

**Экспериментальное исследование параметров слюны человека
как минералообразующей среды**

Л. В. Бельская, О. А. Голованова
Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, Омск

LudaB2005@mail.ru

Проведены исследования состава слюны в норме и при образовании зубных камней. Показано, что при изменении химического состава слюны создаются условия, благоприятные для образования гидроксилapatита. Установлены особенности элементного состава слюны в условиях камнеобразования в полости рта.

Ключевые слова: патогенное минералообразование, слюна, зубные камни, химический состав, эксперимент, микроэлементы

Ссылка: Бельская, Л.В., О.А. Голованова (2012), Экспериментальное исследование параметров слюны человека как минералообразующей среды, *Вестник ОНЗ РАН*, 4, NZ9001, doi:10.2205/2012NZ_ASEMPG.

Камнеобразование в полости рта является довольно распространенным заболеванием, причины которого в настоящее время точно не установлены. Ряд авторов указывают на важную роль слюны в образовании зубных камней [Боровский, 1991; Галиулина, 1988, 2000; Леонтьев, 1991].

Нормальный состав слюны достаточно хорошо изучен. Однако исследования слюны в условиях камнеобразования в полости рта носят единичный характер. Представляет интерес содержание макро- и микроэлементов в слюне человека в норме, а также в условиях камнеобразования в полости рта, и выявление особенностей среды формирования зубных камней. Поэтому целью данного исследования являлось определение основных параметров слюны в норме и в условиях камнеобразования.

Материалы и методы. В качестве материала исследования использована надсадочная жидкость слюны лиц с зубными отложениями и здоровых, выбранных в качестве контрольной группы (всего 250 образцов). Слюну собирали утром, натощак, до чистки зубов, центрифугировали при 3000 об/мин. Во всех порциях слюны определяли следующие показатели: pH, pK, pNa, концентрацию кальция, фосфора, белок и тип микрокристаллизации. Параметры pH, pK, pNa слюны определяли методом прямой потенциометрии с помощью ионоселективных электродов на иономере ЭВ-74. В качестве электрода сравнения использовали хлорсеребряный электрод. Белок определяли фотометрически по методу Бенедикта. Неорганический фосфор в слюне определяли по методу Больша и Льюк в модификации Конвая В.Д., Леонтьева В.К. [Леонтьев, 1976], общую концентрацию кальция – методом комплексонометрического титрования. Математическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета STATISTICA 6.0 (Stat Soft Inc. USA).

Элементный состав образцов слюны определялся методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП). Измерения проводились на ИПС-спектрометре OPTIMA 2000 DV (Perkin Elmer, Германия). Обработку результатов производилась с использованием программного обеспечения спектрометра. При количественном расчете использовался метод градуировочного графика.

Результаты и обсуждение. Ранее с помощью методов РФА и ИК-спектроскопии установлено [Бельская, 2009], что минеральная составляющая зубных камней жителей г. Омска представлена карбонат-содержащим гидроксилapatитом, в качестве примеси обнаружен брусит (5-10%). Известно, что брусит кристаллизуется при более низких значениях кислотности среды, чем апатит [Бельская, 2008]. Присутствие брусита и апатита в одном образце говорит о значительных колебаниях pH слюны в процессе образования и роста зубного камня.

Для выявления и определения количественного содержания максимально возможного ряда микроэлементов в зубных камнях было проведено исследование коллекции образцов

БЕЛЬСКАЯ И ДР.: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ

методом РФА-СИ [Голованова, 2006]. Во всех образцах выявлено наличие 29 микроэлементов, содержание которых варьирует в достаточно широких пределах от 10^{-4} до 10^{-2} масс.% (табл.1).

