*На правах рукописи*

**Наместникова**

**Ирина Владимировна**

**РОЛЬ АЛКАЛОЗА И СВЯЗАННЫХ С НИМ**

**БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В РАЗВИТИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ОСНОВНЫХ**

**СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

14.01.14 – Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Тверь - 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедрах пародонтологии и биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Румянцев Виталий Анатольевич**

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, доцент **Егорова Елена Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

Заведующая кафедрой пропедевтической стоматологии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор **Казарина Лариса Николаевна**

Доктор медицинских наук, профессор кафедры терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО «Северо-Западный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России **Дрожжина Валентина Александровна**

**Ведущая организация:** ГБОУ ВПО«Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_ 2015 г. в \_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.099.01 при ГБОУ ВПО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке университета и на его сайте: [www.tvergma.ru](http://www.tvergma.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат медицинских наук, доцент В.В. Мурга

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность исследования**

Кислотно-щелочное равновесие (КЩР) является важнейшим фактором сохранения местного гомеостаза в полости рта (ПР) (Румянцев В.А., 2014, Czapla Z., Szczepanowska E., 2007). Учеными хорошо изучены и описаны в литературе те изменения, которые происходят в ПР при нарушениях КЩР в сторону ацидоза (Bowen W.H., 2013). Наиболее опасным является ацидоз, провоцируемый органическими кислотами ацидогенной ротовой микрофлоры ПР при ферментации ею простых углеводов (Гулямов С.С., 2009). Поскольку этот ацидоз достигает своего максимума на поверхностях зубов, он способствует деминерализации эмали и развитию кариеса – самого распространенного стоматологического заболевания (Briso A.L. с соавт., 2015). Изменения рН в зубном налёте (ЗН) и РЖ после употребления сладкого описаны впервые R. Stephan (1940) и носят имя «кривой рН Стефана». Эта кривая давно и успешно используется для ранней диагностики риска развития кариеса зубов, его прогнозирования, оценки ацидогенного потенциала пищевых продуктов (Caufield P.W. с соавт., 2015).

В то же время, нарушения КЩР в ПР в сторону алкалоза изучены недостаточно. Известно лишь, что некоторые пищевые продукты, содержащие в своем составе азотистые соединения (сыр, орехи, ментол и др.) способны провоцировать в ПР временные алкалотические сдвиги КЩР (Gordan V.V. с соавт., 2014). Также известно, что при алкалозе может увеличиваться агрегативная способность слюны, что ведет к образованию твёрдых зубных отложений (Angker L.С. с соавт., 2011).

В.А. Румянцевым (1998) по аналогии с кривой рН Стефана была впервые описана и предложена для практического применения тестовая карбамидная кривая изменения рН в ПР под влиянием тестовой порции карбамида (мочевины) – продукта, легко ферментируемого уреазопозитивной аммиак-продуцирующей микрофлорой ПР. В то же время недостаточно изучено, какие именно биохимические процессы сопровождают алкалотические изменения КЩР в ПР, когда происходит существенное нарушение физиологических свойств РЖ. Не определено, имеются ли какие-либо особенности биохимических показателей РЖ у здоровых людей, а также кариесвосприимчивых и имеющих воспалительные заболевания пародонта (ВЗП). Совершенно не изучен вопрос состояния КЩР в ПР у людей, привычное питание которых отличается избытком белковой животной или растительной пищи. Не изучались те биохимические процессы, которые сопровождают искусственно спровоцированные алкалотические изменения в РЖ во время микробной ферментации карбамида в ПР. Такого рода исследования могут быть полезны для дальнейшего изучения вопросов патогенеза основной стоматологической патологии – кариеса зубов и ВЗП, нарушений КЩР и местного гомеостаза в ПР в норме и при наличии патологии. Они позволили бы оценить значение пищи, характера питания и уже имеющейся стоматологической патологии на первичную или вторичную профилактику основных стоматологических заболеваний, научно обосновать способы профилактики нарушений КЩР в ПР на бытовом практическом уровне.

**Цель исследования**

Поиск путей повышения профилактики и лечения основных стоматологических заболеваний путём ранней диагностики и предупреждения нарушений кислотно-щелочного равновесия в полости рта в сторону алкалоза и связанных с ними биохимических изменений.

**Задачи исследования**

1. У практически здоровых и имеющих основную стоматологическую патологию лиц оценить биохимические процессы в полости рта при искусственно спровоцированном алкалозе (тестовая карбамидная кривая рН), выявить их особенности.
2. У практически здоровых и имеющих основную стоматологическую патологию лиц оценить биохимические процессы в полости рта при употреблении в пищу алкалогенных продуктов (сыр, орехи) и жевательной резинки, их взаимосвязь с изменениями водородного показателя.
3. У практически здоровых лиц с разным характером питания сравнить локальные изменения рН в полости рта под влиянием тестовой стимуляции ротовой микрофлоры ацидогенным и алкалогенным субстратами.
4. На основе выявленных у обследованных закономерностей определить критическое значение изменений рН в щелочную сторону.
5. С учетом роли нарушений КЩР в патогенезе кариеса зубов и воспалительных заболеваний пародонта обосновать методы диагностики с помощью тестовых кривых рН в ПР таких нарушений и профилактики основных стоматологических заболеваний.

**Научная новизна исследования и его результатов**

В работе впервые детально изучены изменения ряда биохимических показателей РЖ в связи с изменением КЩР в ПР в сторону алкалоза под влиянием тестовой стимуляции ротовой микрофлоры карбамидом и алкалогенными пищевыми продуктами. Выявлены различия этих показателей у практически здоровых, имеющих множественный кариес зубов (МКЗ) и ВЗП пациентов.

Впервые изучены показатели состояния КЩР в ПР с помощью тестовых сахарозной и карбамидной кривых рН у лиц, различающихся привычным характером питания.

