

АЛЬ ТАБИБ МУХАММЕД МУХАММЕД Али Хуссейн

**ДИАГНОСТИКА И КОРРЕКЦИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В
РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ТАБАКОКУРЯЩИХ ЛИЦ МОЛОДОГО
ВОЗРАСТА С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА**

14.01.14 – стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

УФА 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Герасимова Лариса Павловна

Официальные оппоненты:

Гиниятуллин Ирек Ибрагимович - доктор медицинских наук, профессор кафедры терапевтической стоматологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Николаев Александр Иванович – доктор медицинских наук, доцент государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Смоленская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «18» декабря 2014 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.06. при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина,3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте: <http://www.bashgmu.ru/dissertatsii>.

Автореферат разослан «___» _____ 2014

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

М.М. Валеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Одним из важных факторов риска развития заболеваний полости рта вне зависимости от возраста является табакокурение. Особенно негативно табачная зависимость сказывается на здоровье лиц молодого возраста. Табакокурение для них гораздо опаснее в отношении степени разрушительных последствий как на организм в целом так и на состояние полости рта [Муртазина, Ф.Ф., 2006; Мхитарян А.К., Тихонова Н.Н., 2012].

Табакокурение является самым распространенным видом бытовой наркомании и является серьезной социальной и медицинской проблемой. Среди причин смертности курение табака занимает первое место в мире. Ежегодно в результате проблем со здоровьем, вызванных курением умирают от 3,5 до 5,4 миллионов человек.

В литературных источниках имеется много работ, посвященных действию табачного дыма на состояние тканей полости рта (Орехова Л.Ю., 2011; Bergstrom, J., 2003). Слизистая оболочка рта в силу своих анатомо-топографических особенностей первая подвергается воздействию курения. Различные компоненты, входящие в состав табачного дыма (а их более 4,5 тысяч, среди которых углеводороды, окись углерода, диоксид азота, никотин и т.д.) негативно влияют на её строение и являются факторами риска развития многих заболеваний полости рта (Орехова Л.Ю., 2013).

В настоящее время доказано значение свободнорадикального окисления (СРО) в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта [М.М. Пожарицкая, Т.П. Вавилова, Т.Г. Симакова, 2005; О.Н. Кравец, Р.Р. Фархутдинов, Х.М. Шайдуллина, 2006; Н.А. Терехина, Ю.А., 2005; С.С. Tsai, Н.С. Chen, 2005; Chapelle, I.L, 2006, 2007]. Радикалы кислорода вырабатывают клетки, обладающие фагоцитарной активностью. Они обеспечивают их микробицидность. При острых и обострении хронических воспалительных процессах количество АФК в биологических жидкостях увеличивается, что может стать причиной инициирования свободнорадикального перекисного окисления липидов [Маянский, А.Н., 2005; Betteridge, D.J. What, 2000; Фархутдинов, Р.Р., 2003, 2005].

Свободные радикалы обладают высокой реакционной способностью, иницируя цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ). Свободные радикалы повреждают белки, нуклеиновые кислоты, вызывают «оксидативный стресс» - процесс повреждения [клетки](#) в результате [окисления](#) (Меньщикова Е., 2006; Bonda DJ, Wang X, Perry G, et al., 2010). В то же время недостаток активных форм кислорода, которые обеспечивают защитные функции и микробицидные свойства ротовой жидкости, способствует микробной инвазии. Поэтому, как ускорение СРО, так и его подавление в ротовой жидкости может играть определенную роль в развитии заболеваний пародонта (Гадиуллин А.М. и соавт., 2008, 2009, 2012).

Изучение взаимосвязи стоматологического статуса табакокурящих пациентов с характером изменения свободнорадикального окисления в ротовой

жидкости, коррекция выявленных нарушений и поиск путей повышения эффективности лечения и профилактики стоматологических заболеваний у данной группы лиц является актуальной проблемой, имеющей научное и практическое значение.

Цель исследования. Совершенствование методов диагностики и коррекции нарушений свободнорадикального окисления в ротовой жидкости у табакокурящих лиц молодого возраста с заболеваниями пародонта.

Задачи исследования:

1. Изучить стоматологический статус у табакокурящих и некурящих лиц молодого возраста с заболеваниями пародонта.
2. Изучить действие табачного дыма на образование радикалов активных форм кислорода и интенсивность процессов перекисного окисления липидов в модельных системах.
3. Изучить состояние оксидативного стресса ротовой жидкости у табакокурящих лиц с хроническим генерализованным катаральным гингивитом и оценить влияние курения на эти процессы.
4. Изучить антиоксидантную активность водного раствора прополиса и его влияние на образование свободных радикалов в модельных системах при действии табачного дыма.
5. Разработать метод коррекции оксидативного стресса в ротовой жидкости у табакокурящих и оценить его эффективность.

Научная новизна

1. Впервые изучено влияние табачного дыма на образование радикалов активных форм кислорода и интенсивность процессов перекисного окисления липидов в модельных системах и на ротовую жидкость *in vivo* методом хемилюминесценции у табакокурящих лиц молодого возраста.
2. Впервые изучена антиоксидантная активность водного раствора прополиса и его влияние на образование свободных радикалов в модельных системах при действии табачного дыма.
3. Впервые в результате исследований предложен способ коррекции оксидативного стресса в ротовой жидкости у табакокурящих лиц с хроническим генерализованным катаральным гингивитом и определена его эффективность.

Практическая значимость работы

Полученные результаты расширяют представления о механизмах негативного местного действия табачного дыма на ротовую полость, вызывающие нарушения стоматологического статуса у табакокурящих лиц молодого возраста с хроническим генерализованным катаральным гингивитом.

Применение метода регистрации хемилюминесценции позволяет оценить состояние свободнорадикального окисления в ротовой жидкости табакокурящих лиц.

Уточнение значения свободнорадикального окисления в патогенезе заболеваний пародонта могут быть использованы для обоснования местного применения водного раствора прополиса для повышения эффективности лечения хронического генерализованного катарального гингивита у табакокурящих пациентов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При исследовании стоматологического статуса у табакокурящих лиц молодого возраста по сравнению с некурящими выявлен более высокий уровень распространенности кариеса, более выраженные воспалительные изменения в пародонте, более высокая частота заболеваний слизистой оболочки рта с преобладанием гиперкератотических процессов, выявлен более низкий уровень гигиены полости рта.
2. Показатели хемилюминесценции при пропускании табачного дыма через модельные системы свидетельствуют об иницирующем действии табачного дыма на свободнорадикальное окисление, вызывая усиление образования радикалов кислорода и ускоряя процессы перекисного окисления липидов.
3. Курение табака влияет на процессы свободнорадикального окисления в ротовой жидкости. Независимо от исходного уровня интенсивность хемилюминесценции ротовой жидкости сразу после курения резко снижается, затем увеличивается и через некоторое время возвращается к прежним значениям.
4. Местное применение водного раствора прополиса корригирует оксидативный стресс в ротовой жидкости и улучшает результаты лечения хронического генерализованного катарального гингивита у табакокурящих пациентов.

Внедрение результатов исследования в практику. Работа выполнена в плане научных исследований Башкирского государственного медицинского университета. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре терапевтической стоматологии с курсом института последипломного образования и кафедры стоматологии общей практики Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. Метод лечения используется в АУЗ Республиканская стоматологическая поликлиника г. Уфы, в стоматологической клинике «Дина Медсервис» (г. Уфа).

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены: на Республиканской научно-практической конференции стоматологов (Уфа, 2011, 2012), симпозиуме «Проблемы медицинской биофизики» (Москва, 2012), на Всероссийской научно-практической конференции «Озон, активные формы кислорода, оксид азота и высокоинтенсивные факторы в биологии и медицине» (Нижний Новгород, 2013), на Всероссийской научно-практической конференции «Инновационные технологии в стоматологии» (Казань, 2014).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на кафедре терапевтической стоматологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО БГМУ, на заседании проблемной комиссии по стоматологии ГБОУ ВПО БГМУ РФ 25.06.2014 г. (протокол № 4).

Личный вклад автора. Личный вклад состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения работы в самостоятельном сборе фактического материала, проведении экспериментальных и клинических исследований, статистической обработке и анализе данных, их систематизации и интерпретации, подготовке публикаций и докладов основных результатов исследования.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них 6 в научных журналах и изданиях, включенных в Перечень, рекомендованный ВАК РФ. Получена приоритетная справка на получение патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 104 страницах компьютерной верстки, иллюстрирована 23 рисунками и 11 таблицами. Диссертация состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», «Главы собственных исследований», «Заключения», «Выводов», «Практических рекомендаций», библиографического списка, включающего 149 источника, из них 115 отечественных и 34 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для выполнения поставленных задач путем целенаправленной выборки было проведено обследование 255 пациентов в возрасте от 18 до 24 лет, из них мужчин - 123 и женщин - 132. Все наблюдаемые обучались на стоматологическом факультете Башкирского государственного медицинского университета. Они регулярно проходили лечебно-профилактический осмотр, без тяжелой соматической патологии. При необходимости пациенты направлялись на дополнительную консультацию к врачам общего профиля.

