

5. Пат. 47093 Україна, МПК (2009) G01N 33/487. Спосіб прогнозування стоматологічних захворювань / О. В. Деньга, Е. М. Деньга, А. Е. Деньга ; опубл. 11.01.10, Бюл. №1.

6. Ферментативний метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков [метод рекомендации] / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Киев, 2007. – 22 с.

7. Деньга О. В. Спектроколориметрическая оценка процессов минерализации в твердых тканях зубов / О. В. Деньга // Вісник стоматології. — 1999. — № 1. — С. 2—4.

Поступила 29.10.14



УДК 616. 314- 085+577.112+577.115+ 616. 314. 18- 002.4

**Г. Д. Семенюк, Г. М. Мельничук, д. мед. н., І. З. Остап'як, к. мед. н.**

Державний вищий навчальний заклад „Івано-Франківський національний медичний університет”, м. Івано-Франківськ

### **ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ НА ПОКАЗНИКИ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ І АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ**

*Обстежено 33 хворих на генералізований пародонтит (ГП), без супутніх захворювань, і 28 здорових віком від 18 до 35 років. Досліджували показники окиснювальної модифікації білків (ОМБ) різних фракцій і активність ферментів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КА) у ротовій рідині до лікування, після і через 6 місяців. У хворих виявлено статистично значуще підвищення інтенсивності ОМБ на тлі зниження активності СОД і КА. Під впливом комплексного лікування суттєво знижувалися показники ОМБ та підвищувалася активність СОД і КА. Отримані результати утримувалися впродовж півроку, що свідчить про регуляцію про- та антиоксидантних процесів у хворих на ГП.*

**Ключові слова:** генералізований пародонтит, ротова рідина, показники окиснювальної модифікації білків, супероксиддисмутаза, каталаза.

**А. Д. Семенюк, Г. М. Мельничук, І. З. Остап'як**

Государственное высшее учебное заведение „Івано-Франківський національний медичний університет”, г. Івано-Франківськ

### **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗИРОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ**

*Обследовано 33 больных генерализованным пародонтитом (ГП) и 28 здоровых в возрасте 18-35 лет. Изучали показатели окислительной модификации белков (ОМБ), активность ферментов супероксиддисмутаза (СОД) и каталазы (КА) в ротовой жидкости до лечения, после и через 6 месяцев. У больных выявлено статистически значимое повышение интенсивности ОМБ всех исследуемых фракций на фоне снижения активности СОД и КА. Под действием комплексного лечения существенно снижались показатели ОМБ и повышалась активность СОД и КА. Полученные результаты удерживались в течении полгода, засвидетельствовав стойкую регуляцию про- и антиоксидантных процессов у больных ГП.*

**Ключевые слова:** генерализованный пародонтит, ротовая жидкость, показатели окислительной модификации белков, супероксиддисмутаза, каталаза.

**G. D. Semeniuk, G. M. Melnychuk, I. Z. Ostap'yak**

State Higher Educational Institution „Ivano-Frankivsk National Medical University”, Ukraine

**INFLUENCE OF COMPLEX TREATMENT ON INDICATORS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS**

*The lack of research on the role of protein peroxidation in the pathogenesis of generalized periodontitis (GP) and of dynamics of indicators of antioxidant (AO) enzymes activity and of oxidative modifications of proteins (OMP) in oral fluid of patients with GP cause the relevance of chosen by us direction of research. The aim of the research was the study of influence of developed by us treatment method on the change of indicators of OMP intensity and activity of AO - enzymes in oral fluid of patients with GP. The study involved 33 patients with GP of chronic course of I degree development, aged from 18 to 35 years, without acute and chronic diseases of internal organs, and 28 of healthy individuals of the same age. The intensity of OMP and activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CA) was researched. The changes of these indicators were studied before treatment, immediately and 6 months later. The treatment included initial periodontal therapy, local antibiotic, vitamin-mineral complex drug and symbiotic medications for oral use. There was found the statistically significant increase in the OMP intensity of all studied fractions on the background of decreased SOD and CA activity in the patients with GP. Under the influence of treatment in patients significantly decreased the rates of PPO and increased the activity of AO enzymes. Due to the treatment the results were kept for six months, indicating a stable regulation of pro- and AO processes.*

**Keywords:** *Generalized Periodontitis, oral fluid, indicators of oxidative modification of proteins, superoxidedismutase, catalase.*

