

# ВЫЯВЛЕНИЕ РАННЕГО КАРИЕСА ПО ПАРАМЕТРАМ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И КРИСТАЛЛОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ТКАНЕЙ ЗУБА

УДК 616.314-002-074  
Поступила 06.02.2014 г.



**О.В. Красникова**, к.б.н., старший преподаватель кафедры общей химии;  
**О.А. Рунова**, аспирант кафедры пропедевтической стоматологии;  
**А.С. Гордецов**, д.х.н., профессор, зав. кафедрой общей химии;  
**Л.Н. Казарина**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтической стоматологии

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

**Цель исследования** — оценка возможностей изучения изменений показателей кристаллохимического состава тканей зубов, пораженных кариесом (некоторых фосфорсодержащих метаболитов, карбонатов и белков), по данным инфракрасных спектров ротовой жидкости.

**Материалы и методы.** Исследованию подверглись пациенты с различными формами кариеса зубов (n=30) и с интактными зубными рядами (n=30). Ротовую жидкость изучали с помощью метода ИК-спектроскопии. В качестве расчетных ИК-спектроскопических величин выбраны 4 параметра, являющиеся частными от деления высот пиков аналитических полос поглощения фосфатов, карбонатов и белков смешанной слюны друг на друга: P1 — 1070/1017; P2 — 1070/960; P3 — 1070/860; P4 — 1017/860.

**Результаты.** По данным ИК-спектра установлено, что в ротовой жидкости пациентов с различными формами кариеса уменьшается содержание фосфатов и увеличивается содержание карбонатов ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с их уровнем у пациентов с интактными зубными рядами. Отмечено снижение белковой составляющей ротовой жидкости у пациентов с кариесом по сравнению с фосфатами и карбонатами ( $p \leq 0,05$ ).

**Заключение.** Метод ИК-спектроскопии ротовой жидкости позволяет осуществлять раннюю диагностику кариеса у пациентов и может быть использован с целью выявления заболевания, объективизации диагноза, планирования объема стоматологического вмешательства и оценки эффективности результатов лечения.

**Ключевые слова:** инфракрасная спектроскопия; ранняя диагностика кариеса.

## English

## Revealing Early Caries by the Parameters of Oral Fluid Infrared Spectra and Crystal-Chemical Composition of Dental Tissues

**O.V. Krasnikova**, PhD, Senior Teacher, the Department of General Chemistry;  
**O.A. Runova**, Postgraduate, the Department of Propedeutic Stomatology;  
**A.S. Gordetsov**, D.Chem.Sc., Professor, Head of the Department of General Chemistry;  
**L.N. Kazarina**, D.Med.Sc., Professor, Head of the Department of Propedeutic Stomatology

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod,  
Russian Federation, 603005

**The aim of the investigation** is to assess the possibility of studying the changes of crystal-chemical composition indices of tissues of the teeth affected by caries (some phosphor-containing metabolites, carbonates, and proteins) according to infrared spectra (IR-spectra) of the oral fluid.

**Materials and Methods.** Patients with various forms of dental caries (n=30) and with an intact dentition (n=30) were studied. Oral fluid was examined using infrared spectroscopy technique. Four parameters were selected as calculation infrared-spectroscopy values, being quotients of the division of the peak heights of the analytic bands of absorption of phosphates, carbonates and proteins of the mixed saliva by each other: P1 — 1070/1017; P2 — 1070/960; P3 — 1070/860; P4 — 1017/860.

**Для контактов:** Красникова Ольга Владимировна, e-mail: lala-g@yandex.ru

**Results.** According to IR-spectrum data it is estimated, that in the oral fluid of patients with various caries forms the content of phosphates decreases and carbonates increases ( $p \leq 0.05$ ) in comparison with patients with intact dentitions. Reduction of the protein component of the oral fluid in patients with caries compared to phosphates and carbonates is noted ( $p \leq 0.05$ ).