Впервые в экспериментальном исследовании обосновано существование критического значения рН РЖ при её защелачивании, при котором происходит увеличение её агрегативных свойств.

Показана возможность использования тестовой стимуляции уреазопозитивной аммиак-продуцирующей микрофлоры ПР и значение тестовой карбамидной кривой рН в ранней диагностике нарушений КЩР и опосредованной диагностике местного дисбиоза.

На основе новых данных предложены методы профилактики изменений КЩР в ПР в щелочную сторону под влиянием физиологических и патологических процессов.

**Практическая значимость**

Обосновано практическое использование тестовой карбамидной кривой рН РЖ для опосредованной диагностики нарушений микробиоценоза и микробной метаболической активности в ПР.

Для патогенетически обоснованной профилактики кариеса зубов и ВЗП рекомендовано изучение показателей тестовых сахарозной и карбамидной кривых рН РЖ.

Для сохранения КЩР в ПР и профилактики основных стоматологических заболеваний предложены индивидуализированные способы коррекции питания.

Установлена нерациональность привычного питания современного человека с точки зрения поддержания КЩР в ПР.

Показано, что избыток в рационе питания белковой или растительной пищи провоцирует стойкие нарушения КЩР в ПР, что следует учитывать при коррекции питания стоматологам, диетологам и специалистам по питанию.

**Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены и используются в Стоматологической поликлинике ТГМУ, на кафедрах пародонтологии, терапевтической стоматологии, а также на кафедре биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава России в диагностическом и лечебном процессах, в обучении студентов. Эти результаты представлены в учебнике для студентов медицинских ВУЗов «Патологическая физиология» под редакцией профессоров А.И. Воложина и Г.В. Порядина, а также в учебном пособии для студентов стоматологических факультетов «Биохимия тканей полости рта» в соавторстве с профессором Ю.Н. Боринским и В.В. Жигулиной. Эти издания имеют гриф УМО.

**Основные положения, выносимые на защиту**

1. При усилении алкалоза в РЖ существует критическое значение рН=7,9, превышение которого приводит к увеличению её агрегативных свойств и риска образования твёрдых зубных отложений.
2. Алкалогенные пищевые продукты провоцируют в ПР обратимые нарушения КЩР, которые могут усугублять воспалительные заболевания пародонта.
3. Сложившийся характер питания современного человеканерационален с точки зрения поддержания КЩР в ПР.

**Личный вклад автора в работу**

Диссертантом проведено планирование исследования, разработаны индивидуальные карты обследования. Самостоятельно проведен анализ литературных источников и подготовлен обзор литературы. Проведено экспериментальное и клинико-лабораторные исследования, математическая и статистическая обработка результатов. Проведен анализ полученных результатов. На основании исследований сделаны выводы и разработаны практические рекомендации. Авторский вклад в написание научных работ по теме диссертации – около 90%.

**Степень достоверности полученных результатов**

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием современных методов контролируемого клинического стоматологического и биохимического исследований, реализованных в строго отобранных группах добровольцев-мужчин стандартной возрастной группы ВОЗ. Использованы методы планирования числа исследований и адекватной статистической обработки полученных результатов.

**Апробация и внедрение результатов исследования**

Основные результаты исследований доложены на:

- научной конференции «Вопросы интеграции здравоохранения, клиники и теории медицины», Тверь, 2002;

- юбилейной научно-методической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Т.Т. Школяр «Актуальные вопросы научной и педагогической стоматологии», Тверь, 2005;

- научном форуме «Стоматология-2006», Москва, 2006;

- XV Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии», С.-Петербург, 2010;

- межВУЗовской научной конференции с международным участием, Москва, 2009;

- I Межрегиональном инновационном молодежном научном конвенте «Перспективы развития стоматологии», Тверь, 2010;

- научной конференции с международным участием «Стоматология XXI века: актуальные аспекты», Н. Новгород, 2012;

- научно-практической конференции «Современные методы диагностики и лечения основных стоматологических заболеваний», Тверь, 2012;

- межрегиональной с международным участием учебно-методической конференции, Тверь, 2013.

**Публикации**

По теме диссертации опубликованы 21 научная работа, из них 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

**Объём и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы (глава 1), 4 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель содержит 245 источников, из них – 113 отечественных и 132 – зарубежных авторов.

Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 17 рисунков и 25 таблиц. Работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО ТГМА Минздрава России и одобрена Этическим комитетом ТГМА.

**ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для решения поставленных задач была сформирована программа исследования, согласно которой было проведено 3 этапа клинических и клинико-лабораторных исследований.

Целью первого этапа исследований являлось изучение изменений ряда биохимических показателей в ПР (РЖ и ЗН) под влиянием тестовой стимуляции ротовой микрофлоры раствором карбамида (мочевины) у разных групп обследуемых: практически здоровых, больных ВЗП и имеющих МКЗ. То есть, были изучены изменения биохимических показателей на фоне тестовой карбамидной кривой рН в ПР. Кроме того, к этому этапу было добавлено исследование in vitro для проверки выдвинутой нами гипотезы о существовании «критического щелочного значения» рН РЖ.

Целью второго этапа являлась сравнительная оценка изменений биохимических показателей РЖ в ПР у тех же групп обследуемых под влиянием одноразового употребления тестовых порций алкалогенных пищевых продуктов (сыра, орехов) и жевательной резинки с ксилитолом и ментолом при контроле с жеванием парафина.

Третий этап исследований был посвящен сравнительной оценке показателей тестовых карбамидных кривых рН РЖ, зубного и ЯН у лиц, отличающихся характером привычного питания: у пациентов с обычным смешанным питанием, с преобладанием белковой пищи и у вегетарианцев.

