

УДК: 616.31 +616.36:615.838-032.27

И. И. Билинский, д. т. н., проф.; М. К. Добровольская, к. м. н., доц.;
А. Я. Билинский

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СЛЮНЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС СТУДЕНТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССА

В работе проведено исследование изменения взаимосвязи между уровнем рН и эмалевой резистентностью зубной эмали студентов вследствие стресса. Установлено, что в результате стресса происходит снижение уровня рН слюны, увеличение уровня кортизола и снижение эмалевой резистентности зуба человека. Полученные данные могут лечь в основу составления программы прогнозирования и профилактики психосоматического и стоматологического оздоровления студентов.

Ключевые слова: кариес, слюна, рН слюны, кортизол, стресс.

Введение

В современном мире стресс является неотъемлемой частью жизни. Обучение по болонской системе в высшем учебном заведении предполагает периодические модульные контроли, которые приводят к изменениям психосоматического здоровья студента. Степень таких изменений зависит от эмоциональной устойчивости молодых людей, способности справляться с эмоциональным перенапряжением и умением контролировать негативные эмоции. Согласно данным авторов (Knutsson U., Dahlgren J., Marcus C., 1997), слюна одной из первых реагирует на изменения, происходящие в организме. Стресс активизирует гипоталамус, который продуцирует гормон CRH или кортиколиберин. Гипофиз выделяет гормон АКТГ или кортикотропин, в свою очередь надпочечники продуцируют кортизол, который необходим, чтобы уменьшить стресс, в результате растет уровень кортизола (Safarzadeh E., Mostafavi F., Naghi Ashtiani M. T., 2005). Клеточная мембрана (барьер) слюнных желез не пропускает в слюнные протоки биологические молекулы с молекулярной массой больше 400 Да. Молекулярный вес всех стероидов меньше 400 Да, и в результате только свободные формы стероидов проникают в слюнные протоки (кортизол, тестостерон, эстрадиол и др.). А гормоны, связанные с альбумином или глобулином, не проникают. Уровень кортизола в слюне не зависит от объема и скорости ее выделения, что имеет принципиальное значение при интерпретации результатов [1 – 7].

Целью исследования является установление изменений, происходящих в ротовой полости, во время эмоционального стресса, и определение взаимосвязи между уровнем рН и эмалевой резистентностью зубной эмали путем использования физико-химических методов анализа.

Основная часть

Для оценки кариесогенной ситуации полости рта используют, как правило, химические методы исследования. Определяют рН ротовой жидкости путем использования ленты универсальной индикаторной бумаги стандартной шкалы; уровень гигиены полости рта – по индексам Федорова – Володькиной и GreenVermillion; кислотостойкость эмали – по ТЕР-тесту В. Р. Окушко в модификации Л. И. Косаревой (1984). Для оценки интенсивности окраски протравленной эмали 2%-ым раствором метиленового синего используют 10-балльную шкалу цветов полиграфического исполнения (ГОСТ 2789-73). Для определения уровня кортизола в слюне использовали метод ИФА (иммуноферментный анализ). В норме

концентрация свободного кортизола в слюне подчиняется суточному ритму, достигая максимальных величин в ранние утренние часы. В дневные часы этот показатель снижается до 54 %, а в вечерние – до 89 %, поэтому забор материала проводят между восьмым и десятым часом утра. Для этого используют ватный тампон из пробирки Salivette производства Sarstedt, который после полоскания ротовой полости за 10 минут перед исследованием, избегая любого контакта с руками, помещают в ротовую полость на 2 – 3 минуты.

На сегодняшний день исследования состояния ротовой жидкости проводят с помощью измерительных средств, реализованных на методах масс-спектрометрии, флуоресценции, потенциометрии, люминесценции, интерферометрии, колориметрии и других. Они позволяют определить химический и биологический состав ротовой жидкости, но такие приборы достаточно габаритные, имеют высокую стоимость или требуют большого количества реактивов, у них длительное время анализа [8 – 11].

