



Микробиология и экология полости рта

Роль ферментов в механизме развития красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта

Резюме

Изучение роли ферментов в развитии красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта показало, что при красном плоском лишае на фоне гальваноза происходит достоверное снижение активности лактатдегидрогеназы, что характеризует низкий уровень окислительно-восстановительных процессов в очагах красного плоского лишая. Увеличение активности щелочной фосфатазы и кислой фосфатазы свидетельствует о существенном повреждении клеток слизистой оболочки полости рта при воспалении.

Ключевые слова: красный плоский лишай, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза.

Summary

Studying the role of enzymes in the development of lichen ruber planus of the oral mucosa showed that when the lichen ruber planus is against galvanosis significant decrease in the activity of lactate dehydrogenase, which characterizes the low level of redox processes in the centres of the Lichen ruber planus. Increased activity of alkaline phosphatase and acid phosphatase indicates a significant cell damage oral mucosa inflammation.

Keywords: lichen ruber planus, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, acid phosphatase.

Особый интерес для клиники представляет исследование активности индикаторных ферментов в сыворотке крови, так как по появлению в плазме (сыворотке) крови или в смешанной слюне ряда тканевых ферментов в повышенных количествах можно судить о функциональном состоянии и поражении различных органов (печени, сердечной и скелетной мускулатуры).

Индикаторные (клеточные) ферменты попадают в кровь из тканей, где они выполняют определенные внутриклеточные функции. Один из них находится, главным образом, в цитозоле клетки (лактатдегидрогеназа, альдолаза), другие — в лизосомах (кислая фосфатаза), третьи — синтезируются главным образом в печени (щелочная фосфатаза и др.). Большая часть индикаторных ферментов в сыворотке крови определяется в норме лишь в следовых количествах. При

Л.Д. Гожая, д.м.н., профессор кафедры ортопедической стоматологии ФПДО
Т.П. Вавилова, д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии МГМСУ
Т.И. Арунов, к.м.н., ассистент кафедры ортопедической стоматологии Киргизско-Российского Славянского университета, г. Бишкек, Кыргызская Республика
Г.Ф. Мамедова, аспирант кафедры ортопедической стоматологии ФПДО

Кафедра ортопедической стоматологии
ФПДО МГМСУ

Для переписки:
Тел.: +7 (499) 978-50-87
E-mail: mamedova-qamar@mail.ru

поражении тех или иных тканей ферменты из клеток "вымываются" в кровь, смешанную слюну; их активность в сыворотке резко возрастает, являясь индикатором степени и глубины повреждения этих тканей [1, 2, 3, 5].

Возрастание активности ферментов сыворотки крови при многих патологических процессах объясняется прежде всего двумя причинами: 1) выходом в кровяное русло ферментов из поврежденных участков органов или тканей на фоне продолжающегося их биосинтеза в поврежденных тканях; 2) одновременным повышением каталитической активности некоторых ферментов, переходящих в кровь. Возможно, что повышение активности ферментов при "поломке" механизмов внутриклеточной регуляции обмена веществ связано с прекращением действия соответствующих регуляторов и ингибиторов ферментов, изменением под влиянием различных факторов строения и структуры макромолекул ферментов [6, 7].

Материалы и методы

Обследовано 56 женщин и 17 мужчин в возрасте 40 до 69 лет, страдающих красным плоским лишаем (КПЛ) слизистой оболочки полости рта (СОПР). Клиническое обследование включало: стоматологический анамнез, внешний осмотр, осмотр полости рта, осмотр зубных протезов. Проводили гигиеническую оценку зубных протезов; исследовали активность ферментов смешанной слюны — лактатдегидрогеназы, щелочной и кислой фосфатаз (ЛДГ, ЩФ и КФ). С этой целью у пациентов до и после ортопедического лечения (через 20 дней) собирали смешанную слюну, без стимуляции, путем сплевывания в пробирку в течение 5 минут. Образцы хранились в холодильнике при $t = -20^{\circ}\text{C}$ до начала исследования.

Активность ЩФ в исследуемых образцах определяли путем измерения скорости гидролиза П-нитрофенилфосфата с освобождением П-нитрофенола, дающего в щелочной среде желтое окрашивание. Скорость



освобождения П-нитрофенилфосфата прямо пропорциональна активности ЩФ в пробе и измеряется спектрофотометрически при длине волны 405 нм. Перед проведением анализа реагенты прогревали до $t=37^{\circ}\text{C}$. В пробирку наливали 1 мл рабочего раствора и 25 мкл исследуемого образца. Измеряли оптическую плотность пробы против дистиллированной воды при длине волны 405 нм через 60 секунд. Вычисляли среднее изменение оптической плотности в минуту ($\Delta_{0,n}$ / мин.).

