

# Влияние сахара на организм человека

**Палаткин Владимир Владимирович**

магистрант, кафедра физиологии, морфологии, генетики и биомедицины, Астраханский государственный университет,

В современных научных исследованиях прослеживается неоднозначная позиция по отношению к влиянию сахара на человека. С одной стороны, доказано, что избыток сахара в питании наносит вред здоровью и провоцирует ряд заболеваний (кариес, диабет, атеросклероз, ожирение и др.) сокращая жизнь человека. С другой стороны, сахар, который вырабатывает углеводы - основа существования большинства живых организмов и источником энергии человека. Однако известна и роль сахара как источника образования в организме гликогена. Это вещество дающее поддреживающее работу печени, мышц и сердца. Сахар является важнейшим средством нормализации деятельности центральной нервной системы. В связи с этим необходимо исследовать влияние сахара и его производных на организм человека.

Ключевые слова: сахар, углеводы, питание, нарушение работы организма

Питание как важный фактор, воздействующий на здоровье человека, при неправильном его организации (недостаточное или чрезмерное потребление пищевых микроэлементов), становится предпосылкой развития онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, а также нарушений органов пищеварения, эндокринной системы и обмена веществ, крови и кровеносных органов. Рациональное питание человека обеспечивает развитие меньшего количества рисков заболеваний.

Стоит отметить, что только третья часть респондентов перенесших инфаркт миокарда (37,5%) «формируют рацион питания исходя из рекомендаций здорового питания, контроля веса и соблюдения диеты, более 40% отпущенных руководствуются вкусовыми предпочтениями и не задумываются о характере питания (43,8%)» [2]. Люди «с ожирением реже, чем с нормальным весом, следуют рекомендациям здорового питания, диеты и контроля веса (27,2% против 42,9%)» [2].

При этом особо отмечается возникновения алиментарно-зависимых болезней от избыточного употребления сахара.

По данным ВОЗ число людей, страдающих ожирением, во всем мире выросло более чем вдвое с 1980 по 2014 год. Избыточный вес и ожирение, ранее считавшиеся характерными для стран с высоким уровнем дохода, теперь становятся все более распространенными в странах с низким и средним уровнем дохода, особенно в городах. В целом, в мире от последствий избыточного веса и ожирения умирает больше людей, чем от последствий аномально низкой массы тела. Число людей с ожирением превышает число людей с пониженной массой тела. При этом отмечается, что на индивидуальном уровне каждый может ограничить калорийность своего рациона за счет снижения количества потребляемых сахаров. Переход к здоровому питанию может обеспечивать и пищевая промышленность снижая содержание сахара в переработанных пищевых продуктах, обеспечивая наличие в продаже здоровых и питательных продуктов по цене, доступной для всех потребителей, ограничивая рекламу продуктов с высоким содержанием сахаров [8].

Исследования полезных и вредных свойств сахара ведется достаточно давно. Сегодня выявлено достаточно много таких свойств (см. таблицу1).

Сладость является искусственной пищей и привыкание к ней возникает инстинктивно, когда нам не хватает калорий, получаемых из натуральной пищи. Подсчитано, что в год среднестатистический человек съедает около 80 кг сахара – это очень много, т.к. суточная доза не должна превышать 50-

100 граммов. Конечно, кто-то ест всего 1/4 или 1/8 этого количества, а кто-то не ест сахар вообще, но мы говорим именно о злоупотреблении сладким. Оно может привести к следующим последствиям.

Таблица 1  
Полезное и вредное воздействие сахара на организм

Вредное воздействие	Полезное воздействие
Риск возникновения: сахарного диабета, ожирения, кариеса, нарушения кишечной микрофлоры, язвенный колит, ухудшение состояния кожи, молочницы, повышения уровня холестерина, эпилептических припадков, атеросклероза	Толстый кишечник служит хорошей питательной средой для полезных микроорганизмов, ведущих борьбу с бактериями гноеродными. Поддерживает барьерную функцию печени против токсических веществ благодаря участию в образовании в печени так называемых парных серных и глюкуроновых кислот.
Уменьшение количества витаминов группы В приводит к хронической слабости, быстрой утомляемости, депрессии.	Обеспечивает более половины энергетических затрат организма. Способствует выработке «гормона счастья» (серотонина). Способствует своевременному пополнению антиоксидантов, поэтому организм способен более стойко выносить внешнее воздействие природы.

Сахара - синоним понятия углеводы, название, которых произошло из-за того, что многие из первых открытых углеводов имели сладкий вкус.

Сахар и блюда, приготавливаемые с его использованием могут приносить вред организму. Так, сладости, содержат в большом количестве простые углеводы, которые составляют жировую ткань. При этом сахар, попадая в организм повышает уровень глюкозы в крови, поэтому поджелудочная железа начинает усиленно вырабатывать инсулин, что может привести к сахарному диабету, который представляет собой «заболевание эндокринной системы, возникающее при недостаточности инсулина в организме человека, что приводит к нарушению углеводного обмена, а впоследствии и всех остальных видов обмена» [6, с. 15].

В мире насчитывается более 100 млн. человек, страдающих сахарным диабетом этим заболеванием [1, с. 18]. Им страдает 6 % населения, в цивилизованных странах число заболевших удваивается каждые 15 лет. Сахарный диабет занимает третье место среди причин смерти после сердечнососудистых заболеваний и онкологии» [6, с. 15]. Количество таких больных увеличивается и «по прогнозу ВОЗ к 2030 году может составить до 400 млн. человек» [1, с. 18].

При этом заболевании отмечается нарушение функционирования сердечно-сосудистой, мочевыделительной и нервной систем, «которые развиваются вследствие гипергликемии (повышение уровня глюкозы в крови)» [6, с. 15]. Увеличивается количество беременных, впервые страдающих сахарным диабетом, который называют «гестационный» (диабет беременных).