**Conclusion.** IR-spectroscopy of the oral fluid enables early diagnosis of caries and can be used in revealing the disease, objectivizing the diagnosis, planning the extension of stomatological intervention, and evaluation of the efficacy of treatment.

**Key words:** infrared spectroscopy; early diagnosis of caries.

Для своевременного выявления и предупреждения развития кариеса, наиболее распространенного заболевания человечества [1, 2], необходим комплекс эффективных диагностических методов, позволяющих обнаружить заболевание на начальных стадиях и минимизировать его влияние на организм [3].

В практической стоматологии существует значительное количество методов диагностики кариеса, основанных на визуальном определении дефекта эмали, использовании волоконной оптики в виде направленного пучка света, проходящего под углом к поверхности зуба, а также рентгенологический метод оценки объема поражения [4, 5]. Задачи современной медицины — создание способов диагностики, снижающих травматичность воздействия на пациента, упрощающих процедуру обследования и повышающих точность постановки диагноза. В настоящее время достаточно хорошо изучено морфологическое и кристаллохимическое строение зуба [6, 7]. Установлено, что в эмали, построенной из апатитопроизводных и незначительного количества органических веществ, на уровне элементарных ячеек кристаллов осуществляются интенсивные ионные замещения составляющих их минеральных компонентов [8, 9]. Элементы кристаллической решетки апатитов способны обмениваться с ионами раствора, окружающего кристалл, и изменяться за счет ионов, находящихся в этом растворе. Это свойство апатитов делает их высокочувствительными к ионному составу ротовой жидкости, крови и межклеточной жидкости [9, 10]. Сам процесс обмена элементов кристаллической решетки протекает в несколько этапов с разной скоростью.

Нормальное строение и функционирование эмали поддерживается за счет динамического равновесия процессов деминерализации и реминерализации, непрерывно происходящих между тканями зуба и ротовой жидкостью. При возникновении условий для нарушения этого равновесия превалирует процесс деминерализации [10], что, по современным представлениям, лежит в основе возникновения и развития кариозного процесса [6–8]. Симптомом раннего кариеса является очаговая деминерализация эмали [3, 6, 10]. Однако наряду с процессами деминерализации в пораженных тканях в поверхностном слое активно идут процессы реминерализации, протекающие с разной интенсивностью. Знание этих процессов позволяет использовать для диагностики кариеса новые неинвазивные методы.

Последние десятилетия характеризуются интенсивным внедрением в практику новейших физико-химических методов анализа, в первую очередь — спектральных. Успешно применяются методы

атомно-адсорбционной спектроскопии, плазменной фотометрии, спектроскопии в инфракрасной и ультрафиолетовой областях электромагнитного спектра. Люминесцентная и рамановская спектроскопия, рентгеноспектральный анализ, метод ядерного магнитного резонанса и некоторые другие находятся на стадии практического освоения [4, 11–13].

Одной из задач медико-биологических исследований, решаемых с помощью инфракрасной спектроскопии, является установление эмпирической взаимосвязи между характерными особенностями спектров (положение и интенсивность полос поглощения) биологических объектов и патологическими процессами, происходящими в организме или отдельных органах.

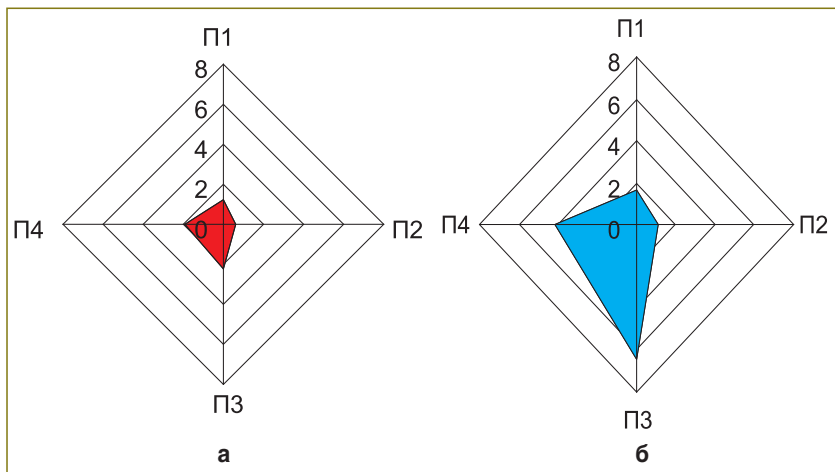
Исследованию ИК-спектров биологических жидкостей и тканей посвящено немало работ [11–15]. Спектрофотометрическое изучение секрета слюнных желез при кариесе зубов мы встретили лишь в одной работе [16], что обуславливает необходимость дальнейших исследований в этой области.

