

Volné radikály a antioxidanty ve stomatologii (Souborný referát)

Holeček V.¹, Mašek V.², Hecová H.², Zicha A.², Netolický J.²

¹Mulačova nemocnice, s.r.o., Plzeň

²Stomatologická klinika LF UK a FN, Plzeň,
přednosta doc. MUDr. A. Zicha, CSc.

Souhrn

Agresivní volné radikály a ROS (Reactive Oxygen Species) látky se podílejí na mnoha stomatologických onemocněních. V ústech vznikají nebo se tam dostávají při zánětech z bílých krvinek, v reperfuční fázi po předchozí ischemii, při nekróze buněk, při krvácení v přítomnosti některých kovů (Cu, Fe, Hg aj.), působením UV světla na sliznici, při vysoké hladině glukózy, při inhalaci škodlivin, kouření, účinkem bolesti, z osteoklastů, některými metabolickými pochody, při bělení zubů aj. Dochází k lipoperoxidaci, oxidaci bílkovin a DNA s případnými mutacemi, vznikají AGE látky aj. S volnými radikály je třeba počítat u periodontitidy, gingivitidy a dalších zánětů, u zubního kazu, nádorů, stárnutí tkání aj. Ochranou před volnými radikály jsou antioxidanty, nejlépe jejich směs. Mezi nejdůležitější lze zařadit polyfenolické látky, askorbát sodný, selen, glutathion, vitamin E, kyselinu nikotinovou a pyridoxamin. Užitečné by mohlo být sledování antioxidační kapacity slin.

Klíčová slova: choroby ústní dutiny - volné radikály - poškození tkání - antioxidanty

Holeček V., Mašek V., Hecová H., Zicha A., Netolický J.: Free Radicals and Antioxidants in Stomatology

Summary: Aggressive free radicals and ROS substances participate in many stomatological diseases. In the mouth these are formed or transported due to inflammation from white blood cells, in reperfusion after ischemia, cell necrosis, after bleeding in the presence of several metals (Cu, Fe, Hg etc.), due to UV light on mucous membrane, in high glucose level, due to inhalation of injuring agents smoking, due to pain, from osteoclasts, after some metabolic pathways, due to tooth bleaching etc. The consequence is lipoperoxidation, peroxidation of proteins and DNA with possible mutations and AGE substances are formed. We must take free radicals into account in periodontitis, gingivitis and other inflammations, in carious dentin matrix, in tumors, tissue aging etc. The protection against free radicals is offered by antioxidants, better is their mixture. The most important ones include sodium ascorbate, selenium, glutathione, vitamin E, nicotinic acid and pyridoxamin. The determination of the total antioxidant capacity of saliva may be useful.

Key words: stomatological diseases - free radicals - tissue damage - antioxidants

Čes. Stomat., roč. 108, 2008, č. 1, s. 20–23.

ÚVOD

Vznik zubního kazu má nepochybně mnoho příčin. Popisuje se kyselá reakce v ústní dutině, např. vznikem kyselin následkem glykolýzy za přítomnosti bakterií a dalších zevních příčin, vystavení agresivním látkám a podobně. Vzhledem k odolnosti zubní skloviny sice hlavně dlouhodobé působení těchto škodlivin vede k zubnímu kazu, zánětu dásní apod., ale to nevylučuje ještě jiné vysoce agresivní faktory. K nim patří volné radikály. Jejich obrovská rychlost,

kterou poškozují okolní tkáň, nepochybně vede ke změnám vedoucím k zubní lézi. Např. volný hydroxylový radikál má poločas trvání 10^{-9} s. Nepárový elektron ze svého nejbližšího okolí atrahuje elektron a molekulu kyslíku, a tím ze sousední molekuly vytváří nový volný radikál a tento zhoubný řetězec pokračuje tak dlouho, dokud se nesetká volný radikál s jiným, se kterým sdílí volné elektrony za vzniku páru elektronů, nebo dokud se nepotká s antioxidantem.

