

УДК: 616.314.18-002-08+615:32

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫХ ЭНЗИМОВ СЛЮНЫ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

***Л.А. Гаврилюк*, Н.В. Шевченко, А.И. Вартичан, Л.Т. Лысый,
К.Ф. Кептанару, П.Д. Годорожа***

Государственный университет медицины и фармации им. Николая Тестемицану,
Молдова, Кишинев; эл. почта: gavrlu@mail.ru

Активности антиокислительных энзимов (глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза) и содержание восстановленного глутатиона (GSH), тиоцианата (SCN) и белка были определены в слюне пациентов с пародонтитом во время традиционной и комплексной терапии, включающей дополнительно к традиционной терапии антигомотоксические препараты, мазь Traumeel S, Coenzyme compositum или Lymphomyosot. Воспалительный процесс приводит к метаболическим нарушениям и дисбалансу антиокислительной системы защиты у пациентов с пародонтитом. Комплексная терапия с антигомотоксическими препаратами восстанавливала дисбаланс антиоксидантной защиты у пациентов с пародонтитом более эффективно, чем только традиционная терапия. Анализ взаимоотношений между параметрами слюны пациентов с пародонтитом выявил положительную корреляцию до начала и через неделю проведения комплексной терапии. Исключением было отсутствие корреляции между содержанием белка и тиоцианата в слюне пациентов до начала терапевтического курса. Полученные результаты являются отражением активности патологического процесса и дисбаланса антиоксидантной защиты слюны пациентов с пародонтитом и могут быть основанием для рекомендации использования комплексной антигомотоксической терапии на начальной стадии развития патологического процесса.

Ключевые слова: глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза, пародонтит, тиоцианат, Traumeel S.

ВВЕДЕНИЕ. Пародонтит относится к воспалительным инфекционным заболеваниям тканей пародонта неспецифической природы и является одной из самых актуальных проблем стоматологии. [1] Частота рецидивов и активность хронической формы пародонтита зависит от состояния здоровья пациента. Воспалительно-дистрофические заболевания тканей пародонта поражают наиболее активную часть населения, поэтому, поиск и применение новых эффективных средств и методов, способствующих лечению на ранних стадиях заболевания, а также предупреждающих его прогрессирование и переход в хроническую форму, приобретают особое значение в стоматологической практике.

* - адресат для переписки

В последнее время в стоматологической практике все чаще стали применять антигомотоксические препараты в качестве самостоятельной терапии либо в комплексе с традиционной терапией. Например, антигомотоксический препарат Traumeel S хорошо известен своим применением при повреждениях, воспалительных и дегенеративных процессах, а также в комплексном лечении гингивитов, пародонтитов и других патологий [2-6]. Препарат Traumeel S состоит из 14 натуральных компонентов, обладающих противовоспалительным, десенсибилизирующим, регенерирующим свойствами. Для усиления терапевтического эффекта часто используют комплексные способы лечения с применением традиционных методов в сочетании с одним или несколькими антигомотоксическими препаратами [4, 7, 8]. Такими препаратами, успешно применяемыми в медицинской практике, являются Coenzyme compositum и Lymphomyosot. Coenzyme compositum состоит из 26 натуральных компонентов, некоторые из которых являются метаболитами цикла Кребса. Препарат обладает дезинтоксикационными, метаболическими и антиоксидантными свойствами. Lymphomyosot, включающий 17 компонентов, является дезинтоксикационным, противоаллергическим, лимфодренажным и противоэкссудативным средством. Выбор этих препаратов был обусловлен их составом, терапевтическими свойствами, механизмом действия и возможностью применения мази Traumeel S в комплексе с другими антигомотоксическими препаратами в полости рта. Кроме того, комплексность действия антигомотоксических препаратов позволяет избежать назначения большого количества аллопатических средств, необходимых для достижения положительных терапевтических результатов. Эти препараты не имеют побочных эффектов, противопоказаний и возможно их сочетанное применение [4].

Поскольку при пародонтите наблюдается усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах клеток тканей пародонта, ведущее к нарушению микроциркуляции, воспалению и деструкции тканей, является обоснованным применение антигомотоксических препаратов на ранних этапах воспалительной реакции.