**Цель исследования** — оценка возможностей изучения изменений показателей кристаллохимического состава тканей зубов, пораженных кариесом (некоторых фосфорсодержащих метаболитов, карбонатов и белков), по данным инфракрасных спектров ротовой жидкости.

**Материалы и методы.** Исследованию подверглись 60 человек: 30 пациентов с интактными зубными рядами (1-группа, контрольная) и 30 пациентов с различными формами кариеса зубов (2-я группа, сравнения). Диагноз был установлен клинически.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено Этическим комитетом НижГМА. От каждого пациента получено информированное согласие.

Исследование выполняли с помощью метода ИК-спектроскопии ротовой жидкости [10]. Забор материала осуществляли путем сбора нестимулированной слюны в пробирку в количестве 2–3 мл утром натощак. Далее ротовую жидкость высушивали в течение двух дней при комнатной температуре. Образец готовили в виде суспензии в вазелиновом масле. Регистрацию спектров поглощения выполняли на спектрофотометре Specord IR-75 (Carl Zeiss, Германия) в диапазоне волновых чисел 1100–800  $\text{см}^{-1}$ . В качестве расчетных ИК-спектроскопических величин выбраны 4 параметра, являющихся частными от деления высот пиков аналитических полос поглощения фосфатов, карбонатов и белков смешанной слюны друг на друга [9, 11, 12]:



Дифференциально-диагностические профили: а — «нормы» (контрольная группа) и б — «кариеса» (группа сравнения)

П1 — 1070/1017; П2 — 1070/960; П3 — 1070/860; П4 — 1017/860.

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $m$  — стандартное отклонение. Достоверность различий средних значений определяли по  $t$ -критерию Стьюдента, используя поправку Бонферони. Парные внутригрупповые и межгрупповые сравнения средних определяли также по критериям Вилкоксона и Манна–Уитни. Выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** На основании рассчитанных параметров ИК-спектров ротовой жидкости пациентов группы контроля и группы сравнения построены дифференциально-диагностические профили «нормы» и «кариеса» (см. рисунок).

Рисунок отчетливо демонстрирует, как при заболевании кариесом изменяются очертания профиля, увеличивается его площадь, особенно в направлении параметра П3, изменяются углы сторон периметра. Причем эти изменения напрямую зависят от степени тяжести кариозного процесса: они наиболее выражены у пациентов с тяжелыми формами кариеса. Эти и другие изменения легко фиксируются специальными компьютерными программами, с помощью которых делается объективный вывод о состоянии пациента.

В работах [9, 11, 12] показано, что полосы поглощения  $1070 \text{ см}^{-1}$  соответствуют колебаниям карбоната-иона,  $1017 \text{ см}^{-1}$  — колебаниям незамещенного фосфат-иона,  $960 \text{ см}^{-1}$  — колебаниям разупорядоченного фосфат-иона,  $860 \text{ см}^{-1}$  — колебаниям коллагена (органической составляющей тканей зуба).

