
РОЛЬ КАЛЬЦИЙ-РН-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

И.В. Николаев, Е.О. Ландесман,

Е.В. Степанова, О.В. Королева

Учреждение РАН Институт биохимии им. А.Н. Баха
Ленинский проспект, д. 33, строение 2, Москва, Россия, 119071

Л.Н. Колобкова

21-е лечебно-консультативное отделение
6-я городская больница
ул. Новая Басманная, 26, Москва, Россия, 107066

А.Н. Селезнев, С.А. Козлов

Кафедра нервных болезней МГМСУ
Лечебный факультет
ул. Десятская, 20/1, Москва, Россия, 127473

В.С. Булгаков

Кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний РУДН
Медицинский факультет
ул. Миклухо-Макля, 8, Москва, Россия, 117198

Проведено сравнительное исследование динамики рН, концентрации кальция и неорганического фосфата в смешанной слюне при тестовых нагрузках у лиц со здоровым пародонтом, кариесвосприимчивых и с сочетанием кариеса и воспалительных заболеваний пародонта. Выявлена тесная взаимосвязь динамики изучаемых параметров как при сахарной, так и при карбамидной нагрузках. Показана роль дисгомеостаза неорганического фосфата в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта.

Проблема патологии пародонта занимает на сегодняшний день ведущее место в исследованиях стоматологического профиля [1, 2]. Несмотря на огромный арсенал средств медикаментозной терапии, физиотерапевтических методик и гигиенических мероприятий, ставших во многом рутинными, продолжается неуклонный рост частоты воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП), а также не удается создать эффективные стратегии лечения данной патологии [3]. В связи с этим особое значение приобретает дальнейшее исследование этиологии и патогенеза ВЗП, выявление индивидуальных значимых факторов с целью подбора эффективной персонифицированной схемы лечения и профилактики.

Одним из важнейших факторов патогенеза ВЗП, особенно при современном образе жизни городского населения, является хроническое психоэмоциональное напряжение (ХПЭН), запускающееся нарушением цикла «сон — бодрствование», режима питания, вредными привычками, рабочими перегрузками, неблагоприятными экологическими факторами [4, 5, 6]. В ответ на ХПЭН развивается реакция стресс-адаптации, определяемая психологическими свойствами личности и состоянием вегетативной нервной системы [7]. В условиях хронического воздействия неблагоприятных факторов происходит истощение физиологического адаптационного резерва, приводящее к развитию симптомов вегетативной дисфункции

и нейроэндокринным нарушениям. Последние, в свою очередь, опосредуют системные и местные изменения метаболизма и при этом наиболее подвержены данному воздействию ткани с плотной иннервацией и кровоснабжением. Таким образом, вся ротовая полость, включая ткани пародонта и слюнные железы, является мишенью воздействия ХПЭН на организм человека [4, 8].

Вегетативная дисфункция выражается в симпатико- и парасимпатикотонии с тенденцией к преобладанию последней, что приводит к изменению микроциркуляторного русла и показателей коагуляции, нарушению секреторной активности слюнных желез, активации перекисного окисления липидов, индукции лизосомальных ферментов, интенсификации гликолиза, снижению энергетического потенциала клеток, ослаблению колонизационной резистентности тканей пародонта, что, в конечном счете, находит отражение в изменении базовых биохимических показателей ротовой полости — кислотно-основного состояния (КОС) и кальций-фосфорного равновесия (КФР) [9, 10].

Основным параметром КОС полости рта является рН слюны, который в норме варьирует в пределах от 6,86 до 7,50 [11]. В субклинический период ВЗП, когда фоновые показатели рН смешанной слюны (СС) могут еще не выходить за рамки физиологических значений, только с помощью тестовых нагрузок можно выявить, способны ли механизмы компенсации удерживать рН слюны в пределах физиологической нормы или же адаптационные резервы исчерпаны [10]. При этом отклонение рН смешанной слюны может отражать формирующийся дисбаланс микрофлоры ротовой полости, который проявляется в увеличении активности кислотопродуцирующей и уреазопозитивной микрофлоры [10, 12].