Podobně jako volné radikály mohou účinkovat i tzv. ROS (Reactive Oxygen Species), které

nemají volný elektron ve valenční sféře. Sem patří např. peroxid vodíku, který vzniká ze superoxidu účinkem superoxiddismutázy. Peroxid vodíku proniká i přes membrány a má mohutný oxidační účinek. V organismu je odbouráván glutathionperoxidázou a katalázou, nedostatek těchto enzymů podporuje oxidaci tkání. Mezi ROS látky patří i tzv. singletový kyslík, který má velkou energii a působí např. srdeční arytmiie po infarktu myokardu.

DISKUSE

V ústní dutině mohou vznikat radikály více způsoby: častou příčinou je zánět, při kterém vzniká množství volných radikálů, dále z bílých krvinek, které pomocí volných radikálů zabíjejí bakterie, plísně, kvasinky i parazity. Tvorbu volných radikálů v leukocytech podporují cytokiny (IL-1 a TNF- α), rozpadem bílých krvinek se pak uvolňuje do extracelulárního prostoru množství volných radikálů. Další příčinou je reperfuze po předchozí ischemii, což může nastat např. při intenzivním žvýkání, vlivem otoků, poruchou prokrvení. Zánik buněk uvolňuje purinové látky z buněčného jádra, které se metabolizují až na kyselinu močovou, přičemž na úrovni xantinoxidázy vznikají 2 molekuly radikálu superoxidu. Hyperglykémie i metabolismus glukózy je provázen tzv. oxidačním stresem, což je porušení rovnováhy mezi volnými radikály a antioxidanty ve prospěch volných radikálů. Při krvácení se uvolňuje železo, které katalyzuje tzv. Fentonovu reakci, při níž z peroxidu vodíku vzniká velice agresivní volný hydroxylový radikál. Volné radikály uvolňují z dentinu vápník. Fentonovu reakci mohou katalyzovat i kovy z plomb. Při remodelaci, ale i u odbourávání kostní tkáně, účinkují osteoklasty, které působí účinkem svých volných radikálů. UV světlo vytváří volné radikály, takže hlavně na sliznicích, kde jsou erytrocyty málo chráněny před světlem, vznikají radikály. Z vnějších vlivů je třeba připomenout, že některé potraviny obsahují volné radikály, dále inhalace škodlivin z vnějšího prostředí (prach, výfukové plyny aut, radiace aj.) je významným zdrojem radikálů, vykouření 1 cigarety nás obohatí o 10^{17} volných radikálů! Působením volných radikálů a glukózy vznikají AGE – látky (Advanced Glycation end-Products), které poškozují proteiny. Vznik AGE-látek blokuje např. aminoguanidin, ale i thiamin pyrofosfát a pyridoxamin [1], nikotinamid, pyruvát a alfa-ketoglutarát [2], což je málo známo. Pochopitelně podobný účinek, i když v menší míře, mají i některé antioxidanty [3]. Místo bílkovin může konkurovat pokročilé glykaci i karnosin, ovšem nejčastěji v mozku. Protože se nejprve karbonylové skupiny glukózy,

resp. fruktózy, vážou na volné amino-skupiny, hlavně lysinu, tedy i samotný lysin snižuje tvorbu AGE-látek. Flavonoidy snižují glykaci a AGE-látky v kolagenu. Rovněž vitamin C snižuje glykaci, ale i metabolismus sorbitolu.

Vznik volných radikálů snižuje celkovou antioxidační kapacitu (pokles redukováného glutathionu a dalších antioxidantů). Jak je z uvedeného patrné, volné radikály a jejich rychlé řetězové reakce mohou být patogenními faktory zubních onemocnění. Tento názor potvrzují mnohé práce, z nichž některé je vhodné citovat.

