

<https://doi.org/10.17116/stomat20199803131>

Уровень перекисного окисления липидов слюны как предиктор осложнений дентальной имплантации

Д.м.н. Н.Б. АСТАШИНА¹, к.м.н. Д.В. ПЛЮХИН², д.м.н. Д.Ю. СОСНИН¹, д.м.н. О.А. МУДРОВА¹

¹Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия; ²Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск, Россия

Цель исследования — изучение динамики изменений содержания продуктов перекисного окисления липидов в слюне для разработки метода ранней диагностики осложнений при дентальной имплантации. Обследованы 53 пациента с осложнениями имплантологического лечения, 31 пациент — с благополучным исходом дентальной имплантации, 13 — практически здоровых лиц. В слюне, полученной на этапе подготовки к дентальной имплантации, экстракционно-спектрофотометрическим методом определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов. Повторное взятие слюны осуществлялось через четыре месяца после дентальной имплантации или в случае верификации периимплантита. Установлено, что формирование воспалительных осложнений дентальной имплантации сопровождается развитием окислительного стресса, что приводит к локальному накоплению продуктов липопероксидации. При этом исходно высокий слюварный уровень продуктов перекисного окисления липидов сопряжен с высоким риском развития воспалительных осложнений дентальной имплантации. Наиболее прогностически неблагоприятным является повышение слюварного уровня изопренол-растворимых шиффовых оснований (0,014 (0,009; 0,025) (Ме (25% квартиль; 75% квартиль)), что существенно превышает контрольные значения (0,005 (0,003; 0,007), $p=0,018$), характерные для здоровых лиц, а также пациентов с благоприятным исходом дентальной имплантации (0,005 (0,001; 0,009), $p=0,004$)).

Ключевые слова: дентальная имплантация, периимплантит, слюна, перекисное окисление липидов.

Salivary level of lipid peroxidation products as a predictor of dental implantation complications

N.B. ASTASHINA¹, D.V. PLYUKHIN², D.YU. SOSNIN, O.A. MUDROVA¹

¹E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia; ²South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

The aim of the study was to elucidate of changes in the level of lipid peroxidation products in saliva for the development of a method for the early diagnosis of complications in dental implantation. The study included 53 patients with complications of implant treatment, 31 patients with a safe outcome of dental implantation, and 13 clinically healthy individuals. In the saliva obtained at the stage of preparation for dental implantation, the content of products of lipid peroxidation was determined. Re-saliva was taken four months after dental implantation or in the case of peri-implantitis verification. It is established that the development of inflammatory complications of dental implantation is accompanied by the development of oxidative stress, which leads to local accumulation of lipoperoxidation products. An increase in the salivary level of products of lipid peroxidation during dental implantation is observed before the formation of clinically significant changes in the tissues of the implantation canal and is associated with a high risk of development of inflammatory complications of dental implantation. The most informative and prognostically unfavorable is the increase in the salivary level of the Schiff bases.

Keywords: dental implantation, periimplantitis, saliva, lipid peroxidation.

Для корреспонденции: Асташина Наталья Борисовна — д.м.н., проф., зав. кафедрой ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета; <https://orcid.org/0000-0003-1135-7833>; e-mail: astashina.nb@gmail.com; e-mail: sosnin_dm@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1232-8826>

Введение

Актуальной проблемой современной стоматологии являются своевременное прогнозирование результатов дентальной имплантации (ДИ) и снижение рисков развития осложнений [1]. Несмотря на многообразие первичных этиологических факторов, непосредственной причиной несостоятельности дентальной имплантации, по мнению большинства исследователей, является воспалительный процесс в периимплантатной области [1, 2]. Поэтому в ка-

честве лабораторных показателей, отражающих риск развития осложнений, весьма перспективным объектом исследования представляются продукты свободнорадикального окисления. Целесообразность подобного подхода определяется тем, что воспаление уже на самых ранних стадиях сопровождается развитием окислительного стресса различной степени выраженности [2, 3], что было неоднократно продемонстрировано и в отношении воспалительных осложнений ДИ [2, 4]. Перспективным объектом исследования в диагностике осложнений и прогнозе остеоинтеграции при ДИ является слюна, полностью отвечающая требованиям к современным методам лабораторной экспресс-ди-

© Коллектив авторов, 2019

агностики, в том числе и в диагностике нарушений окислительного метаболизма [5].