Одним из современных экспресс-методов исследования ротовой жидкости является метод газоразрядной визуализации (ГРВ). Суть метода заключается во внесении жидкости в переменное (с частотой более 1 кГц) электромагнитное поле с высокой напряженностью (около 20 – 25 кВ / см), вокруг которого появляется свечение, вызванное газовым разрядом между объектом исследования и электродом. Поскольку исследуемый объект является частью электрической цепи, то он влияет на свечение. Таким образом, анализируя изображения разряда, можно определить состояние объекта.

Метод ГРВ нашел применение в медицине для скрининга и мониторинга состояния здоровья, для количественного определения уровня стресса и психофункциональной готовности к выполнению сложной профессиональной деятельности, для изучения свойств жидкостей и материалов. Результаты исследований в большинстве случаев являются субъективными и не дают количественной оценки состояния организма человека. Но проведенные в последние десятилетия исследования позволили выявить физическую сущность процессов ГРВ и создать принципиально новый класс аппаратуры для исследования как биообъектов, так и жидкостно-фазных биообъектов, использующих последние достижения микроэлектроники, компьютерных методов обработки изображений для анализа многопараметрических массивов данных [12].

Диагностические перспективы метода сдерживает отсутствие установленных стандартов как на аппаратуру для создания параметров возгорания разряда (частота сигнала, его форма, напряжение, ток), так и на анализ изображений, поэтому одинаковые эксперименты, проведенные различными исследователями, не всегда однозначно трактуются, что не позволяет оценить состояние исследуемого объекта с высокой достоверностью.

В работе проведено исследование ротовой жидкости как биообъекта методом ГРВ и известными методами. С целью подтверждения адекватности методов разработана система ГРВ для проведения экспериментальных исследований, которая позволяет определить распределение интенсивностей по спектру исследуемого объекта с последующим определением концентрации составляющих в ротовой жидкости. Особенностью такой системы является использование одновременного получения изображений исследуемого и эталонного биообъекта при одинаковых условиях внешней среды и параметрах экспериментальной установки [13].

На рис. 1 показано изображение свечения флираствора и ротовой жидкости.

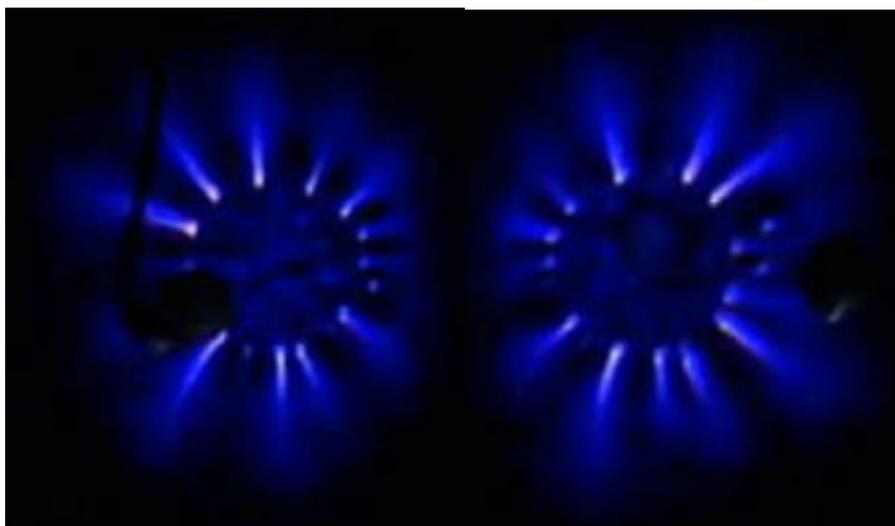


Рис. 1. Изображение ГРВ ротовой жидкости (слева) и физраствора (справа)

Проведенные исследования нуждались в различных системах исследования. Это связано с тем, что в первом случае для анализа использовали изображение свечения ротовой жидкости при ГРВ, а во втором – спектральную интенсивность излучения.