В патогенезе пародонтита существенную роль играет нарушение регуляции окислительно-восстановительного баланса, который поддерживается системой антиоксидантной защиты (АОЗ) [9]. Окислительный стресс при пародонтите ведет к усилению генерации активных форм кислорода, нарушающих структуру и функции клеточных мембран [10-13]. В ответ на усиление процессов ПОЛ логично ожидать индукцию системы АОЗ.

Слюна, как биологическая жидкость организма, отражает состояние его метаболизма, а изменение составляющих ее компонентов может иметь клинко-диагностическое значение [14-16]. Исследование биохимических параметров слюны является особенно актуальным и показательным при наличии очага воспаления в ротовой полости, что наблюдается при пародонтите.

Целью данного исследования было проведение сравнительного анализа состояния АОЗ слюны больных пародонтитом средней степени тяжести при лечении традиционно противовоспалительными антибактериальными средствами и с применением комплексной терапии, включающей дополнительно антигомотоксические препараты: мазь Traumeel S, Coenzyme compositum, Lymphomyosot.

МЕТОДИКА. Для проведения исследования были подобраны 31 пациент, в возрасте от 20 до 50 лет, со средней степенью тяжести пародонтита, без сопутствующих заболеваний. Пациенты с пародонтитом были разделены на 3 группы, лечение в которых проводили следующими способами: 1 - традиционное лечение, группа сравнения (10 человек); 2 - комплексное лечение (традиционное + Traumeel S+Coenzyme compositum) (11 человек); 3 - комплексное лечение (традиционное+Traumeel S+Lymphomyosot) (10 человек). Четвертой группой была группа контроля – 20 здоровых людей, соответствующего возраста. В качестве

традиционной терапии применяли мазь “Metrogyl-denta” [1]. Мазь Traumeel S в сочетании с Coenzyme compositum либо Lymphomyosot (“Heel” GmbH, Baden-Baden, Германия) накладывали ежедневно 1-2 раза. Антигомотоксические препараты Coenzyme compositum и Lymphomyosot были любезно предоставлены нам фирмой “Homeofarm”, представителем фирмы “Heel” в Республике Молдова. При местном медикаментозном противовоспалительном лечении пародонтальные карманы промывали 0,06% раствором хлоргексидина биглюконата, выполняли мероприятия профессиональной гигиены, применяли нестероидные противовоспалительные препараты, десенсибилизирующую и антибактериальную терапию.

Смешанную слюну собирали утром из полости рта до еды, центрифугировали при 600 g в течение 10 минут. Для исследований использовали надосадочную жидкость. Определение параметров слюны проводили 3 раза: в первый день обследования больного, в середине курса лечения (7 дней) и в конце терапии (10-14 дней). На спектрофотометре “Humalyzer 2000” (Германия) с помощью микрометодов определяли: активности глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2), глутатион-S-трансферазы (ГТ, КФ 2.5.1.18), содержание восстановленного глутатиона (GSH) [17], тиоцианата (SCN) [18] и белка [19]. Активность ГР определяли методом Conn и Vennesland [20] с модификацией Герасимова и сотр. [21], ГТ- методом Habig и Jacoby [22].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента с использованием пакета прикладных программ “Microstat”: Microsoft Excel 97. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Коэффициенты корреляции рассчитывали по методу Спирмена [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Проводимое лечение приводило к полному исчезновению симптомов воспаления тканей пародонта. В группах пациентов, которые получали традиционную терапию в сочетании с мазью Traumeel S, уменьшение симптомов воспаления отмечалось уже на 3-4 день, в то время, как в группе пациентов, которым применяли только традиционную терапию, улучшение наступало на 2-3 дня позже. Следует также отметить, что традиционный курс лечения пациентов был на 3-5 дней продолжительней, чем курс комплексной терапии с антигомотоксическими препаратами.