Кроме того, употребление большого количества сладостей способствует размножению болезне-

творных бактерий в желудочно-кишечном тракте и нарушению кишечной микрофлоры. Также сахар увеличивает вероятность язвенного колита и даже может спровоцировать возникновение рака кишечника, ухудшение состояния кожи, которое происходит за счет нарушения кишечной микрофлоры, вызывая высыпания на лице, спине, шее и груди, ускорение старения клеток, что способствует появлению морщин.

Кандидозный вульвовагинит может быть следствием употребления большого количества сахара, так как дрожжеподобные грибки, которые вызывают ее питаются простыми углеводами (глюкозой), поэтому от сладкого они активно размножаются. «Поэтому наиболее часто кандидозный вульвовагинит возникает при заболеваниях желез внутренней секреции (в первую очередь - сахарный диабет)» [9, с. 70].

Кариесогенная роль сахара зависит как от большого количества, так и от частоты его употребления [4, с. 1082]. Сахар питает бактерии, провоцирует разрушение зубной эмали, вызывает кариес и болезнь десен – пародонтоз. Возникновение кариеса зубов обуславливает свойства самого сахара как пищевого продукта и психологические особенности человека. Сахар является «единственным продуктом питания, метаболизм которого начинается и может завершиться в полости рта. Достаточная влажность и оптимальная постоянная температура, наличие полного набора ферментных систем микробного происхождения, необходимых для процесса гликолиза» [5, с. 392].

Бесконтрольное использование сладостей, «как последнего продукта питания при приеме пищи (десерт), между приемами пищи, на ночь» [5, с. 392] препятствует «самоочищению полости рта, усугубляют кислотопродукцию и ее вредное влияние на зубы» [5, с.392].

Наличие в крови излишнего количества глюкозы ослабляет стенки сосудов и повышает уровень холестерина.

Постоянное употребление сладостей приводит к быстрому уменьшению количества витаминов группы В, вследствие чего наблюдается хроническая слабость, быстрая утомляемость, депрессия.

При исследовании редкой наследственной болезни - синдром Лафора, испанские специалисты доказали, что сахар способствует развитию эпилептических припадков в результате того, что гликоген скапливается в клетках мозга, также могут возникнуть слабоумие и двигательные нарушения. Для того чтобы гликоген не «оседал» на клетках головного мозга, в человеческом организме вырабатывается 2 вида особого белка, за производство каждого отвечает свой определенный ген. Вот именно в случае повреждения даже одного из этих генов и развивается синдром Лафора. Ученые из Калифорнийского государственного университета в процессе научных исследований сделали интересные выводы. Они провели исследования в 9 колониях и 803 школах-интернатах для несовершеннолетних, где из рациона питания детей исключили сахар и сладости, заменив его фруктами

и овощами. Результаты эксперимента превзошли все ожидания: через год оценки детей (по пятибалльной шкале) выросли в среднем на 1 балл, а 50% всех детей с задержкой умственного развития были признаны здоровыми.

Шведские учёные доказали, что женщины, которые употребляют регулярно сладкое 3 раза в неделю, имеют на 33% больше шансов заболеть раком матки, чем те, кто ест сладости редко. Американские и немецкие учёные выяснили, что люди, употребляющие большое количество сахара сокращают свою жизнь в среднем на 15 лет, так как сахар провоцирует развитие атеросклероза.

Сахар вырабатывается преимущественно растениями под действием солнечного света. Основные поставщики сахара (сахарозы) - сахарная свекла и сахарный тростник

Сахар, содержащийся в плодах и овощах (сахароза), приносит только пользу. Так, при лечении виноградом больной съедает в день 3 кг винограда, в котором содержится 550 г. сахара, и в его моче все-таки сахар не появляется, между тем уже от 250 г. ягодного варенья, в котором сахара в 3 раза меньше, но этот сахар искусственный, у человека болит печень и в моче появляется сахар.

Искусственный сахар в желудочно-кишечном тракте разлагается с выделением углекислоты, которая, освобождаясь, соединяется с основаниями солей и отнимает таким образом их у организма. Такое обессоливание ведет к общему увяданию всех тканей организма и ослаблению иммунитета. Органический же сахар (сахар овощей и фруктов) сам всегда соединен с солями — железом, известью, фосфором и кроме того богат витаминами группы В. В финиках, например, сахар имеет формулу декстрозы, что делает его готовым к немедленному усвоению кишечником без всякой дополнительной переработки в желудке.

Сахар может поступать в организм также в виде мальтозы и лактозы. Когда зерно прорастает, крахмал в нем переходит в солод, особый вид сахара. Такой сахар — мальтоза, в 3 раза лучше усваивается организмом, чем сахар искусственный. Он очень богат микроэлементами и витаминами и полезен для любого организма. Он не так сладок как сахар искусственный (свекловичный) и поэтому может употребляться в большом количестве.

Молочный сахар — лактоза, в питании человека имеет большое практическое значение. Сахар этот рассасывается в кишечнике медленнее других сахаров, часть его доходит до толстого кишечника, где служит хорошей питательной средой для полезных микроорганизмов, ведущих борьбу с бактериями гноеродными.

Но, сегодня научно доказано, что при низкокалорийном питании организм испытывает острую нехватку энергии. Глюкоза обеспечивает более половины энергетических затрат организма.

Быстрые углеводы, которые содержатся в сладких десертах, позволяют истощенному организму буквально мгновенно поднять уровень глюкозы в крови и быстро получить порцию энергии.

Простые сахара и углеводы, не обладающие сложными структурными связями, во-первых, быстро выводятся из организма, а во-вторых, дают ему молниеносный заряд бодрости. В связи с чем, сладости являются полезным продуктом именно для студентов, так как в любых сладких продуктах находятся сахара, которые являются углеводами, а они, в свою очередь, участвуют в построении клеточных мембран и белков, в образовании гормонов. А главное сладости являются одним из основных источников энергии для развития организма.

Кроме того, для очищения от шлаков и токсинов организму нужна растительная клетчатка, которая заставляет работать кишечник, а так же надолго дает чувство сытости. Хлеб из муки грубого помола хорошо сдобренный сухофруктами, булочки и бисквиты той же серии, тоже богаты клетчаткой. Поэтому при потреблении такого бисквита студент получает удовольствие и обогащает свой организм органическими кислотами, клетчаткой, витаминами и минералами, при отсутствии жира.

Людей всегда и во все времена тянуло к сладкому. Тяга эта настолько сильна, что от слова «сладость» произошли такие слова как «наслаждение», «улада» и выражение «сладкая жизнь». То есть сладость всегда воспринимается как удовольствие, радость и праздник. В сознании человека связь между сладким и удовольствием появилась очень давно, вероятно, еще на заре эволюции.

В природе сладкая пища, а это мед, многие фрукты и некоторые овощи, всегда богата углеводами (сахарами). Потребляя такую пищу, человек мог быстро восстановить силы организма после напряженного труда, потому что в организме человека углеводы являются лучшим источником энергии. Вероятно, сладкая пища у древних людей была в недостатке: мед приходилось отлавливать у диких пчел, а фрукты были не во все времена года и их приходилось делить с соплеменниками. Поэтому природа заложила тягу к сладкому на уровне инстинкта, а потребление сладкого превратило в удовольствие.

Человек имеет определенные генетические вкусовые предпочтения в пище. С младенчества ребенок выдает позитивную реакцию на сладкий и отрицательную на горький вкус. Такая «врожденная особенность сформировалась эволюционно, помогая нашим предкам выбирать безопасные богатые энергией продукты» [4, с.82].

Взрослея человек начинает испытывать определенную психологическую потребность (иногда даже зависимость) в ощущении сладкого.

Существует взаимосвязь между питанием и настроением. Сахар и крахмал стимулируют работу головного мозга и вызывают появление некоего «нейропроводника», названного ими серотонином. Действие серотонина аналогично эффекту транквилизатора, позволяющего не только непосредственно успокаивать возбужденный мозг, но и снижать тягу к сладкому и мучному. Он является прямым регулятором связи настроение-питание.

Когда содержание серотонина в мозгу слишком низкое, человек становится раздражительным, появляются беспокойство и нетерпение. Низкое содержание серотонина существенно влияет на тягу к крахмалосодержащим, мучным и сладким блюдам. Едва стоит принять такую пищу, как количество серотонина в крови увеличивается и тяга к еде снижается.

Таким образом, можно считать, что серотонин непосредственным образом определяет связь между настроением и питанием, по крайней мере, в отношении сладкой и крахмалосодержащей пищи. Сахар способствует выработке «гормона счастья» (серотонина). Благодаря зависимости от содержания серотонина можно с полной уверенностью сказать, что подавленное настроение наступает через 1-2 часа после приема большого количества сладостей, а умеренное насыщение ими ведет к комфорту и удовлетворению.

Следует отметить, что сладкие блюда способствуют своевременному пополнению антиоксидантов, которые содержатся в шоколаде, меде, изюме и черносливе, поэтому организм способен более стойко выносить внешнее воздействие природы.

Нормальная концентрация глюкозы в крови поддерживается на уровне 80-120 миллиграммов сахара в 100 миллилитрах. Глюкоза обладает способностью поддерживать барьерную функцию печени против токсических веществ благодаря участию в образовании в печени так называемых парных серных и глюкуроновых кислот. Вот почему прием сахара внутрь или введение глюкозы в вену рекомендуется при некоторых заболеваниях печени, отравлениях.

Как видно из анализа полезных и вредных свойств сахара, нельзя однозначно утверждать о его вреде или пользе для здоровья.

## Литература

1. Александров Е.И. Стоматологические проблемы и питание беременных на фоне сахарного диабета / В сборнике: Стоматология славянских государств Сборник трудов по материалам VIII Международной научно-практической конференции. под. ред. А.В. Цимбалитова, Б.В. Трифонова, А.А. Копытова. 2015. С. 17-20.
2. Головенкин С.Е. Факторы увеличения продолжительности и улучшения качества жизни лиц, перенесших инфаркт миокарда // Электронный научный журнал Социальные аспекты здоровья населения. 2015, - № 6 (46) [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/719/30/lang,ru/>
3. Егорова М. И. Особенности создания профилактических продуктов на основе сахара [Текст] / М. И. Егорова, Л. С. Чугунова, Е. Б. Артюшкова // Ваше питание. - 2001. - № 1 - С. 27 - 29.
4. Изотова Е.А., Пак А.В. Значение культуры питания и гигиенического ухода за полостью рта в развитии кариеса у школьников средних классов // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013. Т. 3. № 9. С. 1092-1093.

5. Леонтьев В.К. Кариес зубов – болезнь цивилизации // Биосфера. 2010. Т. 2. № 3. С. 392-396.

6. Мелконян Ж.А., Потапова Ю.В. Рациональное питание в лечении сахарного диабета // приоритетные научные направления: от теории к практике. -2013, № 4. - С. 15-18.

7. Могильный М.П., Фатихова Т.Е. Сахарозаменители - виды и использование в питании / Стратегия развития индустрии гостеприимства и туризма. VI Международная интернет-конференция. – Орел. - 2016. с. 82-86.