По содержанию элементы, определенные в составе зубных камней, можно разделить на три группы:

- 1) с содержанием 10^{-3} – 10^{-2} масс.% - Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Sr, Ba.
- 2) с содержанием 10^{-4} – 10^{-3} масс.% - Ga, Rb, Zr, Mo, Ag, Sn, I, La, Ce.
- 3) с содержанием $< 10^{-4}$ масс.% - As, Se, Y, Nb, Cd, In, Sb, Te, Cs.

Все перечисленные элементы являются эссенциальными, т.е. жизненно необходимыми. Широкие пределы индивидуальных колебаний в содержании элементов определяются, по-видимому, балансом микроэлементов и особенностью метаболических процессов в организме человека.

Таблица 1. Микроэлементный состав зубных камней по данным РФА СИ, $\cdot 10^{-4}$ масс.%

Элемент	Пределы индивидуальных колебаний	Среднее значение	Элемент	Пределы индивидуальных колебаний	Среднее значение
Ti	5.8–226.9	76.2	Zr	0.3–74.9	3.6
V	7.4–117.5	42.7	Nb	0.50–1.30	0.90
Cr	17.3–319.5	70.6	Mo	0.3–4.9	1.39
Mn	7.0–45.6	24.1	Ag	0.35–6.00	2.08
Fe	1.4–417.5	81.9	Cd	0.3–1.0	0.63
Ni	1.0–47.1	16.0	In	0.313–0.794	0.532
Cu	1.7–74.4	15.3	Sn	0.3–4.4	1.5
Zn	1.0–880.9	251.9	Sb	0.3–2.6	0.6
Ga	0.3–11.7	3.0	Te	0.27–2.10	1.0
As	0.26–5.10	0.84	I	0.5–34.0	4.4
Se	0.3–1.4	0.87	Cs	0.6–1.4	0.96
Br	0.6–816.9	34.7	Ba	5.2–312.0	40.9
Rb	0.3–11.2	1.35	La	0.6–16.0	7.6
Sr	37.9–177.3	88.2	Ce	0.3–333.6	30.1
Y	0.27–2.10	0.87			-

Можно предположить, что большая часть элементов первой группы входит в кристаллическую структуру апатита изоморфно: Sr, Ba – в позиции Ca; Ti, V, Cr – в тетраэдрическую позицию P. Кроме того, так как большинство определенных в этой группе элементов (Zn, Cu, Ni, Fe и др.) являются хорошими комплексообразователями, они могут образовывать устойчивые комплексные соединения с органической компонентой камня. Элементы второй и третьей групп поступают в организм человека в основном с пищей и накапливаются в составе камней благодаря способности концентрироваться в костной ткани, особенно в зонах роста (например, Ga, Sn и др.).

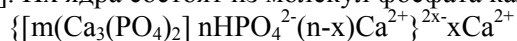
На следующем этапе был исследован химический состав слюны пациентов с зубными камнями. Показано, что в условиях камнеобразования в полости рта происходит сдвиг pH в щелочную сторону (табл.2). Именно при этих значениях pH создаются оптимальные условия для образования гидроксилapatита – основного минерального компонента зубных камней человека [Бельская, 2009]. Одновременно увеличивается общая минерализация (концентрации ионов фосфора, натрия, калия), но уменьшается содержание белка.

Таблица 2. Сравнительная характеристика состава слюны лиц с различным состоянием полости рта

Показатель	Контрольная группа n=47; t=1,96	Камнеобразование в полости рта n=31; t=1,96
pH	6.80±0.11	7.04±0.12

С (Na), г/л	0.30±0.04	0.38±0.08
С (К), г/л	0.72±0.05	1.15±0.13
Общий кальций, г/л	0.051±0.004	0.055±0.005
Фосфор, г/л	0.16±0.01	0.20±0.02
Белок, мг/мл	1.73±0.24	1.39±0.39

Известно, что слюна представляет собой структурированную биологическую жидкость, весь объем которой распределен между мицеллами – коллоидными образованиями [Леонтьев, 1991]. Их ядра состоят из молекул фосфата кальция и окружены водно-белковыми оболочками.



