

Starea sistemului antioxidant de protecție a salivei la copiii cu gingivită catarală

N. Șevcenco

Catedra Chirurgie Oromaxilofacială Pediatrică și Pedodontie, USMF „Nicolae Testemițanu”

The State of the Antioxidant System of Defense in Saliva of Children with Catarrhal Gingivitis

Salivary indices are a reflection of the patient's metabolic state and have clinical diagnostic importance in patients with oral tissue inflammation. The aim of our study was to examine the state of the antioxidant system of defense in the saliva of 7-year-old children with mild gingivitis. The results of the study showed an imbalance of saliva in patients with gingivitis. In saliva of children with a medium degree of catarrhal gingivitis the activity of glutathione reductase is predominated in glucose-6-phosphate-dehydrogenase and the activity of glutathione-S-transferase is predominated in glutathione reductase

Key words: gingivitis, antioxidant system, glutathione reductase.

Состояние антиоксидантной защитной системы слюны у детей с катаральным гингивитом

Индексы (параметры) слюны отражают состояние метаболизма организма и имеют клинично-диагностическое значение у пациентов с воспалением тканей ротовой полости. Целью нашей работы было исследование состояния антиоксидантной системы защиты слюны 7-летних детей с гингивитом средней степени тяжести в сравнении со здоровыми детьми. Результаты исследования показали дисбаланс антиоксидантной системы слюны пациентов с гингивитом. В слюне детей с катаральным гингивитом средней степени тяжести активность глутатионредуктазы значительно превалирует над глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой, а активность глутатион-S-трансферазы над активностью глутатионредуктазы по сравнению со здоровыми детьми.

Ключевые слова: гингивит, антиоксидантная система.

Introducere

Datele statistice ne indică că în copilărie răspândirea gingivitei poate atinge 80-95% [7]. Deși de gingivită cel mai des suferă copiii de vârstă preșcolară și de vârstă școlară inferioară, totuși parodontita poate apărea și se poate manifesta încă în copilărie, localizându-se în regiunea dinților temporari, precum și în perioada pubertății.

În patogeneza gingivitei un rol important îl deține dereglarea microcirculației și metabolismului țesuturilor parodontiului. Activarea oxidării peroxidice a lipidelor (OPL) constituie veriga de instalare a factorilor stresului oxidativ, cu deteriorarea membranelor celulare, a organitelor și a metabolismului celulei, în general [9]. La inflamarea țesuturilor parodontiului se deteriorează mecanismele care mențin homeostaza în cavitatea bucală; se schimbă componența microflorei, alimentarea salivei cu proteine serice și secretorii, activitatea unui șir de enzime, cantitatea leucocitelor, care emigrează în salivă prin mucoasa cavității bucale [10]. Inflamația în cazurile gingivitei duce la secreția factorilor inflamației, a toxinelor microflorei patogene în salivă. Drept răspuns la pătrunderea microflorei patogene și a toxinelor ei în celulele gingiei pacientului, se observă o inducție a sistemelor de protecție a pacientului. În primul rând, aceasta se referă la celulele epiteliale ale mucoasei cavității bucale și la neutrofile, care îndeplinesc funcția cooperativă de protecție. Inflamația generează intensificarea proceselor de OPL, mărirea peroxidizilor și hidroperoxidizilor lipidici, a toxinelor, care caracterizează stresul de oxidare. Inițial, ca răspuns are loc activarea enzimelor sistemului antioxidant (SAO) al celulei, la care se referă glutathionul – antioxidantul hidrosolubil, enzimele glutathion-dependente (glutathionreductaza și glu-

tation-S-transferaza), precum și fermentul–cheie al șuntului pentozo-fosfat – glucozo-6-fosfatdehidrogenaza.