Полученные результаты показывают, что по характеру свечения изображения ротовой жидкости можно судить о ее состоянии на основании соответствующего комплексного критерия, а по спектральной интенсивности излучения – по химическому составу.

Во время сбора слюны больной находился в состоянии относительного покоя, слюна выделялась без каких-либо усилий или стимуляции. Пациенты за час до исследования не употребляли пищу, воду и не использовали зубную щетку или нить. За день до исследования не употребляли алкоголь, не использовали кремы с содержанием глюкокортикоидов. Пациентов с беременностью, острыми инфекционными заболеваниями, тяжелыми соматическими заболеваниями, заболеваниями слизистой оболочки или десны к исследованию не допускали. Количественное определение уровня свободного кортизола в слюне осуществляли методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре типа HART-UV (BioTekInstruments, США). Статистическую обработку результатов, полученных в ходе исследования, проводили с использованием традиционных методов вариационной статистики [14 – 15].

Результаты исследования показали совпадение в пределах 10 – 15 % между показателями состояния ротовой жидкости, полученными с помощью метода ГРВ и общеизвестных методов.

Для исследования было отобрано 36 соматически здоровых студентов стоматологического факультета до сдачи модулей и во время их проведения. Среди них было 19 парней и 17 девушек в возрасте от 17 до 19 лет. Стоматологический статус выясняли с дополнением к карте студента (форма № 025-3/о, утвержденная приказом МОЗ Украины 27.12.99 г. № 302).

Результаты исследования стоматологического статуса показали, что распространенность кариеса зубов у студентов составляла 85,7% при интенсивности процесса 14,6, что является очень высоким показателем. Структура КПВ составляла: К-297, П-193, В-12. При проведении вторичного осмотра структура КПВ не изменилась. Индекс гигиены по Федорову – Володькиной у 37,1 % соответствовал хорошему уровню гигиены полости рта. Удовлетворительный показатель был обнаружен у 28,5 % студентов, у 31,4 % лиц обследованной группы было неудовлетворительное состояние. По индексу GreenVermillion у

48,6 % студентов обнаружен хороший показатель гигиены, в то же время 28,5 % исследовательской группы имели удовлетворительный индекс гигиены. Неудовлетворительная гигиена была у 22,90 % студентов. Студенты были разделены на две исследовательские группы в зависимости от изменения уровня кортизола в слюне под действием стресса (табл. 1). Первую группу составили 68,4 % обследуемых (26 студентов: 15 девушек и 11 юношей), у которых увеличился уровень кортизола слюны (РКС). Вторую группу составили 31,6 % (10 студентов: 2 девушки и 8 юношей), у которых во время стресса РКС увеличился относительно исходных данных, но находился в пределах допустимой нормы.

Таблица 1

Распределение студентов по РКС в состоянии покоя и во время стресса

Уровень кортизола в слюне в 8 – 10 часов утра	Показатель в состоянии покоя			Показатель во время стресса		
	юноши	девушки	Количество, %	юноши	девушки	Количество, %
Норма до <6,65 нг/мл	19	17	100	8	2	31,6
Увеличение показателя > 6,65 нг / мл	-	-	-	11	15	68,4

Первой реакцией на изменения при стресс-синдроме было изменение рН слюны (табл. 2). Результаты исследования показали, что в состоянии относительного покоя в первой группе обследуемых уровень рН ротовой жидкости в пределах нормы (6,8 – 7,4) наблюдался у 76,9 %, в пределах 6,0 – 6,7 был у 23,1 % студентов, уровень ниже 6,0 не был выявлен. Под действием стресса уровень рН в первой группе существенно снизился и соответствовал следующим показателям: в пределах нормы был у 11,5 %, в пределах 6,0 – 6,7 у 57,7 %, и ниже 6,0 у 30,8 % .

