

І. Є. Сергеева, Т. С. Брюзгіна

Порівняльна характеристика жирнокислотного спектра в діагностичних фізіологічних середовищах хворих на генералізований пародонтит

(Представлено академіком НАН України В. П. Широбоковим)

Методом газорідинної хроматографії досліджено жирнокислотний спектр у периферичній крові, секреті сл. Parotis та фільтраті пародонтальних кишень (ПК) 124 хворих на генералізований пародонтит I–II ступеня. Встановлено однонаправлене збільшення до 50% насичених жирних кислот – міристинової (C_{14:0}) та пальмітинової (C_{16:0}), що свідчить про окиснення мембранних фосфоліпідів клітин. Сума ненасичених та поліненасичених жирних кислот має тенденцію до компенсаторного зниження, насамперед за рахунок лінолевої кислоти (C_{18:2}) з подальшим пероксидним окисненням арахідонової кислоти (C_{20:4}). Виявлені зміни свідчать про порушення біохімічних процесів в ендотелії судин, текучості мембран клітин насамперед в осередках дистрофічно-запальних пошкоджень. Неінвазивні методи визначення жирнокислого спектра є об'єктивними діагностичними та патогноматичними тестами, які достовірно відображають локалізацію та ступінь тяжкості процесів пероксидації у хворих на генералізований пародонтит.

Дослідження ліпідного обміну, а саме метаболізму жирних кислот (ЖК), вже тривалий час привертає увагу як клініцистів, так і стоматологів при вирішенні проблем розкриття механізмів дистрофічних і запальних змін у тканинах пародонту. Одним з основних факторів, які ініціюють загострення у хворих на генералізований пародонтит (ГП), є надмірна активація вільнорадикального окиснення ліпідів та дискоординація систем антиоксидантного захисту, що спричиняють стан оксидативного стресу [1–7]. Крім того, ЖК не тільки беруть участь у забезпеченні енергетичного гомеостазу, але і є необхідним компонентом у підтримці стабільності та стійкості клітинних мембран, попередником багатьох біологічно активних речовин – стероїдних гормонів, простагландинів та лейкотриєнів, і відіграють істотну роль у формуванні імунітету, активності дистрофічних та запальних реакцій [8–12]. Показано [7, 8], що ГП супроводжується розвитком біохімічного синдрому ліпопероксидації: відбувається накопичення цитотоксичних продуктів ПОЛ, зниження активності антиоксидантної системи, змінюється співвідношення насичених та ненасичених ЖК (НЖК та ННЖК) ліпідів пародонта. При цьому змінюється ЖК спектр ліпідів змішаної ротової рідини за рахунок пероксидної модифікації біомембран клітин пародонта, що виявляється в підвищенні ненасиченості ліпідного комплексу при збільшенні частки арахідонової кислоти, а також у підвищенні насиченості ліпідів і загальному зменшенні частки поліненасичених ЖК (ПНЖК), що дає підстави вважати доцільним застосування антиоксидантної терапії (у вигляді місцевих аплікацій на ясна) в комплексному лікуванні ГП.

Питання метаболізму ЖК при ГП достатньо освітлені в науковій літературі, проте треба відзначити, що є тільки поодинокі дані про динаміку спектра ліпідного метаболізму у хворих на ГП, щодо порівнянних особливостей у місцевих діагностичних середовищах порожнини рота та системних змін і якісного складу та кількісного співвідношення ЖК. Крім

того, немає даних щодо показників обміну ЖК у вмісті пародонтальних кишень (ПК) та у секреті привушної слинної залози (секрет gl. Parotis), що визначає екосистему порожнини рота, впливаючи в цілому на стан пародонта.

Мета нашого дослідження — встановити, вивчити і з'ясувати баланс жирнокислотного складу ліпідів у досліджуваних біологічних середовищах хворих на ГП для обґрунтування локалізації механізмів пошкодження та оптимізації подальшого лікування.

