

Л. С. Кравченко, С. О. Бас, Н. М. Новикова

СТАН МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ТА НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА

Одеський національний медичний університет

Дослідження останніх років доводять, що захворювання слизової оболонки порожнини рота (СОПР) є поширеними захворюваннями серед населення України, які можуть чинити на організм виражену багатоконпонентну дію. У патогенезі захворювань СОПР важливу роль відводять стану місцевих і загальних факторів неспецифічного та специфічного захисту.

Місцевий імунітет — це складний комплекс захисних пристосувань різної природи, сформованих у процесі еволюційного розвитку та забезпечуючих захист СОПР. Від здатності автофлори СОПР протистояти зовнішнім впливам залежить рівень патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів [1]. Одна з важливих функцій нормальної мікрофлори — підтримка належного стану специфічних і неспецифічних, гуморальних і клітинних механізмів імунітету.

Дані літератури свідчать, що тривала взаємодія між мікробами зубного нальоту і тканинами пародонта сприяє послабленню специфічної імунної відповіді та неспецифічних факторів захисту порожнини рота [2]. У екологічно несприятливих районах у мікрофлорі порожнини рота щодо норми зменшується кількість лактобактерій і збільшується концентрація стафілококів і грибів роду *Candida*, що зараховуються до умовно-патогенної мікрофлори і можуть спричинювати поверхневі ураження слизової оболонки з дефектом імунітету чи без нього. Послаблення резистентності СОПР

призводить до розвитку дисбактеріозу, що диктує необхідність застосування в лікуванні дисбіотичних змін СОПР імунокорекції, спрямованої на відновлення імунологічного гомеостазу [3]. На жаль, у літературі нами виявлені поодинокі повідомлення про значення концентрації окремих імунологічних показників у ротовій рідині хворих із захворюваннями СОПР, тому **метою** нашого дослідження було вивчення біохімічних та імунологічних показників захисту порожнини рота при захворюваннях СОПР.

Матеріали та методи дослідження

Для реалізації поставленої мети нами проведено клінічне та лабораторне обстеження 25 осіб, віком 12–30 років, з ураженнями слизової оболонки. Діагноз установлювали на основі об'єктивного обстеження, проведених анамнестичних, клінічних, клініко-лабораторних та імунологічних досліджень. На основі проведеного комплексного клініко-лабораторного обстеження всі пацієнти були поділені на 2 групи. До першої групи були зараховані 13 хворих із механічною травмою СОПР (7 осіб із хронічною травматичною еритемою та 6 — із хронічною травматичною ерозією), у другу групу входили 12 пацієнтів, у яких за рахунок подразників механічного, хіміко-токсичного характеру від застосування знімних конструкцій зубних протезів виникав токсичний стоматит. Контролем слугували 12 здорових осіб цієї ж вікової кате-

горії з відсутністю ураження СОПР.

Об'єктом дослідження була ротова рідина. Вивчали такі показники: швидкість нестимульованого слиновиділення (мл/хв), біохімічні й імунологічні фактори захисту порожнини рота. Ротову рідину збирали ранком натще у центрифужні пробірки протягом 5 хв. Зберігали до проведення аналізів при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Перед дослідженням розморожували при кімнатній температурі, центрифугували при 3,5 тис. об/хв 15 хв. Біохімічний аналіз проводили у рідкій частині змішаної ротової рідини пацієнтів. Для оцінки стану неспецифічної резистентності у ротовій порожнині досліджували систему перекисного окиснення ліпідів — антиоксидантного захисту (ПОЛ — АОЗ) за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (К), вмістом малонового діальдегіду (МДА), стан клітинних мембран визначали за активністю кислоти фосфатази (КФ). Оцінку стану місцевого імунітету проводили за рівнем лізоциму та визначенням вмісту імуноглобулінів секреторного SIgA , IgA , IgG у ротовій рідині.

Біохімічними методами дослідження у ротовій рідині визначали вміст білка за методом О. Н. Lowry et al. [4], активність кислоти фосфатази за методом Bessey et al. у модифікації А. П. Левицького [5] за визначенням p -нітрофенілфосфату, який під дією ферменту гідролізується до p -нітрофенолу жовтого кольору. Вміст МДА визначали за кольоровою реакцією з тіобарбітуровою кисло-



тою за методикою І. Д. Стальної та Т. Г. Гарішвілі [6]. Активність К визначали за реакцією з молібденом [7], СОД — за відновленням нітротетразолію до нітроформазину [8]. Стан ПОЛ — АОЗ описує антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), який вираховується як відношення активності К до вмісту МДА [9].

Для визначення лізоциму використовували індикаторний мікроорганізм *Micrococcus lysodeicticus* (НПО «Биохимреактив», Санкт.-Петербург). Дослідження проводили фотоколориметричним методом, який базується на різниці ступеня екстинкції, при довжині хвилі 540 нм через 15 і 180 с [10].

Концентрацію IgA і IgG, а також секреторного IgA (S-IgA) виявляли в ротовій рідині, користуючись методом радіальної імунодифузії за J. Mancini [11].