Активность КФ в исследуемых образцах слюны определяли по скорости гидролиза 1-нафтилфосфата с образованием 1-нафтола. В присутствии соли диазония 1-нафтонол преобразуется в окрашенный продукт, количество которого измерялось спектрографически при длине волны 405 нм. Активность КФ в смешанной слюне рассчитывали по формуле:

$$\text{Акф} = \Delta_{0,n} / \text{мин.} \times 248,$$

где $\Delta_{0,n}$ / мин. – среднее изменение оптической плотности в минуту;

248 – коэффициент миллиморфного поглощения окрашенного продукта.

Для определения активности лактатдегидрогеназы использовали стандартные наборы реактивов фирмы "Human" (Германия). Метод определения ЛДГ основан на ее способности катализировать восстановление пирувата до лактата с одновременным окислением НАДН до НАД⁺. Уменьшение оптической плотности раствора прямо пропорционально активности ЛДГ в пробе и измеряется спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

Результаты исследования

Мы сопоставили клиническую характеристику больных с гальванозом (II группа) и без гальваноза (I группа); КПЛ СОПР на фоне гальваноза и без КПЛ СОПР и гальваноза (IV, V группы); больных только с КПЛ СОПР (III группа), с активностью ферментов смешанной слюны (табл. 1).

Таблица 1. Активность ферментов (МЕ/л) в смешанной слюне

№	Обследуемые	(n)	ЛДГ	КФ	ЩФ
I	Группа (сравнения) Больные с металлическими протезами без гальваноза	15	152±59,0	32,7±5,0	18,0±2,5
II	Больные с металлическими протезами с гальванозом	15	303±102,0*	92,0±30,8*	56,1±10,5*
III	Больные с красным плоским лишаем без металлических протезов	15	97,6±33,8	85,0±28,8*	23,3±8,1
IV	Больные с красным плоским лишаем с металлическими протезами без гальваноза	15	96,1±48,5	37,6±13,8	28,9±3,6
V	Больные с красным плоским лишаем с металлическими протезами и с гальванозом	15	43,6±9,9*	58,3±10,2	43,3±8,0*

Примечание: * в таблице даны достоверные данные показателей II, III, V групп ($p<0,05$).

По данным, представленным в таблице 1, у больных с металлическими протезами и гальванозом (II группа), по сравнению с пациентами, пользующимися металлическими протезами без явлений гальваноза (I группа)-сравнения, достоверно увеличивается активность фермента ЛДГ в 1,99 раза, активность фермента КФ в 2,81 раза, фермента ЩФ в 3,12 раза. Это объясняется раздражающей ролью гальванических токов в полости рта, влияющей на увеличение активности ферментов.

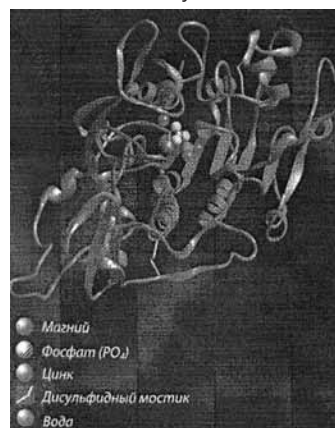


Рис. 1. Строение щелочной фосфатазы (объемная модель)

У больных с КПЛ без металлических протезов (III группа) достоверно увеличивается активность КФ в 2,60 раза, по сравнению с (I группой)-сравнения. Активность ЛДГ снижена в 1,56 раза. Активность ЩФ увеличивается в 1,29 раза по отношению к (I группе)-сравнения. Изменение активности ферментов КФ и ЩФ в сторону увеличения происходит при воспалительной реакции в слизистой оболочке полости рта в ответ на увеличение бактериальной микрофлоры в полости рта. Гальваноз сопровождается выходом в смешанную слюну составных компонентов нержавеющей стали Fe, Ni, Cr, Co, Mn и др., они в свою очередь являются питательной средой для микробной флоры, которая при этом изменяется, и увеличивается активность ферментов КФ и ЩФ.

У больных с КПЛ с металлическими протезами без гальваноза (IV группа) активность ЛДГ снижена в 1,58 раза по отношению с (I группой)-сравнения. Активность КФ увеличена в 1,15 раза и активность ЩФ увеличивается в 1,61 раза по отношению к (I группе)-сравнения. Снижение активности ЛДГ при КПЛ и наличии металлических протезов характеризует низкий уровень окислительно-восстановительных процессов в очагах КПЛ на СОПР.