Оксидативному стресу, як результату порушення стану динамічної фізіологічної рівноваги в системі про- і антиоксидантів (АО), відводять важливу роль у патогенезі генералізованого пародонтиту (ГП) [1]. У науковій літературі досить повно висвітлені загальнобіологічні закономірності розвитку процесів вільнорадикального окиснення, зокрема, перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також їх вплив на формування гіпоксії, запалення, імунного конфлікту та ін., що притаманні багатьом хворобам, у т.ч. і захворюванням пародонта [2, 3]. Проте, лише поодинокі дослідження у пародонтології привертають увагу до ролі перекисного окиснення білків (ПОБ) [4], що спричиняється активними формами кисню паралельно з процесами ПОЛ та відіграє провідну роль у деструкції клітинних мембран, структурних і транспортних білків [5, 6, 7]. Інтегративним показником ПОБ (як структурних молекул, так і біологічно активних сполук білкової природи – ферментів, гормонів тощо) вважається рівень окиснювальної модифікації білків (ОМБ). Інтенсивність ОМБ вважається досить чутливим маркером визначення оксидативного стресу, оскільки ці показники більш стабільні, ніж дієнові кон'югати чи малоновий диальдегід, які утворюються в процесі ПОЛ [8, 9]. Відомо, що на противагу процесам ПОЛ і ПОБ в організмі спрацьовує антиоксидантний захист (АОЗ), який, за даними багатьох дослідників, при посиленні пероксидації знижується, що проявляється зменшенням активності АО-ферментів, зокрема, супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КА) [2, 3, 4, 10, 11].

Недостатня кількість досліджень ролі ПОБ у

патогенезі ГП та динаміки показників ОМБ і активності АО-ферментів у ротовій рідині хворих на ГП під впливом лікування, зумовлюють актуальність обраного нами напрямку дослідження.

**Мета.** Вивчити вплив розробленого нами способу комплексного лікування ГП із використанням синбіотика на зміни показників інтенсивності ОМБ і активності АО-ферментів у ротовій рідині хворих на ГП.

**Матеріал і методи.** Обстежено 51 особу, віком від 18 до 35 років, соматично здорових, серед яких – 33 хворих на ГП хронічного перебігу І ступеня (група А) і 28 здорових (група N).

Показники інтенсивності ОМБ досліджували методикою, яка ґрунтується на реакції взаємодії окиснених амінокислотних залишків білків із 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням похідних 2,4-динітрофенілгідразону, оптичну щільність яких визначають на спектрофотометрі [12]. У результаті окиснення білків залежно від переважання в їх молекулах амінокислот нейтрального (валін, лейцин, ізолейцин та ін.) або основного (лізин, аргінін та ін.) характеру утворюються альдегідо- або кетонітрофенілгідразони основного характеру, які мають різні діапазони спектру поглинання. При довжині хвилі 356 нм ми визначали альдегідодінітрофенілгідразони, 370 нм – кетонітрофенілгідразони нейтрального характеру, 430 нм і 530 нм – відповідно альдегідодінітрофенілгідразони та кетонітрофенілгідразони основного характеру. Активність СОД досліджували за методом Чевари С. і соавт. [13]. Кількісне визначення КА здійснювали за методикою Баха А.Н. і Зубкової С.В. [14].

Хворим групи А проводили комплексне лі-

кування, яке включало базову ініціальну пародонтальну терапію і застосування: для загального лікування – синбіотика „Ацидолак” (по 2 саше всередину 2 рази на добу; курс – 10-14 днів) та вітамінно-мінерального комплексу „Оліговіт” (по 1 табл. 1 раз на добу; курс – 20 днів); для місцевого лікування – антибактеріального гелю „Метродент” для аплікацій на ясна під індивідуально виготовлену пародонтальну капу (двічі на добу по 30 хв; курс – 7-14 днів) та антисептичного і протизапального препарату „Септофіт-діет” (по 1 табл. 4 рази на добу, тримати в роті до повного розсмоктування; курс – 7-14 днів) [15]. Обстеження здійснювали до лікування, після і через 6 місяців.