Принцип методу полягає у тому, що зразки ротової рідини розміщують у лунки агару, який містить антитіла до імуноглобулінів одного з класів IgG, IgA у заданій концентрації. Імуноглобуліни, які дифундують із лунок до агару, при взаємодії з відповідними антитілами утворюють кільця преципітації, розмір яких знаходиться у тісній залежності від вмісту в ротовій рідині досліджуваного імуноглобуліну.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами дослідження визначено, що наявність патології СОПР супроводжується підвищенням кількості умовно-патогенної флори в ротовій порожнині, що негативно впливає на показники місцевого імунітету, сприяє порушенню кількісного співвідношення факторів, які характеризують гомеостаз порожнини рота, що створює передумови для прогресування стоматологічної захворюваності.

При клінічному огляді було встановлено, що у всіх осіб із

травмованою СОПР спостерігається така клінічна картина: при обстеженні пацієнтів I групи у 8 (61,5 %) з 13 осіб не спостерігали запальних явищ з боку тканин пародонта; у 3 (23,0 %) хворих спостерігали пародонтит I–II ступеня і тільки у 2 (15,3 %) виявили III ступінь пародонтиту.

Огляд СОПР у хворих II групи засвідчив наявність у більшості з них — 8 (66,6 %) із 12 — симптомів запального процесу. Відмічено зміну кольору слизової оболонки (гіперемія різної інтенсивності — від незначного почервоління до яскраво-червоного забарвлення). Ці зміни супроводжувалися у 25 % випадків набряком, а у 50 % виявлено печію та сухість. У 2 (16,6 %) хворих виявилось підсилення ознак дисбактеріозу у вигляді збільшення кількості грибів роду *Candida*. В усіх оглянутих осіб контрольної групи СОПР рожевого кольору, без видимих патологічних змін та ознак гіперемії. У ротовій рідині пацієнтів II групи визначено вірогідне зниження активності основних ферментів фізіологічного АОЗ порожнини рота — К в середньому на 52,38 % і СОД — на 56 % ($P < 0,05$) (табл. 1).

Це зниження активності антиоксидантної системи у порожнині рота пацієнтів II групи спричинює підвищення інтенсивності ПОЛ, про що свідчить збільшення вмісту МДА в 1,7 разу у ротовій рідині порівняно з вмістом у пацієнтів контрольної групи. Індекс АПІ, який характеризує стан ПОЛ — АОЗ у ротовій рідині осіб II групи, знижується в середньому з 1,55 (у здорових) до 0,46, що підтверджує зрушення рівноваги цієї системи у бік інтенсифікації ПОЛ.

У ротовій рідині пацієнтів II групи відмічено вірогідне підвищення активності кислій фосфатази в 2 рази, що свідчить про порушення цілісності клітинних мембран тканин порожнини рота і є характерною ознакою запалення. Поряд із цим, у ротовій рідині пацієнтів II групи підвищений вміст білка в середньому в 1,76 разу порівняно з особами контрольної групи.

Слід зазначити, що у ротовій рідині пацієнтів I групи значення активності антиоксидантних ферментів К і СОД були в 1,5 рази вищі, ніж у пацієнтів II групи, а рівень МДА в 1,3 разу нижчий. У результаті цього АПІ визначався в середньому

Таблиця 1

Зміни показників неспецифічної резистентності у ротовій рідині у пацієнтів із захворюваннями слизової оболонки порожнини рота

Показник	Групи		
	Контрольна, n=12	I, n=13	II, n=12
Активність К, мкат/л	0,42±0,06	0,34±0,04 p>0,05	0,22±0,02 p<0,05; p ₁ <0,05
Активність СОД, ум. о./л	0,50±0,05	0,40±0,06 p>0,05	0,28±0,03 p<0,05; p ₁ >0,05
Вміст МДА, мкмоль/л	0,27±0,02	0,35±0,03 p>0,05	0,46±0,02 p<0,05; p ₁ <0,05
АПІ	1,55	0,97	0,47
Активність КФ, мкат/л	0,48±0,05	0,66±0,07 p>0,05	0,98±0,07 p<0,05; p ₁ <0,05
Вміст білка, г/л	1,68±0,06	2,19±0,10 p<0,05	2,97±0,12 p<0,05; p ₁ <0,05

Примітка. В табл. 1–2: p — вірогідність різниці між показниками досліджуваних груп хворих і контрольної групи; p₁ — вірогідність різниці між показниками I та II груп хворих.



в 2 рази більшим. Активність КФ у ротовій рідині пацієнтів I групи перебуває у межах нормальних значень. При цьому вміст білка збільшений у 1,3 разу порівняно з нормою.

При дослідженні факторів місцевого імунітету порожнини рота в усіх хворих пацієнтів визначено зменшення вмісту лізоциму в ротовій рідині порівняно зі здоровими (табл. 2). Але в той час, як у пацієнтів із хронічними механічними травмами вміст лізоциму знизився в середньому на 28,6 %, у пацієнтів із токсичним стоматитом він зменшувався в два рази.