8. Ожирение и избыточный вес. Информационный бюллетень □ Июнь 2016 г. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/ru/>

9. Шляпников М.Е., Неганова О.Б., Портянникова Н.П. Микотический кольпит: этиология, патогенез, диагностика и клинико-лабораторная классификация (клиническая лекция) // Тольяттинский медицинский консилиум. 2016. № 5-6. С. 69-78.

## Influence of sugar on a human body

Palatkin V.V.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Astrakhan State University"

In modern scientific research, there is an ambiguous position with respect to the effect of sugar on humans. On the one hand, it is proved that the excess of sugar in the diet damages the health and provokes a number of diseases (caries, diabetes, atherosclerosis, obesity, etc.) reducing a person's life. On the other hand, sugar, which produces carbohydrates - the basis for the existence of most living organisms and a source of human energy. However, the role of sugar as a source of energy in the body of glycogen is also known. This substance gives the functioning of the liver, muscles and heart.

Sugar is the most important means of normalizing the central nervous system. In this connection, it is necessary to investigate the effect of sugar and its derivatives on the human body.

Key words: sugar, carbohydrates, nutrition, disruption of the body

## References

1. Alexandrov E.I. Stomatologic problems and a delivery of pregnant women against the background of a diabetes mellitus / In the collection: An odontology of the Slavic states the Collection of works on materials VIII of the International scientific and practical conference. under. edition of A.V. Tsimbalistov, B.V. Trifonov, A.A. Kopytov. 2015. Page 17-20.
2. Golovenkin S. E. Factors of augmentation of duration and improvement of quality of life of the persons who transferred a myocardial infarction//Electron scientific magazine Social aspects of health of the population. 2015, - No. 6 (46) [An electron resource] an access Regimen: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/719/30/lang,ru/>
3. Egorova M.I. Features of creation of preventive products on the basis of Saccharum [Text] / M.I. Egorova, L.S. Chugunova, E.B. Artyushkova//your delivery. - 2001. - No. 1 - Page 27 - 29.
4. Izotova E.A., Pak A.V. Znachenije of the culture of a delivery and hygienic care of an oral cavity in development of caries in school students of middle school//the Bulletin of medical Internet conferences. 2013. T. 3. No. 9. Page 1092-1093.
5. Leontyev V.K. Caries of teeth – illness of a civilization//the Biosphere. 2010. T. 2. No. 3. Page 392-396.
6. Melkonyan Zh.A., Potapova Yu.V. A balanced diet in treatment of a diabetes mellitus//the priority scientific directions: from the theory to practice.-2013, No. 4. - Page 15-18.
7. Sepulchral L. S., Fatikhova T. E. Sweeteners - types and use in the delivery / Strategy of development of the industry of hospitality and tourism. VI International Internet conference. – Eagle. - 2016. page 82-86.
8. Obesity and excess weight. Newsletter - June, 2016 of <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/ru/>
9. Shlyapnikov M.E., Neganova O.B., Portyannikova of N.P. Mikoticheskiya ~colpitis: etiology, pathogenesis, diagnostics and clinical laboratory classification (clinical lecture)//Tolyatti medical consultation. 2016. No. 5-6. Page 69-78.

## Сладкие безалкогольные газированные напитки современного промышленного производства и заболевания, обусловленные их употреблением

*ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра профпатологии и гематологии*

**Ключевые слова:** сладкие газированные напитки, здоровье, профессиональные заболевания

### Введение

В настоящее время у лиц, работающих на предприятиях, изготавливающих и разливающих сладкие безалкогольные газированные напитки современного промышленного производства (СБГНСПП), возможно развитие профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний. СБГНСПП могут быть небезопасны для потребителей и пагубно влиять на их здоровье. Баночка такого напитка объемом 0,33 литра содержит в среднем 5-10 чайных ложек сахара. Подобная баночка в день не вызовет заболевания, хотя может стать причиной около 0,5 кг лишнего веса в месяц, но две и более, каждый день в течение многих лет могут пойти во вред и спровоцировать возникновение заболеваний, обусловленных их употреблением. На этикетке продукта не указывают наличие потенциально вредных и опасных для здоровья ингредиентов.

**Цель:** изучить и обобщить данные литературы и материалы исследований, касающиеся вопросов воздействия СБГНСПП на здоровье потребителей, значение кодов на этикетке продукта. Определить вредные факторы труда и заболевания работников предприятий, производящих и разливающих СБГНСПП. Сформулировать рекомендации по употреблению СБГНСПП их любителям.

### Материал и методы

Проведен анализ литературных данных, материалов исследований о СБГНСПП, условиях труда работников предприятий, изготавливающих и разливающих данные напитки, их влиянии на организм людей и основных болезнях, обусловленных их употреблением.

### Результаты

СБГНСПП возглавляют в настоящее время список напитков, производимых промышленным способом. Газированная вода - прохладительный напиток из минеральной или ароматизированной сладкой воды, насыщенной углекислым газом. Она была изобретена английским химиком Джозефом Пристли в 1767 году. В 1770 году Торберн Улаф Бергман изобрел сатуратор - прибор, с помощью которого можно было производить газированную воду в больших количествах. Иоганн Якоб Швепп в 1783 году изобрел промышленную установку для производства данной воды. В 1832 году Джон Мэтьюс усовершенствовал конструкцию Швеппа, а также технологию получения углекислоты и принялся выпускать сатураторы в Нью-Йорке. В России лимонады стали прообразом современных газированных напитков.