Матеріали і методи. Обстежено 24 практично здорових людей і 124 хворих на ГП I–II ступеня, загостреного перебігу (69) і хронічного перебігу (55), віком 20–55 років. Діагноз встановлено згідно з класифікацією захворювань пародонта проф. М. Ф. Данилевського (1994). Обстеження проведено в стоматологічному центрі Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, наукові дослідження — в лабораторії біохімії та патофізіології Інституту проблем патології при НМУ. Крім загальноприйнятого клініко-рентгенологічного і лабораторного обстеження у хворих на ГП визначали вміст НЖК, ННЖК в еритроцитах та плазмі периферичної крові, у секреті gl. Parotis та фільтраті ПК (отримані патенти № 44363 і № 53267).

Газохроматографічний аналіз спектра ЖК здійснювали за допомогою газового хроматографа “Цвет-500” з полум'яно-іонізаційним детектором в ізометричному режимі [13].

У жирнокислотному спектрі ліпідів було ідентифіковано 10 найбільш інформативних ЖК: міристинову ($C_{14:0}$), пентадеканову ($C_{15:0}$), пальмітинову ($C_{16:0}$), пальмітоолеїнову ($C_{16:1}$), маргаринову ($C_{17:0}$), стеаринову ($C_{18:0}$) — насичені; олеїнову ($C_{18:1}$), лінолеву ($C_{18:2}$), ліноленову ($C_{18:3}$), арахідонову ($C_{20:4}$) — ненасичені.

Піки ЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків стандартних ЖК. Кількісну оцінку ЖК ліпідів кардіоміоцитів щурів проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК і визначали їх склад у відсотках.

Статистична обробка — дисперсійний аналіз, достовірність за критерієм Стьюдента $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Згідно з отриманими даними (табл. 1), вміст усіх фракцій ЖК у досліджених біологічних середовищах виявився порушеним щодо контролю. Звертає на себе увагу, що в плазмі крові достовірно вищий вміст НЖК — пальмітинової, стеаринової, та знижений вміст міристинової кислоти, що може свідчити про гіперхолестеринемію з порушенням стану ендотелію судин і потребує подальшого біохімічного та імунологічного дослідження.

Крім того, зменшення утворення олеїнової, лінолевої і підвищення вмісту арахідонової кислоти можна пояснити механізмами їх активації з подальшим утворенням головного енергетичного деривату — арахідонової кислоти для подальшого ферментного утворення медіаторів запалення, активації макро- та мікрофагоцитів, Т-клітин. Ці показники не є органоспецифічними і не відображають зміни лише при даній конкретній патології, але достовірно свідчать про активацію пероксидації ліпідів. Арахідонова кислота синтезується в результаті каскадних ферментативних, ліпооксидазних реакцій, які відіграють центральну біохімічну роль у поглибленні термінального кровообігу, артеріально-венозних шунтів, що здебільшого визначає гіпоксію тканин і пошкодження клітинних мембран [4, 8, 9].

Співвідношення НЖК і ННЖК має важливе значення при досягненні фазового стану, функціонування біологічних мембран. Вважається, що зміни клітинних еритроцитарних мембран відображають зміни клітинних мембран органів. Але особливістю досліджень є те, що перебіг ГП, як можливого аутоімунного захворювання, відбувається на істинно загальносоматичному фоні патологічних змін в організмі хворих та можливого розвитку вторинного

Таблиця 1. Жирнокислотний склад ліпідів у фізіологічних середовищах хворих на генералізований пародонтит, %