Volné radikály působí lipoperoxidaci, jejich projevem jsou TBARS (Thiobarbituric Acid Reacting Substances). Oxidace LDL-cholesterolu volnými radikály podporuje vznik pěnových buněk, a tím i aterosklerózy v cévním endotelu. Peroxidaci podléhají i bílkoviny, volné radikály působí i mutace DNA s následnou možností vzniku nádorů. Poškození zubů má často příčinu i v řadě nemocí: astma, bulimia nervosa, nadměrný přísun kofeinu, diabetes mellitus, dehydratace po cvičení, funkční deprese, gastroezofagální reflux u alkoholiků, hypertenze a u syndromů s hypofunkcí slinných žláz. Sladké nápoje zvyšují kyselost. Glykolýzu, při které vznikají kyselé metabolity, lze zmenšit iodoacetátem, fluoridem cínatým a aminochloridy. Fluoridy brání acidifikaci a demineralizaci, inhibují enolázu, některé peroxidázy a v koncentraci 0,1 mmol inhibují glykolýzu účinkem streptococcus mutans. Dehydratace po cvičení snižuje ochranný vliv slin [4]. Ve slinách je hladina TBARS zvýšena u gingivitidy, koreluje s kouřením a věkem, ale nekoreluje s jejich hladinou v plazmě [5]. Sliny účinkují jako čistící roztok a rezervoár iontů, ale i jako pufr a mají i antioxidační kapacitu. Systematické studie antioxidační schopnosti slin u zdravých lidí a u stomatologicky nemocných dosud chybí [6].

Mailardova reakce, což je reakce cukru s bílkovinou (počátek mechanismu vzniku AGE-látek) a oxidace zvyšují natrávení dentinu kolagenázou u zubního kazu. U zubního kazu však jsou modifikovány některé aminokyseliny dentinového kolagenu, což může být ochranná reakce, protože se sníží proteolýza [7].

U periodontitidy jsou zvýšené ROS látky, ale není zvýšená hodnota peroxidu vodíku [8]. Nadprodukce ROS látek u periodontitidy působí i předčasné oxidační poškození mitochondriální DNA [9]. Taurin urychluje hojivý účinek chitosanu na periodontitidu [10]. U nekrózy v periodonciu a progresivní destrukci kosti klesají antioxidační enzymy (superoxiddismutáza, glutathion peroxidáza a reduktáza) a stoupají produkty lipoperoxidace v krvi [11]. Lokálně však superoxiddismutáza stoupá jako výraz zvýšené potřeby odbourávat superoxid [12]. Na počátku pulpitidy

je hladina superoxiddismutázy nízká – zřejmě se spotřebovává na odstraňování superoxidu, později však stoupá – dochází k adaptaci [13]. U chronických zánětlivých onemocnění jsou aktivovány polymorfonukleární leukocyty a vytváří se velké množství volných radikálů. Tvorba superoxidu je závislá do jisté míry na NADPH-oxidáze [14]. Superoxiddismutáza, která odstraňuje superoxid, a kataláza, která štěpí vzniklý peroxid vodíku, potlačují periodontální zánět [15]. Kataláza pravděpodobně urychluje hojení zubní pulpy [16]. Na bělení zubů je často používán peroxid vodíku. Jeho vysoké koncentrace mohou rozpouštět intertubulární a peritubulární dentin, pravděpodobně následkem zvýšené tvorby volného hydroxylového radikálu. Toho vzniká méně v přítomnosti prolinu a alaninu. Hydroxyapatit peroxidem vodíku poškozen není [17]. Peroxid vodíku může být toxický buňkám periodontálních ligament. Studie elektronovým mikroskopem ukazují, že je vhodné po bělení zubů lokálně použít antioxidanty [18]. Těž při replantaci zubů přidání katalázy a antioxidantů snižuje rezorpci zubních kořenů [19]. Na periodontitidu a gingivitidu mají terapeutický účinek i společné podání aminofluoridu a fluoridu cínatého, zřejmě vlivem zvýšení produkce superoxidu a jeho baktericidního účinku. Naopak kyselina salicylová snižuje produkci superoxidu buňkami [20]. Multivitaminové potravinové doplňky lze s úspěchem používat u periodontitidy [21].

