

ПАТОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ С ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ

*Кафедра фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8 (928) 8824941. E-mail: k_faro@mail.ru*

В статье представлены результаты исследований ферментного звена антиоксидантной системы, а также активностей кислой и щелочной фосфатаз, амилазы в ротовой жидкости у детей двух возрастных групп (8–12 и 13–17 лет) с патологией пародонта на фоне психоневрологических нарушений. В обеих возрастных группах выявлены схожие изменения: увеличение активностей ферментов антирадикальной защиты, фосфатаз и снижение амилазной активности. Полученные данные демонстрируют возможности лабораторной оценки тяжести патологического процесса в ротовой полости и эффективность проводимой терапии. Также перспективным направлением является разработка скрининговых исследований метаболического статуса ротовой жидкости, позволяющих предупреждать развитие патологии пародонта и ее осложнений у больных с высокой степенью риска, в том числе у детей с психоневрологическими нарушениями.

Ключевые слова: ротовая жидкость, антиоксидантная система, окислительный стресс, заболевания пародонта.

E. A. FAROPONOVA, I. M. BYKOV, S. B. HAGUROVA

PATHOBIOCHEMICAL CHANGES OF MOUTH LIQUID BY DENTAL PATHOLOGY
IN CHILDREN WITH PSYCHONEUROLOGIC DISORDERS

*Department of fundamental and clinical biochemistry Kuban state medical university,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin street 4; tel. 8 (928) 8824941. E-mail: k_faro@mail.ru*

The results of the research in enzyme link of the antioxidant system as well as the activity of acid and alkaline phosphatase and amylase in mouth liquid of children from two age groups (8–12 years and 13–17 years) with parodontium disorders against the background of psychoneurologic disorders are presented in this article. The similar changes are detected in both groups, ex. the increase in activity of antiradical protection enzymes, phosphatases and the decrease in activity of amylase. The received data demonstrate the possibilities for laboratory severity assessment of the pathological process in oral cavity and of the effectiveness of ongoing therapy. Another prospective area is the development of screening research of the mouth liquid's metabolic status which enables the prevention of parodontium pathology and of its complications in high-risk patients including children with psychoneurologic disorders.

Key words: oral fluid, antioxidant system, oxidative stress, periodontal diseases.

В настоящее время наблюдается высокая распространенность стоматологических заболеваний у детей с психоневрологическими нарушениями [8]. Этому способствуют часто сопутствующая анатомическая патология полости рта, снижение интеллекта с вытекающими сложностями в соблюдении необходимых гигиенических правил, побочные эффекты терапии основной соматической патологии. Профилактика заболеваний полости рта является сегодня актуальным вопросом в работе стоматологов и включает в себя комплекс мер, в том числе развитие ранней диагностики метаболических нарушений в ротовой полости и проведение их коррекции [2]. Этому должны способствовать разработка и внедрение новых методов неинвазивной диагностики, осно-

ванной на исследованиях биохимических показателей ротовой жидкости (РЖ) [7]. В целом ряде исследований последних десятилетий показано, что параметры РЖ высокоинформативны при стоматологических и даже соматических патологиях, что в совокупности с преимуществами РЖ в заборе и хранении материала делает ее наиболее привлекательным объектом в современной клинико-лабораторной практике [1, 3, 6, 10].

Существенную роль в патогенезе заболеваний ротовой полости играют нарушения функционирования антиоксидантной системы (АОС) и интенсификация окислительных процессов [4, 11, 12]. Свободнорадикальные процессы активно протекают в полости рта, тесно контактирующей с кислородом воздуха, что при патологии спо-

способствует повреждению тканей пародонта [9, 13]. Мощным прооксидантом является железо, концентрация которого резко увеличивается при кровоточивости десен, часто сопровождающей патологию пародонта, что, в свою очередь, усугубляет развитие окислительных нарушений. В результате окислительного стресса развиваются гибель клеток промежуточного эпителия и соединительной ткани, разрушение связочного аппарата зубов и их патологическая подвижность, нарушение процессов регенерации, формирование пародонтальных карманов и убыль костной ткани. В связи с этим интерес представляет изучение окислительного метаболизма в РЖ с целью разработки новых методов мониторинга их состояния и способов контроля эффективности терапии.