Cercetarea componentelor salivei este îndeosebi de informativă în cazul existenței focarului de infecție în cavitatea bucală, care are loc în cazurile gingivitei. Componența salivei reflectă starea țesuturilor cavității bucale și a metabolismului organismului uman [6]. Determinarea componentelor salivei la bolnavul de gingivită poate servi drept test biochimic suplimentar, cu un grad de obiectivitate mai înalt, decât stabilirea indicilor clinici, efectuată în practică vizual.

Scopul lucrării constă în evaluarea modificărilor în veriga enzimatică a sistemului antioxidant (glutathionreductaza, glutathion-S-transferaza, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza) în saliva copiilor cu gingivită catarală.

Materiale și metode de investigații

Cercetarea a fost efectuată la 25 de copii cu vârsta de 7 ani. La prima examinare au fost depistați 10 copii (40%), bolnavi de gingivită catarală, forme ușoară și medie. Pentru efectuarea cercetărilor ulterioare copiii au fost împărțiți în două grupuri: grupul I – 15 copii sănătoși (grupul de control); grupul II – 10 copii cu gingivită (5 băieți și 5 fete). Este bine cunoscut faptul că componența salivei și secreția ei pot varia chiar și pe parcursul unei zile. Reieșind din aceasta, activitatea enzimelor și conținutul componentelor salivei la copii s-au calculat la l salivă și g proteină, ceea ce este mai informativ în evaluarea de rezultate ale cercetării obținute.

Saliva (lichidul bucal) amestecată se colecta la ora 9 dimineața din cavitatea bucală, se centrifuga la 600 turații/min timp de 10 minute. Pentru cercetare s-a utilizat lichidul supernatant. Toate cercetările biochimice s-au efectuat cu ajutorul micrometodelor la spectrofotometrul *Humalyzer*

2000 (Germania) (Catedra Biochimie și Biochimie Clinică, USMF „Nicolae Testemițanu”).

Determinarea activității glutationreductazei (GR, EC 1.6.4.2) s-a efectuat spectrofotometric, după metoda lui E. Conn, A. Vennesland [4], în modificările lui A. Герасимов și coaut. [1], activitatea glutation-S-transferazei (GST, EC 2.5.1.18) s-a determinat după metoda lui W. H. Habig, W. B. Jacoby [5], a glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (G6PDH, EC 1.1.1.44) – după metoda lui И. Ф. Сейц, И. С. Луганова [3]; conținutul de proteină – după metoda lui N. Watanabe et al. [8].

Rezultatele cercetării au fost prelucrate statistic, autenticitatea schimbărilor indicilor a fost evaluată după criteriul de veridicitate *t-Student* la computer, cu utilizarea programelor aplicate (Microsoft, USA): *Microsoft Excel 2003*. Coeficienții de corelație (*r*) au fost calculați după metoda *Spearman* [2].

Rezultate obținute și discuții

Glutationreductaza (GR) este unica enzimă, care catalizează reacția de restabilire a glutationului oxidat (GSSG) în forma lui redusă (GSH). Antioxidantul hidrosolubil glutationul participă în multe reacții intracelulare ale metabolismului tiol-disulfidic, la detoxificarea toxinelor exogene, precum și la protecția celulei de acțiunea endotoxinelor, a peroxidilor și a hidroperoxidilor, care se formează în procesul OPL. Din acest punct de vedere determinarea activității glutationreductazei în saliva copiilor cu gingivită poate fi informativă. Cercetările efectuate au constatat că activitatea GR, în saliva întregului grup de copii, era egală cu $57,6 \pm 6,01$ U/l ($p < 0,02$), ceea ce constituia 66,9% din activitatea GR în saliva copiilor sănătoși ($86,2 \pm 7,30$ U/l). Activitatea GR (la g de proteină) a arătat că activitatea ei specifică în saliva copiilor cu gingivită, de asemenea, este redusă până la $53,1 \pm 4,14$ U/g (72,9%; $p < 0,05$), în comparație cu activitatea enzimei la copiii sănătoși ($72,9 \pm 5,34$ U/g) (fig. 1).