Aplikace antioxidantů proti volným radikálům byla ve stomatologii použita často. Nejčastěji byla podávána kyselina askorbová. Problémem u ní je, že vytváří kyselou reakci, která zubům škodí. Pokusy neutralizovat její kyselost např. formou askorbátu sodného byly obvykle nedostatečné. Vysoké dávky vitamínu C mohou rozpouštět sklovinu, klesá pH slin, klesá kalcium a fosfor ve slinách [22]. Bylo prokázáno, že potrava nebo nápoje s kyselým pH zvyšují incidenci zubního kazu [23]. Je známo, že účinek volných radikálů v kyselém prostředí se zvyšuje. Podávání vitamínu C ve žvýkací gumě snížilo tvorbu zubního kamene [24]. Gel s askorbátem zinečnatým má antiseptický účinek, snižuje tvorbu plaku a zánět dásní [25]. Potlačení orální kariogenní flory kyselinou askorbovou bylo prokazováno i u zvýšeného příjmu zeleniny, ovoce a zvláště malin, ostružin aj. [26]. Myeloperoxidáza z peroxidu vodíku vytváří kyselinu chlornou, která poškozuje dentin. Askorbát sodný významně snižuje jeho poškození [27], pomáhá i při replantaci zubů [28], účinné jsou i jiné antioxidanty [29]. Rovněž kouř z cigaret poškozuje dásně, snižuje hladinu vitamínu C a A, působí vazokonstrikci a snižuje antioxidační schopnost [30].

Dalším významným antioxidantem pro stomatologii je selen. Nejdůležitější organickou složkou

zubu je kolagen. V jeho vazbách může selen nahradit síru a tato vazba je silnější než ta se sírou. Podání selenu (50 µg/den) snížilo výskyt zubního kazu u mladých [31]. Rtuť a stříbro v plombách podporují vznik volného hydroxylového radikálu, selen chrání před tvorbou radikálů [32].

Známý antioxidant vitamin E se asi příliš neosvědčí, jeho vysoké dávky jen lehce zvýší obsah kalcia a fosforu v zubech [33]. Podání tuku s vitaminem E má menší účinek než jeho podání v plně potravě [34]. Snížení počtu kazů zubů u dětí působí pití černého čaje, který obsahuje fluor a polyfenolické látky. Fluor a antioxidační látky zmenšují syntézu plaku [35]. Izoméry kresolu, zvláště m-kresol, chrání před peroxidem vodíku, superoxidem a před chlornanem sodným, který poškozuje DNA [36]. Významný je účinek volného nitroxylového radikálu (NO.), který působí vasodilataci. Žvýkáním je podporována jeho produkce, zlepšením prokrvení zrychluje hojení [37]. Nitroxylový radikál má významný antibakteriální účinek. Kuřáci mají nižší hladinu než nekuřáci a vyšší počet bakterií v zubním plaku [38].

ZÁVĚR

Agresivní volné radikály spolupůsobí u mnoha onemocnění ústní dutiny. Stále se však s možností použití antioxidantů příliš nepočítá, ač by v některých případech mohly být užitečné. Rovněž sledování antioxidační kapacity slin není dosud využíváno.

LITERATURA

1. **Booth, A. A., Khalifah, R. G., Hudson, B. G.:** Thiamin pyrophosphate and pyridoxamine inhibit the formation of antigenic advanced glycation end-products: Comparison with aminoguanidine. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 220, 1996, s. 113-119.
2. **Varma, S. D., Devamanoharan, P. S., Ali, A. H.:** Formation of advanced glycation end [AGE] products in diabetes: prevention by pyruvate and alpha-keto glutarate. *Mol Cell Biochem.*, 17, 1 1997, 1-2, s. 23-28.
3. **Vinson, J. A., Howard, T. B.:** Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *J. Nutr. Biochem.*, 7, 1996, s. 659-663.
4. **Young, W. G.:** Tooth wear: diet analysis and advice. *Int. Dent. J.*, 55, 2005, 2, s. 68-72.
5. **Celec, P., Hodosy, J., Celecova, V., Vodrazka, J., Cervenka, T., Halcak, L., Bozek, P., Kopani, M., Kudela, M.:** Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde – their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis. Markers*, 21, 2005, 3, s. 133-137.
6. **Battino, M., Ferreiro, M. S., Gallardo, I., Newman, H. N., Bullon, P.:** The antioxidant capacity of saliva. *J. Clin. Periodontol.*, 29, 2002, 3, s. 189-194.