ЖК	Плазма		Еритроцити		Фільтрат ПК		Секрет gl. Parotis	
	ГП	Контроль	ГП	Контроль	ГП	Контроль	ГП	Контроль
C _{14:0}	6,4 ± 0,7	8,7 ± 1,0	7,3 ± 0,7	7,2 ± 0,8	19,5 ± 1,0*	13,8 ± 1,0	21,1 ± 1,0	22,2 ± 1,0
C _{15:0}	2,2 ± 0,3	—	3,6 ± 0,5	—	8,7 ± 0,9	6,0 ± 0,6	6,4 ± 0,7	6,5 ± 0,7
C _{16:0}	42,5 ± 1,5*	33,6 ± 1,0	43,1 ± 1,5*	30,6 ± 0,7	32,9 ± 1,8	35,7 ± 1,5	37,6 ± 1,8*	24,0 ± 1,5
C _{16:1}	2,6 ± 0,3	—	2,4 ± 0,3	—	—	—	—	—
C _{17:0}	0,9 ± 0,1	—	2,4 ± 0,5	—	3,2 ± 0,3	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,2	3,0 ± 0,3
C _{18:0}	13,6 ± 1,0*	9,7 ± 0,5	11,8 ± 1,0	12,2 ± 1,2	7,6 ± 0,8	9,4 ± 0,9	6,6 ± 0,7	5,7 ± 0,6
C _{18:1}	9,7 ± 0,8*	15,5 ± 1,3	10,4 ± 1,0*	15,8 ± 0,5	11,2 ± 1,0	13,4 ± 0,8	6,4 ± 0,5	8,1 ± 0,8
C _{18:2}	13,0 ± 1,0*	25,7 ± 1,8	5,0 ± 0,1*	19,2 ± 0,7	6,5 ± 0,7*	11,5 ± 1,0	2,4 ± 0,3*	4,7 ± 0,5
C _{18:3}	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	2,2 ± 0,3	0,4 ± 0,1	3,9 ± 0,5	—	6,5 ± 0,7	6,5 ± 0,7
C _{20:4}	8,1 ± 0,5	5,8 ± 0,6	11,8 ± 1,0	14,6 ± 0,9	6,5 ± 0,7	8,2 ± 0,7	11,0 ± 1,0*	19,3 ± 1,3
Σ _{НЖК}	65,6 ± 1,8*	52,0 ± 2,0	68,2 ± 2,0*	50,0 ± 1,3	71,9 ± 2,0*	66,9 ± 1,6	73,7 ± 2,0*	61,4 ± 2,0
Σ _{ННЖК}	34,4 ± 1,8*	48,0 ± 2,0	31,8 ± 2,0*	50,0 ± 1,3	28,1 ± 2,0*	33,1 ± 1,6	26,3 ± 2,0*	38,6 ± 2,0
Σ _{ПНЖК}	22,1 ± 1,6*	32,5 ± 1,6	19,0 ± 1,6*	34,2 ± 1,5	16,9 ± 1,8	19,7 ± 1,3	19,9 ± 1,6*	30,5 ± 1,8

* Різниця між показниками вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

імунодефіцитного стану. У пацієнтів обох груп в еритроцитарних мембранах визначається підвищений вміст пальмітинової кислоти на 48% ($p < 0,05$). При цьому виявляється достовірно зменшення олеїнової (на 49,8%) та лінолевої (на 72%) кислот, з подальшим компенсаторним пероксидним окисненням арахідонової кислоти (вміст якої пригнічується на 22% порівняно з контролем), що в цілому відображається на сумі ННЖК. У всіх хворих на ГП в еритроцитах мембран спостерігається зменшення майже вдвічі вмісту ПНЖК та суми ННЖК, з об'єктивним достовірним збільшенням концентрації та суми НЖК. Це дозволяє зробити висновок, що в еритроцитарних мембранах текучість клітинних мембран не є головним патогноматичним механізмом патологічних змін. Наведені дані відображають стан ліпідного обміну в організмі, а саме обмеження концентрації ННЖК сімейства омега-3, омега-6 незамінних ЖК, вітаміну Е та достовірне підвищення НЖК ($C_{14:0}$, $C_{16:0}$), що свідчить про порушення біохімічних процесів в ендотелії судин.

Отримані дані свідчать про необхідність подальшого визначення вмісту жирнокислотного складу ліпідів у фільтраті ПК та секреті гл. Parotis з метою з'ясування механізмів пошкодження клітин та тканин пародонта.