Цель настоящего исследования — изучение уровня продуктов перекисного окисления липидов в слюне для разработки метода ранней диагностики осложнений и прогноза эффективности остеоинтеграции при дентальной имплантации.

Материал и методы

Выполнено когортное обсервационное исследование. Исследование проведено с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной организации здравоохранения. На его проведение получено одобрение этического комитета ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В исследование включены 53 пациента с диагностированными осложнениями имплантологического лечения, в виде периимплантита (код по МКБ-10: Т84.7), которые составили основную группу наблюдения. Группу сравнения составил 31 пациент с благополучным исходом ДИ. Группу контроля составили 13 клинически здоровых лиц с санированной полостью рта. Представленные группы были сопоставимы по возрастно-половому составу, наличию и выраженности наиболее распространенных факторов риска развития осложнений ДИ. На этапе обследования пациентов, предшествующем ДИ, не было выявлено никаких клинических признаков (включая данные стандартных лабораторных и инструментальных методов, данные анамнеза) неблагоприятия или патологии костной ткани альвеолярного отростка. Диагностика периимплантита осуществлялась в ходе клинического, рентгенологического и лабораторного исследований при повторном обращении пациентов. Сбор нестимулированной слюны осуществляли по методике, предложенной М.М. Пожарицкой [6]. Слюну собирали через 1,5–2 ч после завтрака. Обследуемого просили в положении сидя опустить голову и держать рот открытым в течение 2 мин. Секретирующаяся слюна (базальная, нестимулированная секреция) аккумулировалась на дне полости рта. Слюну собирали стеклянной пипеткой, переносили в пластиковую пробирку. Процедуру повторяли несколько раз до получения не менее 2–3 мл биоматериала.

В слюне, полученной на этапе подготовки к ДИ, определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7–9]. Используемый методический подход основан на феномене перегруппировки двойных связей в диеновые конъюгаты при перекислении полиненасыщенных жирных кислот, сопровождающейся появлением максимума поглощения при 230–238 нм. Дальнейшая окислительная деструкция липидов сопровождается появлением еще одного максимума в спектре поглощения при 260–290 нм, обусловленного триеновыми конъюгатами и различными карбонильными интермедиатами ПОЛ [8]. Последние в свою очередь способны взаимодействовать со свободными аминокеттогруппами фосфолипидов, аминокеттолипидов, белков с образованием соединений типа шиффовых оснований, представляющих категорию конечных продуктов перекисного окисления липидов. Изобестическая точка большинства изомеров шиффовых оснований, не зависящая от их вида, находится в области 400–404 нм, что позволяет производить

их количественную спектрофотометрическую детекцию [9]. Изложенные особенности ПОЛ-индуцированных сдвигов в спектре поглощения липидов позволяют осуществлять параллельную регистрацию как первичных и вторичных, так и конечных продуктов ПОЛ (т.е. диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов и шиффовых оснований соответственно). В качестве экстрагента использовалась смесь гептана (особо чистый, Экос-1, Россия. ТУ 20.14.11-209-44493179-2016) и изопропилового спирта (особо чистый, Экос-1, Россия. ТУ 2631-064-44493179-01 с изм. 1, 2), что позволяет разделять липидную вытяжку на фазы различной полярности. При этом гептановая фаза сосредотачивает большую часть триацилглицеридов, в то время как водноспиртовая фаза содержит основное количество мембранных фосфолипидов [8].

