

Предварительное изучение ротовой жидкости методом ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии

А.В. МИТРОНИН*, д.м.н., проф., зав. кафедрой

А.А. ПРОКОПОВ**, д. хим. н., проф., зав. кафедрой

Е.А. СРЕБНАЯ*, асп.

В.И. ПРИВАЛОВ***, к. физ.-мат. н., старш. научн. сотр.

*Кафедра кариесологии и эндодонтии

**Кафедра общей и биорганической химии

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова

***Лаборатория химии координационных полиядерных соединений

ФГБУН ИОНХ им. Н.С. Курнакова РАН

A preliminary study of oral liquid by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy

A.V. MITRONIN, E.A. SREBNAYA, V.I. PRIVALOV, A.A. PROKOPOV

Резюме: В стоматологии реализация принципов метаболомики только начинается и имеет, очевидно, большое будущее. Одной из целей метаболомики является ранняя диагностика заболеваний на той стадии, когда они еще не имеют клинических проявлений. Было проведено клиническое обследование пациентов, мужчин и женщин, в возрасте от 18 до 30 лет. Особое внимание было уделено обнаружению клиновидных дефектов твердых тканей зубов на разных этапах формирования данной патологии, а также сопутствующим факторам ее возникновения. Методом лабораторного исследования была выбрана спектроскопия магнитного резонанса ядер протонов и ядер изотопа углерода ^{13}C образцов ротовой жидкости здорового человека (контроль) и пациентов с выраженными клиновидными дефектами зубов. Полученные данные показывают, что спектроскопия дает возможность определять концентрации и состав низкомолекулярных органических веществ в образцах слюны, что и послужит предметом дальнейших исследований.

Ключевые слова: метаболомика, стоматология, спектроскопия, исследование слюны.

Abstract: In dentistry, the implementation of the principles metabolomics is just beginning, and obviously has a great future. One of the goals of metabolomics is the early diagnosis of disease at a stage when they may not have clinical manifestations. clinical examination of patients was carried out, men and women, aged from 18 to 30 years. Particular attention was paid to the detection of wedge-shaped defects of teeth hard tissues at various stages of this disease, as well as co-factors of its occurrence. Laboratory test method was selected nuclei magnetic resonance spectroscopy of proton and carbon nuclear isotope sample liquid oral healthy person (control) and patients with severe defects tapered teeth. The data show that the spectroscopy makes it possible to determine the concentration and composition of the low molecular weight organic substances in samples of saliva, which will serve as a subject for further research.

Key words: metabolomics, dentistry, spectroscopy, saliva diagnostics.

Последние пять лет метаболомика (metabolomic, metabonomics) развивается особенно интенсивно, в результате чего накоплен значительный теоретический, экспериментальный и клинический материал, осмысление и обобщение которого представляет исключительный интерес для практической медицины [15]. В стоматологии реализация принципов метаболомики только начинается и имеет, очевидно, большое будущее. В настоящее время за рубежом опубликованы результаты лишь немногих десятков исследований стоматологической направленности, из которых только несколько носят фундаментальный характер [11, 20, 9]. Информацией о подобных работах в области стоматологии в нашей стране мы не располагаем, хотя интерес к метаболомическим проблемам в медицине в целом так или иначе обозначен [3, 12].

Одной из целей метаболомики является ранняя диагностика заболеваний на той стадии, когда они еще не имеют клинических проявлений. Это достигается чаще

всего изучением спектральных характеристик биологических жидкостей (ядерный магнитный резонанс ЯМР, масс-спектрометрия, ИК-спектроскопия и др.). Анализу подвергались кровь, желчь, спинномозговая жидкость, сок поджелудочной железы, моча, пот, желудочный сок, слюна. Причем последняя для стоматолога является, естественно, наиболее привлекательным объектом изучения не только в силу своей доступности, но и по причине высокой степени информативности. Изменения в составе слюны происходят параллельно с таковыми в крови, поскольку многие вещества поступают из крови в слюну трансцеллюлярными, интрацеллюлярными, парацеллюлярными или экстрацеллюлярными путями, включая различные механизмы активного или пассивного транспорта [18].

История использования слюны для диагностики (по вкусу, вязкости, запаху) в традиционной или народной медицине насчитывает более 2000 лет, и сейчас изучение слюны предпочтительно при выявлении синдрома

Кушинга, болезни Аддисона [19]. Но до последнего времени слюна все же довольно редко использовалась для медицинского тестирования, что связано, по-видимому, с ее очень сложным и исключительно переменным, даже по сравнению с кровью, химическим составом, который зависит от множества факторов, включая возраст, пол, состояние здоровья, фазу циркадного цикла, питания, эмоционального состояния, принимаемых лекарств, влияния окружающей среды, активного или пассивного курения. В составе слюны обнаружены многочисленные соединения, представляющие разные классы биологически активных веществ — аминокислоты, биогенные амины, слюнные гормоны, в том числе стероидные, органические кислоты, разнообразные летучие вещества и т. д. Слюна содержит смесь секретов, в ней присутствуют лейкоциты, слущенный эпителий, бактерии полости рта и продукты их деятельности. Всего в слюне установлено порядка 1000 метаболитов (не считая 1200 белков), которые естественным образом находятся в ротовой жидкости (около 200), и метаболитов, присутствие которых достоверно ассоциировано с заболеваниями онкологическими и сердечно-сосудистыми, вирусными инфекциями, сахарным диабетом и др. [4].

Разбираться в таком сложном переплетении органических и неорганических, низко- и высокомолекулярных веществ стало возможным в последние годы благодаря созданию мощной аналитической платформы, включающей в себя ЯМР-спектроскопию и масс-спектрометрию. Тандемное применение этих методов с использованием соответствующей аппаратуры позволяет решать исключительно сложные исследовательские задачи, в том числе и в автоматическом режиме, используя соответствующие банки данных [14].

ЯМР-спектроскопия предоставляет исследователю ряд преимуществ по сравнению с классическим биохимическим анализом: это воспроизводимый метод выявления слюнных метаболитов в широком диапазоне без предварительных измерений и без/или с минимальной пробоподготовкой. Кроме того, спектры ЯМР дают возможность количественной оценки содержания идентифицированных метаболитов.

В то же время для практических целей ранней диагностики нет необходимости идентифицировать все вещества в составе слюны, достаточно установить устойчивые отличительные признаки спектров биожидкости здорового и больного человека. Причем эти различия могут касаться как состава слюны, так и концентрации ее компонентов. Современные аналитические техники нередко позволяют работать с нативными биожидкостями без их предварительной обработки. Для изучения мы собирали ротовую жидкость, используя в дальнейшем собирательный термин «слюна».

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка подходов к метаболическому профилированию слюны методом ЯМР ^1H и ^{13}C , при сопоставлении спектров слюны здорового человека и слюны пациентов с клиновидными дефектами твердых тканей зубов, имелось в виду использование в дальнейшем метода ЯМР для ранней диагностики и контроля эффективности проводимого лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе кафедры кариесологии и эндодонтии МГМСУ им. А.И. Евдокимова было проведено клиническое обследование пациентов, мужчин и женщин, в возрасте от 18 до 30 лет. Особое внимание было уделено обнаружению клиновидных дефектов твердых тканей зубов

на разных этапах формирования данной патологии, а также сопутствующим факторам ее возникновения (особенностям индивидуальной гигиены полости рта, факторам окклюзионной перегрузки, приему кислото-содержащих продуктов питания). В качестве материала лабораторного исследования была использована ротовая жидкость пациентов с клиновидными дефектами твердых тканей зубов.

Сбор ротовой жидкости осуществлялся натошак, в утренние часы, путем сплевывания в стерильную емкость. Пациентам были даны рекомендации воздержаться от чистки зубов и применения ополаскивателя полости рта непосредственно перед сбором слюны. Выполнение данной рекомендации было необходимо для того, чтобы исключить вероятность попадания частичек зубной пасты или других средств гигиены в исследуемые образцы во избежание получения ложных результатов.

Для контроля был осуществлен сбор ротовой жидкости пациентов той же возрастной группы, но без клинических признаков клиновидных дефектов твердых тканей зубов. Получение образца проводилось при тех же условиях.

Методом лабораторного исследования была выбрана спектроскопия магнитного резонанса ядер протонов (^1H) и ядер изотопа углерода ^{13}C образцов ротовой жидкости здорового человека (контроль) и пациентов с выраженными клиновидными дефектами (КД) зубов. Образцы слюны в калиброванных ЯМР-ампулах диаметром 5 мм, заполненных на высоту 50 мм, помещали в датчик спектрометра ЯМР во время записи спектров. Спектры ЯМР записаны при температуре пробы 37°C на спектрометре Bruker «AVANCE-300» на первом этапе по обычной одноимпульсной методике (программа ZG). Параметры записи спектров следующие:

- резонансная частота — 300,21 МГц;
- длительность импульсов возбуждения — 4 мкс (30-градусный импульс);
- период следования импульсов — 1 с.;
- число накопления сканов — 320.

Все химические сдвиги в миллионных долях показаны относительно принятых стандартов как внешних эталонов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены спектры ЯМР ^1H контрольного образца (нижний спектр) и образца КД больного пациента (верхний спектр). Спектры состоят из интенсивного сигнала воды и серии слабых сигналов протонов органической составляющей ротовой жидкости.

Суммарная интенсивность принимается за 100%, интегральная интенсивность протонов органической составляющей контроля составляет 0,17%, а у больного пациента — 0,05%. Таким образом, содержание органических соединений в ротовой жидкости больного оказалась почти в три раза меньше концентрации в контроле.

Сигналы в области 0–4 м.д. соответствуют CH_2 -, CH_3 - и CH_3 -группам, принадлежащим уксусной, пропионовой, масляной и некоторым минорным органическим кислотам. Сигналы в области 6–9 м.д. отвечают ароматической органике ротовой жидкости — фенилуксусной, фенилпропионовой кислотам, фенилаланину [20, 5].

Состав сигналов ^1H органики контроля и КД существенно различается, особенно в области алифатических структур. В то же время хим. сдвиги сигнала воды в исследуемых образцах совпадают и составляют

5,0 м.д., что свидетельствует о практически одинаковой кислотности ротовой жидкости в обоих случаях.

Весь пул органических веществ, входящих в состав слюны, работает на ее способность осуществлять свои функции: пищеварительную, минерализующую, защитную, регуляторную, экскреторную, буферную и т. д. Поэтому возможно предположить, что снижение содержания органического комплекса в слюне пациента с клиновидными дефектами зубов указывает на ослабление ее защитных свойств, приводящее к интенсификации процессов деминерализации твердых тканей зуба. Таким образом, снижение интегральной интенсивности сигналов протонов низкомолекулярных органических соединений в спектре ЯМР слюны может указывать на предрасположенность человека к заболеваниям такого рода.

На втором этапе нашей работы для повышения разрешающей способности спектрометра запись спектров

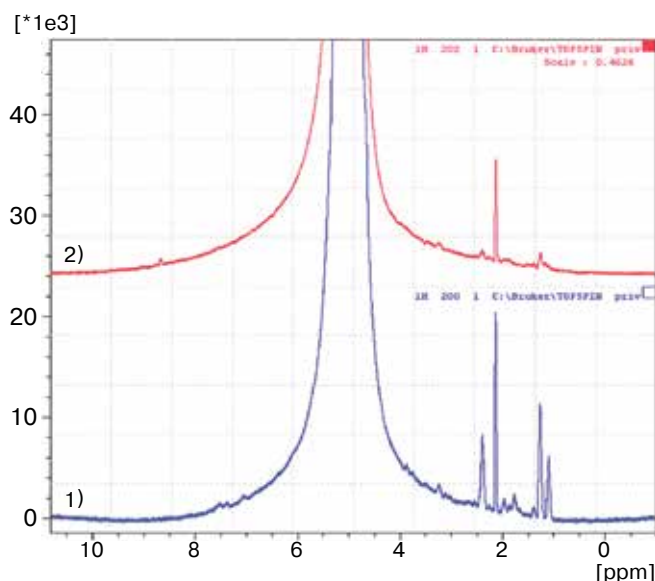


Рис. 1. Спектры ЯМР ^1H ротовой жидкости: 1) контроль (интегральная интенсивность органики 0,17%); 2) образец КД (интегральная интенсивность органики 0,054%)

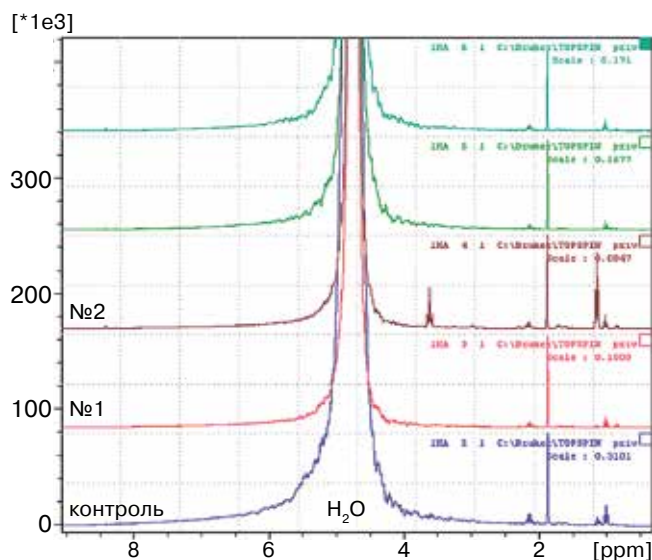


Рис. 2. Обзорные спектры ЯМР ^1H (300,21 МГц). Спектры записывались с ядерной стабилизацией резонансных условий по сигналу D_2O

ЯМР ^1H произвели в условиях ядерной стабилизации резонансных условий по сигналу D_2O , что позволяет определять типы органических молекул и оценивать их концентрацию в слюне.

Для исследования органической составляющей слюны пациентов были использованы пять объектов: контрольный образец от здорового человека и четыре образца от пациентов с выраженными клиновидными дефектами зубов №№1–4. Образцы слюны помещали в калиброванные ЯМР-ампулы диаметром 5 мм на высоту 40 мм от дна ампулы. В центр калиброванной ампулы с образцом слюны помещалась ампула с внешним диаметром 1 мм, заполненная тяжелой водой D_2O . По сигналу магнитного резонанса дейтронов D_2O осуществлялась ядерная стабилизация резонансных условий и настройка однородности магнитного поля спектрометра. Все хим. сдвиги в м.д. в спектрах приведены относительно сигнала тетраметилсилана как внешнего стандарта.

На рис. 2–4 представлены обзорный и растянутые спектры высокого разрешения ЯМР ^1H образцов слюны — контроль, №№1–4. Спектры состоят из сильного сигнала воды и слабых сигналов органических молекул слюны. Интенсивность сигналов органики в 1000÷5000 раз меньше интенсивности сигнала воды слюны пациента, что соответствует данным, полученным ранее.

Сигналы органики представляют собой синглеты, триплеты, квартеты, мультиплеты. Квартеты и триплеты обусловлены спин-спиновыми скалярными взаимодействиями ^1H - ^1H в CH_3 - CH_2 -группах органических молекул слюны.

Пронумеровав наиболее заметные сигналы в растянутых спектрах ЯМР ^1H (рис. 3 и 4), отмечаем, что сигналы 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9 (стандарт) и 10 имеются в спектрах всех пяти образцов слюны. Сигналы 3 (1,14 м.д.) и 8 (3,62 м.д.) обнаружены только в образцах слюны контроля и №2, они соответствуют CH_3 - и CH_2 -группам этилового спирта. В контрольном образце этанол имеет меньшую концентрацию, по сравнению с образцом №2.

Мультиплеты 2 (1,02 м.д.) и 7 (2,15 м.д.) соответствуют CH_3 - и CH_2 -группам пропионовой кислоты ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), синглет 6 (1,90 м.д.) отвечает CH_3 -группе уксусной кислоты (CH_3COOH) и синглет 10 (8,41 м.д.) принадлежит SH -группе муравьиной кислоты (HCOOH).

По данным литературы [20, 5, 16] слабые сигналы 1 (0,86 м.д.) и 4 (1,60 м.д.) могут быть отнесены, соответственно, к CH_3 - и β - CH_2 -группам масляной кислоты ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), сигнал 5 (1,72 м.д.) отвечает протонам 2-гидроксивалериановой кислоты и лейцина.

Таким образом, во всех пяти образцах слюны из малых органических молекул преобладают пропионовая, уксусная и муравьиная кислоты с разными соотношениями концентраций, а все остальные представители этой группы соединений присутствуют в слюне в минорных количествах.

Следует отметить, что запись спектров ЯМР ^1H низкомолекулярной органики слюны соответствует накоплению слабого сигнала определяемых веществ в присутствии сильного сигнала воды. Следствием этого является низкая чувствительность регистрации слабых сигналов из-за ограниченного динамического диапазона по амплитуде приемной системы спектрометра ЯМР.

В этих обстоятельствах для увеличения разрешающей способности спектрометра целесообразно опробовать импульсную методику накопления сигналов органики с предварительным импульсным насыщением сигнала

воды (программа ZGPR), так как можно ожидать, что эта методика способна на порядок увеличить качество спектров ЯМР ^1H .

Для реализации этой методики частота спектрометра ЯМР ^1H выставляется точно на сигнал воды. Подбирается оптимальная мощность предварительного насыщения сигнала воды (для спектрометра Bruker «AVANCE-300» эта мощность составляет 40 дБ. Далее запускается импульсная программа ZGPR. По этой программе включается облучение сигнала воды мощностью 40 дБ и в течение 1–2 с. сигнал воды насыщается. После такого насыщения сигнала воды образец подвергается облучению обычным 90-градусным импульсом спектрометра, и далее приемник спектрометра регистрирует сигнал ЯМР ^1H . Затем вся эта регистрация повторяется (в нашем случае 320 накоплений сканов), и сигнал растет относительно шума приемника пропорционально корню квадратному из числа накоплений сканов. При таком способе записи спектров остаточный

сигнал воды оказывается соизмеримым со слабыми сигналами органики, что видно из рис. 5, на котором сопоставлены спектры контрольного образца, снятые по двум методикам.

Как следует из рис. 5, обзорный спектр, снятый по программе ZGPR, характеризуется хорошо разрешенными сигналами, которые однозначно можно отнести к протонам уксусной и пропионовой кислот. Концентрации кислот и их соотношение будут изучены в дальнейшем как возможные маркеры изучаемой патологии.

На рис. 6 в качестве типичного примера приведен растянутый спектр одного из образцов слюны пациента с выраженной патологией, снятый по программе ZGPR. Помимо уже упомянутых, в спектре обнаруживаются

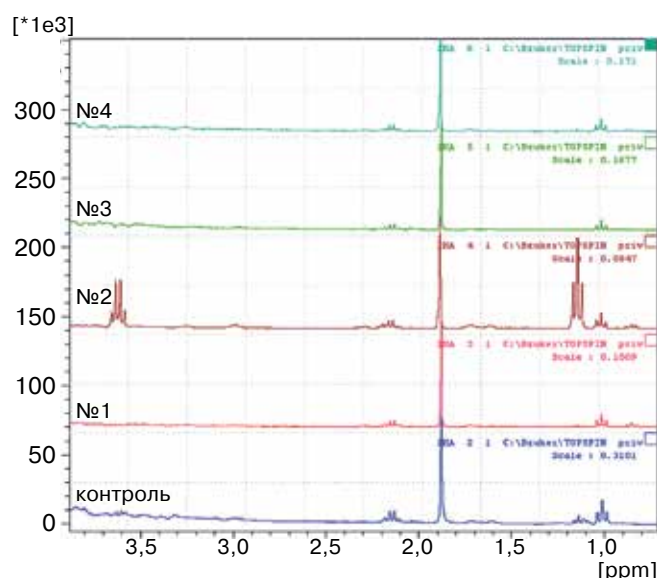


Рис. 3. Растянутые спектры ЯМР ^1H (300,21 МГц). Спектры записывались с ядерной стабилизацией резонансных условий по сигналу D_2O

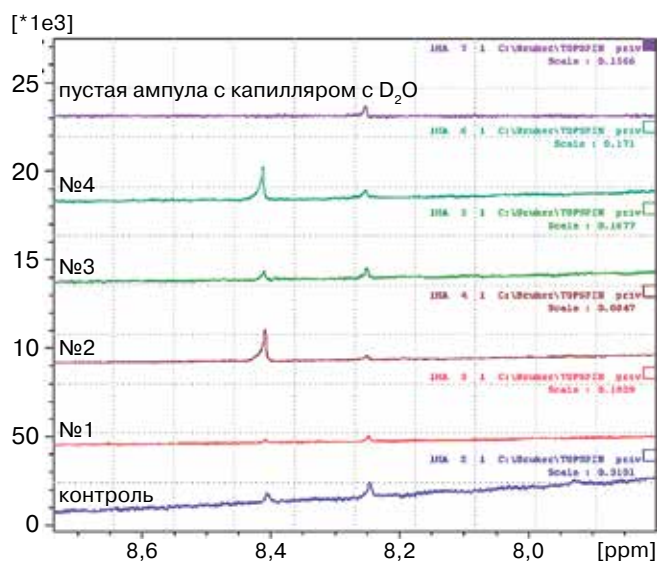


Рис. 4. Растянутые спектры ЯМР ^1H (300,21 МГц). Спектры записывались с ядерной стабилизацией резонансных условий по сигналу D_2O

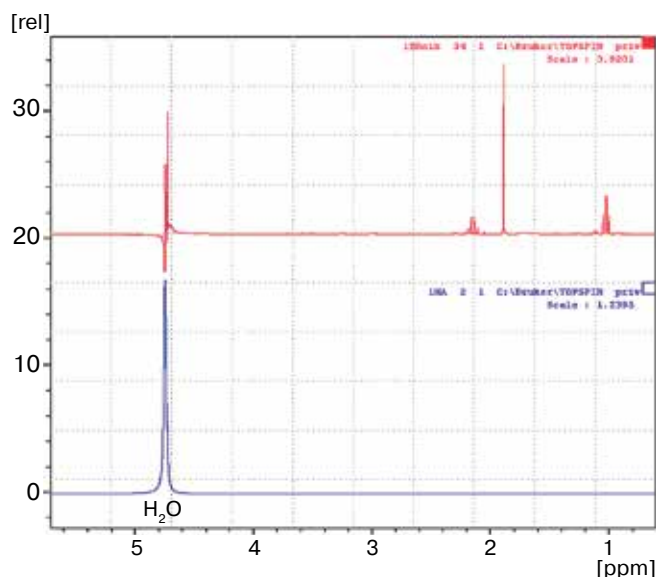


Рис. 5. Обзорные спектры ЯМР ^1H (300,21 МГц) снизу вверх. 1) контрольный образец, записанный по обычной одноимпульсной методике (программа ZG); 2) контрольный образец, записанный по одноимпульсной методике с предварительным насыщением сигнала воды (программа ZGPR). Спектры записывались с ядерной стабилизацией резонансных условий по сигналу D_2O от внутреннего капилляра диаметром 1 мм

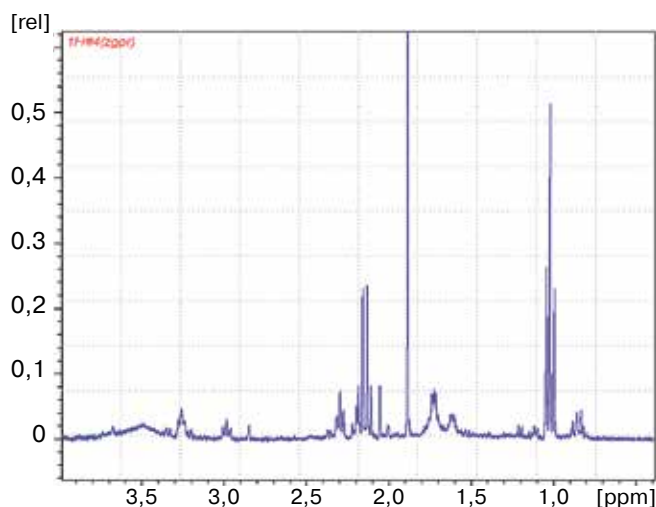


Рис. 6. Растянутый спектр ЯМР ^1H (300,21 МГц) образца №4, записанный по одноимпульсной методике с предварительным насыщением сигнала воды (программа ZGPR)

сигналы, которые могут быть отнесены к протонам холина, лейцина, производных валериановой и изовалериановой кислот, изомасляной кислоты.

Во всех рассмотренных спектрах отмечается доминирующее присутствие уксусной, пропионовой, масляной кислот, что соответствует данным литературы [20]. Увеличению концентрации органических кислот способствует усиление метаболизма глюкозы или активизация метаболической деятельности оральной микрофлоры, например, *Streptococcus mutans* или *Veillonella*. Масляная кислота интенсивно производится патогенным микроорганизмом *Porphyromonas gingivalis*, обитающим в поддесневой борозде полости рта [10]. Связь между pH слюны, то есть уровнем продукции органических кислот в ротовой полости, и повышенной эрозией эмали, а также коррозией стоматологических металлических конструкций показана в многочисленных фундаментальных исследованиях [13, 8, 1].

Таким образом, полученные нами данные позволяют прийти к выводу, что ЯМР ^1H -спектроскопия является аналитическим методом, дающим возможность на основании исследования ротовой жидкости без предварительной подготовки получать обширную информацию о качественном и количественном низкомолекулярном составе слюны. Наиболее простая методика (программа ZG) позволяет оценить интегральную интенсивность сигналов протонов молекул органической фазы слюны, в то время как программа ZGPR дает возможность идентифицировать мажорные соединения органического пула и определить их концентрации.

Альтернативой протонному магнитному резонансу является спектроскопия на ядрах ^{13}C . В целом преимущества этого метода часто омрачаются его принципиально низкой чувствительностью — содержание ^{13}C в природных объектах составляет только 1,1% от содержания ^{12}C , чувствительность резонанса ^{13}C примерно в 60 раз меньше чувствительности протонного резонанса, а время релаксации для ^{13}C больше, чем для ^1H . В то же время эти минусы легко преодолеваются как за счет увеличения количества исследуемого образца, так и за счет импульсного фурье-преобразования [2]. Это обстоятельство чрезвычайно привлекательно для исследователя биологических субстратов, поскольку именно углерод составляет основу наиболее значимых в биоло-

гическом отношении молекул, а ^{13}C ЯМР предполагает прямое измерение этих соединений. Спектроскопия ^{13}C ЯМР имеет ряд преимуществ по сравнению с ^1H , а именно: значительная дисперсия химического сдвига, хорошо разрешенные синглеты спектров, определение четвертичных атомов углерода, прямое указание на углеродную основу структуры большинства метаболитов. Для исследования метаболизма эти преимущества являются весьма существенными, и в настоящее время в печати только начинают появляться первые работы, посвященные применению спектроскопии ^{13}C ЯМР для анализа биологических объектов, в том числе и слюны [6, 7, 17].

На рис. 7 приведены обзорные спектры ЯМР ^{13}C с широкополосным подавлением протонов контрольного образца слюны и два образца №1 и №2 от пациентов с выраженными клиновидными дефектами зубов; наиболее сильные сигналы на спектрах пронумерованы.

Синглеты 2 и 5 атомов углерода ^{13}C соответствуют CH_3 - и CH_2 -группам молекул этилового спирта, причем из спектров следует, что этиловый спирт имеется только в контрольном образце (меньшая концентрация) и образце № 2.

Синглеты 1 и 4 атомов углерода ^{13}C соответствуют CH_3 - и CH_2 -группам пропионовой кислоты, синглет 3 соответствует CH_3 -группе уксусной кислоты, а синглет 6 соответствует CH -группе муравьиной кислоты. Спектры ЯМР ^{13}C показывают, что во всех трех измеренных образцах слюны имеются пропионовая, уксусная и муравьиная кислоты с разными соотношениями концентраций.

Таким образом, практически выводы по анализу органики из спектров ЯМР ^{13}C и ^1H совпадают. Следует указать на то обстоятельство, что спектр ЯМР ^1H органики слюны получается в течение получаса накопления сигналов, а для формирования спектра ЯМР ^{13}C требуются 24 часа накопления сигналов. То есть временные затраты по записи спектров ЯМР ^{13}C на порядок превышают временные затраты по записи спектров ЯМР ^1H .

Выполненное исследование вносит вклад в создание платформы для дальнейших работ по ЯМР-спектроскопии ротовой жидкости в целях ранней диагностики и обнаружения биомаркеров разнообразных стоматологических заболеваний, в том числе невоспалительного генеза. Полученные данные показывают, что спектроскопия ЯМР ^1H и ^{13}C дает возможность определять концентрации и состав низкомолекулярных органических веществ в образцах слюны, что и послужит предметом дальнейших исследований. Кроме того, предполагается осуществление спектроскопии слюны на ядрах ^{31}P и ^{19}F .

Излишне говорить, что установление надежной взаимосвязи между особенностями метаболического профиля слюны и патологическими отклонениями организма представляет собой очень сложную, но и благодарную задачу.

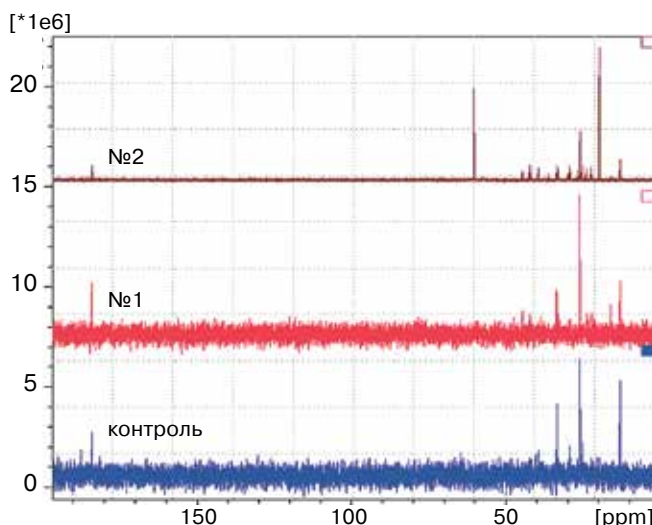


Рис. 7. Обзорные спектры ЯМР ^{13}C с широкополосным подавлением протонов образцов слюны (снизу вверх) — контрольный образец, образец №1, образец №2