**Дизайн исследований**

*Серия исследований 1.* Изучение биохимических показателей РЖ после тестовой стимуляции изменений рН РЖ в щелочную сторону (карбамидная кривая). РЖ забирали у практически здоровых добровольцев, больных с клинически выраженными ВЗП и у пациентов с МКЗ.

Для получения карбамидной кривой в РЖ и ЗН использовали тестовый раствор карбамида (ротовая ванночка 15 мл 8% раствора карбамида в течение 30 секунд). После тестовой стимуляции раствором карбамида в течение 1 часа изучали в РЖ: рН, содержание карбамида и аммиака, ионизированного кальция и фосфатов, активность уреазы. Рассчитывали коэффициент «карбамид / аммиак». Определяли рН ЗН в наиболее типичных местах образования твёрдых зубных отложений.

*Серия исследований 1.1* Изучение *in vitro* зависимости концентрации ионизированного кальция в РЖ от ее рН.

Определяли концентрацию ионизированного кальция в РЖ практически здоровых добровольцев при искусственном изменении её реакции от 7,1 до 9,1 ед. рН.

*Серия исследований 2*. Изучение действия ряда алкалогенных пищевых продуктов и жевательной резинки на рН РЖ и перечисленные выше её биохимические показатели. Показатели сравнивали у практически здоровых добровольцев, больных ВЗП и с МКЗ.

Употребление тестовых доз алкалогенных продуктов и жевание резинки: твердый сыр «Чеддер» (10 г); грецкие орехи (10 г); жевательная резинка с ксилитолом и ментолом (2 г, «Xylitol», Lotte Confectionery, Южная Корея).

*Серия исследований 3*. Изучение тестовых стимулированных изменений рН РЖ, зубного и ЯН в кислую и щелочную стороны у практически здоровых пациентов с разным характером питания (обычное смешанное, с избытком белковой пищи и вегетарианцы).

В соответствии с задачами исследования его провели с участием добровольцев, распределенных в 6 групп. Им были подробно разъяснены цель и задачи исследования. Каждый подписал добровольное информированное согласие на участие в исследовании и использование полученных данных в научной работе.

В исследовании участвовали только взрослые мужчины средней возрастной группы ВОЗ: 35 – 44 лет (табл. 1).

 Таблица 1

**Численность и краткая характеристика групп добровольцев,**

**участвовавших в исследовании**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Серии исследований | Группы добровольцев-мужчин | Численность групп (n) | Краткая характеристика групп |
| *Первая.* Изучение биохимических показателей РЖ после тестовой стимуляции изменений рН РЖ в щелочную сторону.*Вторая*. Изучение действия алкалогенных пищевых продуктов и жевательной резинки на рН РЖ и ее биохимические показатели. | Практически здоровые | 48 | Практически здоровые, КПУ<8, без заболеваний пародонта и слизистой оболочки ПР, обычное смешанное питание |
| С воспалительными заболеваниями пародонта | 26 | Имеющие гингивит или пародонтит, КПУ<8, без заболеваний слизистой оболочки ПР, обычное смешанное питание |
| С множественным кариесом зубов | 21 | КПУ>10, без заболеваний пародонта и слизистой оболочки ПР, обычное смешанное питание |
| *Третья.* Изучение тестовых стимулированных изменений рН РЖ, зубного и ЯН в кислую и щелочную стороны у практически здоровых пациентов с разным характером питания | «О» | 80 | Обычное смешанное питание, КПУ<8, без заболеваний пародонта и слизистой оболочки ПР |
| «Б» | 42 | Преимущественно белковая пища, КПУ<8, без заболеваний пародонта и слизистой оболочки ПР |
| «В» | 40 | Вегетарианцы, КПУ<8, без заболеваний пародонта и слизистой оболочки ПР |
| Всего | 6 | 257 | – |

 Для оценки стоматологического статуса проводили клиническое обследование добровольцев в условиях стоматологических кабинетов. Интенсивность кариеса зубов оценивали с помощью индекса КПУ. Состояние тканей пародонта – с помощью индексов РМА и пародонтального индекса (ПИ). При наличии заболеваний пародонта по ортопантомограммам оценивали степень резорбции костной ткани межальвеолярных перегородок. Всего провели 37 таких рентгенологических исследований.

Определение *содержания карбамида, аммиака и активности уреазы* в РЖ проводили с помощью наборов «Мочевина-витал» (С.-Петербург, Россия) для определения мочевины в биологических субстратах уреазным фенол-гипохлоритным методом.

Определение *содержания аммиака* в РЖ проводили вышеописанным методом, но без использования реагента № 1. При этом в образцах ротовой жидкости первоначально определяли содержание аммиака, и только после этого – карбамида. О содержании карбамида в ротовой жидкости судили после вычитания ранее определенного в ней количества аммиака, чтобы избежать ошибки. Такая ошибка могла быть обусловлена первоначальным наличием аммиака в исследуемом образце, который также участвовал в реакции при определении карбамида.

*Коэффициент «карбамид/аммиак*» определяли путем деления показателей количественного содержания в РЖ карбамида и аммиака. Этот коэффициент характеризует соотношение в РЖ количественного содержания мочевины и аммиака и, опосредованно – активность уреазопозитивной микрофлоры в ПР, ферментирующей карбамид с помощью фермента уреазы.

*Активность уреазы* изучали с помощью тех же наборов «Мочевина-витал» по разработанной нами оригинальной методике, на которую оформлена заявка на патент.

*Ионизированный кальций* в РЖ определяли с помощью биохимического анализатора с ионоселективными электродами «IMS-972 Popular».

*Неорганические фосфаты* в РЖ определяли фотометрическим методом по фосфорно-молибденовому комплексу синего цвета. Поглощение этого комплекса прямо пропорционально концентрации фосфата, и может быть измерено фотометрически при длине волны 340 нм.

*Состояние кислотно-основного равновесия* в ПР определяли путём изучения рН РЖ и локального рН зубного и ЯН без стимуляции и после стимуляции ротовой микрофлоры тестовыми растворами сахарозы или карбамида.

