

Показники окисної модифікації білків та антиоксидантного захисту у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит з частковою втратою зубів

Indicators of Proteins Oxidative Modification and Antioxidant Protection in Oral Fluid of Patients with Generalized Periodontitis with Partial Teeth Loss

Мельничук А.С.¹, Рожко М.М.¹,

Ерстенюк Г.М.²

Івано-Франківський національний медичний університет,

¹каф. стоматології факультету післядипломної освіти

(зав. – проф. М.М. Рожко),

²каф. біологічної та медичної хімії

(зав. – проф. Г.М. Ерстенюк)

А.С. Melnychuk, М.М. Rozhko,

Н.М. Ersteniuk

Резюме У 63 хворих на генералізований пародонтит (ГП) I-II ступеня з частковою втратою зубів і 27 здорових пацієнтів досліджено показники окисної модифікації білків (ОМБ) та активність антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (СОД) і каталази в ротовій рідині. Встановлено, що у хворих посилюються прооксидантні процеси, що проявляється достовірним підвищенням альдегідних і кетонних похідних нейтрального та основного характеру. Водночас у цих пацієнтів послаблюється антиоксидантний захист, що засвідчує значне зниження активності ферментів СОД і особливо каталази в ротовій рідині. Наявність неякісних ортопедичних конструкцій у хворих на ГП I-II ступеня дещо більше посилює дисбаланс про- і антиоксидантних взаємодій порівняно з такими у хворих, які раніше не проходили ортопедичного лікування.

Summary In 63 patients with generalized periodontitis of I-II stages and partial teeth loss and 27 healthy patients indicators of proteins oxidative modification, activity of superoxide dismutase (SOD) antioxidants enzymes and catalase in oral fluid were studied. Has been established that in first group prooxidative processes were enhanced which manifested in significant increase of aldehyde and ketone derivatives of neutral and basic character. Simultaneously in these patients antioxidant protection was diminished, confirming a significant reduction in enzyme activity of SOD and especially catalase in oral fluid. Presence of poor quality prosthodontic appliances in patients with generalized periodontitis of I-II stages increases imbalance of prooxidant and antioxidant interactions comparing to not previously treated patients.

Ключові слова часткові дефекти зубних рядів, генералізований пародонтит, окисна модифікація білків, супероксиддисмутаза, каталаза, ротова рідина

Key words partial defects of dentitions, generalized periodontitis, proteins oxidative modification, superoxide dismutase, catalase, oral fluid

Утворення оксидантів (активних форм кисню – АФК), антиоксидантний захист (АОЗ), перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) і білків (ПОБ) є природним

процесом. Проте, дисбаланс деяких механізмів ПОЛ/ПОБ – АОЗ ініціює різні патологічні процеси. Одним із важливих механізмів розвитку патологіч-

них процесів, зокрема й генералізованого пародонтиту (ГП), є порушення структурно-функціональної організації мембранних структур.

Провідна роль при цьому належить збалансованості процесів оксидативного стресу та антиоксидантного захисту [1].

Донедавна, вивчаючи ушкоджуючу дію АФК, основну увагу вчені звертали на ліпіди, тому процеси ПОЛ при різних патологіях, зокрема і при захворюваннях пародонта, вивчені на сьогодні досить всебічно [2, 3]. Однак, інформація щодо пероксидації білків є недостатньою, оскільки інтерес дослідників до вивчення механізмів впливу АФК на білкові речовини істотно зріс лише в останні 10-15 років. Зважаючи на різноманітні функції білків в організмі людини, а також враховуючи дані літературних джерел про первинне пошкодження білкових молекул АФК [4, 5], можемо стверджувати, що дослідження процесів пероксидації, насамперед білків, є важливим. Деструкція клітинних протеїнів у процесі окисної модифікації білків (ОМБ) у протеосомах призводить до клітинної загибелі [6], що є ініціюючим механізмом вторинного ушкодження інших біомолекул (ліпідів, ДНК) та розвитку аутоімунних реакцій [7], тобто встановлений безпосередній зв'язок між процесами ОМБ і багатьма захворюваннями людини [8]. Тому при патологічних станах, які супроводжуються інтоксикацією і розвитком окисного стресу, доцільним є лабораторний контроль ОМБ [5, 9]. Вважається, що рівень ОМБ порівняно з рівнем ПОЛ є інформативнішим маркером наявності окисного стресу в організмі [11, 12]. Механізми вільнорадикального окиснення (ВРО) макромолекул у перебігу ГП залишаються мало вивченими і до кінця нерозкритими. Нині наявні лише поодинокі публікації про пероксидацію білків ротової рідини [10], що і зумовило наш вибір напрямку дослідження. У відповідь на інтенсифікацію ВРО біо-субстратів в організмі активуються багаторівневі АОС, зокрема антирадикальний рівень, який забезпечує відновлення вільних радикалів (токоферол, поліфеноли, аскорбат та ін.), поміж

ними й кисню (супероксиддисмутаза – СОД), та антиперекисний, який елімінує перекиси водню і ліпіди (каталаза, глутатіонпероксидаза та ін.) [1].