Activitatea GR în saliva băieților cu gingivită era egală cu 62,3 U/l, constituind 71,0% ($p < 0,05$) din activitatea enzimei în saliva băieților sănătoși (87,7 U/l). La fetele cu gingivită, activitatea GR era 60,8 U/l, constituind 76,3% ($p < 0,05$) din activitatea enzimei (79,6 U/l), la fetele sănătoase. Activitatea specifică a GR la băieți era egală cu 52,5 U/g (70,07%; $p < 0,05$), în comparație cu activitatea specifică a enzimei din saliva băieților sănătoși (75 U/g); pe când în saliva fetelor – 53,7 U/g (77,8%, ($p < 0,05$), în comparație cu activitatea specifică a enzimei din saliva fetelor sănătoase (69,1 U/g).

Glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (G6PDH) este enzima-cheie al șuntului pentozo-fosfatul, care generează 70% NADPH, necesar pentru neutralizarea toxinelor și a xenobioticelor din lanțul monooxigenazic al oxidării microsomale, cu participarea citocromului P-450. NADPH, de asemenea, este necesar în diverse procese anabolice, așa ca sinteza de acizi grași, lipide, acizi biliari, hormoni steroizi, provitamină D și al. G6PDH – o enzimă, legată funcțional de GR. Rezultatele obținute în cercetarea activității G6PDH în saliva copiilor cu gingivită sunt prezentate pe fig. 2.

În grupul general de copii, bolnavi de gingivită, activitatea G6PDH era redusă la ambele cazuri de calculare ($28,69 \pm 4,81$

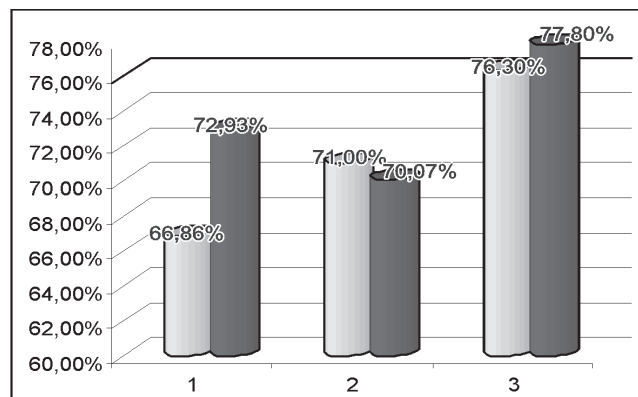


Fig. 1. Activitatea glutationreductazei în saliva pacienților cu gingivită.

Grupele: 1 – toți pacienții cu gingivită (la stânga – activitatea GR în l a salivei; la dreapta – activitatea GR la g de proteine în salivă); 2 – pacienți-băieți; 3 – pacienți-fete. Activitatea GR în salivă copiilor sănătoși – 100%.

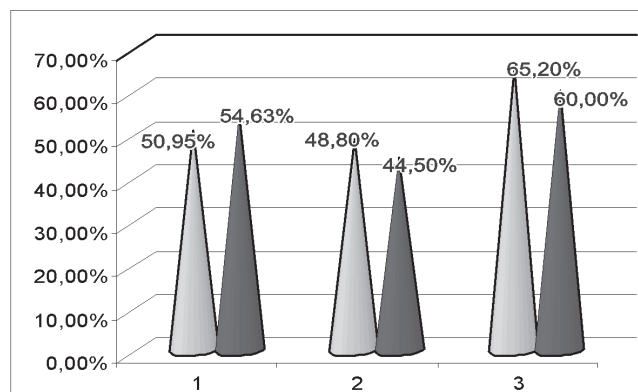


Fig. 2. Activitatea glucozo-6-fosfatdehidrogenazei în saliva pacienților cu gingivită.

Grupurile: 1 – toți pacienții cu gingivită (la stânga – activitatea G6PDH în l a salivei; la dreapta – activitatea G6PDH la g de proteină în salivă); 2 – pacienți-băieți; 3 – pacienți-fete. Activitatea G6PDH în saliva copiilor sănătoși – 100%.