Характеристикой КФР ротовой полости является кальций-фосфорное отношение (КФО), которое в норме составляет 0,3—0,4 [13, 14, 15]. КФО равно отношению массовых (г/л) или молярных (М) концентраций кальция и неорганического фосфата в СС, при этом последний способ более предпочтителен, так как характеризует стехиометрию КФР. Концентрация кальция СС в норме варьирует в пределах 0,6—2,8 мМ, неорганического фосфата — 2,9—6,4 мМ [11, 14, 16].

Безусловно, все вышеперечисленные параметры взаимосвязаны, поэтому целью настоящей работы явилось сопоставление динамики рН, концентрации кальция и неорганического фосфата в СС при тестовых нагрузках в группах пациентов со здоровым пародонтом, кариесвосприимчивых, с сочетанием кариеса и воспалительных заболеваний пародонта.

Материалы и методы. Наблюдались 85 женщин, среди которых выделили контрольную группу с интактными зубными рядами и пародонтом (20 человек, средний возраст $24,2 \pm 2,7$ года), группу кариесвосприимчивых (КВ) без патологии пародонта (20 пациентов, средний в возраст $30,7 \pm 8,3$ года) и группу с сочетанным поражением пародонта и кариесом зубов (КВ + ВЗП) — 45 человек (средний возраст $34,8 \pm 9,6$ года, 21 человек — катаральный гингивит, 24 — хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести). Выделение пациентов в группы осуществлялось на основе объективных данных визуального клинического осмотра — пародонтального индекса (ПИ, по Russel A., 1956), папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА, по Parma S., 1960) и индек-

са интенсивности кариеса зубов (КПУ₃). Анамнестические данные о наличии у обследуемых хронических соматических заболеваний не выявлены.

Исследование биохимических параметров слюны включало изучение начальных показателей, а также их динамики при тестовых нагрузках. Сахарную нагрузку проводили с использованием 40% раствора сахарозы, карбамидную — с 7% раствором мочевины по методикам Румянцева В.А. [17, 18]. Сбор проб слюны проводился путем сплевывания в пробирку в количестве 3,5—4,0 мл с 10 утра до 12 часов дня, поскольку в это время суток показатели слюны наиболее стабильны [14].

Измеряли pH СС потенциометрически с помощью портативного и стационарного pH-метров Checkery-Nanna (Германия). Для определения pH десневой жидкости (ДЖ) в месте поражения пародонта использовали градуированную индикаторную бумагу БИО-ЛАР. Концентрации кальция и неорганического фосфата определяли на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 25 (США). Измерение содержания кальция проводилось по поглощению его комплекса с глиоксаль-бис-(2-гидроксианилом) [19]. Концентрацию неорганического фосфата измеряли по методу Чанса, в основе которого лежит восстановление фосфорно-молибденовой кислоты аскорбатом до окрашенных продуктов [20].

Все использованные реактивы имели следующую квалификацию: хч, осч, analytical grade.

Для обработки результатов использовались компьютерные программы: Биостатистика, Origin 6.1, Microsoft Excel XP.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены результаты индексной оценки пародонта и зубных рядов, а также начальные значения биохимических показателей СС в исследуемых группах. Как видно из табл.1, контрольная группа характеризовалась отсутствием кариеса зубов и патологических изменений пародонта, группа КВ — средней интенсивностью кариеса при отсутствии патологии пародонта, группа КВ + ВЗП — средней интенсивностью кариеса и легкой степени тяжести поражения пародонта.