У больных при КПЛ СОПР и гальванозе (V группа) активность ЛДГ достоверно уменьшается в 3,49 раза по отношению к (I группе)-сравнения. Активность КФ увеличивается в 1,78 раза и активность ЩФ в 2,41 раза по отношению с (I группой)-сравнения. Достоверное уменьшение активности ЛДГ при КПЛ СОПР и гальванозе по сравнению с I и IV группами указывает на роль гальваноза в развитии КПЛ СОПР по показателям окислительно-восстановительных процессов. Увеличение активности КФ ($58,3 \pm 10,2$) при КПЛ СОПР и гальванозе (V группа), а также при КПЛ без явлений гальваноза ($85,0 \pm 28,8$) (III группа) и в (I группе)-сравнения

ВОЗМОЖНОСТИ СТОМАТОЛОГИИ СЕГОДНЯ

($32,7 \pm 5,0$) указывает на степень воспаления в СОПР.

Также мы провели масс-спектрографические исследования смешанной слюны, где отмечаются существенные различия содержания ионов металлов в смешанной слюне, у пациентов, входящих в состав различных групп [7, 8, 9].

В смешанной слюне больных КПЛ СОПР при гальванозе достоверно ($p < 0,05$) выявляется избыток Cd ($0,628 \pm 0,22$), Al ($15,14 \pm 1,8$), Ni ($0,089 \pm 0,022$) по сравнению с таковым содержанием при наличии металлических протезов, но без явлений гальваноза соответственно: Cd ($0,302 \pm 0,14$), Al ($5,42 \pm 0,08$), Ni ($0,0420 \pm 0,018$).

Впервые выявлена прямая зависимость активности ЩФ от увеличенного содержания Mg^{2+} в смешанной слюне (Mg ($14,860 \pm 0,958$) больных КПЛ СОПР на фоне гальваноза по сравнению с содержанием Mg^{2+} ($6,650 \pm 0,882$) в слюне пациентов, не страдающих гальванозом и КПЛ СОПР [3]. Активность ЩФ в слюне объясняется тем, что в состав активного центра ЩФ входит Zn^{2+} . В то же время ионы Mg^{2+} являются активатором ЩФ (рис. 1).

Объемное строение модели ЩФ подтверждает, что активность ЩФ можно определить не только биохимическим методом, но по минеральному составу слюны (Mg^{2+} , Zn^{2+}) [6, 9].

Таким образом, достоверное снижение активности ЛДГ в смешанной слюне при КПЛ СОПР на фоне гальваноза характеризует низкий уровень окислительно-

восстановительных процессов в очаге КПЛ. Увеличение активности КФ и ЩФ свидетельствует о существенном повреждении клеток СОПР воспалительными процессами, а также влиянии электрохимических процессов на активацию клинической картины КПЛ СОПР.

Литература

1. Боровский Е.В., Максимовский Ю.М. Терапевтическая стоматология. — М., 1998. — 736 с.
2. Бочкарева О.И. Стоматологический статус и изменение активности щелочной фосфатазы в слюне при язвенной болезни и болезни двенадцатиперстной кишки // Стоматологический вестник. — 2003. — № 10. — С. 21–23.
3. Вавилова Т.П., Островская И.Г. Биохимия и физиология пульпы зуба. — М.: Медиа-Сфера, 2008. — 36 с.
4. Кудрин А.В. Металлы и протеолитические ферменты // Вопросы биологической, мед. и фарм. химии. — 1999. — № 3. — С. 19–23.
5. Рузуддинов С. Влияние протезных материалов на активность ферментов смешанной слюны: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1974. — 19 с.
6. Гожая Л.Д. Заболевания, обусловленные материалами зубных протезов: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. — М., 2001. — 56 с.
7. Томпсон М., Уолш Д.Н. Руководство по спектрохимическому анализу с индуктивно-связанной плазмой. Пер. с англ. — М.: Недра, 1988. — С. 288.
8. Силин Д.С., Конопля А.И., Письменная Е.В. К вопросу состояния слизистой оболочки полости рта у больных КПЛ // Курский научно-практический вестник "Человек и здоровье". — 2010. — № 3. — 128 с.
9. Гожая Л.Д. Диагностика и лечение непереносимости к зубным протезам // Методическое пособие для врачей. — М., 2008. — С. 41.



de
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

30 ОКТЯБРЯ -
01 НОЯБРЯ 2012
ЛЕНЭКСПО

Профессионально
о новом в стоматологии!

5-й МЕЖДУНАРОДНЫЙ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ
ДЕНТАЛ-ЭКСПО САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

WWW.DENTAL-EXPO.PRIMEXPO.RU
WWW.DENTAL-EXPO.COM/SPB

2012

При поддержке: