

УДК: 616.31 +616.36:615.838-032.27

**Й. Й. Білинський, д. т. н., проф.; М. К. Добровольська, к. м. н, доц.;**  
**О. Я. Білинський**

## **ЗМІНА БІОХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЛИНИ ТА ЇХ УПЛИВ НА СТОМАТОЛОГІЧНИЙ СТАТУС СТУДЕНТІВ ПІД ДІЄЮ СТРЕСУ**

*У роботі проведено дослідження зміни взаємозв'язку між рівнем рН та емалевою резистентністю зубної емалі студентів унаслідок стресу. Установлено, що внаслідок стресу відбувається зниження рівня рН слини, збільшення рівня кортизолу та зниження емалевої резистентності зуба людини. Отримані дані можуть лягти в основу складання програми прогнозування та профілактики психосоматичного і стоматологічного оздоровлення студентів.*

**Ключові слова:** карієс, слина, рН слини, кортизол, стрес.

### **Вступ**

У сучасному світі стрес є невід'ємною частиною життя. Навчання за болонською системою у вищому навчальному закладі передбачає періодичні модульні контролю, що призводить до змін психосоматичного здоров'я студентів. Ступінь таких змін залежить від емоційної стійкості молодих людей, здатності впоратися з емоційним перенапруженням та вмінням контролювати негативні емоції. Згідно з даними авторів (Knutsson U., Dahlgren J., Marcus S., 1997), слина однією з перших реагує на зміни, які відбуваються в організмі. Стрес активує гіпоталамус, який продукує гормон CRH або кортиколиберин. Гіпофіз виділяє гормон АКТГ або кортикотропін, у свою чергу наднирники продукують необхідний кортизол, щоб зменшити стрес, у результаті зростає рівень кортизолу (Safarzadeh E., Mostafavi F., Naghi Ashtiani M. T., 2005). Клітинна мембрана (бар'єр) слинних залоз не пропускає в слинні протоки біологічні молекули з молекулярною масою більшою за 400 Да. Молекулярна вага всіх стероїдів менша за 400 Да, і в результаті тільки вільні форми стероїдів проникають у слинні протоки (кортизол, тестостерон, естрадіол та ін.). А гормони, пов'язані з альбуміном або глобуліном, не проникають. Рівень кортизолу в слині не залежить від об'єму і швидкості її виділення, що має принципове значення під час інтерпретації результатів [1 – 7].

**Метою дослідження** є встановлення змін, що відбуваються в ротовій порожнині, під час емоційного стресу, та визначення взаємозв'язку між рівнем рН та емалевою резистентністю зубної емалі шляхом використання фізико-хімічних методів аналізу.

### **Основна частина**

Для оцінки карієсогенної ситуації порожнини рота використовують, зазвичай, хімічні методи дослідження. Визначають рН ротової рідини шляхом використання стрічки універсального індикаторного паперу стандартної шкали; рівень гігієни ротової порожнини – за індексами Федорова – Володкіної та GreenVermillion; кислотостійкість емалі – за ТЕР-тестом В. Р. Окушко в модифікації Л. І. Косаревої (1984 р.). Для оцінки інтенсивності забарвлення протравленої емалі 2 %-им розчином метиленового синього використовують 10-бальну шкалу кольорів поліграфічного виконання (ГОСТ 2789-73). Для визначення рівня кортизолу в слині використовували метод ІФА (імуноферментний аналіз). У нормі концентрація вільного кортизолу в слині підпорядковується добовому ритму, досягаючи максимальних величин у ранні ранкові години. У денні години цей показник знижується до 54 %, а у вечірні – до 89 %, тому забір матеріалу проводять між восьмою та десятою годиною

ранку. Для цього використовують ватний тампон із пробірки Salivette виробництва Sarstedt, який після полоскання ротової порожнини за 10 хвилин перед дослідженням, уникаючи будь-якого контакту з руками, поміщають у ротову порожнину на 2 – 3 хвилини.

На сьогодні дослідження стану ротової рідини проводять за допомогою вимірювальних засобів, реалізованих на методах мас-спектрометрії, флуоресценції, потенціометрії, люмінесценції, інтерферометрії, колориметрії та інших. Вони дозволяють визначити хімічний та біологічний склад ротової рідини, але такі прилади є досить габаритними, мають високу вартість або потребують великої кількості реактивів, у них тривалий час аналізу [8 – 11].

Одним із сучасних експрес-методів дослідження ротової рідини є метод газо-розрядної візуалізації (ГРВ). Суть методу полягає у внесенні рідини в змінне (із частотою понад 1 кГц) електромагнітне поле з високою напруженістю (близько 20 – 25 кВ/см), навколо якого з'являється світіння, яке спричиняє газовий розряд між об'єктом дослідження та електродом. Оскільки досліджуваний об'єкт є частиною електричного кола, то він впливає на світіння. Отже, аналізуючи зображення розряду, можна визначити стан об'єкта.

