

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ В КЛИНИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ

Рувинская Г.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО "Казанский государственный медицинский университет" Минздрава России, Республика Татарстан, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49 e-mail: [rector@kgmu.kcn.ru](mailto:rector@kgmu.kcn.ru)

Проведен анализ качественного и количественного содержания элементов в ротовой жидкости методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой 48 взрослых пациентов. Установлено, что элементный состав ротовой жидкости представлен следующими металлами: ванадий, железо, молибден, натрий, никель, селен, стронций, сурьма, хром, цинк, кальций, магний, калий. Эти элементы присутствуют в ротовой жидкости в 100% случаев. Мышьяк, барий, кадмий, медь, марганец, никель, свинец, серебро – встречаются от 39,6% до 87,5%. Кобальт не встретился ни в одном из представленных биообразцов. Продемонстрировано, что анализы элементного состава, отражая гемостатические показатели организма, могут быть использованы в стоматологии в качестве неинвазивных методов диагностики. Предложены референтные величины содержания химических элементов в ротовой жидкости.

Ключевые слова: ротовая жидкость, элементный состав, метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, саливадиагностика.

## PROSPECTS OF APPLICATION OF ORAL FLUID MASS SPECTROMETRY METHOD IN CLINICAL DENTISTRY

Ruvinskaya G.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GBOU HBO "Kazan State Medical University" to the Ministry of the RUSSIAN FEDERATION Russia, Republic of Tatarstan, 420012, Kazan, Butlerov str, 49 e-mail: [rector@kgmu.kcn.ru](mailto:rector@kgmu.kcn.ru)

It has been performed the analysis of qualitative and quantitative content of elements in oral liquid by mass-spectrometry method with inductively coupled plasma on 48 adult patients. **It has been established that** elementary composition of oral liquid has the following metals: vanadium, iron, molybdenum, sodium, nickel, selenium, strontium, antimony, chromium, zinc, calcium, magnesium, potassium - are present in the oral liquid in 100% cases. Arsenic, barium, cadmium, copper, manganese, nickel, lead, silver - are found in from 39.6% to 87.5% cases. Cobalt is not found in any of the submitted biological samples. It has been demonstrated that analysis of ultimate composition, reflecting hemostatic parameters of the organism, can be used in dentistry as a noninvasive diagnostic methods. It has been proposed reference values for the chemical elements in oral fluid.

Key words: oral fluid, elemental composition, mass-spectrographic method with inductively coupled plasma, salivary diagnostics.

Ротовая жидкость – это сложный по составу биологический материал, содержащий секрет слюнных желез, десквамированные эпителиоциты, полиморфно-ядерные лейкоциты, микроорганизмы, пищевой детрит. На ее состав и свойства влияют различные факторы: общее состояние организма, функциональная активность слюнных желез, вязкость слюны, консистентный состав употребляемой пищи, наличие пищевых остатков, гигиеническое состояние полости рта. Слюна инициирует начальный этап пищеварения, смачивая и размягчая пищу, растворяя химические вещества и воздействуя на них ферментами. Общая концентрация минеральных составных частей в слюне выше, чем в плазме крови, поэтому слюна по отношению к плазме гиперосмолярна [1].

Ротовая жидкость – составная часть внутренней жидкой среды организма, получение которой для исследования в физиологических условиях практически не ограничено, неинвазивно, а результаты информативны в решении диагностических задач многих валеологических проблем. Собрать образцы слюны можно в любое время, именно эта процедура выполняется в условиях, когда забор крови невозможен. Таким образом, слюна может быть альтернативным образцом широко используемой сыворотки крови.

В последние десятилетия исследователями получены данные, выявляющие клинко-диагностический параллелизм изменений параметров метаболизма в крови и ротовой жидкости при ряде заболеваний. При действии различных факторов окружающей среды, с которыми сталкивается человек в современных социально-экологических условиях, большинство функциональных сдвигов в ротовой жидкости носит выраженный адаптивно-компенсаторный характер [2]. Большим достижением являются разработанные экспресс-методы определения беременности, присутствия алкоголя и наркотических веществ в организме по слюне. Саливарные тесты также дают возможность определять биологический возраст человека, отцовство, маркеры некоторых генетических заболеваний.

