

## ПРОЦЕССЫ КАМНЕОБРАЗОВАНИЯ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В ПРИСУТСТВИИ ГЛЮКОЗЫ

*В. М. Киселев, Е. С. Шукайло, Л. В. Бельская, О. А. Голованова, В. Г. Турманидзе*

*Омский государственный университет, г. Омск, v.m.kiselev@chemotmsu.ru*

Камнеобразование в ротовой полости является сложным многофазовым процессом. На него влияют многие факторы, но в последнее время особенно актуальным стало изучение влияния глюкозы на процессы камнеобразования, поскольку ежегодно увеличивается процент людей, страдающих заболеванием сахарного диабета.

В нашем исследовании особое внимание уделяется контролю над содержанием глюкозы в ротовой жидкости, поскольку концентрация данного углевода меняет состав слюны, что неблагоприятно сказывается на равновесии процессов минерализации и деминерализации, а это, в свою очередь, может стать причиной образования зубных и слюнных камней. Именно поэтому изучение влияния глюкозы на процессы камнеобразования в ротовой полости и подбор соответствующих методик являются очень актуальными.

На сегодняшний день существует множество методов определения концентрации глюкозы в растворе, однако ротовая жидкость имеет уникальный химический состав и к ней применимы не все методики. Именно поэтому некоторые методы не прошли проверку в ходе нашего исследования и их использование оказалось неперспективным.

Первоначально в работе использовались глюкометры различных маркировок: *кетоглюк-1*, *диаглюк № 50*, *глюкофан № 50*. Образцы ротовой жидкости наносились на индикаторную часть полоски и после выдержки в термостате в течение 1–2 минут при температуре 25 °С сравнивались с эталонной шкалой.

Данные тест-полоски широко используются для определения уровня глюкозы в плазме крови и моче, однако при исследовании ротовой жидкости анализ *не принёс ожидаемых результатов*: была получена смазанная окраска индикаторной части, что не позволило качественно и количественно оценить содержание глюкозы в ротовой жидкости. Были предприняты попытки изменить условия анализа, но данный метод никаким образом не удалось адаптировать для анализа ротовой жидкости, и возникла необходимость разработки собственных методик для проведения анализа.

Для этой цели был приготовлен модельный раствор ротовой жидкости человека. При этом вещества для приготовления раствора были подобраны таким образом, чтобы концентрация ионов в системе и её ионная сила были приближены к физиологическим показателям слюны (табл. 1).

*Таблица 1*

### Минеральный и аминокислотный составы слюны человека

Минеральный состав	
Компонент-ион	Концентрация (ммоль/л)
Ca <sup>2+</sup>	1.5
Na <sup>+</sup>	13.9
K <sup>+</sup>	26.2
Mg <sup>2+</sup>	0.65
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	3.6
Cl <sup>-</sup>	12.7
F <sup>-</sup>	10.6·10 <sup>-3</sup>
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	7.4
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	5.6

Аминокислотный состав	
Аминокислота	Содержание (г/л)
Ala	0.1372
Arg	0.1080
Asn	0.1921
Gly	0.1449
Glu	0.3104
Ser	0.1755
Tyr	0.0942

Далее в модельные растворы была добавлена глюкоза, концентрация которой варьировалась в определенном интервале (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание глюкозы в модельных растворах**

<i>C</i> , г/л	0.0050	0.0141	0.0232	0.0323	0.0414	0.0505	0.0596	0.0687	0.0778	0.0869
<i>C</i> , ммоль/л	0.0278	0.0783	0.129	0.179	0.230	0.281	0.331	0.382	0.432	0.483

Приготовленные растворы глюкозы анализировали с помощью йодометрического и оксидазного методов. Первый из них основан на окислении глюкозы йодом в щелочной среде. Концентрация этого углевода определяется по разности между изначальным количеством йода и неизрасходованным, которое определяется титрованием тиосульфатом натрия [ГОСТ 29248-91, 1993].