Отримані результати свідчать про те, що у пацієнтів II групи антибактеріальна активність ротової рідини знижена, внаслідок чого підвищується кількість умовно-патогенної мікрофлори у порожнині рота.

Аналіз показників специфічних факторів захисту порожнини рота свідчить, що провідним маркером стоматологічного здоров'я є S-IgA. У хворих I групи характерне зниження вмісту S-IgA порівняно з таким у практично здорових осіб у 1,6 разу — (0,24±0,02) мг/мл і (0,40±0,05) мг/мл відповідно, тимчасом як у хворих II групи — в 2,4 рази — (0,17±0,02) мг/мл і (0,40±0,05) мг/мл, $p < 0,001$.

За результатами досліджень, IgA виявлявся тільки у 1/4 досліджуваних здорових людей, а

частота його визначення у хворих коливалася від 40 до 57 %. При порівнянні середньостатистичних значень рівня IgA визначена тенденція до зниження цього показника у хворих I групи порівняно з контрольною групою; при токсичному стоматиті різниця була статистично вірогідна. У розвитку токсичного стоматиту виявлено також підвищення рівня IgG майже в 2 рази — з (0,08±0,01) мг/мл до (0,15±0,01) мг/мл.

Швидкість нестимульованого слиновиділення в осіб певних стоматологічних патологіях суттєво нижча, ніж у практично здорових. Слід зазначити, що у хворих із токсичним стоматитом швидкість слиновиділення була найнижчою.

Висновки

1. У хворих із захворюваннями СОПР виявлені зміни у функціональному стані СОПР.

2. На підставі біохімічних досліджень ротової рідини у пацієнтів з захворюваннями СОПР визначені порушення у системі ПОЛ — АОЗ, на що вказує зниження активності К, СОД та індексу АПІ при одночасному зростанні рівня МДА.

3. Встановлено зменшення активності антибактеріального захисту та підсилення антигенної завантаженості порожнини рота, що свідчить про

пригнічення імунної системи у пацієнтів із захворюваннями СОПР.

4. Результати досліджень підтверджують необхідність проведення при захворюваннях СОПР, разом із корекцією мікробіологічних змін у порожнині рота, заходів щодо відновлення місцевого імунітету.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Заболевания слизистой оболочки полости рта* / Н. Ф. Данилевский, В. К. Леонтьев, А. Ф. Несин, Ж. И. Рахний. — К., 2001. — С. 271.
2. *Борисенко А. В.* Профилактика заболеваний слизистой оболочки полости рта / А. В. Борисенко, А. В. Видерская // *Стоматолог.* — 2004. — № 3. — С. 57–60.
3. *Поляков С. Л.* Пародонтология: Новый век, новые средства лечения / С. Л. Поляков // *Пародонтология.* — 2009. — № 3. — С. 54–58.
4. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. G. Farr // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193. — P. 265–275.
5. *Левицкий А. П.* Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны / А. П. Левицкий, А. И. Марченко, Т. Л. Рыбак // *Лабораторное дело.* — 1973. — № 10. — С. 624–625.
6. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
7. *Королюк Л. И.* Метод определения каталазы / Л. И. Королюк, И. Г. Иванова, В. Е. Майорова // *Лабораторное дело.* — 1988. — № 1. — С. 16–19.
8. *Чевари С.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чава, И. Секей // *Там же.* — 1985. — С. 678–681.
9. *Антиоксидантно-прооксидантный индекс сыворотки крови щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами* / А. П. Левицкий, В. М. Почтар, О. А. Макаренко, Л. І. Гридіна // *Одеський медичний журнал.* — 2006. — № 6. — С. 22–25.
10. *Комаров Ф. И.* Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровин, В. В. Меньшиков. — М., Элиста: АПП «Джангар», 2001. — С. 35–40.
11. *Manchini G.* Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. Manchini, A. O. Garbinara, S. F. Heremans // *Immunochimistry.* — 1965. — Vol. 2, N 6 — P.

Таблиця 2

Показники факторів захисту порожнини рота у пацієнтів з захворюваннями слизової оболонки порожнини рота

Показник	Групи		
	Контрольна, n=12	I, n=13	II, n=12
Швидкість слиновиділення, мл/хв	0,50±0,02	0,38±0,03 $p < 0,05$	0,27±0,02 $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$
Концентрація лізоциму, мкг/мл	0,28±0,05	0,20±0,02 $p > 0,05$	0,14±0,06 $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$
Концентрація IgA, мг/мл	0,12±0,03	0,09±0,02 $p > 0,05$	0,05±0,02 $p > 0,05$; $p_1 > 0,05$
Концентрація IgG, мг/мл	0,08±0,01	0,10±0,01 $p > 0,05$	0,15±0,01 $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$
Вміст S-IgA, мг/мл	0,40±0,05	0,24±0,02 $p < 0,05$	0,17±0,02 $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$