Несомненно, важную роль в развитии патологических процессов играет воспаление. Отмечаются прямые корреляционные взаимосвязи между тяжестью воспалительного процесса при заболеваниях пародонта и активностью щелочной и кислой фосфатаз. Значительную роль в метаболизме ротовой полости и развитии патологических процессов играет α -амилаза, активность которой тонко реагирует на изменение характера среды, что также играет немаловажную роль в развитии заболеваний полости рта.

Целью нашего исследования являлось изучение биохимических показателей прооксидантно-антиоксидантной системы и воспалительного процесса в РЖ у больных детей с заболеваниями пародонта и психоневрологическими нарушениями.

Материалы и методы исследования

В ходе проведенных исследований на базе детского стоматологического отделения стоматологической поликлиники ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России (г. Краснодар) были обследованы 105 детей. Были сформированы 2 контрольные группы, которые составили относительно здоровые дети двух возрастных групп: дети младшего школьного возраста (7–12 лет, группа 1, $n=22$) и подросткового периода (13–17 лет, группа 2, $n=26$). Также были сформированы 2 опытные группы, представленные детьми с психоневрологическими нарушениями и различными заболеваниями пародонта: группа 3 (7–12 лет, $n=28$) и группа 4 (13–17 лет, $n=29$). У всех родителей было получено информированное письменное согласие на использование биологического материала. Соотношение по полу в среднем составляло 1:1,3 с преобладанием девочек.

Объектом исследования была РЖ пациентов исследуемых групп. Нестимулированную ротовую жидкость собирали в стеклянные пробирки утром натощак после ополаскивания ротовой полости кипяченой водой. Полученная биологическая жидкость без признаков присутствия крови

подвергалась центрифугированию при 2600 г в течение 15 минут, для дальнейших исследований использовался прозрачный супернатант.

Концентрацию белка в РЖ определяли по реакции с пирогаллолом с помощью коммерческих наборов реактивов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (г. Санкт-Петербург, Россия). Для оценки функционирования ферментного звена АОС осуществляли определение активности каталазы (КАТ) по способу, основанному на проведении реакции разрушения перекиси водорода биосубстратом и регистрации разницы концентраций до и после реакции при 260 нм. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по методу, основанному на оценке степени ингибирования окисления кверцетина в щелочной среде. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по методу, основанному на регистрации снижения концентрации восстановленного глутатиона при нейтрализации гидроперекиси трет-бутила, активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по регистрации убыли НАДФН при восстановлении окисленного глутатиона в модельной системе [5]. Активности щелочной и кислой фосфатаз определяли с помощью коммерческих наборов реагентов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (г. Санкт-Петербург, Россия). Активность α -амилазы определяли по ее способности гидролизовать крахмал, что регистрировали с помощью йодного реактива.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с принятыми методами вариационной статистики (критерий Манна-Уитни), с использованием программного обеспечения, находящегося в свободном доступе («R Development Core Team», Австрия, 2008). Различия считали достоверными, если вероятность ошибки составляла $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование показателей функционирования АОС показало существенные сдвиги в работе ее ферментного звена в РЖ. В целом можно отметить, что активности ферментов антирадикальной защиты при патологии пародонта у больных детей с психоневрологическими нарушениями имели тенденцию к увеличению (таблица). Так, активность СОД, фермента первой линии антиоксидантной защиты, в РЖ опытной группы детей младшего школьного возраста увеличилась в 1,3 раза в сравнении с соответствующей по возрасту контрольной группой ($p < 0,05$). В группе детей подросткового периода активность СОД возрастала в 1,8 раза ($p < 0,05$). Каталазная активность РЖ также возрастала: в 3-й группе – в 1,6 раза в сравнении с 1-й группой ($p < 0,05$), а в 4-й группе – в 1,3 раза в сравнении со 2-й группой ($p < 0,05$). Нарушения работы ферментов первой и

второй линии антиоксидантной защиты отражают напряжение компенсаторных возможностей данного звена системы неспецифической защиты и косвенно указывают на интенсификацию окислительных процессов в ротовой полости. Активности ферментов метаболизма глутатиона – ГПО и ГР также значительно возрастали во всех опытных группах. Так, активность ГПО в 3-й группе увеличилась в 3,2 раза ($p < 0,05$), а в 4-й – в 1,5 раза ($p < 0,05$). Активность ГР, регенерирующая восстановленный глутатион, увеличивалась в 3-й группе в 2,9 раза ($p < 0,05$), в 4-й группе – в 3,1 раза ($p < 0,05$). Полученные данные демонстрируют возросшую потребность метаболических систем ротовой полости в образовании восстановительных эквивалентов и нейтрализации свободных радикалов и реактивных молекул.