Мета дослідження – вивчення змін показників ПОБ-АОЗ у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит з частковою втратою зубів.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 63 пацієнтів із частковими дефектами зубних рядів III і IV класів за Кеннеді, хворих на ГП I-II ступеня хронічного перебігу (діагностували за класифікацією М.Ф. Данилевського, 1994). Серед них – 33 пацієнти, в яких ортопедичне лікування раніше не проводили (I група), та 30 пацієнтів, які потребували повторного ортопедичного лікування (II група). Контрольну групу становили 27 здорових пацієнтів зі збереженими зубними рядами.

Для вивчення стану ПОБ досліджували показники ОМБ за методикою Е.Е. Дубініної і співавт. [13]. Оптичну густину реєстрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 356 нм і 370 нм (кетоніпохідні нейтрального характеру) та 430 нм (альдегідопохідні основного характеру). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом С. Чеварі та співавт. [14]. Кількісне визначення каталази у сироватці

крові здійснювали за методикою А.Н. Баха і С.В. Зубкової.

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження показників ОМБ у ротовій рідині обстежених пацієнтів показали, що у хворих на ГП, які потребують ортопедичного лікування, вони зростають (табл. 1). Так, вміст ОМБ₃₅₆ підвищувався у хворих I групи з $0,048 \pm 0,003$ у.о. до $0,067 \pm 0,003$ у.о., тобто в 1,40 разу ($p_1 < 0,001$), а у хворих II групи – до $0,070 \pm 0,003$ у.о., тобто в 1,46 разу ($p_1 < 0,001$). Різниця між показниками I і II групи становила 1,05 разу ($p_2 > 0,05$). Показники ОМБ при довжині хвилі 370 нм у хворих I і II груп порівняно з даними у здорових збільшувалися у 1,43 і 1,48 разу ($p_1 < 0,001$). Рівень ОМБ 370 у II групі був вищим, ніж у I групі у 1,03 разу ($p_2 > 0,05$).

Вміст ОМБ₄₃₀ у разі часткової втрати зубів і ГП I-II ступеня розвитку підвищувався як у хворих, які раніше не були ліковані (у 2,08 разу; $p_1 < 0,001$), так і у тих, які потребували заміни ортопедичних конструкцій (у 2,33 разу; $p_1 < 0,001$). Різниця між показниками ОМБ₄₃₀ обох груп була невірогідною ($p_2 > 0,05$).

Отже, у хворих на ГП I-II ступеня з частковою втратою зубів зростали показники ОМБ при довжині хвилі 356, 370 і 430 (нм).

Таблиця 1. Рівень показників ОМБ у ротовій рідині пацієнтів із частковою втратою зубів, хворих на генералізований пародонтит I-II ступеня хронічного перебігу ($M \pm m$)

Показники	Здорові, n=27	I група, n=33	II група, n=30
ОМБ ₃₅₆ , у.о.	$0,048 \pm 0,003$	$0,067 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$	$0,070 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
ОМБ ₃₇₀ , у.о.	$0,044 \pm 0,003$	$0,063 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$	$0,065 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
ОМБ ₄₃₀ , у.о.	$0,012 \pm 0,001$	$0,025 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$	$0,028 \pm 0,003$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$

Примітка: вказана вірогідність різниці: p_1 — до величини показників у здорових; p_2 — до величини показників I групи.

Таблиця 2. Показники активності ферментів каталази та СОД у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит I-II ступеня хронічного перебігу розвитку з частковою втратою зубів (M±m)

Показники	Здорові, n=27	I група, n=33	II група, n=30
СОД, МЕ/мг	49,05±2,51	40,63±2,30 p ₁ <0,05	39,88±2,14 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
Каталаза, у.о.	6,66±0,27	4,80±0,24 p ₁ <0,001	4,57±0,25 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05

Примітка: вказана вірогідність різниці: p₁ — до величини показників у здорових; p₂ — до величини показників I групи.

Вивчення стану АОЗ за показниками активності антиоксидантних ферментів у ротовій рідині хворих на ГП з дефектами зубних рядів III і IV класів за Кеннеді виявило зниження цих показників (табл. 2). Зокрема активність СОД, порівняно зі здоровими, зменшувалася в 1,21 разу (p₁ < 0,05) у хворих I групи і в 1,23 разу (p₁ < 0,01) у пацієнтів II групи, тобто з 49,05±2,51 МЕ/мг до 40,63±2,30 МЕ/мг і 38,88±2,14 МЕ/мг відповідно. Між даними I і II групи різниця активності СОД була незначною. Активність каталази знижувалася ще більше, а саме: в 1,39 разу у хворих I групи (p₁ < 0,001) і в 1,45 разу у хворих II групи (p₁ < 0,001). Показники активності каталази I і II груп відрізнялися,

проте різниця між групами в 1,05 разу була незначною.