В настоящем исследовании в группе пациентов с кариесом зубов отмечено увеличение значений параметров П1 и П2 ИК-спектров слюны, т.е. частное от деления высоты пика поглощения  $1070 \text{ см}^{-1}$  на высоты пиков поглощения  $1017$  и  $960 \text{ см}^{-1}$  увеличивается,

а значит, в ротовой жидкости этих пациентов уменьшается содержание фосфатов и увеличивается содержание карбонатов ( $p \leq 0,05$ ). Эти результаты согласуются с данными исследований о биохимических превращениях кристаллов гидроксипатита в тканях зуба при кариозном процессе [13], в которых отмечено уменьшение структурной упорядоченности, кристалличности гидроксипатита в тканях зуба, концентрации ионов кальция и содержания фосфора, а также выявлены обратные взаимосвязи между содержанием фосфат-ионов и карбонат-ионов.

Установлено также увеличение значений параметров П3 и П4 ИК-спектров слюны пациентов группы сравнения, т.е. отмечается снижение

белковой составляющей ротовой жидкости по сравнению с фосфатами и карбонатами ( $p \leq 0,05$ ), что находит подтверждение в работах [9, 11], в которых на основе рассчитанных характеристик рамановских спектров зубной ткани отмечено снижение органической составляющей по сравнению с минеральной фазой.

Полученные данные свидетельствуют о том, что возникновение кариозного процесса в зубе приводит к изменению количественного состава компонентов ротовой жидкости, а именно меняется соотношение фосфатов, карбонатов и белков. Причем характер этого изменения соответствует степени тяжести кариозного процесса. Интересно отметить, что получение дифференциально-диагностического профиля «кариеса» позволяет диагностировать болезнь в более ранние сроки, нежели при визуальном обследовании.

**Заключение.** Метод ИК-спектроскопии ротовой жидкости позволяет осуществлять раннюю диагностику кариеса у пациентов и потому может быть использован с целью выявления заболевания как на начальных, так и на поздних стадиях развития для объективизации диагноза, планирования объема стоматологического вмешательства и последующей оценки эффективности лечения.

**Финансирование исследования и конфликт интересов.** Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

#### Литература

1. Окушко В.Р. Легенда о кариесной инфекции. Новое в стоматологии 2003; 1: 41–42.
2. Окушко В.Р. Кариесная болезнь. Новое в стоматологии 2003; 6: 10–15.
3. Базин А.К., Железный П.А., Мелентьева Е.Г. Инновационный подход в лечении кариеса зубов на стадии деминерализации. Журнал экспериментальной и клинической медицины 2006; 1, 2: 181–183.
4. Рогацкий Д.В., Гинали И.В. Искусство рентгенографии зубов. М: STBOOK; 2007; 128 с.

5. Росток Д., Кройча Ю., Кузнецова В. Слюна и кариес зубов: диагностические тесты в зубооральной практике. *Стоматология* 2001; 5: 7–10.

6. Леонтьев В.К., Шестаков В.Т., Воронин В.В. Две модели обоснования этиологии кариеса с позиции системного подхода. *Стоматология* 2001; 6: 15–17.

7. Боровский Е.В. Клинико-морфологическая характеристика кариеса эмали. *Клиническая стоматология* 2005; 4: 65–69.

8. Лукиных Л.М. Достижения и проблемы в профилактике кариеса зубов и заболеваний пародонта. *Институт стоматологии: научно-практический журнал* 2006; 1: 34–36.

9. Павлова Т.В., Бавыкина Т.Ю. Сравнительная оценка минерального состава и ультрамикроструктуры тканей зуба в норме и при кариесе. *Современные наукоемкие технологии* 2009; 12: 15–18.

10. Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U. Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: decomposition and transformation of carbonate groups. *Eur J Mineral* 2005; 17: 769–775, <http://dx.doi.org/10.1127/0935-1221/2005/0017-0769>.

11. Киселева Д.В. Применение рамановской микроспектроскопии для исследования структурных особенностей биогенного апатита. *Ежегодник-2009. Труды ИГГ УрО РАН* 2010; 157: 332–335.

12. Гордеев А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. *Современные технологии в медицине* 2010; 1: 84–98.