Изучение активности щелочной и кислой фосфатаз, а также амилазной активности ротовой жидкости показало наличие существенных метаболических сдвигов в полости рта (рисунок). Были получены данные, указывающие на увеличение активности ЩФ и КФ в обеих опытных группах.

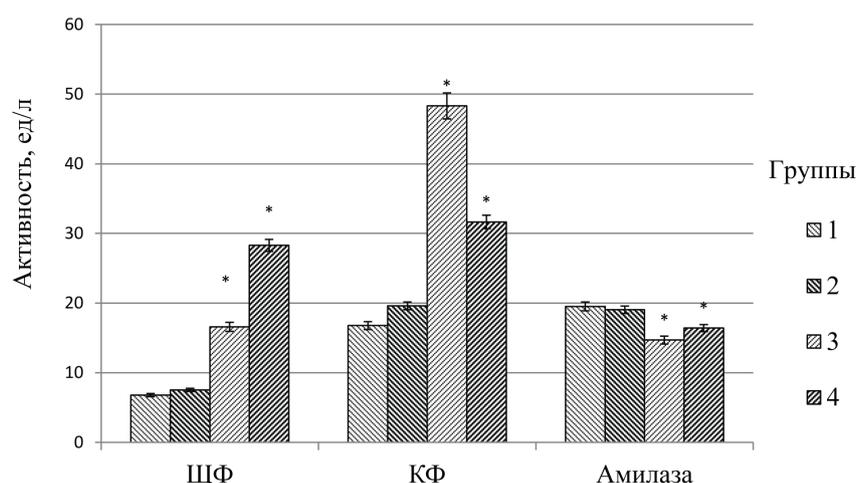
Активность ЩФ в наибольшей степени возрастала в 4-й группе – в 3,8 раза ($p < 0,05$), а КФ – в 3-й группе – в 2,9 раза ($p < 0,05$). Фосфатазы – ферменты, катализирующие гидролиз органических эфиров фосфорной кислоты. КФ локализуется в лизосомах клеток, и увеличение ее активности может свидетельствовать о развитии воспалительного процесса, увеличении количества лейкоцитов в РЖ, активной их дегрануляции с высвобождением лизосомальных ферментов. Кроме того, активность КФ может увеличиваться за счет нарушения проницаемости плазматических мембран в клетках слизистой оболочки полости рта и десны. Активность ЩФ также может возрастать в результате активации патогенной микрофлоры, разрушения тканей пародонта с выходом в РЖ данного фермента из клеток соединительной ткани, а также остеобластов и остеокластов.

Активность амилазы снижалась в группах детей со стоматологической патологией на фоне психоневрологических нарушений: в группе младшего школьного возраста – на 26% ($p < 0,05$), в группе детей подросткового периода – на 16%

Показатели функционирования антиоксидантной системы ($M \pm m$)

Группа	КАТ, ммоль/(мин*л)	СОД, % ингибирования	ГПО, мкмоль/(мин*л)	ГР, мкмоль/(мин*л)
Группа 1	33,01±1,16	18,30±0,73	0,143±0,004	7,01±0,21
Группа 2	27,56±0,95	19,58±0,80	0,120±0,004	4,23±0,15
Группа 3	53,82±2,01 ¹	23,59±0,84 ¹	0,461±0,019 ¹	20,71±0,64 ¹
Группа 4	35,42±1,56 ²	35,11±1,39 ²	0,177±0,005 ²	13,29±0,49 ²

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ группы 1 по отношению к контрольной группе 3; ² – $p < 0,05$ группы 4 по отношению к контрольной группе 2.



Изменение активностей ферментов ротовой жидкости у детей с психоневрологическими нарушениями и патологией пародонта

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к соответствующей контрольной группе (3-й к 1-й, 4-й к 2-й).

($p < 0,05$). Амилазная активность РЖ находится в обратной зависимости от pH среды, которая активно закисляется при развитии патологических процессов в ротовой полости. Кроме того, активность амилазы может снижаться в результате поражения секреторных клеток слюнных желез.