Для оцінки статистичної значущості різниці показників у групах у різні терміни спостереження використовували Т-критерій Вілкоксона для залежних вибірок (Wilcoxon signed rank test), а для порівняння незалежних вибірок між собою (груп N, A) – критерій Манна-Уїтні (U-тест). Математичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Microsoft Office Excel 2007 і спеціалізованого комп’ютерного се-

редовища статистичної обробки даних R (R Core Team (2014)). Опис кількісних показників представлено у форматі: медіана (Me) і інтерквартильний розмах (25-й (Q1); 75-й (Q3) процентілі). Критичне значення рівня статистичної значущості приймали рівним 0,05.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Дослідженнями встановлено, що у хворих на ГП хронічного перебігу I ступеня розвитку у ротовій рідині достовірно підвищувалася інтенсивність ОМБ усіх фракцій (табл. 1). Так, рівень ОМБ 356 у хворих за показником Me становив до лікування 0,076 у.о. (0,055; 0,125) і був на 52,0% вищим від даних у здорових ( $p_{N-1A} < 0,05$ ), а після терапії – достовірно знижувався ( $p_{1A-2A} < 0,001$ ) і став близьким до даних групи N ( $p_{N-2A} > 0,05$ ). Через 6 місяців досягнутий показник залишався майже таким, як у здорових ( $p_{N-3A} > 0,05$ ) і вірогідно відрізнявся від інтенсивності ОМБ 356 до лікування ( $p_{1A-3A} < 0,001$ ). Порівнянням даних, отриманих через півроку і відразу після терапії, статистично значущого зниження рівня ОМБ 356 не встановлено ( $p_{2A-3A} > 0,05$ ).

Таблиця 1

**Зміни інтенсивності ОМБ у ротовій рідині хворих на ГП під впливом комплексного лікування (Me (Q1; Q3))**

Показники	Групи	Терміни спостереження			Т-критерій
		до лікування (1)	після лікування (2)	через 6 місяців (3)	
ОМБ 356, у.о.	N, n=28	0,050 (0,039; 0,064)			
	A, n=33	0,076 (0,055; 0,125) $p_{N-1A} < 0,05$	0,059 (0,040; 0,066) $p_{N-2A} > 0,05$	0,055 (0,037; 0,067) $p_{N-3A} > 0,05$	$p_{1A-2A} < 0,001$ $p_{1A-3A} < 0,001$ $p_{2A-3A} > 0,05$
ОМБ 370, у.о.	N, n=28	0,043 (0,036; 0,054)			
	A, n=33	0,062 (0,052; 0,074) $p_{N-1A} < 0,001$	0,046 (0,039; 0,052) $p_{N-2A} > 0,05$	0,046 (0,035; 0,051) $p_{N-3A} > 0,05$	$p_{1A-2A} < 0,001$ $p_{1A-3A} < 0,001$ $p_{2A-3A} > 0,05$
ОМБ 430, у.о.	N, n=28	0,013 (0,010; 0,017)			
	A, n=33	0,033 (0,024; 0,041) $p_{N-1A} < 0,001$	0,017 (0,013; 0,020) $p_{N-2A} < 0,05$	0,018 (0,015; 0,022) $p_{N-3A} < 0,05$	$p_{1A-2A} < 0,001$ $p_{1A-3A} < 0,001$ $p_{2A-3A} > 0,05$
ОМБ 530, у.о.	N, n=28	0,010 (0,004; 0,014)			
	A, n=33	0,017 (0,013; 0,027) $p_{N-1A} < 0,001$	0,010 (0,008; 0,015) $p_{N-2A} > 0,05$	0,011 (0,009; 0,015) $p_{N-3A} > 0,05$	$p_{1A-2A} < 0,001$ $p_{1A-3A} < 0,001$ $p_{2A-3A} > 0,05$

*Примітка:* вказана вірогідність різниці:  $p_N$  – до показника групи N;  $p_{1A}$  – до показника групи A до лікування;  $p_{2A}$  – до показника групи A після лікування;  $p_{3A}$  – до показника групи A через 6 місяців після лікування.

**Зміни активності СОД і КА у ротовій рідині хворих на ГП під впливом комплексного лікування (Me (Q1; Q3))**

Показники	Групи	Терміни спостереження			Т-критерій
		до лікування (1)	після лікування (2)	через 6 місяців (3)	
СОД, МЕ/мг	N	49,00 (45,75; 52,25)			
	A	41,00 (38,00; 45,00) $p_{N-1A}<0,001$	48,00 (45,00; 53,00) $p_{N-2A}>0,05$	48,00 (46,00; 51,00) $p_{N-3A}>0,05$	$p_{1A-2A}<0,001$ $p_{1A-3A}<0,001$ $p_{2A-3A}>0,05$
КА, у.о.	N	6,19 (5,73; 7,26)			
	A	4,80 (4,15; 5,45) $p_{N-1A}<0,001$	6,46 (5,82; 6,80) $p_{N-2A}>0,05$	6,24 (5,76; 6,61) $p_{N-3A}>0,05$	$p_{1A-2A}<0,001$ $p_{3A}<0,001$ $p_{2A-3A}<0,05$

Примітка: див. примітку до табл. 1.