Подщелачивание слюны, способствуя повышению содержания ионов PO_4^{3-} приводит к изменению состава мицелл и их разрушению (рис. 1):

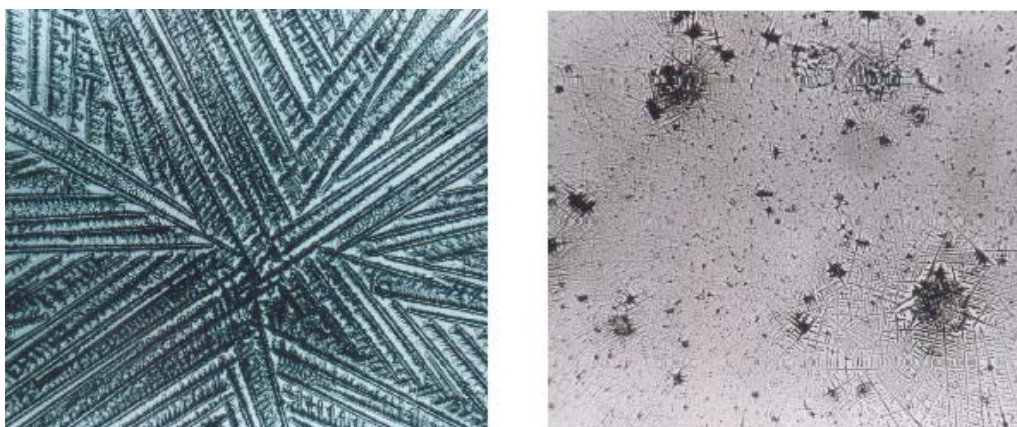
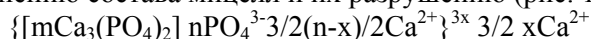


Рис. 1. Нарушение структурных свойств слюны при образовании камней полости рта

Расстройство процесса мицеллообразования обусловлено тем, что ионы Ca^{2+} и HPO_4^{2-} не могут одновременно находиться в адсорбционном слое, так как образуют трудно-растворимое соединение $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. При этом с участием микроорганизмов, захватывающих частицы выпавшего в осадок $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и переносящие их на шероховатую поверхность зубной эмали, создаются благоприятные условия для образования камня.

С помощью АЭС-ИСП установлено, что в условиях камнеобразования в полости рта повышается содержание цинка и железа в слюне (табл.3).

Таблица 3. Характеристика микроэлементного состава слюны, мг/л

Элемент	«Норма»	Зубные камни
Цинк	0,476±0,183	1,082±1,010
Медь	0.342±0.314	0.054±0.033
Железо	0.278±0.041	0.399±0.185
Марганец	0.050±0.014	Нет данных
Алюминий	0.705±0.094	Нет данных

С целью установления зависимости состава зубных камней от состава слюны проведен корреляционный анализ. При числе опытов $n = 10$, уровне значимости $f = 0.01$, доверительной вероятности $P = 0.99$ наличие линейной корреляции считали доказанным при коэффициенте корреляции, превышающем значение $r = 0.65$ (табл.4).

Как видно из приведенных данных, наблюдается положительная корреляция между вязкостью слюны и содержанием брома, это можно объяснить тем, что бром в большей степени накапливается в органической составляющей зубного камня, а содержание органических веществ в свою очередь коррелирует с вязкостью слюны.