Первую группу составили 120 курящих лиц (78 - мужского и 42 женского пола).

Критериями включения служили: стаж регулярного курения не менее 5 лет, выкуривание более 5 сигарет в сутки, согласие на участие в исследовании и с его условиями, отсутствие выраженной соматической патологии, диагностированный хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ).

Вторая группа состояла из 120 некурящих лиц с ХГКГ (69 мужчины и 51 женщина).

Контрольную группу составили 15 некурящих лиц с интактным пародонтом, регулярно проходящих профилактические осмотры, без выраженной соматической патологии. Исследование этой группы проводили с целью уточнения параметров нормы ХЛ ротовой жидкости.

При обследовании пациентов 1 и 2 групп использовали следующие методы исследования:

- клиническое исследование.
- лабораторные исследования ротовой жидкости:
 - а) активность лизоцима;
 - б) определение содержания иммуноглобулина SIgA;
 - в) определение цитологического профиля;
 - г) НСТ – тест;
 - д) фагоцитарный индекс.
- исследование влияния табачного дыма на хемилюминесценцию в модельных системах *in vitro*.
- исследование влияния табачного дыма на хемилюминесценцию ротовой жидкости.

Стоматологический статус пациентов обеих групп определялся на основании клинико-лабораторных исследований, проводившихся на кафедре терапевтической стоматологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО БГМУ в период с 2011 по 2014 гг. Обследование и динамическое наблюдение во всех группах проводились в одинаковые сроки.

Лабораторная часть исследования проводилась на базе аккредитованной Центральной научно-исследовательской лаборатории Башкирского государственного медицинского университета (зав. – д.м.н., проф. Р.Р. Фархутдинов) с использованием аттестованных методов и оборудования. Лабораторные исследования ротовой жидкости проводили по общепринятым методикам.

Хемилюминесценцию ротовой жидкости измеряли на приборе ХЛ-003. В качестве наиболее информативных показателей ХЛ были взяты светосумма S, и максимальная амплитуда медленной вспышки I_{max}. У каждого табакокурящего пациента исследование ХЛ ротовой жидкости проводили до курения, сразу после и через 1 час после курения. По разнице характера ХЛ судили о влиянии курения на процессы свободнорадикального окисления в ротовой жидкости.

Для изучения **влияния табачного дыма на хемилюминесценцию в модельных системах in vitro** табачный дым от одной сигареты прогоняли с помощью вакуумного насоса через стеклянную колбу, содержащую по 20 мл модельной системы. В качестве контроля использовали модельные системы, через которые табачный дым не пропусклся.

В модельных системах изучали влияние водного раствора прополиса (ООО «БиоПромИнвест», ГОСТ 28886-90) на процессы генерации активных форм кислорода и перекисное окисление липидов.

Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1

Дизайн исследования

Направления исследований	Методы сбора, анализа и обработка информации	Объект и объем исследований
1	2	3
Оценка стоматологического статуса табакокурящих и некурящих, контрольной группы	Данные клинического осмотра, аналитический, статистический	510 пациентов
Исследование ротовой жидкости: а) активность лизоцима; б) определение содержания иммуноглобулина SIgA; в) определение цитологического профиля; г) НСТ – тест; д) фагоцитарный индекс	Лабораторные методы: ИФА, спектрофотометрический метод, цитологический	1200 проб

1	2	3
Изучение процессов свободно радикального окисления под действием табачного дыма <i>in vitro</i>	Хемилюминесценция в модельных системах	Модельные системы 20 проб
Изучение процессов свободно радикального окисления ротовой жидкости табакокурящих пациентов до курения, сразу после курения и через 1 час после курения	Хемилюминесценция ротовой жидкости	Ротовая жидкость 360 проб
Исследование антиоксидантной активности 5% водного раствора прополиса <i>in vitro</i> в зависимости от его концентрации	Хемилюминесценция в модельных системах	Модельные системы, водный раствор прополиса, 60 проб
Изучение действие 5% водного раствора прополиса на хемилюминесценцию ротовой жидкости	Хемилюминесценция ротовой жидкости	Ротовая жидкость, 5% водный раствор прополиса
Анализ эффективности коррекции оксидативного стресса ротовой жидкости у табакокурящих лиц молодого возраста с помощью водного раствора прополиса	Данные клинического осмотра, лабораторных методов исследований, аналитический, статистический	120 табакокурящих лиц с ХГКГ

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 7,0 и электронных таблиц Excel 2007. Для сравнения полученных данных использовался t- критерий Стьюдента. Уровень достоверной значимости был принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексное обследование табакокурящих и некурящих пациентов начинали с определения их стоматологического статуса. При комплексном стоматологическом обследовании пациентов 1-й и 2-й групп были выявлены следующие жалобы: на неприятный запах изо рта, кровоточивость десен при чистке зубов и приеме твердой пищи, необычный вид десневых сосочков и на эстетическую неудовлетворенность из-за пигментации зубов, повышенную чувствительность зубов. Некоторые испытывали раздражение слизистой полости рта. В результате обследования установлена высокая распространенность и интенсивность кариеса зубов среди лиц молодого возраста в независимости от наличия вредной привычки – табакокурения.

Нами была применена индексная оценка распространенности и интенсивности кариозного процесса КПУ и состояния тканей пародонта: индекс РМА (1968), ОНI-S (1964), PI (Russell, 1956), индекс кровоточивости SBI (Muhlemann, Son, 1971). В 1-й группе индекс КПУ в среднем составил $8,85 \pm 0,01$,

во 2-й группе - $6,01 \pm 0,57$ ($p < 0,05$). В 24,6% случаев кариозные полости в 1-й группе локализовались в пришеечной области. Во 2-й группе кариозный процесс чаще локализовался по 1 и 2 классу по Блэку. Пятый класс определялся в 14,3% случаев. Нами установлено, что вне зависимости от наличия нозологии и вредной привычки у обследованного контингента гигиена полости рта ниже показателей нормы. Показатели индекса ОНI-S в 1-й группе достоверно выше по сравнению со 2-й группой. Уровень гигиены полости рта оценен в 1-й группе пациентов как плохой, а во 2-й группе как неудовлетворительный ($p < 0,05$), поэтому увеличиваются и показатели десневого индекса GI, и индекса РМА, свидетельствующие о хроническом воспалительном процессе (табл 2).

Таблица 2

Индексная оценка состояния полости рта у табакокурящих и некурящих пациентов молодого возраста с ХГКГ

Показатели состояния полости рта	I группа (n=120)	II группа (n=120)
Наличие кариеса (абс. %)	90,3	85,5
Интенсивность кариеса	$8,85 \pm 0,11^*$	$6,01 \pm 0,57$
К	$3,99 \pm 0,15$	$2,19 \pm 0,08$
П	$4,23 \pm 0,17$	$3,49 \pm 0,17$
У	$0,62 \pm 0,01^*$	$0,33 \pm 0,01$
Индекс ОНI-S	$1,93 \pm 0,09^*$	$1,09 \pm 0,08$
Индекс РМА	$47,1 \pm 1,38^*$	$31,3 \pm 1,35$
SBI (Мюллемана)	$0,89 \pm 0,07$	$0,81 \pm 0,08$
Десневой индекс GI (Loe, Silness)	$1,42 \pm 0,08$	$1,39 \pm 0,06$

* $p < 0,05$ - отличие достоверное в подгруппах

В 1-й группе выявлен более высокий уровень заболеваний слизистой оболочки рта и красной каймы губ по сравнению со 2-й группой. Практически у всех обследованных курящих пациентов (98,7%) диагностирован десквамативный хейлит, сопровождающийся сухостью, шелушением и образованием чешуек, чаще на нижней губе. Во 2-й группе хейлит диагностирован у 43,6% обследованных ($p < 0,001$). У табакокурящих пациентов чаще определялась хроническая механическая травма слизистой оболочки щек и преддверия полости рта (42,5% в 1-й группе и 17,3% во 2-й группе ($p < 0,001$)).

Для оценки состояния местного иммунитета полости рта у пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом определяли содержание секреторного иммуноглобулина А и лизоцима в ротовой жидкости (табл.3).