Метод ГРВ знайшов застосування в медицині для скринінгу та моніторингу стану здоров'я, для кількісного визначення рівня стресу і психофункціональної готовності до виконання складної професійної діяльності, для вивчення властивостей рідин і матеріалів. Результати досліджень у більшості випадків є суб'єктивними і не дають кількісної оцінки стану організму людини. Але проведені в останні десятиліття дослідження дозволили виявити фізичну сутність процесів ГРВ та створити принципово новий клас апаратури для дослідження як біоб'єктів, так і рідинно-фазних біоб'єктів, де використано останні досягнення мікроелектроніки, комп'ютерних методів обробки зображень для аналізу багатопараметричних масивів даних [12].

Діагностичні перспективи методу стримує відсутність установлених стандартів як на апаратуру для створення параметрів загорання розряду (частота сигналу, його форма, напруга, струм), так і на аналіз зображень, тому однакові експерименти, проведені різними дослідниками, не завжди однозначно трактують, що не дозволяє оцінити стан досліджуваного об'єкта з високою достовірністю.

У роботі проведено дослідження ротової рідини як біоб'єкта методом ГРВ та відомими методами. Із метою підтвердження адекватності методів розроблено систему ГРВ для проведення експериментальних досліджень, яка дозволяє визначити розподіл інтенсивностей за спектром досліджуваного об'єкта з подальшим визначенням концентрації складників ротової рідини. Особливістю такої системи є використання одночасного отримання зображень досліджуваного та еталонного біоб'єкта за однакових умов зовнішнього середовища та параметрів експериментальної установки [13].

На рис. 1 показано зображення світіння фізрозчину та ротової рідини.

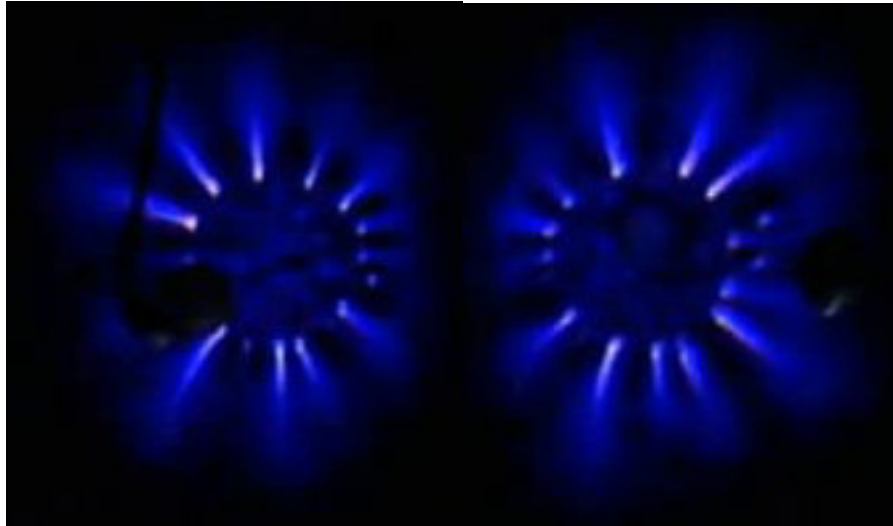


Рис. 1. Зображення ГРВ ротової рідини (зліва) та фізрозчину (справа)

Проведені дослідження потребували різних систем дослідження. Це пов'язано з тим, що в першому випадку для аналізу використовували зображення світіння ротової рідини за ГРВ, а у другому – спектральну інтенсивність випромінювання.

Отримані результати показують, що за характером світіння зображення ротової рідини можна судити про її стан на основі відповідного комплексного критерію, а за спектральною інтенсивністю випромінювання – за хімічним складом.

Під час збору слини хворий перебував у стані відносного спокою, слина виділялася без будь-яких зусиль чи стимуляції. Пацієнти за годину до дослідження не вживали їжу, воду й не використовували зубну щітку чи нитку. За день до дослідження не вживали алкоголю, не використовували креми з вмістом глюкокортикоїдів. Пацієнтів із вагітністю, гострими інфекційними захворюваннями, важкими соматичними захворюваннями, захворюваннями слизової оболонки або ясен до дослідження не допускали. Кількісне визначення рівня вільного кортизолу в слині здійснювали методом імуноферментного аналізу на спектрофотометрі типу HART-UV (BioTekInstruments, США). Статистичну обробку результатів, отриманих під час дослідження, проводили з використанням традиційних методів варіаційної статистики [14 – 15].

Результати дослідження засвідчили збіг у межах 10 – 15 % між показниками стану ротової рідини, отриманими за допомогою методу ГРВ і загальновідомих методів.

Для дослідження було відібрано 36 соматично здорових студентів стоматологічного факультету до складання модулів та під час їх проведення. Серед них було 19 хлопців і 17 дівчат віком від 17 до 19 років. Стоматологічний статус з'ясовували за додатком до карти студента (форма № 025-3/о, затверджена наказом МОЗ України 27.12.99 р. № 302).