Уровень рН второй группы, участники которой были стрессоустойчивыми во время относительного покоя, варьировался следующим образом: в пределах нормы был у 80 %, в пределах 6,0 – 6,7 у 20 % обследуемых. Во время стресса распределение было следующим: в пределах нормы оставался у 60 %, в пределах 6,0 – 6,7 был у 30 % обследуемых, менее 6,0 был только у 10 %.

Таблица 2

Результаты рН слюны

Показатели рН слюны	1 группа (стрессочувствительные)						2 группа (стрессорезистентные)					
	В состоянии покоя			Во время стресса			В состоянии покоя			Во время стресса		
	юноши	девушки	%	юноши	девушки	%	юноши	девушки	%	юноши	девушки	%
Норма (6,8-7,4)	8	12	76,9	2	1	11,5	6	2	80	5	1	60
6,0-6,7	3	3	23,1	6	9	57,7	2	-	20	2	1	30
< 6,0	-	-		3	5	30,8	-	-		1	-	10

Результаты ТЭР-теста показали, что во время относительного покоя в первой группе 38,5 % студентов обладали высокой устойчивостью эмали к воздействию кислот. 46,2 % студентов имели среднюю степень резистентности эмали, и только у 15,3 % обследованных

можно было наблюдать значительно уменьшенную резистентность эмали. Во второй группе стрессорезистентных студентов показатели были следующими: 30 % студентов имели высокую резистентность эмали, у 50 % была средняя степень, и 20 % имели низкую резистентность. С целью определения резистентности эмали при написании модулей была проведена контрольная проба на ТЭР-тест, однако существенных изменений показателя зависимости от стрессовой ситуации не было обнаружено. Показатель эмалевой резистентности между контрольными измерениями не превышал 10 % (табл. 3). Можно было предположить, что изменения стоматологического статуса наступают через некоторое время в результате действия длительного стресса.

Таблица 3

Результаты ТЭР-теста

Показатель ТЭР теста	1 группа (стрессочувствительные)						2 группа (стрессорезистентные)					
	В состоянии покоя			Во время стресса			В состоянии покоя			Во время стресса		
	юноши	девушки	юноши	девушки	юноши	девушки	юноши	девушки	юноши	девушки	юноши	девушки
1-3	6	4	38,5	4	3	26,9	1	2	30	-	2	20
4-6	3	9	46,2	4	10	53,9	1	4	50	2	4	60
7-9	2	2	15,3	3	2	19,2	-	2	20	-	2	20

Выводы

В работе проведено исследование ротовой жидкости во время эмоционального стресса путем использования метода ГРВ и сравнение его результатов с результатами известных методик химического анализа. Полученные результаты показали взаимосвязь между уровнем рН и эмалевой резистентностью зубной эмали. Установлено, что дезадаптация психоэмоционального состояния, снижение стрессоустойчивости и сам стресс негативно влияют на здоровье студентов, что сопровождается снижением уровня рН слюны, увеличением РКС и снижением эмалевой резистентности зуба. Исследуемые с низким уровнем стресс-резистентности имеют пониженную реактивность организма и, соответственно, требуют диспансерного наблюдения, обследованные с высоким уровнем КПВ требуют санации ротовой полости и проведения санитарно-просветительной работы с ними.