Таблица 3

Содержание секреторного иммуноглобулина А и лизоцима в ротовой жидкости у пациентов 1-й и 2-й групп

Показатели	Показатели нормы	I группа (n=120)	II группа (n=120)
SIg A (г/л)	$0,56 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,03^{**}$	$0,53 \pm 0,05^*$
Лизоцим (мкг/мл)	$0,31 \pm 0,09$	$1,42 \pm 0,09^{**}$	$1,01 \pm 0,08^*$

* $p < 0,001$ - отличие достоверно с показателями нормы

** $p < 0,05$ - отличие достоверное в группах

По данным таблицы в обеих группах обследуемых пациентов имеет место недостаточная функция местного иммунитета полости рта, проявляющаяся сниженным содержанием SIgA и повышением лизоцима в ротовой жидкости, с более выраженными изменениями у табакокурящих пациентов. Как результат компенсации недостаточности SIgA в ротовой жидкости возрастало содержание в ней лизоцима.

Цитологическое исследование ротовой жидкости у пациентов в обеих группах показало увеличение в ее составе числа нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов и появление гистиоцитов, увеличение спонтанного НСТ-теста, снижение индуцированного и повышение фагоцитарного индекса по сравнению с нормой (табл. 4).

Таблица 4

Цитологическое исследование ротовой жидкости
у пациентов 1-й и 2-й групп

Показатели	Группы обследованных лиц		
	Показатели нормы	I группа (n=120)	II группа (n=120)
1	2	3	4
Клеточный состав			
нейтрофилы	46,71±2,3	61,32±3,8*	41,54±2,9***
лимфоциты	53,32±4,8	62,45±0,42*	59,63±0,92*
1	2	3	4
макрофаги	0,91±0,01	1,98±0,03*	1,28±0,01*
гистиоциты	–	2,63±0,01*	1,24±0,31***
НСТ (% активации)			
спонтанный	28,72±1,52	36,92±2,42*	30,84±1,3*
индуцированный	39,42±2,22	26,73±3,73*	30,93±1,8*
Фагоцитарный индекс	54,53±3,81	68,82±4,9*	59,14±2,7**

* $p < 0,001$ - отличие достоверно с показателями нормы

** $p < 0,05$ - отличие достоверное в группах

Однако в 1-й группе выявлены достоверные отличия по сравнению со 2-й группой по содержанию нейтрофилов, гистиоцитов и фагоцитарному индексу ($p < 0,05$).

Таким образом, проведенные клинико-лабораторные исследования позволили выявить более выраженные воспалительные изменения у табакокурящих пациентов с ХГКГ.

Изучение процессов свободнорадикального окисления под действием табачного дыма *in vitro*

Пропускание табачного дыма через исследуемую систему вызывало резкое увеличение спонтанного свечения. Это свидетельствует о том, что табачный дым инициирует образование свободных радикалов. Величина быстрой вспышки и светосумма хемилюминесценции модельной системы, через которую был пропущен табачный дым, увеличивалась в 2-3 раза.

В модельной системе, в которой протекали реакции свободнорадикального перекисного окисления липидов, воздействие табачного дыма приводило к усилению быстрой вспышки и спонтанного свечения в 6 раз, увеличению светосуммы ХЛ в 3 раза, что указывает на ускорение процессов окисления липидов.

Исследования влияния табачного дыма на процессы свободнорадикального окисления *in vitro* доказали, что компоненты, входящие в его состав способны инициировать образование радикалов кислорода и перекисное окисление липидов.

В таблице 5 представлены изменения значений спонтанного свечения, быстрой вспышки, светосуммы и максимальной интенсивности хемилюминесценции модельных систем, в которых вызывали образование свободных радикалов кислорода и перекисное окисление липидов. Исходные величины этих показателей до пропускания через модельные системы табачного дыма приняты за 100%.

Таблица 5

Показатели хемилюминесценции в модельных системах до и после воздействия табачного дыма

Параметры ХЛ	Модельная система АФК		Модельная система ПОЛ	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Спонтанное свечение (%).	100	5011,1±21,1	100	610,4±6,4
Быстрая вспышка (%)	100	204,5±10,9	100	359,4±4,1
Светосумма свечения (%).	100	193,2±8,7	100	280,6±3,3
Максимальное свечение (%).	100	135,1±6,2	100	209,3±2,8

Примечание: контроль взят за 100%,

Таким образом, пропускание табачного дыма через модельные системы инициирует образование свободных радикалов и перекисное окисление липидов.

Изучение оксидативного стресса ротовой жидкости табакокурящих пациентов

Исследования ХЛ ротовой жидкости у курящих позволили разделить табакокурящих пациентов на 2 подгруппы: 66 пациентов с высокими (1а) и 54 пациента низкими (1б) показателями хемилюминесценции по сравнению с контрольной группой (таблица 6).

Таблица 6.

Хемилюминесценция ротовой жидкости (усл. ед.) у пациентов основной и контрольной групп

Показатели ХЛ ротовой жидкости	ХЛ ротовой жидкости		
	Контрольная группа	Основная группа	
		подгруппа 1а (n=66)	подгруппа 1б (n=54)
1	2	3	4
S – светосумма свечения	7,80±0,30	35,22±4,4*	3,04±0,3***

1	2	3	4
I max – максимальная интенсивность	3,10±0,20	16,25±1,9*	1,15±0,09***

* $p < 0,05$ - отличие достоверно с контролем помечено,

** $p < 0,05$ - отличие достоверное в подгруппах помечено

Исследования хемилюминесценции ротовой жидкости у табакокурящих были неоднородными: в подгруппе 1а они были высокими, а в подгруппе 1 б ниже по сравнению с контрольной группой.

На рисунках 1,2 представлены записи ХЛ ротовой жидкости до курения, сразу после курения и через 1 час у пациентов с исходно высокой и низкой интенсивностью ХЛ. Уровень ХЛ ротовой жидкости сразу после курения снижался до нуля, через 10-15 минут наблюдалось повышение интенсивности свечения, которое достигало максимума через 1-1,5 часа и превышало исходные значения в 2,5-3 раза.

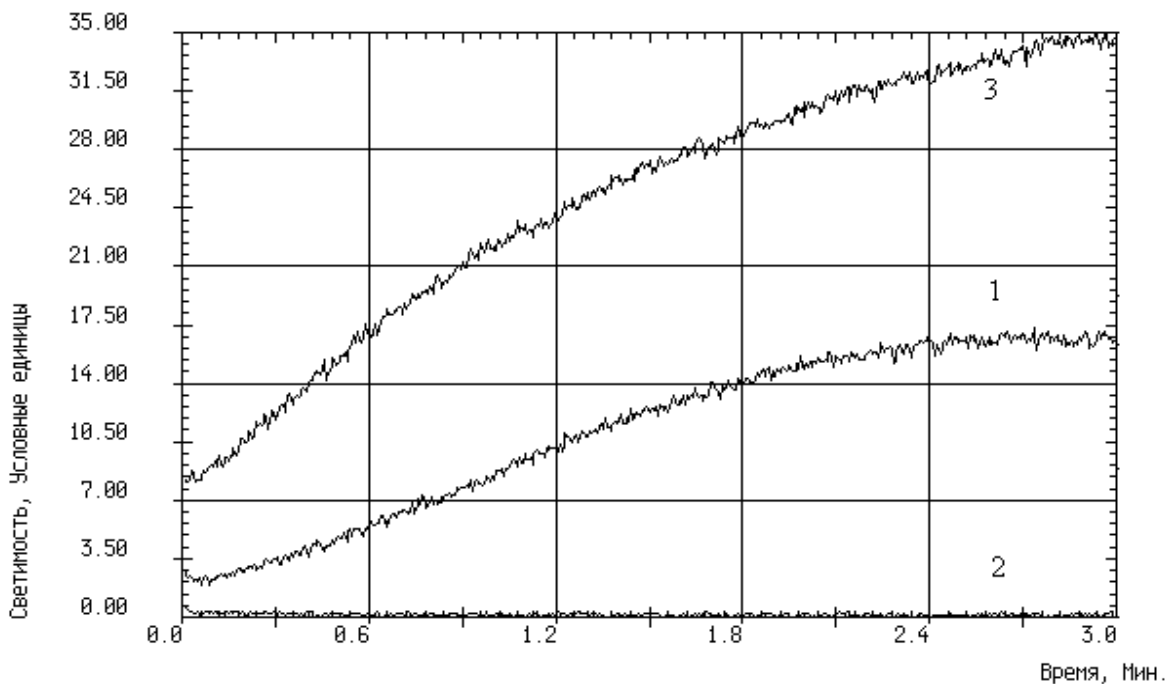


Рис.1. Запись хемилюминесценция ротовой жидкости табакокурящих пациентов подгруппы 1а: 1- до курения, 2- сразу после курения, 3- через час после курения.