Таблица 1

Данные индексной оценки и начальные значения биохимических показателей слюны в исследуемых группах

Показатель	Группа		
	контроль, n = 20	КВ, n = 20	КВ + ВЗП, n = 45
КПУ(з)	0,3 ± 0,25	8,65 ± 2,24 P < 0,001	9,02 ± 1,40 P < 0,001
РМА, %	0,06 ± 0,05	0,56 ± 0,51	15,89 ± 3,02 P < 0,001
ПИ, баллов	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,63 ± 0,15 P < 0,001
pH	6,85 ± 0,16	6,61 ± 0,21	6,31 ± 0,15 P < 0,05
[Ca ²⁺], mM	1,54 ± 0,12	1,23 ± 0,12	0,94 ± 0,10 P < 0,01
[P _{неорг}], mM	3,88 ± 0,17	4,91 ± 0,28 P < 0,01	5,60 ± 0,42 P < 0,01
КФО	0,34 ± 0,03	0,25 ± 0,03 P < 0,05	0,16 ± 0,02 P < 0,001

Примечание: P — достоверность различий с контрольной группой.

По сравнению с контрольной группой группа КВ характеризовалась достоверным увеличением концентрации неорганического фосфата, что на фоне отсутствия достоверных различий в концентрации кальция приводит к снижению КФО и нарушению реминерализующей функции слюны [16]. В группе КВ + ВЗП происходит статистически достоверное нарастание выраженности этих изменений, кроме того снижается рН и концентрация кальция в СС. Это свидетельствует о единстве ряда патогенетических механизмов нарушения минерального обмена полости рта и неразрывности перехода от кариесвосприимчивости к ВЗП [4]. Вышесказанное подтверждается изменениями со стороны вегетативной нервной системы (ВНС) в условиях ХПЭН, когда в результате суммации эффектов различных неблагоприятных факторов, в силу их длительного последствия и гиперактивации ВНС происходит срыв адаптивных механизмов с развитием дисбаланса вегетативного тонуса [9]. Последнее отражается в изменении секреторной деятельности слюнных желез, что запускает каскад биохимических нарушений гомеостаза полости рта и ведет к нарушению антагонистических взаимоотношений между кислотопродуцирующей и пародонтопатогенной микрофлорой.

Изменение баланса микрофлоры ротовой полости отражается на динамике рН, концентрации кальция и неорганического фосфата при тестовых нагрузках. Как видно из рис. 1, при сахарной нагрузке в результате ферментации углеводов происходит накопление кислых эквивалентов — снижение рН СС. В группе КВ не выявлено достоверных отличий параметров кривых рН, в то время как в случае КВ + ВЗП амплитуда ацидотической кривой достоверно ниже ($P < 0,01$). На фоне снижения рН при сахарной нагрузке в результате активации слюнных желез наблюдается возрастание концентрации кальция с последующим постепенным возвратом к фоновым значениям, при этом время возврата в группе КВ достоверно больше данного показателя в остальных группах ($P < 0,001$). В ответ на активацию слюнных желез в отличие от кальция секреция неорганического фосфата на начальных этапах не изменяется при увеличении объема секретиремой слюны, что приводит к снижению его концентрации (см. рис. 1). В дальнейшем для компенсации сдвига КОС полости рта в сторону ацидоза уровень секреции фосфата возрастает, при этом преимущественно секретирется гидрофосфат-анион (HPO_4^-). При сопоставлении кривых рН и концентрации неорганического фосфата (см. рис. 1) выявляется, что стабилизация концентрации неорганического фосфата в контрольной группе происходит раньше, чем стабилизация рН — 18—22 и 43—48 минут соответственно. В группе КВ стабилизация концентрации неорганического фосфата также опережает стабилизацию рН, но наблюдается на 28—31-й минуте, а в группе КВ + ВЗП стабилизация обоих параметров происходит одновременно. Вышесказанное находит отражение в увеличении степени коррелируемости динамики рН и концентрации неорганического фосфата при сахарной нагрузке: $r^2 = 0,86$ — контрольная группа, $r^2 = 0,93$ — группа КВ, $r^2 = 0,99$ — КВ + ВЗП.