При порівняльному аналізі вмісту НЖК встановлено їх підвищений вміст. Абсолютні дані цієї направленості спектра ЖК та його складу більш виражені у місцевих середовищах, у той же час необхідно зазначити, що найвищий рівень міристинової кислоти спостерігається у вмісті ПК (підвищення порівняно з контролем на 38%) при утворенні пентадеканової ЖК ($C_{15:0}$) і збільшення її на 30% — при зниженні пальмітинової та стеаринової ЖК. Накопичення міристинової та пентадеканової ЖК свідчить про окиснення пальмітинової та стеаринової ЖК, що може служити діагностичним критерієм при оцінці порушень ліпідного метаболізму в пародонті і вказувати на глибинні дистрофічні порушення, одночасно відображаючи і високий рівень текучості мембран еритроцитів, клітин в осередках патологічних змін. Достовірно зменшення ННЖК ($C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{20:4}$), як в ліпідах секрету гл. Parotis, так і вмісті ПК, свідчить про найбільшу потребу есенціальних ЖК саме при дистрофічно-запальному процесі в тканинах пародонта.

За результатами порівняльного дослідження суми ННЖК як у периферичному кровообігу, так і у фізіологічних середовищах порожнини рота встановлено однонаправлені зміни жирнокислотного спектра, що може служити критерієм оцінки патологічного процесу та дає можливість використовувати запропоновані неінвазивні діагностичні об'єктивні методи.

ПНЖК беруть участь у механізмах імунної відповіді, активації механізмів уродженого імунітету, тромбоутворенні. Встановлено, що вміст лінолевої ЖК ($C_{18:3}$) — α -омега-3, яка виявляє протизапальну, гіпохолестеринемічну і антиагрегаційну дію при аутоімунних станах, збільшився в еритроцитах та фільтраті ПК у 4 рази та мав вектор направленості на достатній рівень у плазмі та секреті гл. Parotis. Це свідчить про спроможність збереження компенсаторних механізмів у хворих на ГП I–II ступеня за рахунок достатньої концентрації фракції ЖК омега-3.

У той же час зменшення вмісту прооксидантної омега-6 ПНЖК (α -ліолева $C_{18:2}$) у 2–3 рази у всіх досліджених фізіологічних середовищах свідчить про системне зниження текучості біомембран клітин у сукупності з гіпоксією тканин та накопичення вільних ЖК, прибуткове накопичення арахідонової кислоти ($C_{20:4}$) у плазмі крові та зниження її в секреті гл. Parotis на 30–60%, з подальшим ферментативним утворенням $C_{20:5}$, що приводить до підвищення вмісту вільних ЖК, радикалів, пероксидації ліпідів та протеїнів, що характеризує пошкодження ферментативних механізмів захисту клітин та субкомпенсації антиокиснювальної системи організму (отримані власні дані дослідження вмісту МДА, ДС, СОД, каталази).

Таким чином, об'єктивним критерієм змін жирнокислотного складу ліпідів є дослідження їх рівня в секреті *gl. Parotis* та фільтраті вмісту ПК хворих на ГП I–II ступеня, що визнається як неінвазивний діагностичний та прогностичний достовірний показник. Порушення балансу між сумою НЖК, ННЖК і ПНЖК з різним коефіцієнтом кореляції на системному рівні і в секретах порожнини рота свідчить про дисметаболічні зміни і можливий розвиток запальних процесів, а також зниження адаптаційних можливостей організму в спроможності елімінації активних форм кисню та утворення радикалів при пероксидації і подальше порушення клітинних мембран, що передбачає диференційний підхід до вибору лікарських препаратів та форми і способу їх призначення.