Гигиенисты отмечают, что заводы по производству и разливу безалкогольных напитков, превратились в высокотехнологизированные и высокогигиеничные предприятия пищевой промышленности. Существует пять основных стадий работы этих предприятий: обработка и очистка воды, смешивание ингредиентов, газирование продукта, разлив продукта, упаковка. Затем проводятся складирование и отправка потребителям. На стадии смешивания ингредиентов добавляются красители. Для газирования безалкогольные напитки охлаждаются мощными рефрижераторными системами, основанными на аммиаке. Двуокись углерода хранят в жидком состоянии и при необходимости по трубам закачивают в газифицирующие агрегаты. После окончания процесса газирования продукт готов для разлива в бутылки и банки. Технологически регламентированы повышенные или пониженные температуры воздуха в производственных помещениях, а также повышенная освещенность на рабочих местах. Труд работающих на этих предприятиях характеризуется большим перемещением в пространстве, работой с вынужденным наклоном (более 30°) и с подъемом, перемещением тяжестей, со стереотипными движениями руками. Значителен удельный вес ручных операций, а также механизированного ручного труда, при котором человек вынужден работать в заданном режиме. Характерны эмоциональные перегрузки. Большую часть работников составляют женщины. Труд сопровождается специфическими запахами. Используются пищевые продукты и добавки. По ходу технологических процессов могут выделяться химические газообразные вещества (окись углерода, углекислый газ). Режим труда на этих заводах зависит от производственного цикла и фактической продолжительности рабочей смены.

Перечисленные особенности организации производства создают предпосылки для формирования вредных и опасных условий труда на таких предприятиях. Также возможно развитие профессиональных заболеваний: опорно-двигательного аппарата, периферической нервной системы, органов дыхания (бронхиальной астмы, хронического бронхита), кожи аллергического и раздражающего характера (аллергического и контактного дерматита), нейросенсорной тугоухости, варикозной болезни нижних конечностей с тромбофлебитом, миопатий, а также острых отравлений токсическими веществами. Производственно обусловленные заболевания работников этих производств: артериальная гипертензия, вегетативно-сенсорная дистония, хронические субатрофические заболевания верхних дыхательных путей, гинекологические заболевания. Работы многих исследователей свидетельствуют, что травмы, связанные с подъемом тяжестей, особенно спины, плечевого пояса и падениями на скользком полу - обычные явления на предприятиях по производству и разливу напитков. Встречаются сведения, что конвейеры

движутся с высокой скоростью и при отсутствии ограждений могут захватить одежду или части тела рабочего и причинить серьезную травму. Конвейерные линии, смонтированные на высоте, несут опасность, связанную с возможным падением передвигаемых ящиков. Все электрическое оборудование должно быть заземлено. В технологических операциях используются легко воспламеняющиеся вещества, кислоты, едкие, разъедающие вещества и окислители, негативно влияющие на глаза, органы дыхания и кожу. Хлор, который используется в цехах обработки воды, может оказаться опасным в случае аварийной утечки. В качестве хладагента используется аммиак. Мощные рефрижераторные системы могут представлять угрозу здоровью в случае утечки или выброса аммиака. Если в цехах разлива и на прилегающих участках нет надежной вентиляции, скопившийся углекислый газ может привести к недостатку в цехах и рабочих помещениях кислорода. Большие размеры и работа наполняющего оборудования создают уровень шума в цехах свыше 90 децибелов рабочим, подвергающимся его воздействию в среднем 8 часов. Автопогрузчики, работающие на газе или бензине, вырабатывают углекислый газ, как побочный продукт сжигания топлива.

### Обсуждение

В СБГНСПП отсутствует питательная ценность. СБГНСПП содержат: воду, углекислый газ, сахар или его заменители, подсластители, кислоты, красители (К), ароматизаторы (А), консерванты, энергетические ингредиенты и даже компоненты, приводящие к зависимости.

СБГНСПП являются сильными мочегонными продуктами. Безвредный продукт в них – вода. Самый главный компонент этих напитков – углекислый газ (диоксид углерода) (Е 290), играющий роль консерванта. Под его влиянием сахар моментально всасывается в кровь. Е 290 проникает в кровь, развивается гипоксия, поскольку он лучше, чем кислород присоединяется к гемоглобину. Е 290 безвреден, а угольная кислота, образующаяся при насыщении напитка газами, нежелательна для людей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), так как может повысить кислотность и активизировать желудочную секрецию, что приводит к метеоризму. Если заболевания нет, то возможно появления неприятной отрыжки, изжоги, газообразования, повреждения эмали зубов.

По данным ряда публикаций многие добавки с индексом «Е», сахарозаменители, подсластители несут потенциальный риск для здоровья. Аспартам(свитли, сластилин, сукразид, нутрисвит) (Е 951) - подсластитель, пищевая добавка, белок, был впервые синтезирован в 1965 году. Е 951 – мультипотенциальный канцерогенный агент. Считается, что его безопасная предельная норма суточного потребления (БПНСП) – 4 мг на 1 кг веса (в одном стакане СБГНСПП содержится 50 мг аспартама). В 1985 году обнаружена химическая нестабильность Е 951: при температуре около 30 градусов Цельсия в газированной воде он разлагался на формальдегид (канцероген класса А), метанол и фенилаланин. Исследователями установлено, что Е 951 при частом употреблении снижает интеллектуальные возможности, способен провоцировать: аллергию, снижение остроты зрения, головную боль, усталость, головокружение, тошноту, тахикардию, ухудшение памяти, опухоль мозга. Е 951 содержит фенилаланин (С9Н11NO2), истощающий запасы серотонина, что способствует развитию маниакальной депрессии, припадков паники, злости и насилия. Употребление продуктов с Е 951 противопоказано детям и лицам, страдающим фенилкетонурией. Цикламат натрия (цукли) (Е 952) с 1969 года запрещён во многих странах из-за подозрения, что этот подсластитель провоцирует почечную недостаточность. Сахарин (Sweet'n'Low, Sprinkle Sweet, Twin, Sweet10) (Е 954) не рекомендуется тем лицам, у которых нет диабета. Клиницистами обнаружено, что Е 954 влияет на обострение желчнокаменной болезни. Для взрослых Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) установила БПНСП Е 954 – не более 5 мг на 1 кг массы тела. Е 952 и Е 954 способны спровоцировать развитие онкологических заболеваний. Ксилит (Е 967) и сорбит (сорбитол) (Е 420) могут привести к развитию мочекаменной болезни. В больших дозах (более 30 граммов за один приём) Е 967 вызывает расстройство желудка. Ацесульфат калия (суннет, Sweet One) (Е 950) впервые описан в 1967 году. Как и Е 954 является сульфамидом. БПНСП Е 950 до 9 мг на 1 кг массы тела. В 1974 году признан медленно действующим ядом и канцерогеном. Хотя, проведенные токсикологические исследования не установили связь между возникновением опухолей и приемом Е 950. Сукралоза (Е 955), полученная в 1976 году - самый дорогой заменитель сахара. Её БПНСП - 5 мг на 1 кг массы тела. По данным многих работ не было выявлено канцерогенных и побочных свойств Е 955. Сульфиты продлевают срок годности лимонада. Они разрушают витамин В1, дефицит которого может привести к частой головной боли, недомоганию, нервозности, аллергии. В СБГНСПП часто встречается комплексная добавка «Мармикс-25», которую представляют как фруктозу. В её составе входят Е 950, Е 954 и Е 952, которые слаще сахара в 25 раз. Все заменители сахара обладают сильным желчегонным эффектом. В диетические прохладительные напитки (ДПН) добавляют Е 951 или Е 954, а при изготовлении обычных сладких напитков используется жидкий сахар - фруктоза и сахароза. Большинство СБГНСПП содержат кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы, чрезмерное употребление которой провоцирует повышение артериального давления, риск метаболического синдрома, СД II типа, заболевания сердечно-сосудистой системы.

В СБГНСПП для усиления вкуса и консервации добавляют некоторые кислоты (код DL), разрушающие кристаллическую решетку эмали зубов, что способствует появлению кариеса. Лимонная кислота (Е 330) чаще всего добавляется в СБГНСПП. Если напиток прошел все уровни сертификации, считается, что уровень содержания кислоты не представляет опасности. Е 330 приводит к эрозии зубной эмали, и в дальнейшем к выпадению зуба. Также используют яблочную (Е 296), реже – ортофосфорную кислоты (Е 338). Е 338 имеет лучший показатель растворения, чем другие кислоты. Все они вызывают образование на слизистой оболочке ЖКТ микроповреждений, на основе которых в кислой среде легко размножается любая патогенная инфекция.

Для придания СБГНСПП тонизирующих качеств, в них добавляют кофеин – стимулятор центральной нервной системы, помогающий бороться с сонливостью, противопоказанный детям до 12 лет. Е 290 усиливает его действие. Кофеин вызывает привыкание, тахикардию, нервозность, тревогу, раздражительность, агрессию, усталость, диарею, усиливает диурез, увеличивает потери кальция (выведение с мочой). У детей, употребляющих много кофеина, отмечают: головная боль, беспокойство,

нарушение сна и концентрации внимания. Ученые подчеркивают, что потребление кофеинизированных напитков вызвано изменением настроения и физической зависимостью от кофеина.

К шестой категории продуктов согласно перечню пищевых продуктов ВОЗ по степени загрязнения микроорганизмами относят пищевые добавки, загрязняющие основной продукт – красители (К), ароматизаторы (А). Они являются сильными аллергенами, также могут стать причиной общесоматических и онкологических заболеваний. Это относится к тем химическим веществам, которые входят в состав напитков темного цвета. Это обусловлено тем, что в них присутствует большое количество аммиака и его соединений. Название таких химических веществ маскируется под понятие красителя карамель (от настоящей карамели – одно только название), получаемую в результате сложной химической реакции между сахаром, аммиаком и сульфитами в условиях высокого давления и температуры. В полученном К образуются вредные вещества, вызывающие рак легких, печени, щитовидной железы и лейкоз. Острый лейкоз – заболевание крови, при котором в костном мозге накапливаются бластные клетки, в подавляющем большинстве случаев обнаруживаемые в периферической крови. К могут быть натуральными и синтетическими. Натуральные пищевые К: колер (жженный сахар) – темно-коричневый, К из выжимок винограда – темно-гранатового цвета, краситель из сушеных ягод бузины – красного цвета и другие. Синтетические К: индигокармин – синего цвета, тартразин Ф – оранжево-желтого цвета. Из К чаще всего в СБГНСПП применяют К желтый «солнечный закат» FCF, оранжевый-желтый S (E 110), вызывающий различные аллергические реакции (от крапивницы, ринита до бронхиальной астмы), тошноту, боль в животе, гиперактивность. Безопасным К является «сахарный колер I простой» (E 150a). Сахарные колеры II-IV (добавки E 150–E 150d) лучше избегать, так как они получены с использованием щелочей и кислот. Наиболее опасными по химическому составу являются E 110 и желтый хинолиновый (E 104), бриллиантовый голубой (E 133), тартразин (E 102). Известно, что вреда здоровью не принесут только натуральные К, добываемые из ягод и овощей. Вкус напитка определяют ароматические вещества, которые делят на настои, экстракты и эссенции, получаемые из растительного сырья и синтетических душистых средств. Фосфаты усиливают вкус напитка, но препятствуют усвоению железа, кальция. Все К и А, содержащиеся в СБГНСПП, расщепляются в печени.