Для исследования 0,5 мл слюны переносили в чистую стеклянную пробирку объемом 20 мл, добавляли 5,0 мл смеси гептана и изопропилового спирта (1:1), после перемешивания производили экстракцию липидов в течение 20 мин, поместив образцы на орбитальную шейкеру PSU-10i («Biosan», Латвия). Скорость вращения шейкера — 100 об/мин. Полученные экстракты переносили в центрифужные пробирки, подвергали центрифугированию при 3000 об/мин в течение 20 мин (ОПН-8, ОАО ТНК «Дастан», Кыргызская Республика). К очищенным липидным экстрактам, перенесенным в отдельные стеклянные пробирки, добавляли 5,0 мл смеси гептана и изопропилового спирта (3:7), образцы тщательно перемешивали, после чего производили разделение гептановой и изопропанольной фаз липидного экстракта. С этой целью в каждую из пробирок дополнительно вносили по 1,0 ед. соляной кислоты (химически чистая, АО «Вектон», Россия) с pH=2, образцы тщательно перемешивали, и оставляли на 20 мин для разделения экстракта на фазы. После разделения гептановую фазу экстракта переносили в отдельные пробирки. К изопропанольной фазе липидного экстракта добавляли 1,0 г NaCl (чистый для анализа, АО «Вектон», Россия). После отделения водной фазы очищенный изопропанольный экстракт также переносили в отдельные пробирки.

Показатели оптической плотности, отражающие уровень продуктов ПОЛ, регистрировали с использованием спектрофотометра СФ-56 (ОКБ «Спектр», Россия). В качестве оптического контроля использовали гептановые и изопропанольные экстракты, проведенные через все этапы за исключением внесения биологического материала, который заменялся эквивалентным количеством воды. Результаты выражали в виде индекса окисления (единицы окислительного индекса), для чего рассчитывали соотношения E_{232}/E_{220} и E_{278}/E_{220} , E_{400}/E_{220} , которые отражают относительный уровень первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ соответственно [7–9].

Повторное взятие слюны осуществлялось через 4 мес после дентальной имплантации (группа сравнения) или в случае верификации периимплантита (основная группа). Результаты лабораторного исследования сопоставлены с клиническими наблюдениями.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica v. 8 («Stat Soft Inc.», США). Для каждого массива данных рассчитывали параметры описательной статистики: медиану (Me) и интерквартильный диапазон (25%–75% процентиля). Массивы данных оценивали на наличие и степень выраженности выбросов. Характер распределения полученных результатов

оценивали с использованием критерия Шапиро—Уилка. Полученные результаты позволили отвергнуть нулевую гипотезу о нормальном характере их распределения. Это послужило основанием для отказа от использования параметрических критериев при выполнении дальнейшего статистического анализа. Для сравнения двух зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, для сравнения двух независимых — U-критерий Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение

Содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов в слюне пациентов статистически значимо превышало соответствующие контрольные значения

на этапе обследования, предшествующем имплантации. Выявлен относительно более высокий уровень практически всех исследованных категорий изопропанол-растворимых продуктов перекисного окисления липидов (табл. 1 и 2). Такого рода проявления окислительного стресса могут быть следствием вторичного отсутствия зубов и способствовать развитию патологических процессов.

В связи с этим следует особо отметить, что сливарный уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в группе пациентов, у которых впоследствии были выявлены воспалительные осложнения ДИ (основная группа), был статистически значимо выше.

Пациенты группы с неблагоприятным исходом дентальной имплантации (основная группа) имели не только

Таблица 1. Содержание гептан-растворимых продуктов перекисного окисления липидов в слюне пациентов с различными исходами дентальной имплантации

Показатель Группа	Диеновые конъюгаты, е.о.и.	Кетодиены и сопряженные триены, е.о.и.	Шиффовы основания, е.о.и.
Группа контроля (n=13)	0,382 (0,370; 0,399)	0,036 (0,030; 0,040)	0,000 (0,000; 0,000)
Группа сравнения (n=31)			
I	0,382 (0,371; 0,411)	0,037 (0,032; 0,054)	0,001 (0,000; 0,002)
II	0,398 (0,380; 0,421) *p=0,035 #p=0,04	0,079 (0,036; 0,089) *p=0,005 #p<0,001	0,001 (0,000; 0,003) *p=0,017 #p=0,03
Основная группа (n=53)			
I	0,421 (0,372; 0,443)	0,084 (0,068; 0,087) *p<0,001 **p<0,001	0,004 (0,002; 0,008) *p<0,001 **p<0,001
II	0,432(0,397; 0,469) **p=0,005 #p=0,002	0,084 (0,071; 0,091)	0,005 (0,003; 0,009) **p<0,001 #p<0,001