На підставі проведених досліджень можна зробити такі висновки. У хворих на ГП I–II ступеня зберігається концентрація ліноленової кислоти (C_{18:3}) та спрямовується вектор її зростання в еритроцитах та вмісті фільтратів ПК при одночасному зменшенні суми ПНЖК на 25–30% в усіх досліджуваних фізіологічних середовищах, що обумовлює напрямок активації ліпідної пероксидації як на місцевому, так і на системному рівнях. Підвищене накопичення НЖК на 25–30% та зрушення балансу за рахунок міристинової (C_{14:0}) і пентадеканової (C_{15:0}) кислот у фільтрах ПК та еритроцитах є діагностичним показником тяжкості метаболічних пошкоджень клітин пародонта у хворих на ГП I–II ступеня.

1. *Владимиров Ю. А.* Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 7–19.
2. *Зубачик В. М.* Біологічна роль фосфоліпази А₂ // Журн. АМН України. – 1999. – 5, № 4. – С. 627–642.
3. *Ярова С. П., Осипенкова Т. С.* Ефективність методу диференційної корекції перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту // Вісн. стоматології. – 2001. – № 1. – С. 28–31.
4. *Белоклицкая Г. Ф.* Возможности антиоксидантной коррекции перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта разной тяжести // Современ. стоматология. – 2000. – № 1. – С. 38–41.
5. *Чумакова Ю. Г.* Обоснование применения препаратов растительных полифенолов в комплексном лечении генерализованного пародонтита // Вісн. стоматології. – 2006. – Спец. вип. № 3(53). – С. 41–52.
6. *Battino M., Bullon P., Wilson M., Newman H.* Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species // Crit. Rev. Oral Biol. Med. – 1999. – 10, No 4. – P. 458–476.
7. *Brock G. R., Butterworth C. J., Matthews J. B., Chapple I. L. C.* Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health // J. Clin. Periodontol. – 2004. – 31, No 7. – P. 515–521.
8. *Скрипникова Т. П.* Экспериментальные и клинические основы применения антиоксидантов как средств лечения и профилактики пародонтита // Стоматология. – 1994. – № 3. – С. 11–18.
9. *Борисенко А. В., Герелюк В. И.* Оценка роли продуктов арахидоновой кислоты при дистрофически-воспалительном процессе в тканях пародонта на фоне применения нового препарата “Текома” // Современ. стоматология. – 2000. – № 4. – С. 23–25.
10. *Sheikhi M., Bouhafs R., Hammarstrom K.-J., Jarstrand C.* Lipid peroxidation caused by oxygen radicals from Fusobacterium-stimulated neutrophils as a possible model for the emergence of periodontitis // Oral Dis. – 2001. – 7, No 1. – P. 41–46.
11. *Tsai C. C., Chen H. S., Chen S. L. et al.* Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis // J. Periodont. Res. – 2005. – 40. – P. 378–384.
12. *Dubois R. N., Abramson J. B., Crofford S. B. et al.* Cyclooxygenase in biology and disease // FASEB J. – 1998. – No 12. – P. 1063–1073.
13. *Юрженко А. В.* Вивчення спектра вищих жирних кислот ліпідів ротової рідини у хворих на генералізований пародонтит // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 92–94.

I. E. Sergeeva, T. S. Bryuzhina

Comparison of fatty acid spectra in diagnostic physiological media of patients with generalized parodontitis

We present the study of the fatty acid spectrum in peripheral blood, secret gl. Parotis, and filtrate of periodontal pockets (PP) of 124 patients with generalized parodontitis of the I-II stages. By the method of gas-liquid chromatography, we found the unidirectional increase of saturated myristic (C_{14:0}) and palmitic (C_{16:0}) acids to 50% in erythrocytes, PP, and secret gl. Parotis, which shows the oxidation of membrane phospholipids of cells. The amount of unsaturated and polyunsaturated fatty acids tends to a compensating decrease, primarily due to linoleic acid (C_{18:2}), followed by the peroxidation of arachidonic acid (C_{20:4}). The determined changes give evidence of the violation of biochemical processes in the endothelium of blood vessels and the cell membrane fluidity in the zones of dystrophic-inflammatory damage. Non-invasive methods of determining the spectrum of fatty acids are the objective diagnostic and pathognomonic tests that accurately reflect the location and the severity of peroxidation processes in patients with GP.