Полученные данные могут лечь в основу составления программы прогнозирования и профилактики психосоматического и стоматологического оздоровления студентов. Также метод ГРВ может быть использован как экспресс-метод исследования состояния ротовой жидкости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Содержание кортизола в слюне у здоровых детей / В. Г. Пинелис, Е. Н. Арсеньева, Я. Е. Сенилова [и др.] // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2009. – Т. 1, № 1. – С. 49 – 52.
2. Возрастная динамика и референсные интервалы тиреоидных гормонов и кортизола у здоровых школьников / В. В. Ботвиньева, Э. Э. Карапетян, А. С. Балабанов [и др.] // Вопросы диагностики в педиатрии. 2009. – Т. 1, № 4. – С. 24 – 27.
3. Salivary cortisol, a biological marker of stress, is positively associated with 24-hour systolic blood pressure in patients with acute ischaemic stroke / N. Ahmed, B. de la Torre, N. G. Wahlgren // Cerebrovasc Dis. – 2004. – №18 (3). – P. 206 – 213.
4. Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke / A. Armario, O. Marti, T. Molina [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 1996. – № 21 (1). – P. 17 – 24.

5. Salivary cortisol levels throughout childhood and adolescence: relation with age, pubertal stage, and weight / W. Kiess, A. Meidert, R. A. Dressendorfer [et al.] // *Pediatr. Res.* – 1995. – V. 37, № 4. – P. 502 – 506.
6. Circadian cortisol rhythms in healthy boys and girls: relations hip with age, growth, body composition, and pubertal development / U. Knutsson, J. Dahlgren, C. Marcus [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – V. 82, № 2. – P. 536 – 540.
7. Sex specific differences in physiological response to stresse valuated by means of salivary cortisol / G. Maina, A. Palmas, M. Bovenzi [et al.] // *G. Ital. Med. Lav. Ergon.* – 2007. – V. 29, № 3. – P. 359 – 361.
8. Determination of salivary cortisol in healthy children and adolescents / E. Safarzadeh, F. Mostafavi, M. T. Naghi Ashtiani // *ActaMedicaIranica.* – 2005. – V. 43, № 1. – P. 32 – 36.
9. Автоматизированный электрохемилюминесцентный метод определения кортизола в слюне для диагностики эндогенного гиперкортицизма среди пациентов с ожирением [Электронный ресурс] / Ж. Е. Белая, А. В. Ильин, Г. А. Мельниченко [и др.] // *Ожирение и метаболизм.* – 2011. – № 2. – С. 56 – 63. – Режим доступа: <https://www.google.com.ua/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewizrPTfxLDUAhWhFZoKHTdSBpsQFgg-MAM&url=https%3A%2F%2Fendojournals.ru%2Findex.php%2Fomet%2Farticle%2Fdownload%2F4954%2F2812&sg=AFQjCNFu8skik8fGadFY7ObqhZI1soNwYg&sig2=Hpe4dnqyWlt8alW9-dqexg>.
10. Назаренко Г. И. Профессиональная медицина, лабораторная диагностика / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун // Издательство: Медицина. – 2006. – 543 с. – ISBN: 5 225-04579-0.
11. Лебедев А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. – БИНОМ, 2003. – 493 с.
12. Білінський Й. Й. Дослідження характеристик ГРВ зображень рідиннофазних об'єктів / Й. Й. Білінський, О. А. Павлюк // *Вісник Вінницького політехнічного інституту.* – 2011. – № 5. – С. 178 – 183. – ISSN 1997-9266.
13. Bilynskyy J. J. The Research of the Gas Glow Spectra of the Liquid-phase Object Discharge Visualization / J. J. Bilynskyy, O. A. Pavliuk // *Modern problems of radio Engineering, telecommunications, And computer science Proceedings of the International Conference TCSET'2014.* – Lviv, 2014. – P. 715. – ISBN 978-617-607-556-1.
14. Громбах С. М. О критериях оценки состояния здоровья детей и подростков / С. М. Громбах // *Вестник АМН СССР.* – 1981. – № 1. – С. 29 – 34.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

Билинский Иосиф Иосифович – д. т. н., профессор, заведующий кафедрой электроники и наносистем.

Винницкий национальный технический университет.

Добровольская Марианна Константиновна – к. м. н., доцент, стоматологический факультет, кафедра терапевтической стоматологии.

Билинский Александр Ярославович – ассистент кафедры терапевтической стоматологии.

Ужгородский национальный университет.