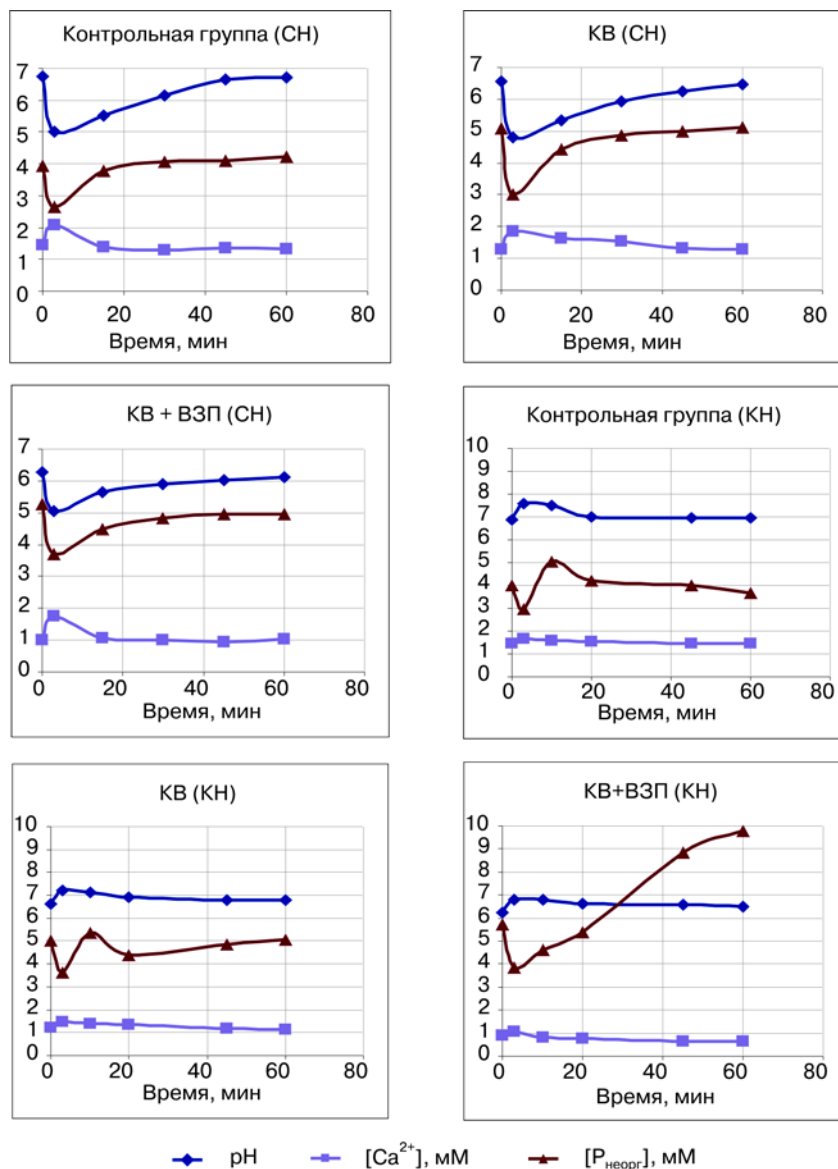


Рис. 1. Динамика рН, концентраций кальция и неорганического фосфата в ротовой жидкости при тестовых нагрузках:
СН — сахарная нагрузка, КН — карбамидная нагрузка

Выявленный опережающий характер стабилизации концентрации неорганического фосфата в СС, по сравнению с рН, позволяет заключить, что фосфатная буферная система слюны преимущественно подключается для коррекции КОС при значениях рН ниже 6,0. В группе КВ + ВЗП фоновые значения рН СС находятся в диапазоне 6,16—6,46, поэтому при сахарной нагрузке роль фосфатной буферной системы возрастает, что является одним из механизмов поддержания более высокой концентрации неорганического фосфата в СС и создает условия для камнеобразования (см. табл. 1).