Достаточно высокие значения коэффициентов корреляции содержания кальция и фосфора в слюне, а также бария и стронция в составе зубных камней, можно объяснить близостью ионных

БЕЛЬСКАЯ И ДР.: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ

радиусов данных элементов ($r(\text{Ca}^{2+}) = 0.100 \pm 0.003$, $r(\text{Ba}^{2+}) = 0.137 \pm 0.005$, $r(\text{Sr}^{2+}) = 0.116 \pm 0.003$ нм) и способностью к изоморфному замещению в кристаллической структуре гидроксилapatита – основного минерального компонента зубных камней человека. Аналогичные закономерности выявлены для калия в составе слюны и ионов железа, цинка, никеля и ванадия в составе зубных камней. Поскольку ионы калия находятся в гидратной оболочке мицелл фосфата кальция, то в процессе образования и роста зубного камня могут замещаться ионами, поступающими в ротовую полость, а концентрация ионов калия в слюне при этом закономерно повышается.

Таблица 4. Коэффициенты корреляции между параметрами слюны и составом зубных камней

Параметры слюны	Состав зубного камня
pH	Ванадий ($r = -0.69$), железо ($r = -0.68$), никель ($r = -0.68$), серебро ($r = 0.68$)
Вязкость	Бром ($r = 0.75$)
Калий	Ванадий ($r = 0.72$), железо ($r = 0.71$), никель ($r = 0.71$), цинк ($r = 0.66$), серебро ($r = -0.66$)
Кальций	Барий ($r = 0.78$) , марганец ($r = -0.82$), рубидий ($r = -0.68$), серебро ($r = -0.68$)
Фосфор	Бром ($r = -0.73$), рубидий ($r = -0.88$), серебро ($r = -0.88$), стронций ($r = 0.74$), барий ($r = 0.65$)
Ca/P	Марганец ($r = -0.93$), йод ($r = 0.68$)
Na/K	Рубидий ($r = 0.66$), серебро ($r = 0.89$)

Отрицательная корреляция между содержанием ионов ванадия, железа и никеля в составе зубных камней и pH слюны объясняется тем, что с ростом pH преобладающей формой существования данных ионов в растворе становится анионная и способность к изоморфному замещению снижается.

Закключение. На основании приведенных экспериментальных данных можно выделить изменения, происходящие в слюне человека в условиях камнеобразования в полости рта:

1. В условиях камнеобразования в полости рта происходит сдвиг pH в щелочную сторону, что создает благоприятные условия для образования гидроксилapatита.
2. При образовании зубных камней в слюне уменьшается содержание ионов кальция, но увеличивается содержание фосфора и электролитных компонентов – ионов натрия и калия.
3. Наблюдается снижение содержания белка в слюне пациентов с зубными камнями, что свидетельствует о нарушении структурных свойств слюны.
4. По данным дискриминантного анализа показано, что по содержанию 10 элементов в слюне (Ca, P, Na, K, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Al) происходит выделение группы с камнеобразованием в полости рта. Установлено, что в условиях камнеобразования в полости рта повышается содержание цинка и железа.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (ГК № 16.740.11.0602).

Литература

- Бельская, Л. В. (2009). Зубные и слюнные камни – химический состав, генетические особенности, *Дис. канд. хим. наук*, Омск, с. 156.
- Бельская, Л. В. и др. (2008). Термодинамическое моделирование процесса образования зубного камня, *Вестник Омского университета*, №4, сс. 49–53.
- Боровский, Е. В. и др. (1991). Биология полости рта, М.: Медицина, с. 304.
- Галиулина, М. В. (1988). Электролитные компоненты смешанной слюны человека в условиях физиологии и патологии полости рта, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Москва, с. 19.
- Галиулина, М. В. и др. (2000). Структурные свойства смешанной слюны в зависимости от состояния полости рта, Омск, сс. 44–48.

БЕЛЬСКАЯ И ДР.: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ

Голованова, О. А. и др. (2006). Спектральный количественный анализ эссенциальных микроэлементов в патогенных биоминералах жителей Омского региона, *Прикладная спектроскопия*, т.73, №6, сс. 792–796.

Леонтьев, В. К. и др. (1976). Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии, Омск, сс. 32–33.

Леонтьев, В. К. и др. (1991). О мицеллярном состоянии слюны, *Стоматология*, №5, сс. 17–20.