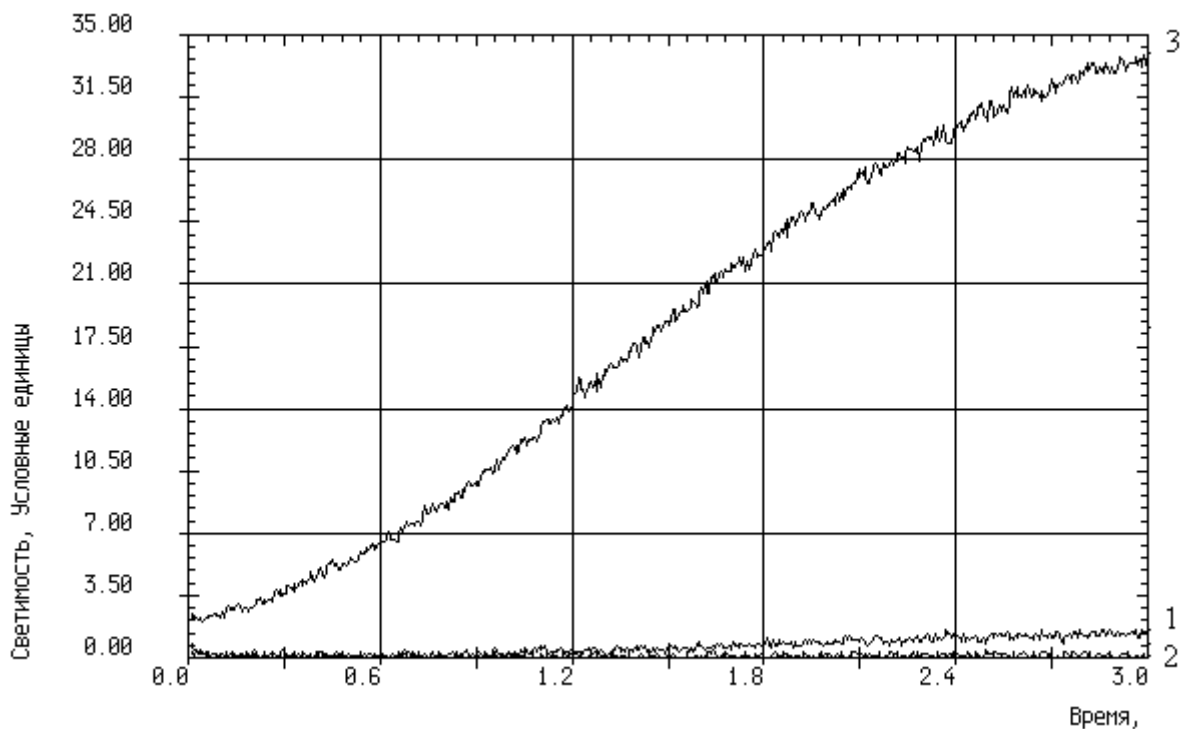


Рис.2. Запись хемилюминесценции ротовой жидкости табакокурящих пациентов подгруппы 1б: 1- до курения, 2- сразу после курения, 3- через час после курения

Исследование ХЛ ротовой жидкости пациентов 1-й группы выявили повышенные и пониженные значение ХЛ. Не зависимо от исходного состояния ХЛ сразу после курения происходило резкое снижение уровня показателей ХЛ практически до нуля, а через 10 минут наблюдалось повышение интенсивности свечения, которое достигало максимума через 1 час и превышало исходные значения в 3 раза.

Исследование антиоксидантной активности 5% водного раствора прополиса *in vitro* и *in vivo*

Для исследования антиоксидантной активности 5% водного раствора прополиса *in vitro* нами был проведен эксперимент в модельных системах. По нашим данным водный раствор прополиса в любой концентрации, влияет на показатели СРО в модельных системах. При увеличении концентрации водного раствора прополиса показатели АФК и ПОЛ значительно снижаются по показателям S и I_{max}.

На рисунке 3 представлена запись хемилюминесценции модельной системы, в которой вызывали образование АФК и влияние на свечение 5% водного раствора прополиса.

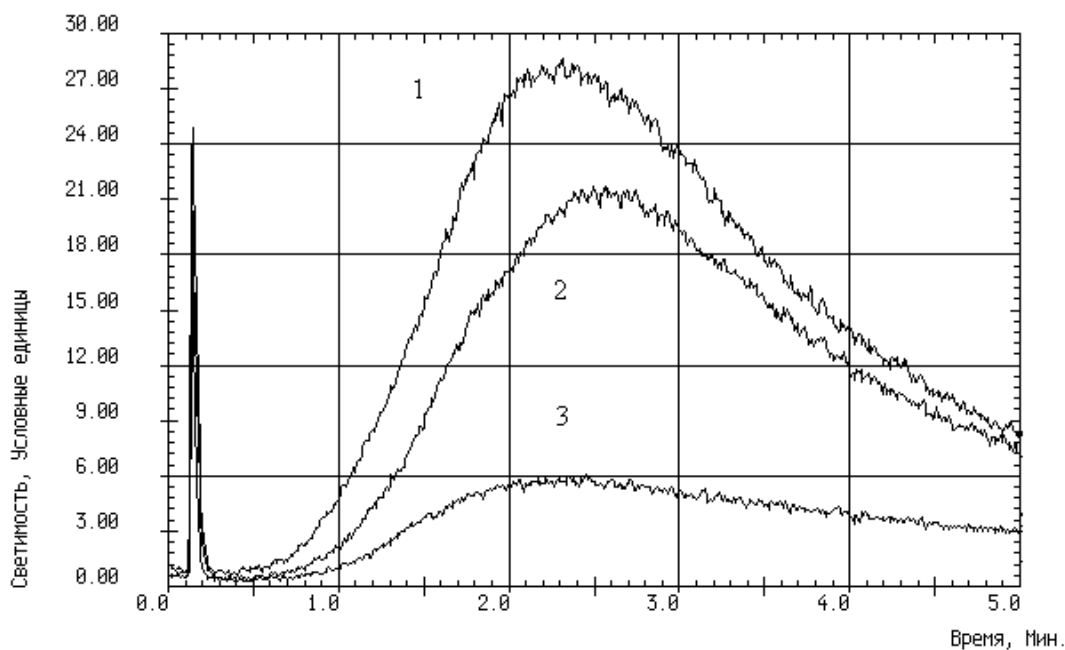


Рис.3. Запись хемилюминесценции в модельной системе генерирующей АФК. Кривая 1 - контроль, кривая 2 – после добавления раствора прополиса 0,1 мг/мл, кривая 3- добавление прополиса в дозе 1 мг/мл.

Водный раствор прополиса угнетал хемилюминесценцию модельной системы, в которой вызывали образование радикалов кислорода.

На рисунке 4 представлены записи хемилюминесценции модельной системы, в которой инициировали реакции перекисного окисления липидов.

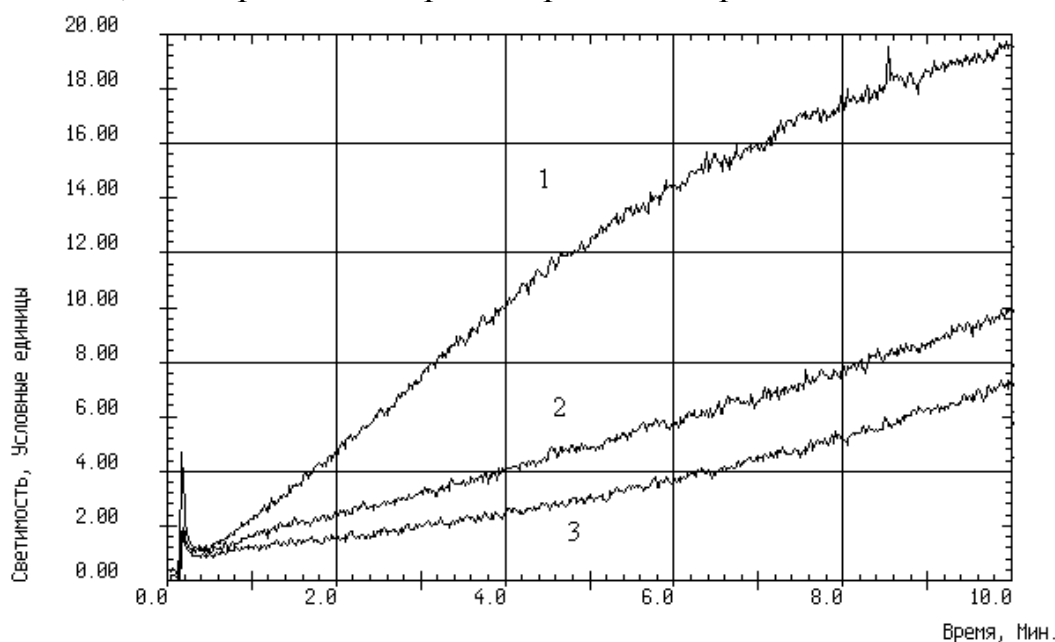


Рис.4. Запись хемилюминесценции в модельной системе, в которой протекают реакции перекисного окисления липидов. Кривая 1 - контроль, кривая 2 – после добавления раствора прополиса 0,1 мг/мл, кривая 3- добавление прополиса в дозе 1 мг/мл.