При карбамидной нагрузке за счет гидролиза мочевины под действием микробной уреазы наблюдается защелачивание СС. Анализ кривых рН при карбамидной нагрузке (см. рис. 1) показывает, что во всех исследуемых группах их амплитуды не имеют достоверных различий, а время возврата рН к начальному уровню в группах КВ и КВ + ВЗП достоверно выше ($P < 0,01$). Значительных изменений концентрации кальция при карбамидной нагрузке не наблюдается, однако корреляция между ее динамикой и рН, в отличие от сахарной нагрузки ($r^2 = -0,73$ — контрольная группа, $r^2 = -0,98$ — КВ, $r^2 = -0,90$ — КВ + ВЗП), из отрицательной трансформируется в положительную — ($r^2 = 0,92$, $r^2 = 0,89$, $r^2 = 0,86$ соответственно).

Характер фосфатных кривых при карбамидной нагрузке резко отличается от зависимостей рН и концентрации кальция, поэтому значимой корреляции не наблюдается. На рис. 1 четко прослеживается фазность фосфатных кривых при карбамидной нагрузке. Фаза начальной катакроты обусловлена возрастанием скорости секреции и объема слюны в ответ на стимуляцию, притом что уровень первоначальной секреции фосфата остается на исходном уровне. Фаза анакроты обусловлена активацией секреции фосфата слюнными железами вследствие развития алкалоза в ротовой полости, при этом преимущественно секретруется дигидрофосфат ($H_2PO_4^-$). В контрольной группе секреция кислого фосфата, проходя через максимум своих значений, постепенно снижается, при этом концентрация неорганического фосфата стабилизируется на уровне фоновых значений. В группе КВ характер временной зависимости концентрации неорганического фосфата сходен с контрольной группой.