рН РЖ определяли сразу после её сплевывания пациентом в специальную кювету. Локальный рН ЗН определяли в трех разных точках: в области контактных поверхностей верхних первых и вторых моляров (зубы 1.7 – 1.6 и 2.6 – 2.7), а также на контактных поверхностях нижних первых и вторых резцов (зубы 3.2 – 3.1, 4.1 – 4.2). Полученные в каждой зоне измерения данные усредняли. Выбор участков изучения рН ЗН объясняется тем, что верхние моляры и нижние резцы в наибольшей степени омываются РЖ, поскольку в непосредственной близости от них открываются протоки крупных слюнных желез.

рН ЯН определяли у каждого испытуемого в 3 точках по средней линии спинки языка: примерно в 1 см от кончика, посередине спинки и ближе к корню. Полученные значения также усредняли.

Использовали микропроцессорный рН-метр модели «6219» (США). рН РЖ оценивали с помощью комбинированного стеклянного электрода, а локальный рН на поверхностях зубов определяли с помощью внутриротовых рН-чувствительных электродов «Beetrode»® (World Precision Instruments, Inc., США) с диаметром рабочей части 0,1 мм и длиной 2 мм. Эти электроды через компенсатор «Bee-Cal» соединяли с рН-метром.

Для опосредованной оценки метаболической активности ротовой микрофлоры и, в частности, зубного налета *in situ* использовали тестовую стимуля-
цию микрофлоры растворами 47% сахарозы и 8% карбамида. Стимуляцию проводили путем полоскания рта 15 мл одного из этих растворов в течение 30 с. До стимуляции, а также в течение 60 мин после неё определяли рН РЖ, зубного и ЯН в перечисленных выше зонах. В результате получали тестовые сахарную (Стефана) и карбамидную кривые. По разнице между начальным и экстремальным значениями рН (минимальным в сахарной и максимальным в карбамидной кривой) рассчитывали амплитуды тестовых кривых рН (А). Их величины опосредованно говорили о выраженности кислото- или аммиак-продуцирующей активности ротовой микрофлоры (РЖ), зубного или ЯН.

Кроме того, рассчитывали такие показатели, как угловые коэффициенты анакроты (Ка) и катакроты (Кк) кривых, длительность этих участков кривых (Та и Тк) и показатель интенсивности критического изменения рН (S).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием методов математической статистики на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ «Statistica for Windows».

**РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Результаты изучения динамики биохимических показателей в полости рта при искусственно спровоцированном алкалозе**

**(тестовая карбамидная кривая рН)**

*У практически здоровых добровольцев* изменения рН РЖ в тестовой карбамидной кривой происходили в щелочную сторону и характеризовались амплитудой со средним значением 0,51±0,133 ед. рН, которое фиксировали на 20 мин после стимуляции (рис. 1). В течение 40 – 60 мин наблюдали возврат значений рН к исходному уровню.

Максимальное содержание карбамида зафиксировано к 10 мин. Существенным было увеличение содержания аммиака в РЖ на 10 мин после стимуляции – в 2,8 раза больше, чем до стимуляции.

Показатели содержания ионизированного кальция и фосфатов в РЖ изменялись слабо. При этом максимум изменений наблюдался к 20 мин после стимуляции. Содержание кальция в среднем уменьшилось на 38,8%, а фосфатов – на 69,5%.

*У больных ВЗП* начальное среднее значение рН РЖ было ниже, чем у здоровых в среднем на 0,16 ед. рН. Тестовая стимуляция раствором карбамида вызывала увеличение водородного показателя с максимумом на 10 мин после стимуляции. Однако амплитуда тестовой карбамидной кривой рН была существенно больше – 0,81 ед. рН.



*Рис. 1 Изменения рН ротовой жидкости у обследованных практически здоровых добровольцев после стимуляции тестовым раствором карбамида*

Показатели

Увеличение содержания карбамида в РЖ к 10 мин после стимуляции составило в среднем 15,7%. Среди обследованных этой группы также наблюдалось снижение содержания в РЖ ионизированного кальция и фосфатов. По показателю кальция оно составило в среднем 29,4%, а по показателю фосфатов – 32,6%.

*У пациентов с МКЗ* отмечено низкое среднее значение рН РЖ до стимуляции (6,73±0,191 ед. рН). Это говорит о недостаточных минерализующих свойствах смешанной слюны. Амплитуда тестовой карбамидной кривой у пациентов с МКЗ оказалась равной в среднем 0,59 ед. рН.

Увеличение содержания карбамида в РЖ на 10 мин после стимуляции составило в среднем 19,0%, а аммиака – 63,9%. Коэффициент «карбамид / аммиак» уменьшился к 10 мин исследования в среднем на 28,2%. Активность уреазы к 20 мин исследования возросла в среднем в 1,7 раза.

У пациентов с МКЗ после стимуляции раствором карбамида наблюдалось увеличение содержания в РЖ ионизированного кальция и фосфатов. По кальцию такое увеличение к 30 мин исследования составило в среднем 65,5%. А по фосфатам – 31,7% к 20 мин после стимуляции.

Таким образом, динамика биохимических показателей в ПР при стимуляции раствором карбамида отличается у практически здоровых и имеющих основную стоматологическую патологию лиц. Тестовую карбамидную кривую рН РЖ можно использовать для опосредованной диагностики нарушений микробиоценоза в ПР и контроля микробного метаболизма ротовой биопленки. Спровоцированные изменения КЩР в ПР в щелочную сторону увеличивают минерализующий потенциал РЖ у пациентов с МКЗ, что можно использовать с целью профилактики у них дальнейшего прогрессирования кариеса зубов. У практически здоровых и больных хроническими ВЗП содержание ионизированного кальция и фосфатов, наоборот, снижается, что нельзя считать положительным явлением.