Водный раствор прополиса снижал интенсивность хемилюминесценции, вызванной перекисным окислением липидов.

Таким образом, водный раствор прополиса обладает антиоксидантными свойствами - подавляет генерацию активных форм кислорода и перекисное окисление липидов в модельных системах.

В модельных системах, в которые был добавлен водный раствор прополиса пропускание табачного дыма, не сопровождалось усилением их хемилюминесценции (рис.5,6).

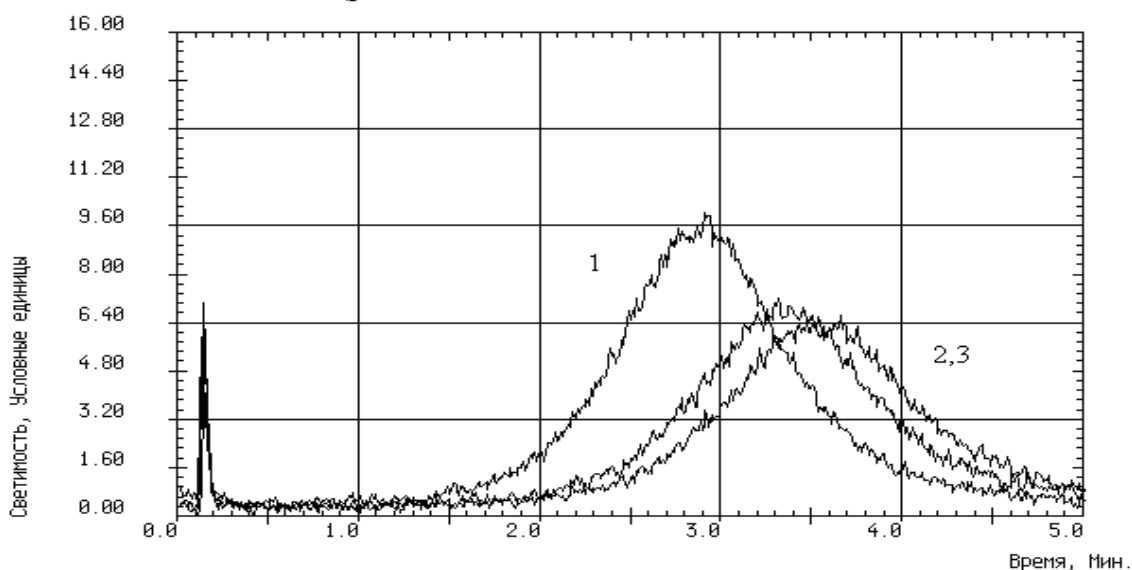


Рис.5. Запись хемилюминесценции модельных систем, генерирующих активные формы кислорода: 1- контроль, 2- добавление водного раствора прополиса 0,1 мг/мл, 3- та же проба после пропускания табачного дыма

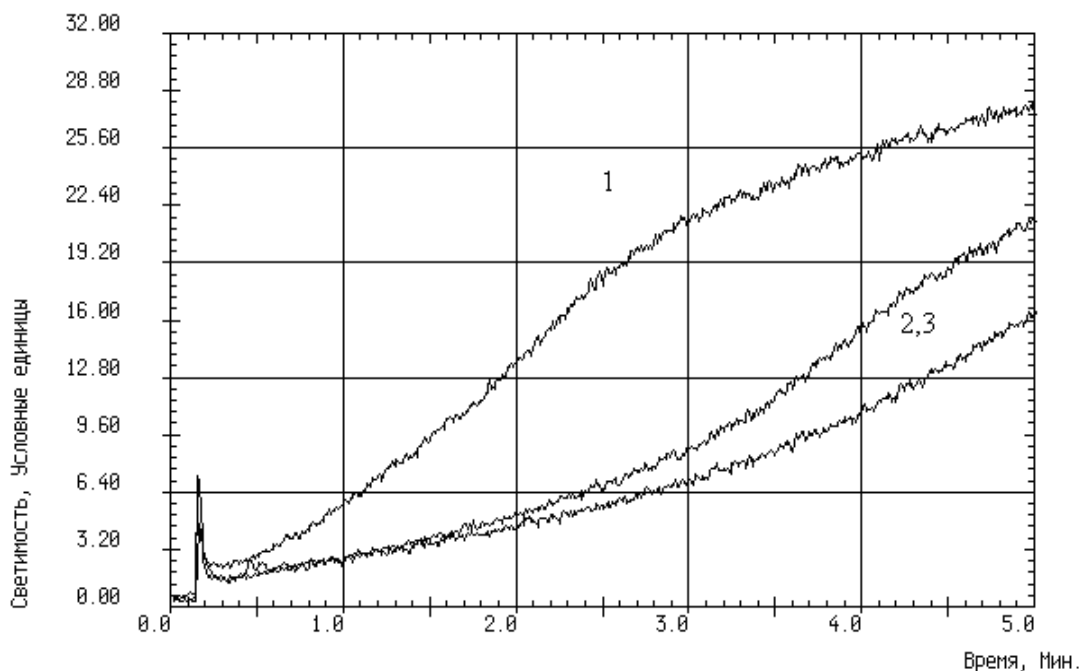


Рис.6. Запись хемилюминесценции модельных систем, в которых протекают реакции перекисного окисления липидов: 1- контроль, 2- добавление водного раствора прополиса 0,1 мг/мл, 3- та же проба после пропускания табачного дыма

В следующей серии экспериментов изучалось действие водного раствора прополиса на хемилюминесценцию ротовой жидкости. Для этого регистрировали исходное свечение образца в присутствии люминола, а далее хемилюминесценцию ротовой жидкости после её инкубации с раствором прополиса.

Прополис обладает уникальными свойствами - стимулирует фагоцитирующие клетки при недостаточной их активности и повышает исходно низкую интенсивность хемилюминесценции ротовой жидкости (рис.7) и, наоборот, снижает избыточную генерацию радикалов кислорода в ротовой жидкости, подавляет её хемилюминесценцию (рис.8).

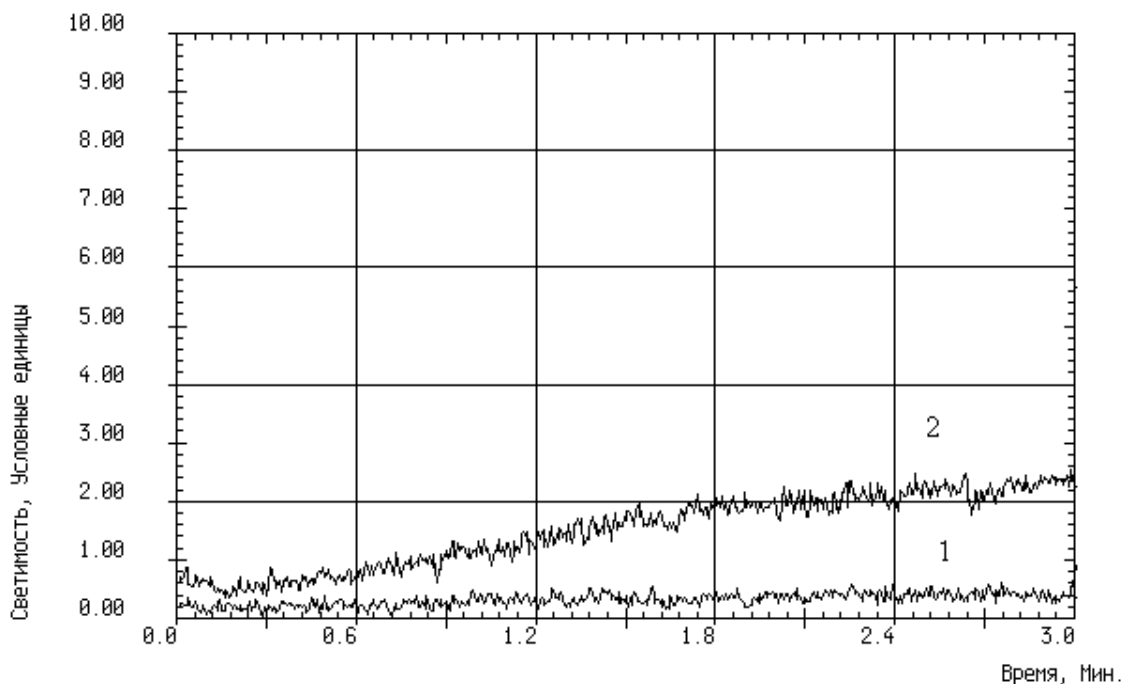


Рис.7. Влияние раствора прополиса на хемилюминесценцию ротовой жидкости с исходно низкой интенсивностью. 1- исходная запись хемилюминесценции; 2- после 5 мин инкубации с раствором прополиса

Анализ эффективности коррекции оксидативного стресса ротовой жидкости у табакокурящих лиц молодого возраста с помощью водного раствора прополиса

Всем табакокурящим пациентам была проведена традиционная схема лечения ХГКГ.