За показником Me інтенсивність ОМБ 370 у ротовій рідині хворих на ГП становила до лікування 0,062 у.о. (0,052; 0,074) і була на 44,19 % вищою, ніж у здорових осіб ( $p_{N-1A}<0,001$ ). Внаслідок комплексної терапії показник ОМБ 370 зменшувався практично до рівня у здорових ( $p_{N-2A}>0,05$ ;  $p_{1A-2A}<0,001$ ) і через півроку не зазнавав ніяких змін ( $p_{N-3A}>0,05$ ;  $p_{1A-3A}<0,001$ ;  $p_{2A-3A}>0,05$ ).

Інтенсивність ОМБ 430 у ротовій рідині хворих на ГП до лікування становила 0,033 у.о. (0,024; 0,041) і була у 2,54 раза більшою, ніж у здорових осіб ( $p_{N-1A}<0,001$ ). Під впливом терапії цей показник знижувався відразу на 48,48 % ( $p_{1A-2A}<0,001$ ), але даних у здорових не досягав ( $p_{N-2A}<0,05$ ). Через 6 місяців рівень цієї фракції ОМБ вірогідно відрізнявся від показника до лікування ( $p_{1A-3A}<0,001$ ), зберігаючи достовірну різницю з показником групи N ( $p_{N-3A}<0,05$ ) і недостовірну – з даними, отриманими відразу після комплексної терапії ( $p_{2A-3A}>0,05$ ), що свідчить про збереження досягнутого лікуванням результату.

У ротовій рідині хворих на ГП інтенсивність ОМБ 530 за показником Me становила 0,017 у.о. (0,013; 0,027) і була на 70 % вищою від даних у здорових ( $p_{N-1A}<0,001$ ). Завдяки лікуванню рівень ОМБ 530 досягнув такого у здорових ( $p_{N-2A}>0,05$ ), вірогідно відрізняючись від вихідних даних ( $p_{1A-2A}<0,001$ ). Отриманий відразу після терапії показник ОМБ 530 залишався практично на тому ж рівні і через 6 місяців ( $p_{N-3A}>0,05$ ;  $p_{1A-3A}<0,001$ ;  $p_{2A-3A}>0,05$ ).

Отже, комплексне лікування сприяло зниженню інтенсивності ОМБ усіх фракцій до рівня у здорових (за виключенням показника ОМБ при довжині хвилі 430 нм) і утриманню досягнутого протягом півроку.

У хворих на ГП під впливом лікування активність АО-ферментів СОД і КА у ротовій рідині

також зазнавала змін (табл. 2). Зокрема, за показником Me активність СОД у хворих становила 41,00 МЕ/мг (38,00; 45,00) і була на 17,33 % нижчою від такої у здорових ( $p_{N-1A}<0,001$ ), а після комплексної терапії практично досягала рівня у здорових ( $p_{N-2A}>0,05$ ), достовірно відрізняючись від вихідного показника ( $p_{1A-2A}<0,001$ ). Через 6 місяців активність фермента залишалася на тому ж рівні, що й після лікування ( $p_{N-3A}>0,05$ ;  $p_{2A-3A}>0,05$ ), а різниця з даними до терапії була суттєвою ( $p_{1A-3A}<0,001$ ).

Активність КА за показником Me у ротовій рідині хворих на ГП становила 4,80 у.о. (4,15; 5,45) і була достовірно нижчою від такої у здорових на 22,4% ( $p_{N-1A}<0,001$ ). Комплексна терапія сприяла різкому зростанню активності цього фермента, отримані дані були дещо вищими, ніж у здорових ( $p_{N-2A}>0,05$ ), а різниця з даними до лікування залишалася статистично значущою ( $p_{1A-2A}<0,001$ ). Через 6 місяців активність КА невірогідно відрізнялася від показника у здорових ( $p_{N-3A}>0,05$ ) і вірогідно – від показника до лікування ( $p_{1A-3A}<0,001$ ), проте, порівняння цих даних із такими відразу після лікування показало статистично достовірну різницю ( $p_{2A-3A}<0,05$ ). При цьому отриманий через півроку результат був вищим, ніж у здорових.

Отже, динаміка активності СОД і КА під впливом комплексного лікування свідчить на користь застосованого способу лікування.