**Изменения водородного показателя зубного налета *in situ* в типичных местах образования твёрдых зубных отложений**

Результаты этого исследования у практически здоровых добровольцев, больных ВЗП и МКЗ приведены в табл. 2.

При анализе таблицы прежде всего следует отметить статистически достоверное (р<0,05) различие между значениями водородного показателя в зонах измерения у практически здоровых, больных ВЗП и пациентов с МКЗ. Если у здоровых средние показатели рН находились в районе 6,49–6,67 ед., то при ВЗП они были практически нейтральными (7,02–7,18 ед.). При МКЗ, наоборот, – реакция была смещена в кислую сторону до 6,2–6,23 ед.

Во всех группах пациентов отмечено заметное увеличение среднего значения рН, которое у практически здоровых не поднималось выше 7,61, у пациентов с МКЗ – выше 7, а у больных ВЗП оно было максимальным и достигало в среднем 8,82–8,93 ед. рН. При этом амплитуда тестовых кривых рН ЗН у больных ВЗП почти в 2 раза превышала аналогичное значение у практически здоровых пациентов и в 2,2–2,6 раза – у пациентов с МКЗ. Эти данные говорят о том, что у больных ВЗП имеется риск минерализации мягкого ЗН с образованием твёрдых зубных отложений.

 Таблица 2

**Показатели тестовых карбамидных кривых рН зубного налёта**

**у добровольцев** (M±m, n)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Зоны измерения в области межзубных промежутков зубов: | рН до стимуляции(рНi,ед.рН) | После стимуляции  |
| Длительность анакроты (Тa, мин) | Максимальное значение рН (рНw,ед.рН) | Амплитуда кривой (А, ед.рН) |
| Практически здоровые, n=48 |
| 17-16, 26-27 | 6,49±0,324 | 12,3±0,23 | 7,43±0,268 | 0,94±0,213 |
| 32-31, 41-42 | 6,67±0,307 | 10,9±0,20 | 7,61±0,277 | 0,94±0,227 |
| С воспалительными заболеваниями пародонта, n=26 |
| 17-16, 26-27 | 7,02±0,402 | 6,7±0,37 | 8,82±0,362 | 1,80±0,303 |
| 32-31, 41-42 | 7,18±0,385 | 6,0±0,34 | 8,93±0,360 | 1,75±0,294 |
| С множественным кариесом зубов, n=21 |
| 17-16, 26-27 | 6,23±0,421 | 14,5±0,48 | 6,91±0,388 | 0,68±0,328 |
| 32-31, 41-42 | 6,27±0,406 | 15,8±0,45 | 7,06±0,380 | 0,79±0,312 |

Таким образом, проведенное исследование подтверждает наличие высокого риска минерализации ЗН у лиц с ВЗП в тканях пародонта под влиянием ферментируемых уреазопозитивной микрофлорой субстратов. В качестве таких субстратов могут выступать алкалогенные пищевые продукты, а также постоянное присутствие в РЖ избытка азотсодержащих соединений.

**Изучение *in vitro* влияния рН ротовой жидкости на содержание в ней ионизированного кальция**

При добавлении в пробирки с образцами свежесобранной РЖ, полученной от практически здоровых добровольцев, раствора аммиака, исследовали содержание в них ионов кальция. При изменении рН РЖ в щелочную сторону на 0,8 ед. (от 7,1 до 7,9 ед.) наблюдалось медленное снижение концентрации этих ионов, составляющее, соответственно, 30,8% и 34,8%.

После этого дальнейшее увеличение рН РЖ, как и до этого, слабо влияет на концентрацию ионов. Так, при дальнейшем увеличении рН РЖ на 1,0 ед. (от 8,1 до 9,1 ед.) концентрация ионов кальция уменьшается в среднем на 32,8% (рис. 2). Однако при дальнейшем увеличении рН всего на 0,2 ед. (от 7,9 до 8,1 ед.) отмечалось резкое уменьшение концентрации ионов кальция – на 26,5%.



*Рис. 2 Влияние рН ротовой жидкости практически здоровых добровольцев на содержание в ней ионизированного кальция в исследовании in vitro*

Таким образом, в РЖ существует критическое щелочное значение рН, превышение которого может способствовать резкому увеличению её агрегационных свойств и образованию твёрдых зубных отложений.

**Результаты изучения биохимических показателей в полости рта при однократном употреблении алкалогенных продуктов питания**

**и жевательной резинки**

*Разжевывание сыра* провоцировало незначительное смещение реакцииРЖ в щелочную сторону. К 20 мин оно в среднем составило +0,17 ед. рН. В дальнейшем показатель медленно возвращался к начальному значению. *У практически здоровых добровольцев* наблюдалось увеличение содержания карбамида и аммиака, активности уреазы, снижение содержания ионизированного кальция и фосфатов.

*У больных ВЗП* мы также наблюдали увеличение значений водородного показателя. Однако оно было более выраженным и составило в среднем +0,36 ед. рН, что было более, чем в 2 раза больше, чем в предыдущей группе обследованных.

Особенностью биохимических изменений в РЖ *у пациентов с МКЗ* под влиянием употребления сыра «Чеддер» оказалось выраженное увеличение содержания ионов кальция и фосфатов. Этот феномен можно рассматривать как положительный, поскольку он свидетельствует об увеличении минерализующих свойств РЖ, что важно для профилактики кариеса.

После употребления в пищу тестовых порций *грецких орехов* *у практически здоровых пациентов* отмечалось увеличение рН РЖ к 10 мин наблюдения в среднем на +0,28 ед. Сохранялась и тенденция увеличения содержания карбамида и аммиака.

*У больных ВЗП* наблюдалось увеличение водородного показателя в среднем 0,26 ед. рН. Незначительно увеличилось содержание карбамида (в среднем на 7,2%), а также аммиака (на 28,3%).