7. **Kleter, G. A., Damen, J. J., Buijs, M. J., Ten Cate, J. M.:** Modification of amino acid residues in carious dentin matrix. *J. Dent. Res.*, 77, 1998, 3, s. 488-495.
8. **Fredriksson, M., Gustafsson, A., Asman, B., Bergstrom, K.:** Hyper-reactive peripheral neutrophils in adult periodontitis: generation of chemiluminescence and intracellular hydrogen peroxide after in vitro priming and FcγR-stimulation. *J. Clin. Periodontol. /DENMARK/*, 25, 1998, 5, s. 394-398.
9. **Canakci, C. F., Tatar, A., Canakci, V., Cicek, Y., Oztas, S., Orbak, R.:** New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissues of patients with periodontitis. *Periodontol.*, 77, 2006, 11, s. 1894-1900.
10. **Ozmeric, N., Ozcan, G., Haytac, C. M., Alaaddinoglu, E. E., Sargon, M. F., Senel, S.:** Chitosan film enriched with an antioxidant agent, taurine, in fenestration defects. *J. Biomed. Mater. Res.*, 51, 2000, 3, s. 500-503.
11. **Sobaniec, H., Sobaniec-Lotowska, M. E.:** Morphological examinations of hard tissue of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med. Sci. Monit.*, 6, 2000, 5, s. 875-881.
12. **Akalın, F. A., Toklu, E., Renda, N.:** Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J. Clin. Periodontol.*, 32, 2005, 3, s. 238-243.
13. **Tulunoglu, O., Alacam, A., Bastug, M., Yavuzer, S.:** Superoxide dismutase activity in healthy and inflamed pulp tissues of permanent teeth in children. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 22, 1998, 4, s. 341-345.
14. **Shapira, L., Borinski, R., Sela, M. N., Soskolne A.:** Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.*, 18, 1991, s. 44-48.
15. **Petelin, M., Pavlica, Z., Ivanusa, T., Sentjere, M., Skaleric, U.:** Local delivery of liposome-encapsulated superoxide dismutase and catalase suppress periodontal inflammation in beagles. *J. Clin. Periodontol.*, 27, 2000, 12, s. 918-925.
16. **Alacam, A., Tulunoglu, O., Oygur, T., Bilici, S.:** Effects of topical Catalase application on dental pulp tissue: a histopathological evaluation. *J. Dent.*, 28, 2000, 5, s. 333-339.
17. **Kawamoto, K., Tsujimoto, Y.:** Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J. Endod.*, 30, 2004, 1, s. 45-50.
18. **Kobakhidze, G. D., Vadachkoria, N. R.:** Study of influence of endopalescence on the solid tissue by means of raster microscope. *Georgian Med. News*, 134, 2006, s. 39-43.
19. **Buttke, T. M., Trope, M.:** Effect of catalase supplementation in storage media for avulsed teeth. *Dent. Traumatol.*, 19, 2003, 2, s. 103-108.
20. **Shapira, L., Schatzker, Y., Gedalia, I., Borinski, R., Sela, M. N.:** Effect of amine and stannous fluoride on human neutrophil functions in vitro. *J. Dent. Res. (US)*, 76, 1997, 7, s. 1381-1386.
21. **Munoz, C. A., Kiger, R. D., Stephens, J. A., Kim, J., Wilson, A. C.:** Effects of a nutritional supplement on periodontal status. *Compend Contin Educ. Dent.*, 22, 2001, 5, s. 425-428.
22. **Hays, G. L., Bullock, Q., Lazzari, E. P., Puente, E. S.:** Salivary pH while dissolving vitamin C-containing tablets. *Am. J. Dent.*, 5, 1992, 5, s. 269-271.