Известно, что содержание макро- и микроэлементов во внутренних органах и средах определенным образом отражает физиологический статус организма и может служить сигналом наступивших в нем патологических изменений. Именно с этой точки зрения оцениваются сдвиги в содержании ряда микроэлементов в крови при клинических исследованиях [6]. Поддержание постоянства внутренней среды организма предусматривает в первую очередь поддержание качественного и количественного содержания минеральных веществ в тканях органов на физиологическом уровне [5].

Содержание микроэлементов в слюне до настоящего времени изучено недостаточно. Методом хроматографии на бумаге в слюне были обнаружены медь, железо, никель, свинец, молибден, марганец, также проведено детальное изучение содержания железа, марганца, меди [3]. Однако остается неясным, каково качественное и количественное содержание макро- и микроэлементов в слюне, отсутствуют величины допустимого уровня того или иного элемента.

Известно, что метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) комбинирует использование индуктивно связанной плазмы в качестве источника ионов с квадрупольным масс-спектрометром, выступающим в роли масс-анализатора, и дискретно-диодным детектором, который используется для регистрации отдельных ионов и их потоков. Современные приборы ИСП-МС позволяют определять концентрации элементов и отдельных изотопов на уровне от сотых долей -12 до -2 нанограммов до сотен миллиграммов на литр [7]. Высокая чувствительность и избирательность метода позволяет количественно

определять во многих биологических и медицинских объектах и материалах до 40–50 элементов в течение 2–3 мин. Аналитические сигналы обрабатываются программным обеспечением масс-спектрометра, основываясь на построенных калибровочных линейных регрессиях, рассчитанных методом наименьших квадратов, с учетом коррекции фона, сигнала внутренних стандартов, влияния изобарных и полиатомных спектральных наложений. Использование данной методики утверждено главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, первым заместителем Министра здравоохранения РФ Г.Г. Онищенко (29 июня 2003 года N МУК 4.1.1483–03) [4].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение возможности определения качественного и количественного элементного состава ротовой жидкости методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

**Материалом исследования** явились образцы ротовой жидкости 48 взрослых пациентов, различных по возрастно-половому составу, обратившихся в ноябре–декабре 2011 г. в стоматологическую поликлинику Казанского государственного медицинского университета с целью санации полости рта.

**Методы исследования.** Для определения микроэлементов смешанную слюну собирали без стимуляции утром натощак в стерильные градуированные пробирки в количестве 5–10 мл. Далее пробирки с биообразцами ротовой жидкости доставлялись в лабораторию Государственного бюджетного учреждения «Республиканский центр независимой экспертизы и мониторинга потребительского рынка» Республики Татарстан для исследования методом ИСП-МС. Использовался масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500, технические характеристики которого составляют: скорость газового потока через колонку – 1,0–2,0 мл/мин, интервал температур 0–350°C, максимальный внутренний диаметр колонки 0,25–0,53 см, чувствительность до  $10^{-14}$  г.

**Результаты исследования** приведены в таблице 1.

Таблица 1. Концентрация химических элементов в ротовой жидкости

Элемент	Концентрация в ротовой жидкости (n=48), мг/дм <sup>3</sup>
алюминий	0,11±0,04
барий	3,22±0,27

ванадий	0,003±0,002
железо	1,654±0,089
кадмий	0,01±0,01
кобальт	0,00
марганец	0,02±0,001
медь	0,05±0,002
молибден	0,03±0,01
натрий	180,20±12,90
никель	0,04±0,01
селен	0,028±0,003
серебро	0,009±0,002
свинец	0,02±0,01
стронций	0,11±0,01
сурьма	0,016±0,004
хром	0,63±0,02
цинк	3,17±0,42
мышьяк	0,009±0,002
кальций	95,3±6,0
магний	11,5±1,46
калий	1435±62,8