Рассмотренный выше способ определения глюкозы *оказался непригодным*, поскольку при проведении трёх параллельных опытов на титрование были затрачены разные объёмы тиосульфата (расхождения составили от 3 до 5 мл), что является большой погрешностью при данном методе анализа. На основании этого можно сделать вывод, что использованная методика неприменима в данном концентрационном интервале.

Наилучшие результаты были получены при обнаружении глюкозы оксидазным методом, основанным на ферментативном окислении глюкозы.

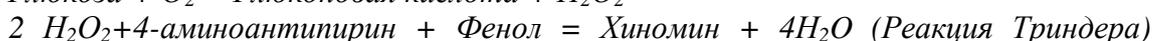
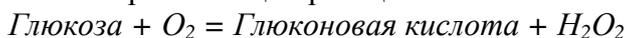
В качестве реакционной смеси применялся раствор определенного состава (табл. 3).

Таблица 3

**Компоненты реакционной смеси и их концентрации**

Компонент	Значение
Фосфатный буфер, ммоль/л рН 7.5	250
Фенол, ммоль/л	5
4-аминоантипирин, ммоль/л	0.5
Глюкозооксидаза (ГОД), кЕ/л	≥10
Пероксидаза (ПОД), кЕ/л	≥1

Схемы протекающих реакций:



[Barham, Trinder, 1972]

При исследовании к 1 мл анализируемой жидкости добавляли 10 мл реакционной смеси, через 20 минут фотометрировали на приборе КФК-2 при комнатной температуре относительно холостой пробы. В результате анализа модельных растворов (табл. 2) был получен ряд значений оптической плотности, по которым был построен градуировочный график (рис. 1).

По данному графику можно сделать вывод, что полученная зависимость имеет линейный вид и коэффициент корреляции 0.9971. Поэтому его можно использовать для определения концентрации глюкозы или воспользоваться уравнением, рассчитанным по методу наименьших квадратов ( $y = 1.6834x - 0.0047$ ). Расчет концентрации глюкозы в контрольном образце был произведен обоими способами, при этом получены одинаковые результаты. Очевидно, *оксидазный метод* обладает рядом преимуществ. Он подходит для определения содержания глюкозы в ротовой жидкости и *может быть использован* в нашей исследовательской работе.

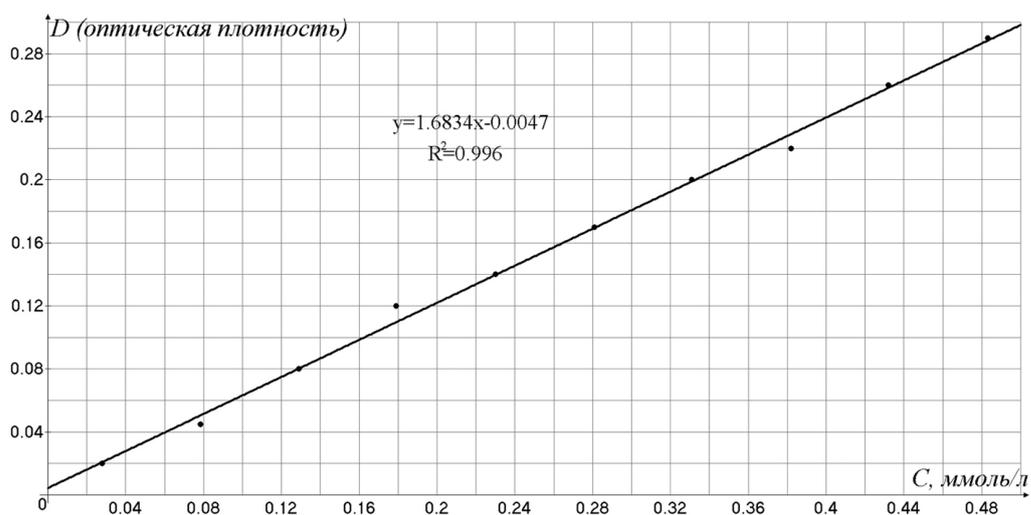


Рис. 1. Градуировочный график определения глюкозы в ротовой жидкости оксидазным методом.