СБГНСПП противопоказаны: детям до 3 лет, лицам с сахарным диабетом, аллергическими заболеваниями, хронической патологией желудочно-кишечной системы и поджелудочной железы, избыточным весом. Употребление СБГНСПП один из факторов ожирения (вероятность увеличивается почти в два раза). У их любителей риск получить СД II типа увеличивается на 80%. Известно, что СД II типа тесно связан с ожирением. Вещества, находящиеся в СБГНСПП, могут ухудшить самочувствие у хронических больных или даже спровоцировать очередной приступ.

Возникновению кариеса способствует рафинированный сахар, содержащийся в СБГНСПП. Разрушается эмаль зубов, вымывается кальций, отлагающийся в почках в виде камней. Не рекомендуются СБГНСПП лицам с болезнями почек. Предполагают, что в образовании камней в почках виновата E 338. Она сокращает содержание кальция в составе костей, что грозит увеличением риска переломов и развития мочекаменной болезни, почечной колики. Из-за содержания различных кислот, из организма вымываются такие вещества как натрий, кальций, цинк, магний. Частое употребление СБГНСПП может увеличивать риск развития остеопороза (ОП) – прогрессирующее системное заболевание скелета, характеризующееся снижением массы кости и нарушением микроархитектоники костной ткани, приводящее к увеличению хрупкости кости и риску переломов. Большинство атравматических переломов происходит у лиц с недиагностированным ОП. Раньше заболевания костей были болезнями пожилых людей, а сейчас у 10-12-летних детей развивается ОП. Клиницистами обнаружено, что активное накопление кальция происходит с 9 до 18 лет. Если к 18 годам кальция будет недостаточно, то уже в зрелом возрасте очень высока вероятность развития ОП. Это замечание имеет отношение преимущественно к детям и людям после 40 лет. Состояния, ассоциированные с дефицитом кальция – атеросклероз, ожирение, сахарный диабет. Регулярное употребление СБГНСПП детьми создает риск нарушения нормального процесса формирования костей в растущем организме. Существует научно доказанная обратно пропорциональная зависимость между употреблением СБГНСПП и минеральной плотностью костей у девочек, что повышает риск возникновения у них ОП во взрослой жизни. Доказана связь между потреблением СБГНСПП и высоким риском перелома костей, поскольку дети обладают высокой двигательной активностью, а их костная ткань еще не окрепла. Кальциевые соли E 338 гораздо лучше растворяются, чем кальциевые соли других кислот, применяемых в СБГНСПП. Поэтому у людей, употребляющих подобные напитки, значительно выше риск ОП, возникают проблемы с суставами. При отсутствии минеральных солей в щелочных продуктах, организм забирает их из костей. В результате долгосрочной, постоянно кислой диеты продолжается деминерализация костей и снижение плотности костной ткани, в конечном счете, приводя к ОП. Вероятно, по этой причине происходит увеличение численности людей в возрасте, страдающих ОП.

Бензоат натрия (E211), являющийся активным компонентом консервантов, используемых в большинстве СБГНСПП, деактивирует части ДНК. Это может приводить к циррозу печени, болезни Паркинсона, судорогам, а также злокачественным новообразованиям. Газированные напитки меняют сотни белков в мозге. Продукты, содержащие бензоаты натрия и кальция, не рекомендуется употреблять астматикам, больным экземой и людям, чувствительным к аспирину. При соединении с витамином С бензоат натрия образует бензол, являющийся канцерогеном. Вскрытия людей с болезнью Альцгеймера показали высокое содержание алюминия в их мозге (кислоты в СБГНСПП могут разъесть нижний шар алюминиевой банки). Доказано, что ионы алюминия угнетают остеобласты и снижают содержание остеокальцина. Могут развиваться гипогликемия (клинические проявления – вялость, апатия, сонливость) и гипокалиемия (усталость, потеря аппетита, тошнота). СБГНСПП могут вызывать зависимость (кофеин). В напитки добавляют жаждоусилители, которые заставляют пить их снова. Как утверждают датские ученые, те мужчины, которые выпивают больше литра СБГНСПП ежедневно, могут нанести вред качеству и количеству своей семенной жидкости. СБГНСПП связывают с высоким уровнем триглицеридов и низким уровнем холестерина высокой плотности, что может привести к увеличению риска сердечного приступа и без ожирения, развитию атеросклероза. Специалисты установили, что

независимо от возраста человека, газированные напитки действуют на любой организм одинаково. Пластиковой пленкой, содержащей бисфенол А (BPA), выстилается внутренняя поверхность консервных банок, чтобы металл не контактировал с едой, так как он может переходить в содержимое. BPA вызывает рак и проблемы с системой репродукции. Возможные последствия и основные болезни, в результате неумеренного потребления СБГНСПП: нарушение сердечного ритма, снижение иммунитета, мышечная слабость, заболевания кожи, дыхательных путей, паралич, стеатоз печени, ожирение, сахарный диабет, кариес, артериальная гипертензия, атеросклероз, гастрит, энтерит, колит, болезнь Альцгеймера, мочекаменная болезнь, рак поджелудочной железы, пищевода, простаты и другие онкологические заболевания любой локализации.

Ряд авторов подчеркивают, что употребление ДПН повышают риск преждевременных родов. У тех, кто ведет менее активный образ жизни, спортивные и энергетические напитки провоцируют набор лишнего веса. Последние исследования показывают, что ДПН не менее вредны для здоровья, так как содержат аспартам, который может вызывать бессонницу, депрессию, неврологические и другие заболевания. Многие клиницисты предупреждают также о вреде энергетиков и описывают случаи неврозов, приступов галлюцинаций, нарушений сердечного ритма, повышения артериального давления, проблем с почками, повреждениями печени, кровоизлияний, инсультов, иногда смертельные исходы (остановка сердца) у лиц, выпивавших в день более одной банки энергетиков. В напиток входит аминокислота таурин, повышающая риски к развитию алкоголизма и наркомании. Содержание кофеина в энергетике превышает установленные нормы, а также содержит аминокислоту таурин, глюкуронолактон, гидроокись углерода. Энергетические напитки не рекомендуется употреблять детям до 18 лет, беременным, кормящим женщинам, людям с сахарным диабетом.