Установлено, что не все элементы встречаются в ротовой жидкости со 100-процентной вероятностью. Ни в одном из исследуемых образцов ротовой жидкости не обнаружен элемент кобальт. Кадмий обнаружен в 22 образцах (45,8%), только в 19 образцах (39,6%) выявлен элемент мышьяк. Свинец и медь выявлены в 24 пробах (50%), а алюминий – в 28 образцах (58%). Барий был обнаружен в 40 образцах (в 83,4%), содержание его составило от 0,004 до 95,3 мг/дм<sup>3</sup>. Серебро и марганец встречались только в 87,5%, т.к. не были обнаружены в 6 пробах.

Известно, что оценку содержания этих элементов в организме проводят по результатам исследования крови, мочи и волос. Кадмий относится к токсичным (иммунотоксичным) микроэлементам, являясь одним из основных поллютантов окружающей среды. Мышьяк – "тиоловый яд": существует достаточно количество

доказательств канцерогенности неорганических соединений мышьяка. Свинец, барий и алюминий также относят к иммунотоксичным элементам. Кадмий, марганец, железо, антациды, танины, аскорбиновая кислота способны снижать усвоение меди. Цинк, железо, кобальт (в умеренных физиологических дозах) повышают усвоение меди организмом. В свою очередь, медь может тормозить усвоение организмом железа, кобальта, цинка, молибдена, витамина А.

Остальные элементы (ванадий, железо, молибден, натрий, никель, селен, стронций, сурьма, хром, цинк, кальций, магний, калий) присутствовали во всех исследуемых образцах.

Ванадий – в количестве  $0,003 \pm 0,002$  мг/дм<sup>3</sup>, однако в одном образце был представлен количеством 1,39 мг/дм<sup>3</sup>. Железо – его содержание составило  $1,654 \pm 0,089$ , встречалась и показания 6,4 мг/дм<sup>3</sup> и 28,4 мг/дм<sup>3</sup>. Молибден во всех исследуемых образцах содержался в постоянном количестве 0,02–0,04 мг/дм<sup>3</sup>. Никель –  $0,04 \pm 0,01$  мг/дм<sup>3</sup>, в одном образце – 3,5 мг/дм<sup>3</sup>. Содержание селена было также практически постоянно и составило  $0,028 \pm 0,003$  мг/дм<sup>3</sup>. Селен антагонист ртути и мышьяка, способен защитить организм от кадмия, свинца, таллия, усиливает иммунную защиту организма, способствует увеличению продолжительности жизни.

Установлено количество стронция в ротовой жидкости, оно составило  $0,11 \pm 0,01$  мг/дм<sup>3</sup>. Известно, что стронций может замещать кальций в ацинарных клетках слюнных желез в механизме выделения в ротовую жидкость, но он не может включаться в механизм накопления вместо кальция. Кальций в ротовой жидкости всех представленных образцов находился в пределах от 50,4 мг/дм<sup>3</sup> до 282 мг/дм<sup>3</sup>. Сурьма во всех образцах содержалась в количестве 0,016 мг/дм<sup>3</sup>. Исключение составил один образец – 0,056 мг/дм<sup>3</sup>. Хром был представлен количеством 0,5–1,3 мг/дм<sup>3</sup>, в двух образцах встретилась концентрация 2,0 мг/дм<sup>3</sup>, 6,0 мг/дм<sup>3</sup> (среднее значение  $0,63 \pm 0,02$ ).