Материалом для исследования служила ротовая жидкость спортсменов в возрасте 17–24 лет. Чтобы понять, как нагрузка спортсменов влияет на концентрацию глюкозы в ротовой жидкости, слюна собиралась натощак, до тренировки и после, а также были получены образцы слюны спортсменов вне нагрузки, после восстановления. Каждый цикл проводился 3 раза, что позволило изучить временную зависимость состояния спортсменов от периодических нагрузок на тренировках. После анализа 84 образцов были выявлены следующие закономерности (рис. 2):

На данной диаграмме видно, что уровень глюкозы после тренировки резко падает, в среднем на 52 %, но после восстановления концентрация глюкозы в ротовой жидкости принимает значение, близкое к исходному. Такие изменения глюкозы в слюне в процессе тренировки могут оказать неблагоприятное воздействие на состояние органов ротовой полости.

Ранее было установлено, что при наличии глюкозы в модельных растворах ротовой жидкости в концентрациях, превышенных в 10 или 100 раз относительно нормы, увеличивается скорость осаждения твердой фазы, представленной преимущественно гидроксилapatитом, а также увеличивается её кристалличность, что может приводить к минерализации зубного налёта, способствуя формированию основных минеральных фаз зубных камней человека [Голованова и др., 2007; Солоненко и др., 2008].

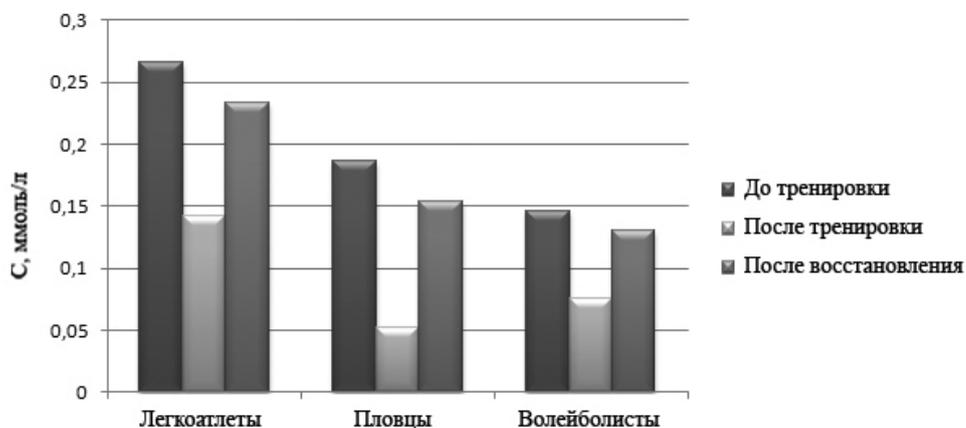


Рис. 2. Диаграмма содержания глюкозы в ротовой жидкости спортсменов до тренировки, после и вне нагрузки.

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о промотирующей роли глюкозы в образовании зубных камней и необходимости создания экспресс-методик для контроля её содержания в ротовой жидкости человека.

### Литература

*Голованова О. А., Бельская Л. В., Пушкарева А. В., Казанцева Р. В.* Способ моделирования процесса образования зубного камня // Патент РФ № 2342713 от 09.04.2007.

ГОСТ 29248-91. Йодометрический метод определения сахаров от 01.07.1993

*Солоненко А. П., Бельская Л. В., Голованова О. А.* Изучение влияния глюкозы на процесс формирования гидроксилапатита // Вестник ОмГУ. 2008. № 1. С. 44–48.

*Barham D., Trinder P.* An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*, 1972; 97: 142–145.