23. **O'Sullivan, E. A., Curzon, M. E.:** A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. *ASDC J. Dent. Child.*, 67, 2000, 3, s. 186-192.
24. **Lingstrom, P., Fure, S., Dinitzen, B., Fritzne, C., Klefbom, C., Birkhed, D.:** The release of vitamin C from chewing gum and its effects on supragingival calculus formation. *Eur. J. Oral Sci.*, 113, 2005, 1, s. 20-27.
25. **Clarke, D. E.:** Clinical and microbiological effects of oral zinc ascorbate gel in cats. *J. Vet. Dent.*, 18, 2001, 4, s. 177-183.
26. **Vaananen, M. K., Markkanen, H. A., Tuovinen, V. J., Kullaa, A. M., Karinpaa, A. M., Luoma, H., Kumpusalo, E. A.:** Dental carries and mutans streptococci in relation to plasma ascorbic acid. *Scand. J. Dent. Res.*, 102, 1994, 2, s. 103-108.
27. **Vongphan, N., Senawong, P., Somsiri, W., Harnirattisai, C.:** Effects of sodium ascorbate on micro-tensile bond strength of total-etching adhesive system to NaOCl treated dentine. *J. Dent.*, 33, 2005, 8, s. 689-695.
28. **Panzarini, S. R., Perri de Carvalho, A. C., Poi, W. R., Sonodfa, C. K.:** Use of vitamin C in delayed tooth replantation. *Braz. Dent. J.*, 16, 2005, 1, s. 17-22.
29. **Bulut, H., Kaya, A. D., Turkun, M.:** Tensile bond strength of brackets after antioxidant treatment on bleached teeth. *Eur. J. Orthod.*, 27, 2005, 5, s. 466-471.
30. **Seri, M. D., Alessandro, A., Seri, S.:** The effect of cigarette smoking on vitamin C and vitamin E levels of gingival crevicular fluid. *Boll. Coc. Ital. Biol. Sper.*, 75, 1999, 3-4, s. 21-25.
31. **Parko, A.:** Has the increase in selenium intake led to a decrease in caries among children and the young in Finland. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, 88, 1992, 1-2, s. 57-59.
32. **Johansson, E.:** Selenium and its protection against the effects of mercury and silver. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 5, 1991, 4, s. 273-274.
33. **Alam, S. Q., Alam, B. S.:** Effect of excess vitamin E on rat teeth. *Calcif. Tissue Int.*, 33, 1981, 6, s. 619-622.
34. **Ruiz, J. A., Guerrero, L., Arnau, J., Guardia, M. D., Esteve-Garcia, E.:** Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or beta-carotene as antioxidants and different supplemental fats. *Poult. Sci.*, 80, 2001, 7, s. 976-982.
35. **Sarkar, S., Sett, P., Chowdhury, T., Ganguly, D. K.:** Effect of black tea on teeth. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.*, 18, 2000, 4, s. 139-140.
36. **Yeung, S. Y., Lan, W. H., Huang, C. S., Lin, C. P., Chan, C. P., Chang, M. C., Jeng, J. H.:** Scavenging property of three cresol isomers against H₂O₂, hypochlorite, superoxide and hydroxyl radicals. *Food Chem. Toxicol.*, 40, 2002, 10, s. 1403-1413.
37. **Chen, C. C., Kanno, Z., Soma, K.:** Occlusal forces promote periodontal healing of transplanted teeth with enhanced nitric oxide synthesis. *J. Med. Dent. Sci.*, 52, 2005, 1, s. 59-64.
38. **Carossa, S., Pera, P., Doglio, P., Lombardo, S., Cologrande, P., Brussino, L., Rolla, G., Bucca, C.:** Oral nitric oxide during plaque deposition. *Eur. J. Clin. Invest.*, 31, 2001, 10, s. 833-835.

MUDr. Václav Holeček, CSc.
Mulačova nemocnice, s.r.o.
Dvořákova 17
320 02 Plzeň
e-mail: vholecek@volny.cz