91.

19. Леонтьев В. К. Здоровые зубы и качество жизни // *Стоматология*. – 2000. – № 5. – С. 10–13.

20. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А. И. Карпищенко. – СПб: Интермедика, 2002. – Т. 2. – 600 с.

21. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии*. – М., 1977. – С. 66–68.

Поступила 10.01.2009