*У пациентов с МКЗ* сдвиг реакции РЖ в щелочную сторону оказался также незначительным и составил в среднем +0,23 ед. рН. При этом водородный показатель даже не достиг нейтрального значения. Если содержание ионизированного кальция в РЖ увеличилось в среднем на 25,5%, то содержание фосфатов к 10 мин резко возросло в 2,3 раза, а затем также резко упало почти к начальным значениям. И это явилось наиболее ярким отличием динамики показателей в этой группе.

В первые минуты *жевания резинки* *у здоровых пациентов* отмечалось заметное увеличение значений водородного показателя. К 10 мин оно составило в среднем +0,58 ед. рН. А затем достаточно быстро снижалось, уже через час достигнув начального значения. Содержание карбамида в РЖ также слабо увеличивалось (в среднем на 9,9%) к 10 – 20 мин. Зато более заметно увеличилось содержание в РЖ аммиака. На 10 мин оно было в среднем в 1,9 раза больше, чем в начале исследования.

Таким образом, разжевывание жевательной резинки практически здоровыми добровольцами вызывало существенное, но кратковременное изменение реакции РЖ в щелочную сторону. Оно сопровождалось бурным увеличением содержания аммиака, слабым повышением содержания ионов кальция и снижением содержания фосфатов.

*У больных ВЗП* рН РЖ существенно увеличивался. Амплитуда кривой рН с максимумом на 10 мин составила 0,96 ед. рН. Такое повышение рН почти в 2 раза превышало таковое у практически здоровых добровольцев.

*У пациентов с МКЗ* употребление жевательной резинки провоцировало у кратковременное (10 – 30 мин) увеличение рН РЖ в ПР. Это можно рассматривать, как положительное, с точки зрения профилактики кариеса зубов, но временное изменение КЩР в ПР.

Известно, что *парафин* практически не оказывает никакого влияния на ротовую микрофлору и может только способствовать увеличению саливации. В сравнительном исследовании с разжевыванием парафина рН РЖ слабо увеличивался к 10 мин исследования: в среднем на 0,09 ед. рН, содержание карбамида – на 2,1%, аммиака – на 2,2%, активности уреазы – на 12,1% (р<0,05), ионов кальция – на 4,9% и фосфатов – на 2,7%. Все эти изменения кроме показателя активности уреазы оказались статистически недостоверными (р>0,05).

**Результаты изучения влияния разного характера питания на кислотно-щелочной баланс в полости рта у практически здоровых добровольцев**

У добровольцев, которые регулярно употребляли пищу *с избытком животных белков*, рН РЖ был несколько смещён в щелочную сторону (7,3–7,34). В подгруппе вегетарианцев, наоборот – в кислую сторону (6,65–6,68, р<0,0001).

У лиц, в рационе которых преобладала белковая пища, среднее значение амплитуды кривой рН оказалось на 29,3% меньше (р<0,0001), что говорит о снижении у них в ПР суммарной активности кислотопродуцирующей микрофлоры.

Наоборот, *в подгруппе вегетарианцев* обнаружено увеличение среднего значения амплитуды на 44,8% (р<0,0001), что свидетельствует об усилении микробной кислотопродукции. Более того, минимальное значение рН в тестовой сахарозной кривой рН у них опускалось ниже критического значения (6,2), когда в РЖ начинается распад мицелл и она утрачивает свою реминерализующую функцию. Таким образом, при наличии на поверхностях зубов участков с ацидогенным микробным налетом, вегетарианцы имеют риск развития кариеса зубов.

У пациентов *с обычным смешанным питанием* среднее значение тестовой карбамидной кривой рН РЖ было близко к эталонному (0,61±0,018), у добровольцев с преобладанием в рационе питания животной белковой пищи этот показатель был на 34,4% больше (р<0,0001). То есть у них в ПР суммарная активность аммиак-продуцирующей микрофлоры повышена.

При изучении *рН зубного налёта* оказалось, что его средние значения у практически здоровых добровольцев во всех подгруппах находились в диапазоне от 6,51 до 6,82. При избытке в питании белковой пищи рН ЗН был на 2,7% выше, а у вегетарианцев на 2,0% ниже, чем при обычном смешанном питании (р<0,05).

Амплитуда *тестовой сахарозной кривой рН* имела максимальное значение у добровольцев с обычным смешанным питанием. Меньше – у вегетарианцев (р<0,001). Минимальное её значение отмечено у пациентов с избыточным белковым питанием. В усредненной тестовой сахарозной кривой рН значение водородного показателя опускалось ниже критического (5,5), что говорило о возможном риске развития кариеса зубов.

При анализе основных показателей *тестовых карбамидных кривых рН* ЗН оказалось, что различия между подгруппами выражены менее заметно, чем в случае с сахарозными кривыми рН. Среднее значение амплитуды кривой при избытке белковой пищи превышало таковое при обычном смешанном питании на 35,8%, а у вегетарианцев оно было на 16,4% меньше (р<0,0001).

Изучение *рН язычного налета* у обследованных с обычным смешанным питанием реакция ЯН была слегка смещена в кислую сторону (6,86 – 6,88). При избытке белковой пищи рН ЯН до какой-либо стимуляции был слабощелочным (7,31 – 7,34). А вот у вегетарианцев среднее значение рН налета оказалось минимальным (6,48 – 6,49).

Максимальное значение амплитуды тестовой сахарозной кривой рН ЯН было обнаружено при обычном смешанном питании (1,30±0,128, табл. 5.5). На 16,2% меньше оказалось значение показателя у вегетарианцев и на 34,6% меньше при питании с избытком белковой пищи (р<0,0001).

Наиболее высокой из всех подгрупп обследованных скорость микробной кислотопродукции была при обычном смешанном питании. А самое минимальное значение углового коэффициента катакроты кривой рН выявлено при избытке в рационе питания белковой пищи (р<0,0001).