U/L, $26,06 \pm 3,37$ U/g) ($p < 0,05$), în comparație cu copiii din grupul de control ($56,31 \pm 5,84$ U/l, $47,70 \pm 4,59$ U/g). În saliva băieților cu gingivită activitatea G6PDH era considerabil mai joasă, decât la băieții sănătoși (43,46 U/l), constituind 21,2 U/l (48,8%; $p < 0,05$). La fetele cu gingivită activitatea G6PDH, de asemenea, era mult mai joasă, decât activitatea enzimei în saliva fetelor sănătoase (55,48 U/l, 55,82 U/g) atât în l de salivă, constituind 36,2 U/l (65,2%; $p < 0,05$), cât și relativ la g de proteină – 33,47 U/g (60,0%; $p < 0,05$).

Glutation-S-transferaza (GST) este o enzimă polifuncțională care participă în biotransformarea xenobioticelor, endo- și exotoxinelor, are o activitate înaltă. Drept răspuns la inflamarea care provoacă intensificarea proceselor de OPL și intoxicații, este logic de așteptat creșterea activității fermentului, care îndeplinește funcția de apărare. Rezultatele cercetării activității GST (fig. 3) indică despre creșterea activității ei în saliva copiilor, bolnavi de gingivită, până la $4629 \pm 51,2$ U/l (126,13%; $p < 0,05$) și $4198 \pm 63,3$ U/g

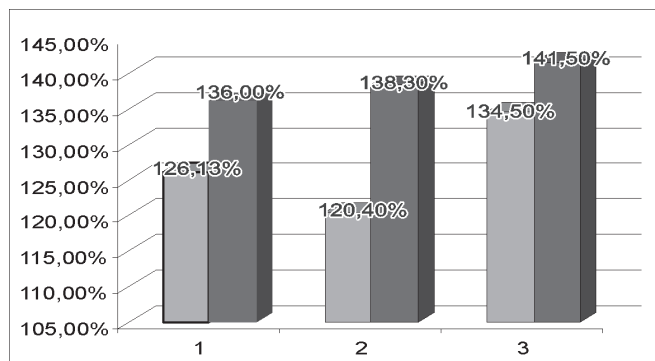


Fig. 3. Activitatea glutation-S-transferazei în saliva copiilor cu gingivită.

Grupurile: 1 – toți pacienții cu gingivită (la stânga – activitatea GST în saliva; la dreapta – activitatea GST la g de proteină în saliva); 2 – pacienți-băieți; 3 – pacienți-fete. Activitatea GST în salivă copiilor sănătoși – 100%.

(136,0%; $p < 0,05$), în comparație cu copiii sănătoși ($3670 \pm 38,6$ U/l, $3087 \pm 24,3$ U/g).

În saliva copiilor cu gingivită, activitatea enzimei a crescut până la 4773 U/l, ceea ce corespundea 120,4% ($p < 0,05$) din activitatea enzimei ($3965 \pm 58,62$ U/l) în saliva băieților sănătoși. Activitatea specifică a GST la băieți corespundea 4558 U/g (138,3%; $p < 0,05$) în comparație cu grupul de control al băieților (3296 U/g), la fetele cu gingivită activitatea GST în salivă a crescut până la 4170 U/l (134,5%; $p < 0,05$) comparativ cu activitatea enzimei la fetele sănătoase (3099 U/l). Activitatea specifică a enzimei în salivă fetelor cu gingivită, de asemenea, era ridicată până la 3837 U/g (141,5%; $p < 0,05$) în comparație cu grupul de control al fetelor (2711 U/g).