Магний содержался в количестве от 3,5 мг/дм<sup>3</sup> до 42,5 мг/дм<sup>3</sup> (среднее значение  $11,5 \pm 1,46$  мг/дм<sup>3</sup>), элемент цинк – от 0,3 до 10,9 мг/дм<sup>3</sup> ( $3,17 \pm 0,42$  мг/дм<sup>3</sup>). Магний и цинк являются важнейшими внутриклеточными элементами, участвуют в обменных процессах. Тесно взаимодействуя с калием, натрием, кальцием; они являются активатором для множества ферментативных реакций. Дефицит магния в диете, богатой кальцием, обуславливает задержку кальция во всех тканях, что ведет к их обызвествлению. Цинк укрепляет иммунную систему организма и обладает детоксицирующим действием – способствует удалению из организма двуокиси углерода. Усвоению цинка препятствуют медь, марганец, железо и кальций (в больших дозах). Избыточное потребление кальция, фосфатов, жиров (до 70 г в день), алкоголя, кофе (более 2 чашек в день), антибиотиков, медикаментов для лечения опухолей может препятствовать усвоению магния организмом. В

свою очередь, витамины В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, С, D, Е, кальций, фосфор (поступающие в оптимальных количествах), белок, эстрогены способствуют повышению уровня магния в организме.

Количество натрия варьировалось от 67,0 до 486,3 мг/дм<sup>3</sup> (среднее значение 180,20±12,90). Натрий играет весьма важную роль в регуляции осмотического давления и водного обмена, при нарушении которых отмечаются жажда, сухость слизистых оболочек, отечность кожи. Внутри клеток натрий необходим для поддержания нейромышечной возбудимости и работы Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> насоса, обеспечивающих регуляцию клеточного обмена различных метаболитов.

Самые большие концентрации в смешанной слюне были представлены калием – от 628 до 2242 мг/дм<sup>3</sup>. Известно, что содержание калия в плазме крови не отражает величину его общих запасов в организме. Повышение уровня калия в волосах может означать избыточное накопление в организме калия или перераспределение этого элемента между тканями, дисбаланс электролитов или дисфункцию коры надпочечников (перенапряжение симпатoadреналовой системы).

**Заключение.** Таким образом, элементный состав ротовой жидкости представлен следующими металлами: ванадий, железо, молибден, натрий, никель, селен, стронций, сурьма, хром, цинк, кальций, магний, калий – присутствуют в ротовой жидкости в 100% случаев. Мышьяк, барий, кадмий, медь, марганец, никель, свинец, серебро – встречаются от 39,6% до 87,5%. Кобальт не встретился ни в одном из представленных биообразцов.

Полученные данные могут служить основой для создания научно-методической базы значений параметров элементов в ротовой жидкости. Закономерным следующим шагом, раскрывающим перспективы широкого применения саливадиагностики в лабораторной медицине, является разработка параметров, позволяющих судить о проницаемости гемато-саливарного барьера, составление методологических основ лечения стоматологических заболеваний, в генезе которых лежит элементный дисбаланс, а также разработка реабилитационных мероприятий. Результаты проведенной работы свидетельствуют о перспективности использования метода масс-спектрометрии ротовой жидкости как в клинической стоматологии, так и в общей медицине, ибо слюна – информационно-диагностическая модель для дальнейших научных разработок и их практических применений.

### Список литературы

1. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта: учебное пособие / Т.П. Вавилова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.

2. Гильмиярова Ф.Н. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, Е.А. Рыскина и др. // М.: Книга, 2006. – 312 с.
3. Ибрагимова М.Я. Взаимосвязь дисбаланса макро- и микроэлементов и здоровье населения (обзор литературы) / М.Я. Ибрагимова и др. // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 4. – С. 606–609.
4. Методика определения микроэлементов в диагностирующих биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой. Методические рекомендации. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 23 с.
5. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков. – М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
6. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. / А.В. Скальный. – М.: Мир, 2004. – 216 с.
7. Yoko Kishi. The best way to measure the performance of an ICP-MS / Yoko Kishi, Katsu Kawabata // Semiconductor News. Vol. 2. Issue 1. Perkin-Elmer Sciex, 2001. P. 4–5.

**Рецензенты:**

Ямашев Ильгиз Гарифович, доктор медицинских наук, профессор кафедры стоматологии АУ Чувашии «Институт усовершенствования врачей» Минздравсоцразвития Чувашской Республики, г. Чебоксары.

Анохина Антонина Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапевтической, детской стоматологии и ортодонтии ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Казань.