Полученные данные позволили оценить роль ЯН в изменениях и регуляции КЩР в ПР у практически здоровых добровольцев.

**ВЫВОДЫ**

1. Динамика биохимических показателей в ПР при стимуляции раствором карбамида отличается у практически здоровых и имеющих основную стоматологическую патологию лиц. Умеренные изменения КЩР в ПР в щелочную сторону увеличивают минерализующий потенциал РЖ у пациентов с МКЗ. У больных ВЗП под влиянием ферментируемых уреазопозитивной микрофлорой субстратов на поверхностях зубов развивается локальный алкалоз, который может способствовать минерализации зубного налета.
2. Алкалогенные пищевые продукты (сыр, орехи) и жевательная резинка с сахарозаменителем провоцируют в ПР обратимые нарушения КЩР, которые у практически здоровых и имеющих МКЗ пациентов являются функциональными, но у больных ВЗП могут приводить к локальным необратимым нарушениям, выражающимся в минерализации зубного налета с образованием твердых зубных отложений.
3. У лиц, отличающихся привычным характером питания, имеются стойкие изменения КЩР в ПР. При обычном смешанном питании выявлено компенсированное смещение КЩР в сторону слабого ацидоза, что при наличии других предрасполагающих факторов может приводить к риску развития кариеса зубов.

При избыточном употреблении в пищу белковых продуктов имеется системно обусловленное компенсированное смещение КЩР в ПР в щелочную сторону, опасное в плане развития ВЗП.

У вегетарианцев имеется стойкое смещение КЩР в ПР в сторону ацидоза, обусловленное высокой метаболической активностью ацидогенной и низкой – аммиак-продуцирующей микрофлоры, что может являться фактором риска развития кариеса зубов.

1. В РЖ существует критическое значение рН=7,9, при превышении которого за счет распада мицелл резко увеличиваются ее агрегативные свойства и риск образования твердых зубных отложений в локальных зонах алкалоза.
2. Для профилактики основных стоматологических заболеваний (кариеса зубов и ВЗП) необходима ранняя диагностика нарушений КЩР в ПР с помощью тестовых сахарозной и карбамидной кривых рН РЖ. При выявлении таких нарушений требуется научно обоснованная коррекция питания, включающая оптимизацию привычного питания и сбалансированное употребление продуктов с ацидогенным и алкалогенным потенциалом в ПР.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Стимуляцию ротовой микрофлоры карбамидом и тестовую карбамидную кривую рН РЖ необходимо использовать для опосредованной диагностики нарушений микробиоценоза в ПР и контроля метаболизма микробной биопленки в этой зоне с целью ранней профилактики и лечения основной стоматологической патологии – кариеса зубов и ВЗП.
2. Лицам, имеющим высокую активность ацидогенной ротовой микрофлоры и, следовательно, риск развития кариеса зубов, целесообразно чаще употреблять в пищу алкалогенные пищевые продукты (сыр, орехи и др.), а также использовать жевательную резинку с сахарозаменителями, ментолом или карбамидом.
3. Лицам с высокой активностью аммиак-продуцирующей микрофлоры ПР и имеющим ВЗП следует после употребления алкалогенных пищевых продуктов употреблять нейтральные, слабокислые напитки или фрукты.
4. В рационе привычного питания современного человека должно быть меньше ацидогенных пищевых продуктов. Оно должно быть сбалансировано с точки зрения потенциальной ацидо- или алкалогенности в ПР. Избыток в рационе питания белковой или растительной пищи провоцирует стойкие нарушения КЩР в ПР, что следует учитывать при коррекции питания стоматологам, диетологам и специалистам по питанию.

**СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Румянцев В.А., Митрофанов В.И., **Наместникова И.В.**, Закуленкова Е.М. Оценка действия в полости рта жевательных резинок и конфет (Клинико-лабораторное исследование), Губернские медицинские вести (Тверь), 2002, том 5, № 5, С. 42 – 49.
2. **Наместникова И.В.**, Румянцев В.А., Слюсарь Н.Н., Подгорный Г.Н. Влияние жевательной резинки «Орбит» на уровень кальция и неорганического фосфата в слюне / «Вопросы интеграции здравоохранения, клиники и теории медицины», Тверь, ТГМА, ОКБ, 2002, С. 208 – 210.
3. **Наместникова И.В.**, Румянцев В.А., Подгорный Г.Н., Декутович Г.В. Изменение уровня кальция, неорганического фосфата, соотношения кальций/фосфат и рН в смешанной слюне под влиянием употребления жевательной резинки «Orbit» / Актуальные вопросы научной и педагогической стоматологии: материалы юбилейной научно-методической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Т.Т. Школяр; под ред. проф. В.А. Румянцева и А.Ж. Петрикаса.- Тверь, ООО «Издательство «Триада», 2005, 152 с., С. 43 – 44.
4. Румянцев В.А., Крылов С.С., Наместникова И.В., Громова С.Н., Кстенина-Кузнецова Е.Н. Кальций и фосфаты в смешанной слюне детей после использования зубных паст / Актуальные вопросы научной и педагогической стоматологии: материалы юбилейной научно-методической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Т.Т. Школяр; под ред. проф. В.А. Румянцева и А.Ж. Петрикаса, Тверь: ООО «Издательство «Триада».- 2005, 152 с., С. 146 – 148.
5. **Румянцев В.А., Наместникова И.В., Митрофанов В.И., Закуленкова Е.М. Комплексная оценка действия жевательных резинок и конфет в полости рта / Стоматология, 2005, Том 84, № 2, С. 29 – 35.**
6. Румянцев В.А., Громова С.Н., **Наместникова И.В.** Контролируемая гигиена с зубной пастой «Жемчужная» в регуляции кислотно-щелочного и минерального баланса в полости рта / Материалы VIII ежегодного научного форума «Стоматология-2006», М., ЦНИИС, 2006, 383 с., С. 104 – 107.
7. Румянцев В.А., **Наместникова И.В.**, Громова С.Н., Зубцов В.А. Нанокластерный минеральный комплекс с сахарозаменителем «Стевиозид» в профилактике кариеса зубов / Сборник тезисов докладов участников II Международного форума по нанотехнологиям 6 – 8.10.2009, М., Роснано, 728 с., С. 627 – 629.
8. Румянцев В.А., Громова С.Н., **Наместникова И.В.** Влияние зубной пасты «Жемчужная – комплексная защита» на реминерализацию эмали зубов у 10-летних школьников / Актуальные вопросы теоретической и прикладной медицины (Ежегодный сборник научно-практических работ), Тверь, Фактор, 2009, 304 с., С. 283 – 284.
9. Зубцов В.А., Румянцев В.А., Есаян Л.К., **Наместникова И.В.** Противокариозное действие минерального нанокластерного комплекса с сахарозаменителем «Стевиозид» (Экспериментальное исследование) / XV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии», 17 – 19.05.2010, С.-Петербург, 2010, 224 с., С. 82 – 83.
10. Румянцев В.А., Беляев В.В., Зубцов В.А., Колобаева Е.А., Андрусенко М.С., **Наместникова И.В.**  Влияние жевательных резинок с сахарозаменителями на кислотно-щелочной баланс в полости рта: двойное слепое исследование / Верхневолжский медицинский журнал (Тверь), 2010, том 8, № 3, С. 24 – 26.
11. Зубцов В.А., Румянцев В.А., **Наместникова И.В.**, Есаян Л.К. Влияние сахарозаменителя «Стевиозид» в составе минерального нанокластерного комплекса на кариес зубов (Экспериментальное исследование) / Современные проблемы гигиены, общественного здоровья и здравоохранения (Материалы межВУЗовской научной конференции с международным участием), М., 2009, МГМСУ, С. 129 – 131.
12. Зубцов В.А., **Наместникова И.В.**, Есаян Л.К., Барагемян А.А., Ктянц Н.А. Экспериментальное изучение влияния сахарозаменителя «Стевиозид» в составе минерального нанокластерного комплекса на кариес зубов у крыс / Перспективы развития стоматологии (Материалы I Межрегионального инновационного молодежного научного конвента), Тверь, 2010, 79 с., С. 36 – 38.
13. **Румянцев В.А., Беляев В.В., Зубцов В.А., Есаян Л.К., Наместникова И.В. Сахарозаменитель стевиозид в жевательной резинке: сравнительное двойное слепое контролируемое исследование / Стоматология, 2011, том 90, № 1, С. 18 – 21.**
14. Есаян Л.К., Закарян А.В., Румянцев В.А., **Наместникова И.В.**, Зюзькова Е.Д., Леонова С.О. Состояние кислотно-основного равновесия в полости рта при общесоматических заболеваниях / 58-я Межвузовская студенческая научная конференция, стоматологическая секция (Материалы конференции), Тверь, 2012, 84 с., С. 37 – 40.
15. Боринский Ю.Н., Жигулина В.В., **Наместникова И.В.** Биохимия тканей полости рта (Учебное пособие для студентов стомат. ф-ов), (Гриф УМО), Тверь, ТГМА, 2011, 159 с.
16. Румянцев В.А., **Наместникова И.В.**, Есаян Л.К., Бруй Е.Д., Леонова С.О. Кислотно-основное равновесие в полости рта при хронических соматических заболеваниях / Стоматология XXI века: актуальные аспекты (Сборник научных трудов с международным участием, посв. 20-летию кафедр терапевтической и ортопедической стоматологии), Н. Новгород, НижГМА, 2012, с. 355, С. 265 – 275.
17. Есаян Л.К., Румянцев В.А., Зюзькова Е.Д., Леонова С.О., **Наместникова И.В.**, Закарян А.В. Изменения кислотно-основного равновесия в полости рта при общесоматических заболеваниях / Современные методы диагностики и лечения основных стоматологических заболеваний (Сборник работ областной научно-практической конференции), Тверь, РИЦ ТГМА, 2012, 109 с., С. 31 – 35.
18. **Румянцев В.А., Есаян Л.К., Зюзькова Е.Д., Леонова С.О., Наместникова И.В. Нарушения кислотно-основного равновесия в полости рта при общесоматической патологии / Стоматология, 2013, том 92, № 2, С. 22 – 26.**
19. Жигулина В.В., **Наместникова И.В.**, Ожимкова Е.В. Некоторые аспекты вегетарианского питания / Методические аспекты преподавания вопросов профилактики заболеваний и формирования навыков здорового образа жизни: теория и практика (Материалы межрегиональной с междунар. участием учебно-методической конференции), Тверь, РИЦ ТГМА, 2013, 170 с., С. 54 – 57.
20. Румянцев В.А., **Наместникова И.В.**, Шлепова А.И., Галочкина А.Б., Афоненкова В.С. Динамика биохимических показателей ротовой жидкости при искусственном алкалозе в полости рта / Стоматолог-практик (Москва), 2015, № 2, С. 40 – 43.
21. **Наместникова И.В.**, Румянцев В.А., Закарян А.В., Балаян Э.Г. Изменения водородного показателя ротовой жидкости при употреблении в пищу алкалогенных продуктов / Обозрение. Стоматология (Н. Новгород), 2015, № 2, С. 22 – 24.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ВЗП – воспалительные заболевания пародонта МЗП – межзубные промежутки

ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь ПР – полость рта

ДЖ – десневая жидкость РЖ – ротовая жидкость (смешанная

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт слюна)

ЗН – зубной налет ЯН – язычный налет

КЩР – кислотно-щелочное равновесие