Una dintre abordările cercetării stării SAO de protecție a salivei, la copiii cu gingivită, a fost examinarea raporturilor enzimelor legate funcțional: glutathionreductaza/glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (GR/G6PDH) și glutathionreductaza/glutathion-S-transferaza (GR/GST). Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1

Relațiile reciproce ale enzimelor antioxidante în saliva copiilor sănătoși și la cei cu gingivită

Enzimele	Control general Sănătoși	Control general Gingivită	Control individual Sănătoși	Control individual Gingivită
GR/G6PDH	1,69	2,14	2,31	4,31
GR/GST	0,024	0,014	0,024	0,015

Rezultatele din tabelul 1 arată că, la examinarea de raporturi ale mărimilor activităților enzimelor referitor la mărimea statistică medie în grupul cercetat („controlul general”), indicele GR/G6PDH în saliva copiilor cu gingivită depășește de 1,27 ori indicele corespunzător la copiii sănătoși. Iar dacă examinăm „controlul individual”, când la fiecare copil bolnav (sau sănătos) indicele se calculează „individual”, iar apoi se stabilește mărimea medie statistică a indicilor grupului întreg, atunci în acest caz („controlul individual”) coeficientul

GR/G6PDH la copiii cu gingivită depășește de 1,87 ori indicele raportului acestor enzime în saliva copiilor sănătoși.

Coeficienții GR/GST la copiii cu gingivită la examinarea „controlul general” sunt micșorați de 1,72 de ori în comparație cu copiii sănătoși. Examinarea „controlul individual” a arătat, că raportul enzimelor GR/GST este micșorat în saliva copiilor cu gingivită de 1,6 ori în comparație cu copiii sănătoși. Sintetizând cele expuse anterior, menționăm că, în saliva copiilor cu gingivită, activitatea GR predomină evident G6PDH, iar activitatea GST – GR în comparație cu copiii sănătoși.

Concluzii

- La copiii cu gingivită catarală are loc un dezechilibru al sistemului antioxidant de protecție, manifestat prin reducerea activității glutathionreductazei și creșterea nivelului funcțional glucozo-6-fosfatdehidrogenazei și glutathion-S-transferazei.

- Determinarea componentelor salivei la bolnavul de gingivită poate servi drept test biochimic suplimentar, cu un grad de obiectivitate mai înalt, decât stabilirea indicilor clinici, efectuată în practică vizual.

- În saliva copiilor cu gingivită, activitatea GR predomină evident G6PDH, iar activitatea GST – GR în comparație cu copiii sănătoși.

Bibliografie

1. Герасимов А. М., Королева Л. А., Брусов О. С. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления в различных отделах головного мозга крыс. Вопросы мед. химии, 1976; 22(1): 89-94.
2. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Медицина: Ленинград, 1978.
3. Сейц И. Ф., Луганова И. С. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в лейкоцитах. Биохимия клеток крови. Медицина: Москва, 1967, с.113-114.
4. Conn E., Vennesland A. Glutathione reductase. J. Biol. Chem., 1951; 192:17-30.
5. Habig W. H., Jacoby W. B. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. Methods in Enzymology, 1981; 77: 398-405.
6. Streckfus C. F., Bigler L. R. Saliva as a diagnostic fluid. Oral Dis., 2002; 8(2): 69-76.
7. Tenovuo J. Antimicrobial function of human saliva how important is it for oral health? Acta. Odontol. Scand., 1998; 56: 250-256.
8. Watanabe N., Kamei S., Ohkuto O. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex: Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin. Chem., 1986; 32: 1551-1554.
9. Wei P. F., Ho K. Y., Ho Y. P., Wu Y. M., Yang Y. H. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. J. Periodontal Res., 2004; 39(5): 287-293.
10. Zappacosta B., Manni A., Persichilli S., Schibano D. HPLC analysis of some sulphur compounds in saliva: comparison between healthy subjects and periodontopathic patients. Clin. Chim. Acta., 2003; 338(1-2): 57-60.

Nina Șevcenco, asistent universitar

Catedra Chirurgie Oromaxilofacială Pediatrică și Pedodontie

USMF „Nicolae Testemițanu”

Chișinău, str. V. Alexandri, 2

Tel.: 763490

E-mail: D1999@mail.ru

Recepționat 25.11.2008