В группе КВ + ВЗП вид фосфатной кривой после карбамидной стимуляции резко меняется. Фаза конечной катакроты в группе КВ + ВЗП выявляется на фосфатной кривой в виде изгиба, при этом снижения концентрации фосфата не наблюдается. В фазу стабилизации продолжается дальнейший рост концентрации неорганического фосфата в СС до $9,79 \pm 1,79$ мМ. Карбамид, являющийся субстратом пародонтопатогенной микрофлоры, постоянно поступает в слюну из крови и при увеличении ее активности происходит накопление ионов аммония в СС и поддержание высокой концентрации неорганического фосфата. В сочетании со щелочной реакцией ДЖ в зоне поражения пародонта (рН — 9,0—10,0) и при наличии в слюне ионов магния создаются условия для осаждения фосфата магния аммония, играющего роль центров кристаллизации. В дальнейшем происходит осаждение кальциевых солей и минерализация зубного налета. Таким образом, дисгомеостаз неорганического фосфата на фоне снижения активности ингибиторов кристаллообразования приводит к образованию зубного камня, поддерживающего в дальнейшем воспалительный процесс в пародонте. Подобная роль неорганического фосфата подтверждается преимущественной локализацией зубного камня — это моляры верхней челюсти в проекции выхода протоков околоушных слюнных желез и фронтальный отдел нижней челюсти, что объясняется преимущественной ролью околоушных желез в секреции неорганического фосфата и ионов магния.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод о необходимости коррекции изменений КОС и КФР полости рта при ВЗП, направленной на снижение риска камнеобразования. Желаемый эффект может быть достигнут применением кальций-регулирующих, литолитических и литостатических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Дмитриева Л.А.* Современные аспекты клинической пародонтологии. — М.: МЕД-пресс, 2001.
- [2] *Орехова Л.Ю., Левин М.Я., Софронов Б.Н.* Изучение взаимосвязи воспалительных заболеваний пародонта и основных показателей качества жизни человека // *Материалы 5-го Росс. научного форума «Стоматология 2003.* — М., ЦДХ, 11—14 февраля 2003 г.; 140—143.
- [3] *Цепов Л.М., Лозбенев С.Н.* Психо-вегето-соматические взаимоотношения при патологии пародонта // *Пародонтология.* — 1998. — № 2. — С. 30—33.
- [4] *Цепов Л.М.* Заболевания пародонта: взгляд на проблему. — М.: МЕДпресс-информ, 2006. — С. 192.
- [5] *Дмитриева Т.Б., Воложин А.И.* Социальный стресс и психическое здоровье. — М.: Медгиз, 2001. — С. 237.
- [6] *Аболмасов Н.Н.* Стратегия и тактика профилактики заболеваний пародонта // *Стоматология.* — М., 2003. — № 4. — С. 34—39.
- [7] *Вейн А.М.* Заболевания вегетативной нервной системы. — М.: Медицина, 1991.
- [8] *James T.J., Huges M.A., Cherry G.W. et al.* Evidence for oxidative stress in chronic wounds // *Wound Rep Reg.* — 2003. — N 11. — P. 172—176.
- [9] *Колобкова Л.Н., Николаев И.В., Карлов В.А.* Исследование вегетативного статуса при заболеваниях пародонта // *Сб. научных трудов «Неврология длиной в жизнь».* — М.: Изд-во МГМСУ, 2006. С. 141—148.
- [10] *Румянцев В.А., Петрикас А.Ж.* Кислотно-основное равновесие в полости рта. — Тверь: ТМИК «ВВВ», 1997. — С. 8.
- [11] *Петрищев Н.Н., Орехова Л.Ю.* Клиническая патофизиология для стоматологов. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2002. — С. 110.
- [12] *Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П.* Микрофлора полости рта: норма и патология. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2004. — С. 158.
- [13] *Денисов А.Б.* Слюнные железы. Слюна. Часть 1. 5-е изд., перераб. и доп. — М: Издательство РАМН, 2003. — С. 136.
- [14] *Денисов А.Б.* Слюнные железы. Слюна. Часть 2. Методы моделирования физиологических и патологических процессов. 5-е изд., перераб. и доп. — М.: Издательство РАМН, 2003. — С. 60.
- [15] *Долгих В.Т.* Клиническая патофизиология для стоматолога. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2000. — С. 195.
- [16] *Боровский Е.В., Леонтьев В.К.* Биология полости рта. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2001. — С. 304.
- [17] *Румянцев В.А., Петрикас А.Ж.* Практическое применение в стоматологии стимулированных изменений pH и зубного налета // *Новое в стоматологии.* — 1998. — 7. — С. 36—46.
- [18] *Румянцев В.А.* Кривые pH после стимуляции протеолитической микрофлоры полости рта мочевиной (карбамидом) // *Новое в стоматологии.* — 1998. — 2(62). — С. 29—34.
- [19] *Umland F., Meckenstock K.U.* // *Z. Anal. Chem.* 1960: 176—196.
- [20] *Северин С.Е., Соловьева Г.А.* Практикум по биохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1989.

**ROLE OF CALCIUM-PH-DEPENDENT MECHANISMS
IN PATHOGENESIS OF INFLAMMATORY
PERIODONTAL DISEASES**

**I.V. Nikolaev, E.O. Landesman,
E.V. Stepanova, O.V. Koroleva**

A.N. Bach Institute of biochemistry RAS
Leninsky prospekt, 33, build. 2, Moscow, Russia, 119071

L.N. Kolobkova

Municipal hospital № 6
Novaya Basmannaya str., 26, Moscow, Russia, 107066

A.N. Seleznev, S.A. Kozlov

Department of nervous diseases
Moscow State University of Medicine and Dentistry
Delegatskaya str., 20/1, Moscow, Russia, 127473

V.S. Bulgakov

Chair of propedeutics of Stomatological Diseases
Peoples' Friendship University of Russia
M-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

Comparative investigation of dynamics of pH, concentration of calcium and inorganic phosphate in mixed saliva during testing loads in patients with healthy periodontium, susceptible to caries and with combination of caries with inflammatory periodontal diseases was performed. Close dependency between dynamics of researched parameters was revealed during sugar and urea loads as well. Inorganic phosphate homeostasis role in pathogenesis of inflammatory periodontal diseases was showed.