Отже, наші дослідження показали, що у хворих на ГП I-II ступеня з частковою втратою зубів спостерігається посилення процесів ПОБ. Це засвідчує збільшення ОМБ як альдегідних, так і кетонних похідних нейтрального і основного характеру. Посилення процесів ПОБ супроводжується ослабленням АОЗ, що проявляється зниженням активності основного антиоксидантного ферменту СОД, який каталізує дисмутацію супероксидних аніонів-радикалів. При цьому ще більше зменшується активність специфічного і потужного антиоксидантного бар'єру другої лінії захисту — фермента ката-

лази, що засвідчує значне послаблення захисту тканин порожнини рота від накопичення активних форм кисню.

Усі вивчені нами показники були дещо гіршими у пацієнтів, яким були раніше встановлені протези, але ортопедичні конструкції потребували заміни. Це підтверджує, що неякісне ортопедичне лікування у хворих на ГП I-II ступеня посилює патологічні зміни в порожнині рота.

Висновки

1. У хворих на ГП I-II ступеня з частковою втратою зубів посилюються прооксидантні процеси, що проявляється достовірним підвищенням у ротовій рідині альдегідних і кетонних похідних нейтрального і основного характеру.
2. Водночас у цих пацієнтів послаблюється антиоксидантний захист, що засвідчує значне зниження активності ферментів СОД і особливо каталази в ротовій рідині.
3. Наявність неякісних ортопедичних конструкцій у хворих на ГП I-II ступеня дещо більше посилює дисбаланс про- і антиоксидантних взаємодій порівняно з такими у хворих, які раніше не проходили ортопедичного лікування.

Література

1. Воскресенский О.Н. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита / О.Н. Воскресенский, Е.К. Ткаченко // *Стоматология*. — 1991. — №4. — С. 5—10.
2. Мельничук Г.М. Генералізований пародонтит і пародонтоз: маркери спадкової схильності, патогенетичні механізми метаболічних порушень та їх комплексна корекція: автореф. дис. . . д-ра мед. наук: спец. 14.01.22 «Стоматологія» / Г.М. Мельничук. — Одеса, 2008. — 32 с.
3. Силенко Ю.І. Роль вільнорадикальних, гемокоагулюючих та імунних механізмів у патогенезі генералізованого пародонтиту / Ю.І. Силенко, Р.М. Ступницький // *Український стоматологічний альманах*. — 2011. — №1. — С. 79—83.
4. Bhattacharyya J. Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes / J. Bhattacharyya, T.D. Chowdhury, A.G. Datta // *J. Physiol. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 50. — P. 321—326.
5. Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології / І.З. Карімов // *Лабораторна діагностика*. — 2005. — №1(31). — С. 7—13.
6. Poppek D. Proteasomal defence of oxidative protein modifications / D. Poppek, T. Grune // *Antioxidants and Redox Signaling*. — 2006. — January/February, Vol. 8 (1—2). — P. 173—184.
7. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease / M.J. Davies, S. Fu, H. Wang, R.T. Dean // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 27. — P. 1151—1163.
8. Stadtmann E.R. Role of oxidized amino acids in proteins: mechanism and biological consequences / E.R. Stadtmann // *Method. enzymol.* — 1995. — Vol. 258. — P. 379—393.
9. Окислителная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях / Г.Я. Рябов, Ю.М. Азизов, С.И. Дорохов [и др.] // *Анестезиология и реаниматология*. — 2000. — №2. — С. 72—75.
10. Сухоробський Ю.І. Клініко-експериментальне обґрунтування використання методів литва сплавів металів для зубних протезів: автореф. дис. . . канд. мед. наук: спец. 14.01.22 «Стоматологія» / Ю.І. Сухоробський. — Івано-Франківськ, 2009. — 20 с.
11. Tian L. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging / L. Tian, Q. Cai, H. Wei // *Free Radic. Biol. Med.* — 1998. — Vol. 24, № 9. — P. 1477—1484.
12. Шинкарук В.Г. Вміст церулоплазміну та продуктів окисної модифікації білків при гострій нирковій недостатності за різних умов освітлення / В.Г. Шинкарук // *Буковинський медичний вісник*. — 2009. — Т. 13, №2. — С. 87—89.
13. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, методы её определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Портнов // *Вопросы медицинской химии*. — 1995. — Т.41, №1. — С. 24—26.
14. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрентгер // *Лабораторное дело*. — 1991. — №10. — С. 9—13.