Хорошо известно, что состав слюны и ее секреция могут изменяться даже в течение суток. Воспалительно-деструктивный процесс, развивающийся в пораженных тканях пародонта, также может влиять на состав слюны. Исходя из этого, для интерпретации полученных результатов было решено применить два способа расчета: относительно объема слюны (л) и относительно содержания белка (г) в слюне пациента, что является более информативным. Глутатион является одним из основных водорастворимых антиоксидантов и коэнзимов многих глутатионзависимых энзимов (глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы и др.).

Глутатионредуктаза (ГР) – единственный энзим, катализирующий реакцию превращения окисленного глутатиона (GSSG) в его восстановленную форму (GSH). Результаты исследования активности ГР в слюне здоровых и больных пародонтитом людей в процессе лечения представлены на рисунке 1. У первично обследованных пациентов до начала лечения активность ГР в слюне составляла 163,7 МЕ/л (114,3%; $p_t > 0,05$) и 149,6 МЕ/г (95,9%; $p_t > 0,05$) по сравнению с ее активностью в слюне здоровых людей (143,2 МЕ/л; 156,0 МЕ/г). Через 7 дней традиционной терапии активность ГР практически не изменялась (165,0 МЕ/л; 161,8 МЕ/г). Комплексная терапия с использованием мази Traumeel S с Coenzyme compositum (“комплекс 1”) незначительно уменьшала активность энзима в слюне пациентов до 153,8 МЕ/л (107,4%; $p_t > 0,05$) и 153,7 МЕ/г (98,5%; $p_t > 0,05$). Комплексная терапия мазью Traumeel S с Lymphomyosot (“комплекс 2”) также несущественно изменяла активность энзима до 156,4 МЕ/л (109,2%; $p_t > 0,05$) и 147,8 МЕ/г (94,7%; $p_t > 0,05$).

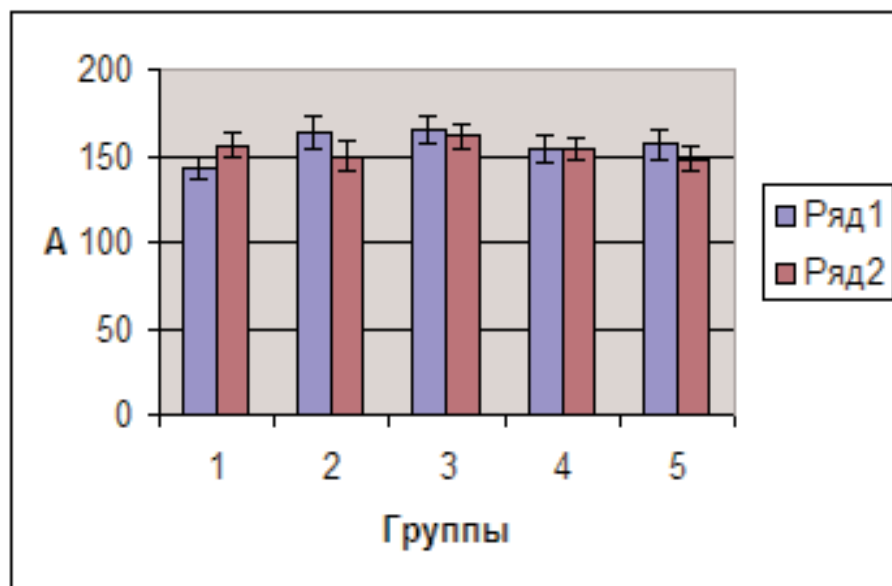


Рисунок 1.

Динамика активности ГР в слюне больных пародонтизом в процессе комплексной терапии.

Здесь и на рисунке 2: А- активность энзима. ряд 1-МЕ/л; ряд 2- МЕ/г белка.

Группы: 1-здоровые люди (контроль); 2- пациенты до начала лечения; 3-традиционная терапия (7 дней); 4- терапия “комплексом 1” (7 дней); 5- терапия “комплексом 2” (7 дней).

Функционирование ГР в клетке тесно связано с другими глутатионзависимыми энзимами, окисляющими восстановленный глутатион. Одним из таких энзимов является глутатион S-трансфераза.