Примечание. Для каждого из показателей даны медиана и интерквартильный диапазон Ме (25% квартиль; 75% квартиль); взятие и исследование биоматериала производилось дважды: I — до имплантации, II — после имплантации; * — статистически значимые отличия от контрольной группы (I); ** — статистически значимые различия между 2-й и 3-й группами (критерий Манна—Уитни); # — внутригрупповые статистически значимые отличия (до и после дентальной имплантации (I и II), критерий Уилкоксона для сравнения двух связанных выборок). В остальных случаях статистически значимые отличия отсутствуют (p>0,05); е.о.и. — единицы окислительного индекса.

Таблица 2. Содержание изопропанол-растворимых продуктов перекисного окисления липидов в слюне пациентов с различными исходами дентальной имплантации

Показатель Группа	Диеновые конъюгаты, е.о.и.	Кетодиены и сопряженные триены, е.о.и.	Шиффовы основания, е.о.и.
Группа контроля (n=13)	0,289 (0,270; 0,307)	0,140 (0,115; 0,147)	0,005 (0,003; 0,007)
Группа сравнения (n=31)			
I	0,315 (0,288; 0,377) 210—0,462 *p=0,04	0,162 (0,128; 0,186) *p=0,012	0,005 (0,001; 0,009)
II	0,320 (0,300; 0,395) *p=0,003 #p=0,048	0,172 (0,128; 0,193) *p=0,006 #p=0,007	0,005 (0,002; 0,009)
Основная группа (n=53)			
I	0,380 (0,305; 0,435) *p<0,001 **p=0,005	0,182 (0,136; 0,263) *p=0,002	0,014 (0,009; 0,025) *p<0,001 **p<0,001
II	0,372 (0,313; 0,451)	0,189 (0,142; 0,286)	0,017 (0,010; 0,029) #p<0,001

Примечание. Для каждого из показателей даны медиана и интерквартильный диапазон Ме (25% квартиль; 75% квартиль), взятие и исследование биоматериала производилось дважды: I — до имплантации, II — после имплантации; * — статистически значимые отличия от контрольной группы (I); ** — статистически значимые различия между 2-й и 3-й группами (критерий Манна—Уитни); # — внутригрупповые статистически значимые отличия (до и после дентальной имплантации (I и II), критерий Уилкоксона для сравнения двух связанных выборок). В остальных случаях статистически значимые отличия отсутствуют (p>0,05); е.о.и. — единицы окислительного индекса.

исходно высокие значения (до проведения ДИ) слюварного уровня молекулярных продуктов ПОЛ, но и демонстрировали их относительно высокое содержание на послеоперационном этапе (в сопоставлении с показателями пациентов с благополучным исходом ДИ, группа сравнения), что наиболее заметно в отношении конечных продуктов: шиффовых оснований (см. табл. 2).

Полученные данные позволяют сделать заключение об исходно высоком уровне окислительного стресса как о возможном факторе риска формирования постимплантационных осложнений и описать некоторые механизмы его формирования. Первичные (диеновые конъюгаты) и вторичные (кетодиены и сопряженные триены) продукты ПОЛ, образующиеся на первых стадиях липопероксидации, являются маркерами активности процессов ПОЛ, по их уровню судят об интенсивности процесса в ткани [7, 8]. Шиффовы основания, образующиеся вследствие конъюгации карбонильных производных ПОЛ с азотсодержащими соединениями, являются структурной основой неметаболизируемых маркеров дистрофических процессов в клетке. Существуют сведения о цитотоксических и провоспалительных эффектах этих соединений [9].

Вызывает интерес сходство изменений свободнорадикального окисления при ДИ без осложнений и при периимплантите. Вероятно, умеренная активация ПОЛ при неосложненной ДИ отражает адаптивный характер наблюдаемых изменений свободнорадикального окисления. Умеренная активация окислительного метаболизма имеет позитивное значение для усиления регенеративных процессов, но чрезмерное усиление ПОЛ вызывает развитие вторичной

альтерации [3], что с высокой степенью вероятности может оказать негативное влияние как на стабильность минеральной фазы и органического матрикса, так и на функцию клеточных элементов костной ткани [10], приводя к замедлению процессов ремоделирования костной ткани, и, как следствие, к неадекватной остеointegrации имплантата.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать слюварный уровень оснований Шиффа как информативный показатель, который может быть использован для прогнозирования развития осложнений дентальной имплантации, а также их лабораторного мониторинга.