Для определения эффективности предлагаемого метода коррекции состояния СРО ротовой жидкости, методом случайной выборки обе подгруппы табакокурящих пациентов были разделены на две равные: с традиционным и с предложенным методами лечения.

Учитывая универсальные свойства прополиса, нормализующего состояние оксидативного стресса ротовой жидкости, нами была применена табакокурящим пациентам методика электрофореза 5% водным раствором прополиса.

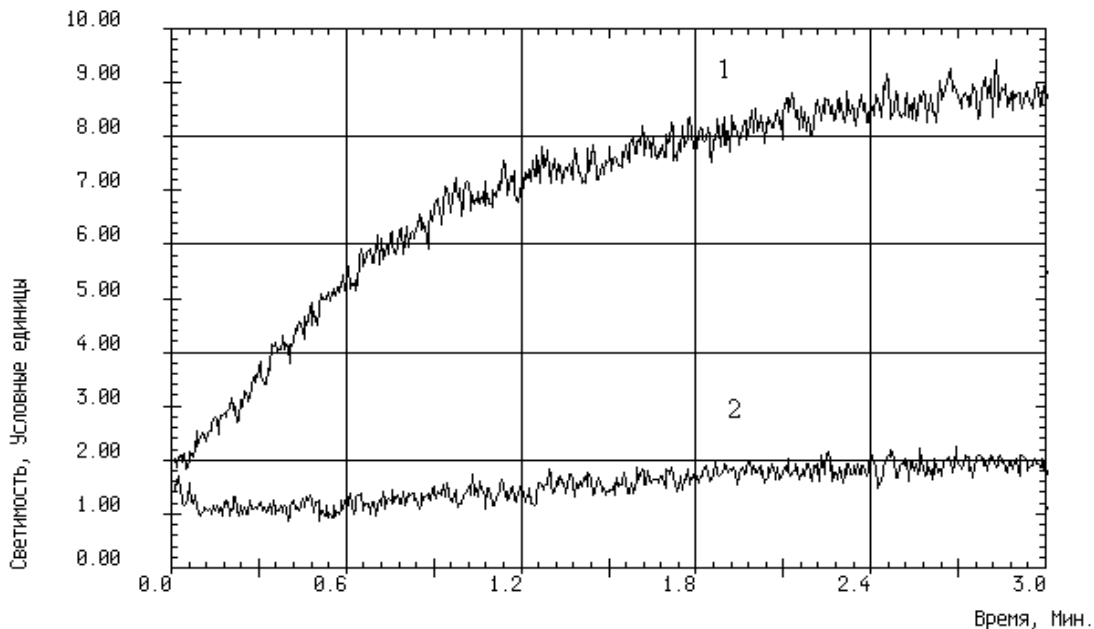


Рис.8. Влияние раствора прополиса на хемилюминесценцию ротовой жидкости с исходно высокой интенсивностью. 1- исходная запись хемилюминесценции; 2- после 5 мин инкубации с раствором прополиса

Таким образом, наши исследования показали, что водный раствор прополиса *in vitro* и *in vivo* оказывал нормализующее действие на генерацию активных форм кислорода в ротовой жидкости, стимулируя образование фагоцитирующих клеток при недостаточной их активности, и повышая исходно низкую интенсивность хемилюминесценции ротовой жидкости, и наоборот, снижая избыточную генерацию радикалов кислорода в ротовой жидкости, подавляя её хемилюминесценцию.

В результате проведенного комплексного лечения в обеих подгруппах вне зависимости от уровня ХЛ ротовой жидкости через 2 недели при повторном обследовании пациенты жалоб не предъявляли. При осмотре было отмечено отсутствие отека и гиперемии маргинальной десны.

Применение традиционной схемы лечения и использование 5% водного раствора прополиса у табакокурящих пациентов в подгруппах 1а и 1б привело к положительной динамике стоматологических индексов. Снижение показателей индекса РМА до показателей нормы в подгруппе с использованием прополиса было достоверным (рис. 9)

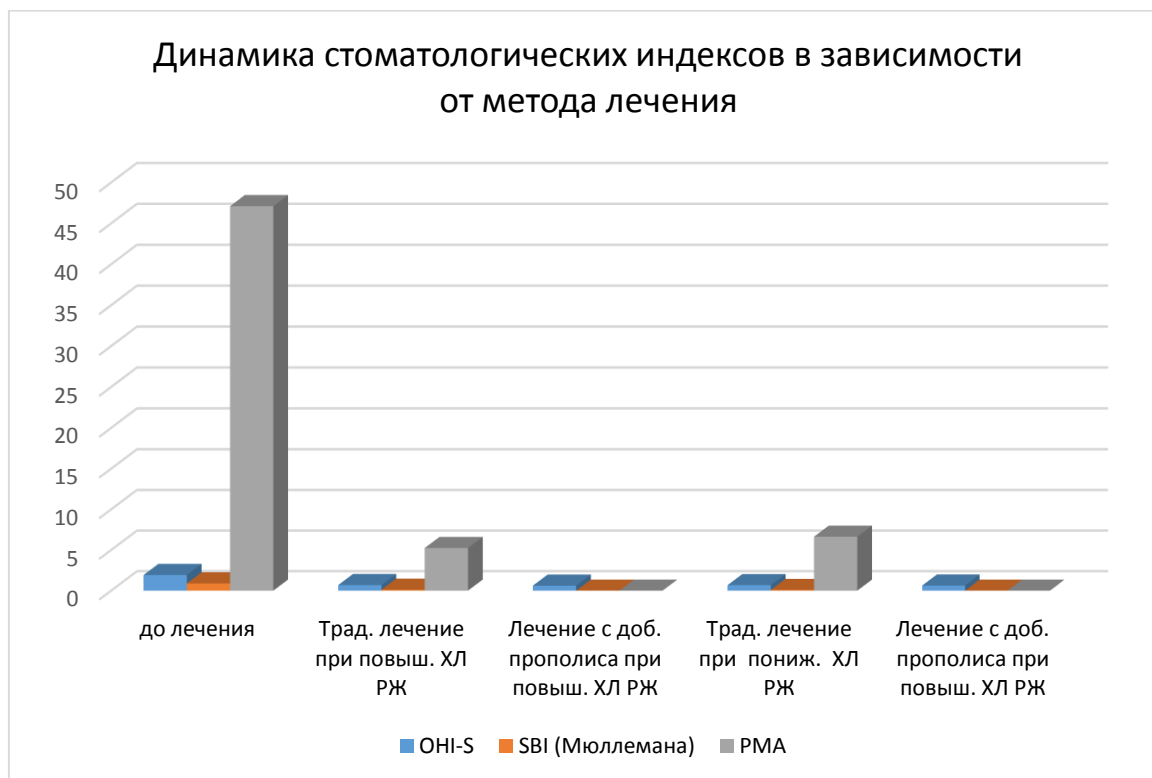


Рис.9. Динамика стоматологических индексов в зависимости от метода лечения

Влияние традиционного и предложенного методов лечения на концентрацию SIgA и лизоцима ротовой жидкости представлены в таблице 7.

Таблица 7.

Влияние лечения на содержание секреторного иммуноглобулина А и лизоцима в ротовой жидкости в подгруппах 1а и 1б

Показатели						
Показатели и местное иммунитета	Нормы	До лечения	После лечения			
			Подгруппа 1а (n=66)		Подгруппа 1б (n=54)	
			Традиционное лечение (n=33)	Лечение с добавлением прополиса (n=33)	Традиционное лечение (n=27)	Лечение с добавлением прополиса (n=27)
SIgA	0,56±0,04	0,21±0,03	0,49±0,05*	0,54±0,03*	0,48±0,01*	0,55±0,06*
Лизоцим (мкг/мл)	0,31±0,09	1,42±0,09	0,25±0,04*	0,29±0,03*	0,26±0,02*	0,30±0,04*

* - отличие достоверное в группах до и после лечения ($p < 0,001$)

После проведенного лечения произошло достоверное изменение концентрации SIgA и лизоцима в ротовой жидкости в сторону их нормализации.

По данным исследования у всех обследуемых пациентов было улучшение цитологического профиля ротовой жидкости. Однако, у пациентов, которым

проводили традиционную терапию ХГКГ с коррекцией СРО, данные показатели были наиболее приближенным к показателям нормы и были достоверны по всем показателям (рис.10,11).