Глутатион S-трансфераза (ГТ) катализирует большое количество реакций конъюгации восстановленного глутатиона со многими веществами. Продуктами большинства ее реакций являются конъюгаты глутатиона, которые химически менее реактивны и легче растворимы в воде [24]. Эта функция ГТ способствует биотрансформации ксенобиотиков, а также токсических органических соединений, образующихся в организме, благодаря ее широкой субстратной специфичности и высокой активности в тканях.

Исследование активности энзима в слюне пациентов (рис. 2) с пародонтизом до начала курса терапии выявило ее повышение до 5291 МЕ/л, что составило 141,9% ($p_t < 0,05$) от уровня ее активности у здоровых лиц (3729 МЕ/л; 4062 МЕ/г) и 5179 МЕ/г (127,5%; $p_t < 0,05$). Курс традиционной терапии уменьшал активность ГТ до 4736 МЕ/л (127,2%; $p_t < 0,05$), почти не изменяя ее удельную активность (5029 МЕ/г; 123,8%) через 7 дней терапии. Применение “комплекса 1” уменьшало активность энзима до 4244 МЕ/л (113,8%; $p_t > 0,05$) и 4363 МЕ/г (107,4%; $p_t > 0,05$). “Комплекс 2” понижал активность ГТ до 4411 МЕ/л (118,3%; $p_t > 0,05$) и 4529 МЕ/г (111,5%; $p_t > 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение антигомотоксических препаратов в комплексе с традиционной терапией понижало активность ГТ более эффективно, по-видимому, уменьшая образование токсических продуктов, являющихся следствием воспалительно-деструктивных процессов тканей пародонта.

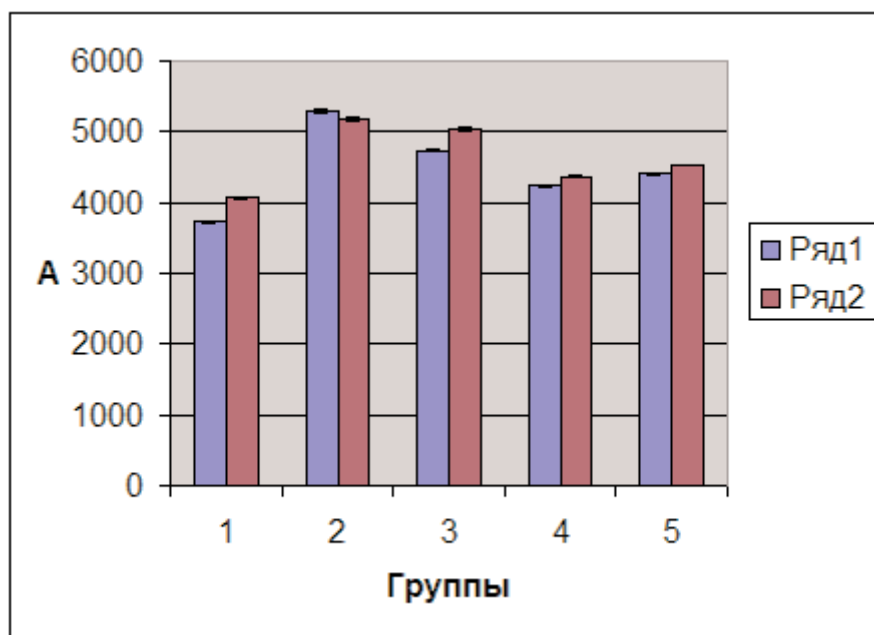


Рис 2.

Активность ГТ в слюне больных пародонтитом в процессе лечения.

Содержание глутатиона (GSH). До начала курса терапии содержание глутатиона в слюне было равным 0,134 ммоль/л, составляя 76,6% ($p_t < 0,05$) и 0,111 ммоль/г (58,4%; $p_t < 0,05$) от его содержания в слюне здоровых людей (0,175 ммоль/л; 0,190 ммоль/г) (рис. 3). Курс традиционной терапии практически не влиял на содержание глутатиона в слюне пациентов, составляя 0,145 ммоль/л (82,9%; $p_t < 0,05$) и 132 ммоль/г (69,5%; $p_t < 0,05$). Терапия “комплексом 1” повышала содержание GSH в слюне пациентов через 7 дней лечения до 0,161 ммоль/л (92,0%; $p_t > 0,05$) и 0,151 ммоль/г (79,5%; $p_t < 0,05$). Применение “комплекса 2” увеличивало содержание глутатиона в слюне до 0,162 ммоль/л (92,3%; $p_t > 0,05$) и 0,150 ммоль/г (78,7%; $p_t < 0,05$). Таким образом, курсы комплексной терапии, включающей антигомотоксические препараты, были более эффективными, чем только традиционная терапия.