Выводы

1. Развитие воспалительных осложнений дентальной имплантации сопровождается чрезмерным усилением свободнорадикального окисления, развитием окислительного стресса, что приводит к локальному накоплению продуктов липопероксидации.

2. Высокий уровень продуктов перекисного окисления липидов в слюне выявляется на этапе клинико-лабораторного обследования, предшествующего дентальной имплантации.

3. Наиболее перспективным с точки зрения информативности и прогностической эффективности при прогнозе осложнений дентальной имплантации является повышение слюварного уровня шиффовых оснований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Salvi GE, Cosgarea R, Sculean A. Prevalence and mechanisms of peri-implant diseases. *Journal of Dental Research*. 2017;96(1):31-37. <https://doi.org/10.1177/0022034516667484>
- Guo M, Lin L, Zhang J, Liu M. Role of Reactive Oxygen Species (ROS) and Advanced Glycation End Products (AGE) in the Malfunctioning of Dental Implants. *West Indian Medical Journal*. 2015;64(4):419. <https://doi.org/10.7727/wimj.2014.105>
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press; 2015. <http://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
- Плюхин Д.В., Цейликман В.Э., Цейликман О.Б., Синицкий А.И. Особенности свободнорадикального окисления липидов и белков плазмы крови при дентальной имплантации и периимплантите. *Казанский медицинский журнал*. 2015;96(5):756-759. [Plyukhin DV, Tseylikman VE, Tseylikman OB, Sinitskii AI. Features of free radical oxidation of lipids and plasma proteins in dental implantation and periimplantitis. *Kazan Medical Journal*. 2015;96(5):756-759. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-756>
- Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *International Journal of Oral Science Springer Nature*. 2016; 8(3):133-137. <https://doi.org/10.1038/ijos.2016.38>
- Гилева О.С., Смирнова Е.Н., Поздняков А.А., Либик Т.В. Особенности диагностики и лечения ксеростомического синдрома при заболеваниях пародонта и слизистой оболочки полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. *Российский медицинский журнал*. 2016; 24(20):1340-1345. [Gileva OS, Smirnova EN, Pozdnyakov AA, Libik TV. Features of diagnosis and treatment of xerostomycosis syndrome for periodontal and oral mucosa diseases in patients with type II diabetes mellitus. *Rossiiskii Medicinskii Journal*. 2016;24(20):1340-1345. (In Russ.)].
- Pokorn J, Schmidt S, Parkányiová J. Ultraviolet-Visible Spectrophotometry in the Analysis of Lipid Oxidation. *Analysis of Lipid Oxidation*. AOCS Publishing; 2005. <http://doi.org/10.1201/9781439822395.ch3>
- Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989;35(1):127-131. [Volchegorskii IA, Nalimov AG, Iarovinskii BG, Lifshits RI. Comparison of various approaches to the determination of the products of lipid peroxidation in heptane-isopropanol extracts of blood. *Vopr Med Khim*. 1989;35(1):127-131. (In Russ.)].
- Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемьяков С.Е. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. *Вопросы медицинской химии*. 1991;37(4):92-93. [Lvovskaya EI, Volchegorskii IA, Shemyakov SE. Spectrophotometric determination of the final products of lipid peroxidation. *Vopr Med Khim*. 1991;37(4):92-93. (In Russ.)].
- Нургалеев Н.В., Фаршатов Е.Р., Аглетдинов Э.Ф., Камиллов Ф.Х. Метаболизм костной ткани нижней челюсти при длительном поступлении элементов медно-цинковых колчеданных руд в эксперименте. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2012;7(5):78-81. [Nurgaliev NV, Farshatova ER, Agletdinov EF, Kamilov FK. Metabolism of the bone tissue of the lower jaw with prolonged intake of elements of copper-zinc pyrite ores in the experiment. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2012;7(5):78-81. (In Russ.)].

Поступила 12.02.18

Received 12.02.18