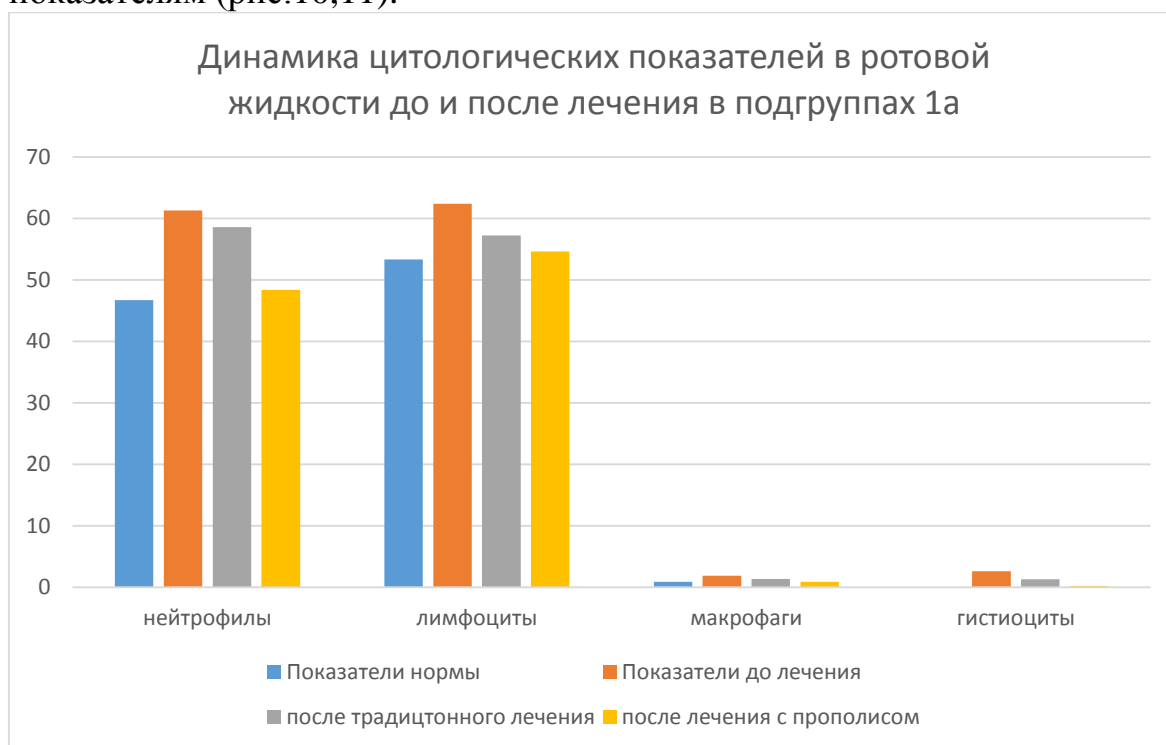


Рис.10. Динамика цитологических показателей в ротовой жидкости до и после лечения в подгруппах 1а

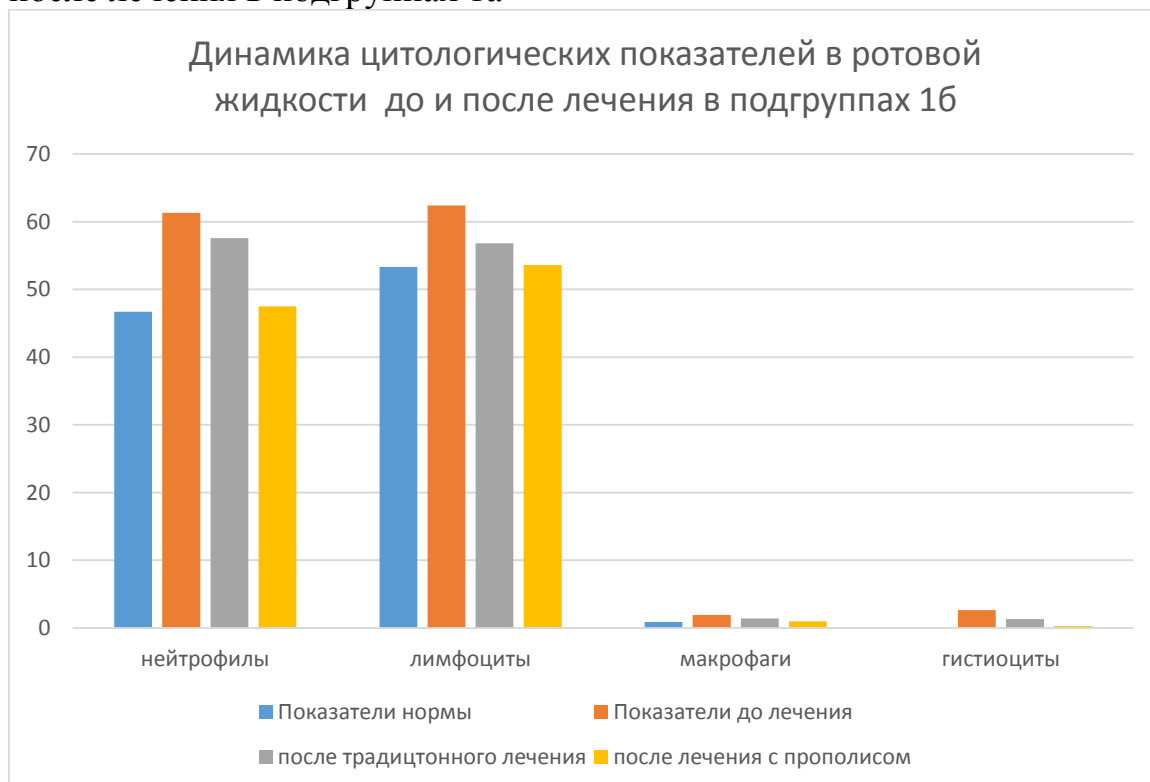


Рис. 11. Динамика цитологических показателей в ротовой жидкости до и после лечения в подгруппах 1б.

Показатели светосуммы свечения и максимальная интенсивность ХЛ ротовой жидкости у табакокурящих пациентов с повышенными показателями ХЛ до лечения, улучшились вне зависимости от методы лечения. Однако, у лиц,

которым проводилась коррекция СРО 5% водным раствором прополиса, данные изменения были более выраженными и достоверными (рис. 12).



Рис. 12. Динамика показателей ХЛ ротовой жидкости до и после лечения у пациентов в подгруппе 1а.

После проведения курса лечения ХГКГ у табакокурящих лиц с низкими показателями люминол-зависимой ХЛ ротовой жидкости до лечения произошло улучшение изучаемых параметров. В группе, в лечении которых был использован 5% водный раствор прополиса, показатели ХЛ ротовой жидкости были максимально приближенными к показателям нормы (рис. 13).



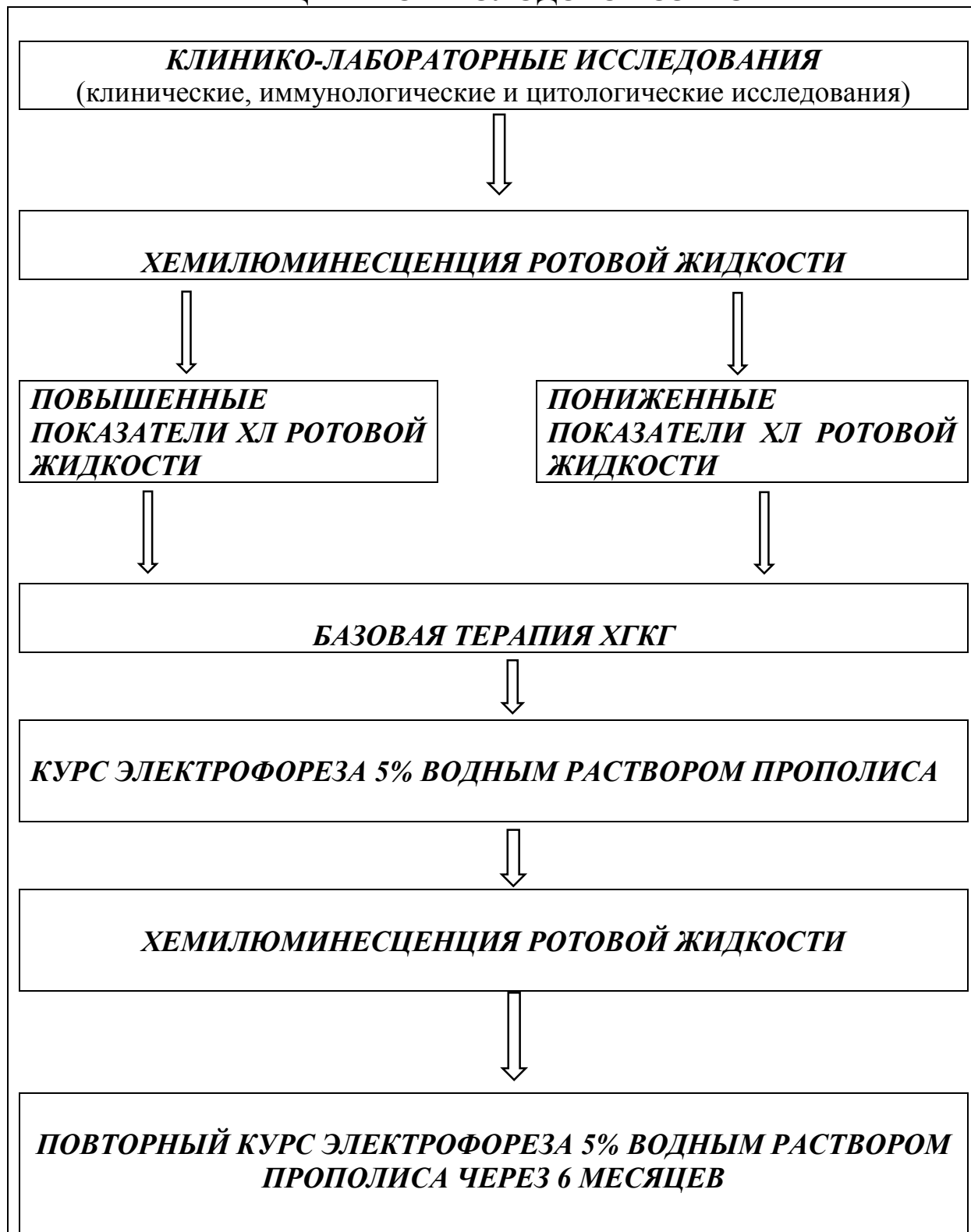
Рис. 13. Динамика показателей ХЛ ротовой жидкости до и после лечения у пациентов в подгруппе 1б.