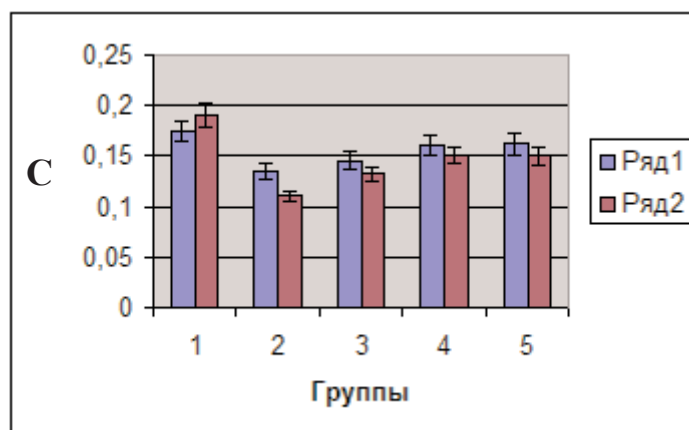


Рисунок 3.

Содержание глутатиона (GSH) в слюне пациентов с пародонтитом в процессе лечения.

Здесь и на рисунке 4: С- концентрация; ряд 1 - ммоль/л; ряд 2 - ммоль/г белка.

Группы: 1-здоровые люди (контроль); 2- пациенты до начала лечения; 3- традиционная терапия (7 дней); 4- терапия “комплексом 1” (7 дней); 5- терапия “комплексом 2” (7 дней).

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Слюна содержит компоненты, имеющие бактериостатические свойства: лизоцим, миелопероксидазу, лактопероксидазу и др. Лактопероксидаза (ЛП), катализирующая окисление тиоцианата (SCN) в присутствии перекиси водорода (H_2O_2) продуцирует гипотиоцианит (OSCN), обладающий бактериостатической активностью. Эта система (ЛП- H_2O_2 -SCN) является более эффективной, чем действие только H_2O_2 в качестве ингибитора бактерий [25].

Содержание тиоцианата (SCN). Исследование содержания тиоцианата в слюне больных пародонтитом (рис. 4) до начала лечения показало, что оно соответствует 1,887 ммоль/л (106,4%; $p_t > 0,05$) и 1,516 ммоль/г (78,5%; $p_t < 0,05$) по сравнению с его содержанием в слюне здоровых людей (1,774 ммоль/л; 1,932 ммоль/г). Результатом традиционной терапии было незначительное повышение тиоцианата в слюне пациентов через 7 дней до 1,921 ммоль/л (108,3%; $p_t > 0,05$) и 1,746 ммоль/г (90,4%; $p_t > 0,05$). Терапия с применением “комплекса 1” повышала содержание тиоцианата до 1,976 ммоль/л (111,4%; $p_t > 0,05$) и 1,804 ммоль/г (93,3%; $p_t > 0,05$). Лечение пациентов “комплексом 2” увеличивало содержание тиоцианата до 1,966 ммоль/л (110,8%; $p_t > 0,05$) и 1,588 ммоль/г (82,2%; $p_t > 0,05$). Проведенное исследование содержания тиоцианата в слюне пациентов с пародонтитом показало, что все терапевтические курсы незначительно повышали содержание тиоцианата в слюне пациентов.