Поступила 13.09.2016

Координаты для связи с авторами:
124473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Леонтьев В. К. Эмаль зубов как биокристаллическая система. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 72 с.
2. Leont'ev V. K. Enamel of teeth as a biocrystalline system. — M.: GEOTAR-Media, 2016. — 72 p.
3. Сильверстайн Р., Басслер Г., Моррил Т. Спектрометрическая идентификация органических соединений. — М.: Мир, 1977. — 590 с.
4. Sil'verstajin R., Bassler G., Morril T. Spektrometriceskaja identifikacija organicheskih soedinenij. — M.: Mir, 1977. — 590 s.
5. Фурина Р. Р., Митракова Н. Н., Рыжков В. Л., Сафиуллин И. К. Метаболические исследования в медицине // Казанский медицинский журнал. 2014. Т. XCV. С. 1–6.
6. Furina R. R., Mitrakova N. N., Ryzhkov V. L., Safiullin I. K. Metabolicheskie issledovanija v medicine // Kazanskij medicinskij zhurnal. 2014. T. XCV. S. 1–6.
7. http://www.hmdb.ca.
8. Chan W., Banks R., Lynch E., Grootveld M. High-resolution ^1H NMR investigation of the oxidative consumption of salivary biomolecules by a tooth-whitening formulation: relevance to safety issues. // Adv. in chem. eng. and science, 2012, 2, pp 62–73.
9. Clendinen C. S., Lee-McMullen B., Williams C. M. et al. ^{13}C NMR Metabolomics: applications at natural abundance // Anal. Chem. 2014. №86. P. 9242–9250.
10. Clendinen C. S., Pasquel C., Ajredini R., Edison A. S. ^{13}C NMR metabolomics: Inadequate network analysis // Anal. Chem. 2015. №87 (11). P. 5698–5706.
11. Cross S. E., Kreth J., Wali R. P. et al. Evaluation of bacteria-induced enamel demineralization using optical profilometry // Dental materials. 2009. №25 (12). P. 1517–1526.
12. Duchemann B., Triba M. N., Guez D. et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of salivary metabolome in sarcoidosis // Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases. 2016. Vol. 33. P. 10–16.
13. Grootveld M., Silwood C. J. L., Winter W. T. High-resolution ^1H NMR investigations of the capacity of dentifrices containing a «smart» bioactive glass to influence the metabolic profile of and deliver calcium ions to human saliva // J. Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2009. 91B (1). P. 88–101.
14. Kenichi D., Keiichi K., Yoshihiro T. et al. High resolution proton nuclear magnetic resonance studies on human saliva // Jpn. J. Oral Biol. 1989. №31. P. 324–328.
15. Kutushenko V. P., Molchanov M., Beskaravayny P. et al. Analyzing and mapping sweat metabolomics by high-resolution NMR spectroscopy. — <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0028824>.
16. Magalhaes A. C., Wiegand, A., Rios, D. et al. Fluoride in dental erosion // Monographs in oral science. 2011. №22. P. 158–170.
17. Mercier P., Lewis M. J., Chang D. et al. Towards automatic metabolomic profiling of high-resolution one-dimensional proton NMR-spectra // J. Biomolecular NMR. 2011. April. Vol. 49 (3). P. 307–233.
18. Methodologies for metabolomics: experimental strategies and techniques / ed. by N.W. Lut, J. Sweedler, R. Wevers. — Cambridge; New York: Cambridge univ. press, 2013. — 627 p.
19. Mikkonen J. J. W., Herrala M., Soininen P. et al. Metabolic profiling of saliva in patients with primary Sjögren's syndrome // Metabolomics: Open Access. 2013. Vol. 3. Issue 3. 1000128.
20. Silwood C. J., Lynch E., Claxson A. W., Grootveld M. C. ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic analysis of human saliva // Journal of Dental Research. 2002. №81 (6). P. 422–427.
21. Takeda I., Stretch C., Barnaby P. et al. Understanding the human salivary metabolome // NMR in Biomedicine. 2009. Vol. 22 (6). P. 577–584.
22. Wei J., Xie G., Zhou Z. et al. Salivary metabolite signatures of oral cancer and leukoplakia // Int. J. of Cancer. 2011. №129 (9). P. 2207–2217.
23. Zerihun T. D., Farid A., Rupasri M., Ram K., et al. The human saliva metabolome // Metabolomics. 2015. December. Vol. 11 (6). P. 1864–1883.

MEDICNRG™
Precise Endo Technology

ЛУЧШИЕ ПОМОЩНИКИ В ВАШЕЙ ЭНДОДОНТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

ApexNRG
RIDER

совместимость
с эндонаконечниками



ApexNRGXFR™

автоматическая точность,
эргономика использования



эндостенды
и стенды для боров



ApexNRGBLUE™

визуальный контроль на мониторе
(технология Bluetooth)



контейнеры для
стерилизации файлов



STOMPROM.RU

Уполномоченный представитель
в России — ООО «СтомПром»

8 800 200 2161

www.stomprom.ru, sale@stomprom.ru