13. Tarnowski C.P., Ignelzi M.A. Jr., Morris M.D. Mineralization of developing mouse calvaria as revealed by Raman microspectroscopy. *J Bone MinerRes* 2002; 17(6): 1118–1126.

14. Мандра Ю.В., Ивашов А.С., Вотяков С.Л., Киселева Д.В. Возможности применения рамановской микроспектроскопии для исследования структурных особенностей твердых тканей зубов человека. *Проблемы стоматологии* 2011; 1: 24–28.

15. Сапожников М.А., Шафранский Л.Л. Об ИК-спектроскопическом исследовании эмали и дентина зубов человека. В кн.: *Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы: сборник научных статей*. Алма-Ата; 1980; с. 69–72.

16. Каргаполов А.В., Зубарева Г.М., Микин В.М. Инфракрасная спектрометрия в изучении ротовой жидкости для диагностических целей. *Стоматология* 2009; 5: 7–10.

3. Bazin A.K., Zheleznyy P.A., Melent'eva E.G. Novel approach in dental caries treatment at the stage of demineralization. *Zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny* 2006; 1, 2: 181–183.

4. Rogatskiy D.V., Ginali I.V. *Iskusstvo rentgenografii zubov* [The art of dental radiography]. Moscow: STBOOK; 2007; 128 p.

5. Rostok D., Kroycha Yu., Kuznetsova V. Saliva and dental caries: diagnostic tests in dental practice. *Stomatologia* 2001; 5: 7–10.

6. Leont'ev V.K., Shestakov V.T., Voronin V.V. Two models of caries etiology background in relation to systemic approach. *Stomatologia* 2001; 6: 15–17.

7. Boroyskiy E.V. Clinicopathologic characteristics of enamel caries. *Klinicheskaya stomatologiya* 2005; 4: 65–69.

8. Lukinykh L.M. Advances and problems in the prevention of dental caries and periodontal diseases. *Institut stomatologii: nauchno-prakticheskiy zhurnal* 2006; 1: 34–36.

9. Pavlova T.V., Bavykina T.Yu. Comparative assessment of mineral composition and ultramicrostructure of dental tissues in health and caries. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii* 2009; 12: 15–18.

10. Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U. Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: decomposition and transformation of carbonate groups. *Eur J Mineral* 2005; 17: 769–775, <http://dx.doi.org/10.1127/0935-1221/2005/0017-0769>.

11. Kiseleva D.V. The application of Raman microspectroscopy to study structural features of biogenic apatite. *Ezhegodnik-2009. Trudy IGG UrO RAN* 2010; 157: 332–335.

12. Gordetsov A.S. Infrared spectroscopy of biological fluids and tissues. *Sovremennye tekhnologii v medicine* 2010; 1: 84–98.

13. Tarnowski C.P., Ignelzi M.A. Jr., Morris M.D. Mineralization of developing mouse calvaria as revealed by Raman microspectroscopy. *J Bone MinerRes* 2002; 17(6): 1118–1126.

14. Mandra Yu.V., Ivashov A.S., Votyakov S.L., Kiseleva D.V. Application of Raman microspectroscopy to study structural features of human hard tooth tissues. *Problemy stomatologii* 2011; 1: 24–28.

15. Sapozhnikov M.A., Shafranskiy L.L. Ob IK-spektroskopicheskom issledovanii emali i dentina zubov cheloveka. V kn.: *Aktual'nye voprosy sudebno-meditsinskoj ekspertizy: sbornik nauchnykh statey* [About IR spectroscopic study of human dental enamel and dentin. In: Urgent issues of forensic medical examination: a collection of scientific articles]. Alma-Ata; 1980; p. 69–72.

16. Kargapolov A.V., Zubareva G.M., Mikin V.M. Infrared spectrometry in diagnostic study of oral cavity. *Stomatologia* 2009; 5: 7–10.

## References

1. Okushko V.R. The legend of carious infection. *Novoe v stomatologii* 2003; 1: 41–42.

2. Okushko V.R. Carious disease. *Novoe v stomatologii* 2003; 6: 10–15.