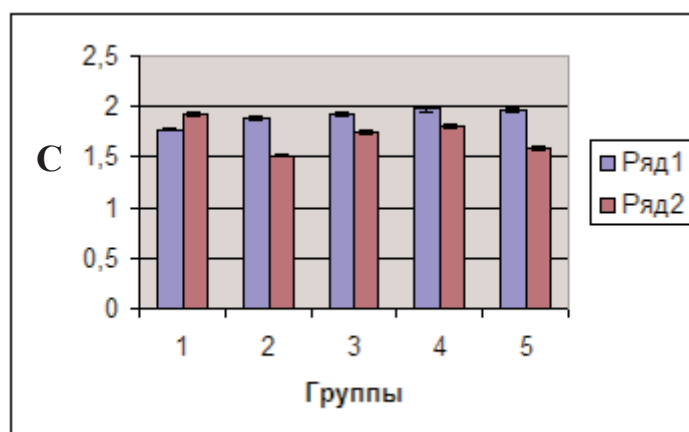


Рисунок 4.

Содержание тиоцианата (SCN) в слюне пациентов с пародонтитом в процессе лечения.

Корреляционный анализ. Результаты поиска корреляционных взаимоотношений между параметрами слюны пациентов с пародонтитом в процессе комплексной терапии представлены в таблице. Представленные данные свидетельствуют о тесной функциональной взаимосвязи между глутатионом (GSH) и ГТ до начала терапии и через 7 дней лечения. Функциональная связь также сохранялась между содержанием глутатиона и тиоцианата (SCN), активностью ГТ и содержанием SCN, как в начале заболевания, так и через 7 дней лечения. Воспаление и деструкция тканей пародонта повышают содержание белка в слюне больных (1,75 г/л), нарушая взаимосвязь между содержанием белка и SCN-ионов в слюне больных до начала лечения. Комплексная терапия на основе традиционной, включающая дополнительно антигомотоксические препараты, в течение 7 дней лечения восстанавливала взаимосвязь. Содержание белка в слюне пациентов через неделю лечения уменьшалось, составляя 1,23 г/л по сравнению с его содержанием в слюне здоровых людей (1,11 г/л).

Таблица. Корреляционные взаимоотношения между компонентами слюны пациентов с пародонтитом в процессе комплексной терапии.

Биохимические параметры (21)	Коэффициент Спирмена (r)	Достоверность, (p)
GSH/ГТ а)	r=+0,638	p<0,05
б)	r=+0,686	p<0,05
GSH/SCN а)	r=+0,943	p<0,005
б)	r=+0,612	p<0,05
ГТ/SCN а)	r=+0,829	p<0,025
б)	r=+0,972	p<0,001
Белок/SCN а)	r=-0,057	p>0,05
б)	r=+0,600	p<0,05

Примечание. Определение параметров: а) до начала комплексной терапии; б) после проведения терапии (7 дней). В скобках указано число пар параметров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Воспалительно-деструктивный процесс, сопровождающий пародонтит, приводит к значительному дисбалансу метаболитов слюны пациентов. Усиление процессов ПОЛ индуцирует изменение и дисбаланс системы АОЗ слюны больных пародонтитом, что подтверждается результатами, полученными при исследовании активностей ГР, ГТ и содержания восстановленного глутатиона (GSH), тиоцианата (SCN). Комплексная терапия, включающая дополнительно к базисной антигомотоксические препараты (мазь Traumeel S, Coenzyme compositum, Lymphomyosot), была более эффективной, чем применение только традиционной терапии. Это было подтверждено динамикой активностей ГР, ГТ и содержанием восстановленного глутатиона (GSH) в процессе лечения, отражающих состояние антиоксидантного статуса слюны пациентов.

Результаты исследования подтверждают обоснованность применения антигомотоксических препаратов в сочетании с традиционной терапией на ранних этапах развития воспалительного процесса при пародонтите. Также необходимо отметить, что состояние здоровья пациентов восстанавливалось эффективнее, а период воспаления тканей пародонта был более коротким при применении курсов комплексной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбачева И.А., Кирсанов А.И., Орехова Л.Ю. (2001) Стоматология, **80**(1), 26-34.
2. Грудянов А.И., Безрукова И.В., Серебрякова Л.Е., Александровская И.Ю. (2006) Стоматология, **85**(2), 29-30.
3. Зорян Е.В., Ларенцова Л.Т., Зорян А.В. (1998) Стоматология, **77**(6), 9-11.
4. Комфорти А., Бертани С, Лусиньоли С. (1998) Биологич. Медицина, **2**, 21-24.
5. Oberbaum M., Yaniv J., Ben-Gal Y. (2001) Cancer, **92**(3), 684-690.
6. Gavriluc L., Sevcenco N., Godoroja P., Dandes N., Lisii L. (2004) J. Oral Health Dental Management Black Sea Countries (OHDMBSC), **3**(4/10), 38-42.
7. Ковалевский А.М. (1999) Комплексное лечение пародонтита.-Ст-Петербург.
8. Гаврилюк Л.А., Шевченко Н.В., Годорожа П.Д., Дандеш Н.С., Хорнец В.И. (2005) Curierul Medical, **4**, 30-33.