Проведенное исследование убедительно доказывает эффективность предложенного метода коррекции СРО ротовой жидкости 5% водным раствором прополиса у табакокурящих пациентов молодого возраста с ХГКГ лиц. У этих

пациентов происходит нормализация ХЛ ротовой жидкости независимо от исходных данных.

На основании проведенных исследований нами разработан «Алгоритм диагностики и лечения хронического генерализованного катарального гингивита у табакокурящих пациентов молодого возраста»

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ХГКГ У ТАБАКОКУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА



ВЫВОДЫ

1. При исследовании стоматологического статуса у курящих лиц молодого возраста по сравнению с некурящими выявлен достоверно более высокий уровень интенсивности и распространенности основных стоматологических заболеваний: индекс КПУ составил у табакокурящих $8,85 \pm 0,11$ и у некурящих - $6,01 \pm 0,57$, более низкий уровень гигиены (по индексу ИГР-У $1,93 \pm 0,04$ и $1,09 \pm 0,08$ соответственно), более выраженные воспалительные изменения в пародонте (по индексу РМА $47,1 \pm 1,38$ и $31,3 \pm 1,35$ соответственно), в 2 раза чаще диагностирован хейлит ($p < 0,05$ и $p < 0,001$).
2. Табачный дым инициирует образование радикалов активных форм кислорода и перекисное окисление липидов в модельных системах.
3. У табакокурящих пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом показатели хемилюминесценции отличались от показателей нормы: у 55% обследуемых основной группы они были повышены и у 45% - понижены. У всех пациентов этой группы в ротовой жидкости уровень хемилюминесценции ротовой жидкости сразу после курения снижался до нуля, через 10 минут наблюдалось повышение интенсивности свечения, которое достигало максимума через 1 час и превышало исходные значения в 3 раза.
4. Водный раствор прополиса обладает антиоксидантными свойствами - подавляет образование радикалов активных форм кислорода и перекисное окисление липидов, предотвращает ускорение свободнорадикального окисления в модельных системах при действии табачного дыма.
5. Предложенный алгоритм диагностики и коррекции свободнорадикальных процессов ротовой жидкости, является патогенетически обоснованным и позволяет повысить эффективность лечения хронического генерализованного катарального гингивита курящих пациентов молодого возраста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий, направленных на улучшение стоматологического статуса и коррекции свободнорадикального окисления у табакокурящих лиц молодого возраста рекомендуется после проведения базовой терапии хронического генерализованного катарального гингивита применение электрофореза 5 % водного раствора прополиса, обладающего выраженным одновременным антиоксидантным и прооксидантным действием.

Для проведения электрофореза прокладка смачивается 5% водным раствором прополиса, затем помещается на слизистую десны. Поверх нее располагается таких же размеров смоченная водой гидрофильная прокладка, а затем - токонесущий электрод. Лекарственная прокладка готовится из 1-2 слоев фильтровальной бумаги или 2-4 слоев марли, по форме и по площади она должна полностью соответствовать гидрофильной прокладке. Ее помещают под активным или пассивным электродом. Данную физиотерапевтическую процедуру проводят при силе тока 0,5-1 мА, в течение 8-10 минут, меняют полярность, начиная с положительного полюса. Курс лечения составляет 4 процедуры через

день. Повторение курса лечения табакокурящим пациентам рекомендуется через 6 месяцев.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аль Табиб М.М. Влияние табачного дыма на процессы свободнорадикального окисления в простых модельных системах /М.М.Аль Табиб, И.В.Петрова// Тезисы симпозиума «Проблемы медицинской биофизики», факультет Фундаментальной Медицины МГУ им.М.В.Ломоносова. – М., 2012. – С.55-56.
2. Петрова И.В. Изучение процессов свободнорадикального окисления при воздействии табачного дыма/ И.В.Петрова, М.М. Аль Табиб// Межвузовский сборник научных трудов, посвященный 130-летию Л.А.Орбели «Актуальные вопросы физиологии, психофизиологии и психологии». – 2012. – С.46-49.
3. Гадиуллин А.М. Современный подход к выбору зубных паст с учетом свободнорадикального окисления ротовой жидкости / А.М. Гадиуллин, Л.П. Герасимова, Р.Р. Фархутдинов, И.Н. Усманова, М.Ф. Кабирова, И.Р. Усманов. Аль Табиб Мохаммед. - Монография, Уфа, 2012. – 212 с.
4. **Аль Табиб М.М. Влияние табачного дыма на свободнорадикальное окисление *in vitro* и *in vivo*/ М.М. Аль Табиб, И.В.Петрова, Р.Р.Фархутдинов, Л.П.Герасимова// Мед. Альманах. – 2013. - № 3 (27). – С. 29-30.**
5. Al-Tabib M.M. Influence of tobacco smoke on free-radical oxidation *in vitro* and *in vivo*/ М.М.Аl-Tabib, I.V.Petrova, R.R.Farkhutdinov, L.P.Gerasimova// IX International scientific conference of Russian Association of Ozone Therapy. - Revista Espanola de Ozonoterapia Vol.3 - № 2, Supplement 1, 2013. – P.15.
6. **Петрова И.В. Изменение процессов свободнорадикального окисления под действием табачного дыма *in vitro* и *in vivo*/ И.В.Петрова, М.М. Аль Табиб, Р.Р.Фархутдинов// Медицинский Вестник Башкортостана, 2013. - № 6. – С. 165-167.**
7. Герасимова Л.П., Фархутдинов Р.Р., Аль-Табиб М.М., Кабирова М.Ф., Усманова И.Н. Динамика показателей хемилюминесценции ротовой жидкости у курящих лиц молодого возраста в зависимости от способов ее коррекции// Фундаментальные исследования.-2014 №7 (часть 1).-С. 34-37.
8. **М.М. Аль-Табиб, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова, И.Н. Усманова, Р.Р. Фархутдинов Особенности стоматологического статуса у курящих пациентов молодого возраста// Медицинский Вестник Башкортостана, 2014. - №1 – С.57-60.**
9. Герасимова Л.П. Влияние курения на свободнорадикальное окисление ротовой жидкости /Л.П.Герасимова, М.М.Аль-Табиб, М.Ф.Кабирова, И.Н.Усманова// Профессорские чтения имени Г.Д.Овруцкого. Всероссийская научно-практическая конференция «Инновационные технологии в стоматологии». – Казань, 2014. – С.81-86.
10. **Л.П. Герасимова, М.М. Аль-Табиб, , М.Ф. Кабирова, И.Н. Усманова, Р.Р. Фархутдинов // Лечение воспалительных заболеваний пародонта у курящих лиц молодого возраста// Фундаментальные исследования.-2014 №7 (часть 3).- С.463-467.**

11. Л.П. Герасимова, М.М., Р.Р. Фархутдинов, М.М., Аль-Табиб, , М.Ф. Кабирова, И.Н. Усманова, инов Динамика свободнорадикального окисления ротовой жидкости у курящих лиц молодого возраста // Пародонтология. 2014.-№3. С.35-38.