Результати дослідження стоматологічного статусу показали, що поширеність карієсу зубів у студентів становила 85,7 % за інтенсивності процесу 14,6, що є дуже високим показником. Структура КПВ складала: К-297, П-193, В-12. Під час проведення вторинного огляду структура КПВ не змінилася. Індекс гігієни за Федоровим – Володькіною у 37,1 % відповідав доброму рівню гігієни ротової порожнини. Задовільний показник був виявлений у 28,5 % студентів, а у 31,4 % осіб обстеженої групи був незадовільний стан. За індексом GreenVermillion у 48,6 % студентів виявлений добрий показник гігієни, водночас 28,5 % дослідної групи мали задовільний індекс гігієни. Незадовільна гігієна виявлялася у 22,90 %

студентів. Студентів було розділено на дві дослідні групи залежно від зміни рівня кортизолу в слині під дією стресу (табл. 1). Першу групу склали 68,4 % обстежуваних (26 студентів: 15 дівчат та 11 хлопців), у яких збільшився рівень кортизолу слини (РКС), другу групу склали 31,6 % (10 студентів: 2 дівчини і 8 хлопців), у яких під час стресу РКС збільшився відносно початкових даних, але був у межах допустимої норми.

Таблиця 1

Розподіл студентів за РКС у стані спокою та під час стресу

Рівень кортизолу в слині о 8 – 10 годині ранку	Показник у стані спокою			Показник під час стресу		
	хлопці	дівчата	Кількість, %	хлопці	дівчата	Кількість, %
Норма до <6,65 нг/мл	19	17	100	8	2	31,6
Збільшення показника >6,65 нг/мл	-	-	-	11	15	68,4

Першою реакцією на зміни під час стрес-синдрому була зміна рН слини (табл. 2). Результати дослідження показали, що в стані відносного спокою в першій групі обстежуваних рівень рН ротової рідини в межах норми (6,8 – 7,4) спостерігався у 76,9 %, в межах 6,0 – 6,7 був у 23,1 % студентів, рівень нижчий за 6,0 не був виявлений. Під дією стресу рівень рН у першій групі суттєво знизився і відповідав таким показникам: у межах норми був у 11,5 %, у межах 6,0 – 6,7 у 57,7 %, нижче за 6,0 у 30,8 %.

Рівень рН другої групи, учасники якої були стресостійкими під час відносного спокою, варіювався так: у межах норми був у 80 %, у межах 6,0 – 6,7 у 20 % обстежуваних. Під час стресу розподіл був таким: у межах норми залишався у 60 %, у межах 6,0 – 6,7 був у 30 % обстежуваних, менше за 6,0 був тільки у 10 %.

Таблиця 2

Результати рН слини

Показник рН слини	1 група (стресочутливі)						2 група (стресорезистентні)					
	У стані спокою			Під час стресу			У стані спокою			Під час стресу		
	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%
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

Результати ТЕР-тесту показали, що під час відносного спокою в першій групі 38,5 % студентів мають високу стійкість емалі до дії кислот. 46,2 % студентів мали середній ступінь резистентності емалі, і тільки у 15,3 % обстежених можна було спостерігати значно зменшену резистентність емалі. У другій групі стресорезистентних студентів показники були такими: 30 % студентів мали високу резистентність емалі, у 50 % був середній ступінь, і 20 % мали низьку резистентність. Із метою визначення резистентності емалі під час написання модулів було проведено контрольну пробу на ТЕР-тест, однак суттєвих змін показника залежності від стресової ситуації не було виявлено. Показник емалевої резистентності між

контрольними вимірюваннями не перевищував 10 % (Табл. 3). Можна було припустити, що зміни стоматологічного статусу наступають через певний час внаслідок дії довготривалого стресу.

Таблиця 3

**Результати ТЕР-тесту**

Показник ТЕР тесту	1 група (стресочутливі)						2 група (стресорезистентні)					
	У стані спокою			Під час стресу			У стані спокою			Під час стресу		
	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%	хлопці	дівчата	%
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

**Висновки**

У роботі проведено дослідження ротової рідини під час емоційного стресу шляхом використання методу ГРВ та порівняння його результатів із результатами відомих методик хімічного аналізу. Отримані результати показали взаємозв'язок між рівнем рН та емалевою резистентністю зубної емалі. Установлено, що дезадаптація психоемоційного стану, зниження стресостійкості та сам стрес негативно впливають на здоров'я студентів, що супроводжується зниженням рівня рН слини, збільшенням РКС та зниженням емалевої резистентності зуба. Досліджувані з низьким рівнем стрес-резистентності мають знижену реактивність організму і, відповідно, потребують диспансерного нагляду, обстежені з високим рівнем КПВ потребують санації ротової порожнини та проведення санітарно-просвітньої роботи з ними.

Отримані дані можуть лягти в основу складання програми прогнозування та профілактики психосоматичного і стоматологічного оздоровлення студентів. Також метод ГРВ може бути використаний як експрес-метод дослідження стану ротової рідини.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

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 stress evaluated 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. Haghi

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&u 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.

**Білінський Йосип Йосипович** – д. т. н., професор, завідувач кафедри електроніки та наносистем. Вінницький національний технічний університет.

**Добровольська Маріанна Костянтинівна** – к. м. н., доцент, стоматологічний факультет, кафедра терапевтичної стоматології.

**Білінський Олександр Ярославович** – асистент кафедри терапевтичної стоматології. Ужгородський національний університет.