Аналізуючи отримані дані, хочемо зазначити, що у хворих на ГП спостерігаються значні відхилення у показниках вільнорадикального окиснення та АОЗ: на тлі істотного підвищення рівня ОМБ усіх досліджуваних фракцій виявлено достовірне зниження активності СОД і КА. Це свідчить про наявність у хворих на ГП дисбалансу у системі ПОБ-АОЗ та узгоджується з даними

інших науковців [4, 10, 11]. Лікування хворих дозволило нормалізувати рівень ОМБ 356, ОМБ 370 і ОМБ 530 та активність АО-ферментів, значно знизити інтенсивність ОМБ 430 і утримати досягнуте 6 місяців, що дозволяє констатувати: ініціальна пародонтальна терапія, поєднана із застосованим нами місцевим (із використанням препаратів „Метродент” і „Септофіт Діет”) і загальним (із призначенням препаратів „Оліговіт” і „Ацидолак”) лікуванням, позитивно впливає на регуляцію про- і АО процесів. Це відбувається, ймовірно, завдяки тому, що комплексною терапією вдалося досягти контролю над запаленням у тканинах пародонта, регуляції специфічного і неспецифічного антибактеріального захисту та метаболічних процесів як у тканинах пародонта, так і в організмі загалом.

**Висновки.** 1. У ротовій рідині хворих на ГП хронічного перебігу I ступеня розвитку виявлено статистично значуще підвищення інтенсивності ОМБ усіх досліджуваних фракцій на тлі зниження активності ферментів СОД і КА.

2. Під впливом комплексного лікування у хворих суттєво зменшувалися показники ПОБ та збільшувалася активність АО-ферментів.

3. Завдяки лікуванню отримані результати утримувалися впродовж півроку, що свідчить про регуляцію про- та АО процесів у хворих на ГП і дозволяє рекомендувати розроблений нами спосіб лікування для широкого впровадження в практику.

Перспективою подальших досліджень є вивчення динаміки показників ОМБ, активності СОД і КА у ротовій рідині хворих на ГП при використанні загальноприйнятих способів лікування.

### **Список літератури**

1. **Горбачёва И. А.** Окислительный стресс и его особенности у больных генерализованным пародонтитом на фоне заболеваний внутренних органов / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // Пародонтология. – 2002. – №4. – С. 3-7.
2. **Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях (Огляд літератури)** / Ю. І. Губський, І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2004. – № 2. – С. 8-15.

3. **Bullon Pedro.** Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? / Pedro Bullon, N. Newman Hubert, Maurizio Battino // Periodontology 2000. – 2014. – February, Vol. 64 (1). – P. 139-153.

4. **Мельничук А. С.** Показники окисної модифікації білків та антиоксидантного захисту у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит з частковою втратою зубів / А. С. Мельничук, М. М. Рожко, Г. М. Ерстенюк // Новини стоматології. – 2012. – №4. – С. 96-98.

5. **Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин** / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка [та ін.] // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, № 1/2. – С. 59-70.

6. **Чеснокова Н. П.** Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6 – С. 21-26.

7. **Effects of obesity** on gingival oxidative stress in a rat model / T. Tomofuji, T. Yamamoto, N. Tamaki [et al.] // J Periodontol. – 2009. – № 80. – P. 1324-1329.

8. **Карімов І.З.** Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології / І.З. Карімов // Лабораторна діагностика. – 2005. – №1. – С. 7-19.

9. **Poppek D.** Proteasomaldefence of oxidative protein modifications / D. Poppek, T. Grune // Antioxidants y Redox Signaling. – 2006. – January/February, Vol. 8 (1-2). – P. 173-184.

10. **Мельничук Г. М.** Стан пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної забезпеченості організму хворих на генералізований пародонтит / Г. М. Мельничук, В. Ю. Катеринюк // Вісник стоматології. – 2007. – №4. – С. 141-142.

11. **Семенюк Г. Д.** Стан інтенсивності окиснювальної модифікації білків та активності антиоксидантних ферментів у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит / Г. Д. Семенюк, Г. М. Мельничук, Г. М. Ерстенюк // Архів клінічної медицини. – 2013. – №2. – С. 68-71.

12. **Окислительная** модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т.41, № 1. – С. 156-158.

13. **Чевари С.** Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лабораторное дело. – 1991. – №1 – С. 9-13.

14. **Бабенко Г. О.** Біосфера, антропогенез і здоров'я / Г.О. Бабенко. – Івано-Франківськ, 1999. – 204 с.

15. **Пат. на корисну модель №76258, МПК А61С 7/00.** Спосіб комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит / Семенюк Г.Д., Мельничук Г.М., Мельничук С.С.; № u2012 07851, заявл. 26.06.2012.; опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24.

Надійшла 01.12.14