Резюмируя все вышеизложенное, следует отметить важную роль метаболических нарушений в РЖ при патологии пародонта на фоне психоневрологических нарушений у детей разных возрастных групп. Причем и в группе детей младшего школьного возраста, и у детей подросткового возраста закономерно происходят похожие изменения. Выявлено увеличение активности ферментов всех линий антирадикальной защиты, что характеризует компенсаторную активацию рассматриваемой системы неспецифической защиты. Также установлены повышение активности фосфатаз РЖ и снижение активности амилазы, что указывает на развитие воспалительного процесса. Особенности функционирования ферментов АОС при патологии в разных возрастных группах выявлено не было. Можно отметить меньшие значения активностей ферментов у детей 13–17 лет в сравнении с младшей возрастной группой. Что касается индикаторов воспалительного процесса в ротовой полости – фосфатаз, то прослеживается диссоциация активности ЩФ и КФ в разных возрастных группах. В группе младшего школьного возраста при рассматриваемой патологии преобладает увеличение активности КФ, а в группе детей подросткового периода – ЩФ. Возможно, это связано с преобладанием в младшем возрасте метаболических изменений за счет продуктов лейкоцитарного происхождения в зоне развития воспаления с выходом преимущественно КФ, в дальнейшем при более длительном течении более активно происходит деструкция тканей пародонта с преимущественным выходом ЩФ из клеток в РЖ.

Также полученные результаты демонстрируют возможности неинвазивной лабораторной диагностики, позволяющей оценивать тяжесть патологического процесса в ротовой полости, эффективность проводимой терапии, прогнозировать развитие возможных осложнений. Кроме того, нам представляется, что перспективным направлением является также разработка скрининговых исследований метаболического статуса РЖ, позволяющих предупреждать развитие тяжелых заболеваний пародонта у больных с высокой степенью риска, в том числе у детей с психоневрологическими нарушениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеевко Е. А., Попов К. А., Быков И. М., Сепиашвили Р. И. Метаболические изменения биохимических

показателей на местном и системном уровнях у пациентов с аллергическими заболеваниями // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т. 17. № 2. – С. 93–97.

2. Афанасьева Л. Р. Функциональные свойства и состав ротовой жидкости у детей с нарушением развития интеллекта // Современная стоматология. – 2000. – № 3. – С. 24–26.

3. Быков И. М., Мелконян К. И., Алексеевко Е. А., Попов К. А. Перспективы неинвазивной диагностики нарушений свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при сахарном диабете 2-го типа // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 3–4. – С. 531–534.

4. Горкунова А. Р., Быков И. М., Басов А. А., Лапина Н. В. Изменение иммунологической реактивности и функционирование тиоловой системы антиоксидантной защиты на локальном и системном уровнях при хроническом пародонтите и коморбидной патологии // Аллергология и иммунология. – 2014. – Т. 15. № 3. – С. 186–190.

5. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии: Справочник. – СПб: Интермедика, 2002. – 600 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. Совцова К. Э., Бородулин В. Б., Бельская Н. А. Клинико-биохимические показатели ротовой жидкости у больных пародонтитом // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия медицинская. – 2008. – № 7. – С. 528–532.

8. Янушевич О. О. Стоматологическая заболеваемость населения России. Состояние пародонта и слизистой оболочки полости рта. – М., 2008. – 228 с.

9. Akalin F. A., Toklu E., Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls // J. clin. periodontal. – 2005. – Vol. 32. № 3. – P. 238–243.

10. Basov A. A., Akopova V. A., Bykov I. M. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus // International journal on immunorehabilitation. – 2013. – Т. 15. № 2. – P. 84–86.

11. Bykov M. I., Basov A. A. Change of parameters in prooxidant-antioxidant system in patients with the obstruction of bile-excreting ducts // Medical news of the north caucasus. – 2015. – Vol. 10. № 2. – P. 131–135.

12. D'Aiuto F., Nibali L., Parkar M., Patel K., Suvan J., Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis // J. den. res. – 2010. – № 89 (11). – P. 1241–1246.

13. Dzhimak S. S., Arcybasheva O. M., Baryshev M. G., Basov A. A., Bikov I. M., Fedulova L. V., Didikin A. S., Naumov G. N. Correction of metabolic processes in rats during chronic endotoxemia using isotope (D/H) exchange reactions // Biology bulletin. – 2015. – Vol. 42. № 5. – P. 440–448.

Поступила 11.07.2016