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

9. Воскресенский О.Н., Ткаченко Е.К. (1991) Стоматология, **70**(4), 5-10.
10. Зенков Н.А., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. (2001) Окислительный стресс (биохимический и патофизиологический аспекты). Москва.
11. Петрович Ю.А., Пузин М.Н., Сухова Т.В. (2000) Рос. стоматол. журнал, **3**, 11-13.
12. Петрович Ю.А., Лемецкая Т.И., Пузин М.Н., Сухова Т.В. (2001) Стоматология, **80**(1), 38-41.
13. Chapple I.L. (1997) J. Clin.Periodontol., **24**(5), 287-296.
14. Григорьев И.В., Чиркин А.А.. (1998) Клин. лаб. диагн., №6, 18-20.
15. Kaufman E., Lamster L.B. (2000) J. Clin. Periodontol., **27**(7), 453-465.
16. Tabak L.A. (2001) J. Dent. Educ., **65**(12), 1335-1339.
17. Sedlak I., Lindsay R.H. (1968) Anal. Biochem., **25**(2), 192-198.
18. Degiampietro P., Peheim E., Drew D. (1987) J. Clin. Biochem., **25**, 711-717.
19. Watanabe N., Kamei S., Ohkuto O. (1986) Clin. Chem., **32**, 1551-1554.
20. Conn E.E., Vennesland A. (1951) J. Biol. Chem., **192**, 17-30.
21. Герасимов А.М., Королева Л.А., Брусов О.С. (1976) Вопросы мед. химии., **22**(1), 89-94.
22. Habig W.H., Jacoby W.B. (1981) Methods in Enzymology, **77**, 398-405.
23. Гублер Е.В., Генкин А.А. (1973) Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Москва.
24. Hayes J.D., McLellan L.I. (1999) Free Rad. Res., **31**, 273-300.
25. Thomas E.L., Milligan T.W., Joyner R.E. (1994) Infect. Immun., **62**(2), 529-535.

Поступила: 26. 06. 2007.

INFLUENCE OF COMPLEX THERAPY ON THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES OF SALIVA IN PATIENTS WITH PARODONTITIS

L.A. Gavriliuc, N.V. Sevcenco, A.I. Vartician, L.T. Lisii, C.T. Cheptanaru, P.D. Godoroja

Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Bul Stefan cel Mare 165, Chisinau, Moldova, MD 2004; e-mail: rector@usmf.md

The activities of antioxidative enzymes (glutathione reductase, glutathione S-transferase) and content of reduced glutathione (GSH), thiocyanate (SCN) and protein were determined in saliva of patients with parodontitis treated with traditional and complex therapy, which additionally included the antihomotoxic preparations Traumeel S ointment, Coenzyme compositum or Lymphomyosot. Inflammation process led to the metabolic disturbances and imbalance of the antioxidative defense system in the patients with parodontitis. The results suggest that complex therapy with the antihomotoxic preparations restored imbalance of the antioxidative defense and was more effective than the traditional therapy alone in the patients with parodontitis. Analysis of interrelation between salivary parameters in patients with parodontitis indicated positive correlation before and after the complex therapy (as an exception there was lack of correlation between content of protein and tiocyanate in the saliva of patients before the beginning of the therapeutic course). So these results reflect activityof pathological process and antioxidant defense imbalance in saliva of patients with parodontitis and may be a basis for recommendation of employment of the complex antihomotoxic therapy as the initial stage of pathological process.

Key words: glutatione reductase, glutathione S-transferase, parodontitis, thiocyanate, Traumeel S.