Специалисты рекомендуют: постепенно отказаться от употребления СБГНСПП; стараться их не пить в жару, так как захочется больше; не заменять СБГНСПП негазированными - это бессмысленно; найти больше информации о вреде СБГНСПП; читать информацию на этикетке, чтобы застраховаться от покупки некачественной воды. Также важно найти ту марку воды, которая понравится больше; употреблять талую воду, способствующую улучшению обмена веществ, очищению организма; отдать предпочтение напиткам, изготовленным на натуральной основе. Стоматологи советуют пить СБГНСПП через соломинку, тогда жидкость попадает сразу в заднюю часть полости рта и не вступает в контакт зубами агрессивно и не рекомендуют чистить зубы сразу после их употребления, так из-за наличия кислоты может происходить дополнительная эрозия зубов. Наиболее полезны свежевыжатые соки с мякотью. Но, нужно помнить, что соки в пакетах и бутылках содержат много сахара. Можно употреблять чай, который не разрушает эмаль зубов.

#### **Заключение**

Проведенный анализ литературных данных позволил определить вредные факторы труда и заболевания работников предприятий, производящих и разливающих СБГНСПП, оценить возможное негативное влияние данных напитков на состояние здоровья потребителей, сформулировать рекомендации по их употреблению.

#### **Литература**

1. Большаков А.М., Маймулов В.Г. Общая гигиена / Под ред. А.М. Большакова, В.Г. Маймулова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 736 с.: ил.
2. Жевак Т.Н., Чеснокова Н.П., Шелехова Т.В. Хронический лимфолейкоз: современные концепции этиологии, патогенеза и особенностей клинического течения (обзор) // Саратовский научно- медицинский журнал. – Т.7, №2. – С.377-385.
3. Косарев В.В., Лотков В.С., Бабанов С.А. Профессиональные болезни (диагностика, лечение, профилактика) / В.В. Косарев, В.С. Лотков, С.А. Бабанов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 160 с.
4. Крюков Н.Н. Настольная книга терапевта / Н.Н. Крюков и др. – М.: Астрель: Полиграфиздат, 2012. – 672 с.
5. Остеопороз / под ред. А.И. Воложина, В.С. Оганова. – М.: Практическая медицина, 2005. – 238 с.: ил.
6. Прокофьева Е.С., Махонько М.Н., Шкробова Н.В. Пластик и его влияние на здоровье современных потребителей / Прокофьева Е.С., Махонько М.Н., Шкробова Н.В. // «Бюллетень медицинских Интернет-конференций». - Саратов. - 2013. – Том 3. – Выпуск 11. – С.1176-1178.
7. Сладкие газированные напитки. Вред или польза. [Электронный ресурс]. – доступ: <http://besage.ru/fizicheskoe-razvitie/stati/gazirovannye-napitki-vred-il...> (дата обращения: 08.11.2014).
8. Шедевры художественных галерей для докторов. Остеопороз / А.Л. Вёрткин, А.В. Наумов. – М.: Эксмо, 2011. – 256 с.: ил.

Неловко Т.В., Оганова К.М., Федоров С.А.

### Гигиена питания в профилактике заболеваний зубов

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, кафедра профилактики стоматологических заболеваний

#### Резюме

Причиной развития кариеса зубов считаются бактерии. Но огромное значение имеет характер питания. В рекомендациях по рациональному питанию человека не стоит забывать о роли пищи как фактора самоочищения полости рта, естественного процесса освобождения от остатков пищи и мягкого зубного налета. Если же имеется недостаток питательных веществ в период развития ребенка, вследствие болезни ребенка, матери в период беременности или лактации, эти вещества могут быть введены в организм с помощью медикаментов. Важную роль в развитии пародонтита играет наследственная предрасположенность.

**Ключевые слова:** кариес, пародонтит, питание, витамины, микроэлементы

Основной причиной развития кариеса зубов считаются бактерии зубного налета (в особенности, *Streptococcus mutans*), превращающие принимаемые в пищу сахара посредством гликолиза в слабые органические кислоты, вымывающие кальций и фосфор и разрушающие структуры зуба. Причиной кариеса является и ряд других факторов. Огромное значение имеет характер питания. Недостаточное поступление в организм белков, витаминов, минеральных солей, фтора и других микроэлементов способствует развитию кариеса. Основным недостатком рациона питания, провоцирующим развитие кариеса твердых тканей, является повышенное употребление углеводов в виде простых сахаров (сахар, печенье, конфеты). Такие продукты, как изюм, печенье или даже белый хлеб, сохраняются во рту после еды в количестве, достаточном для выработки бактериями кислоты дольше, чем остатки шоколада или карамели. Это, возможно, связано с тем, что шоколад и карамель содержат растворимые сахара, которые достаточно быстро вымываются слюной. Злоупотребление сладкими газированными напитками, которые задерживаются в полости рта, снижают уровень pH на длительное время. При употреблении в пищу легкоусвояемых углеводов, бактерии получают сахар, расщепляют его, образуя кислоты, которые приводят к деминерализации твердых тканей зуба. Сахароза является более кариесогенной, но мальтоза, лактоза, глюкоза, фруктоза и их комбинации тоже обладают кариесогенным потенциалом в разной степени.

Для снижения возможности возникновения кариеса зубов необходимо снизить общее употребление сахаров; уменьшить время пребывания сахаров в полости рта; не употреблять сладости в перерывах между основными приемами пищи; не есть сладкого на ночь; не употреблять сладкое как последнее блюдо; исключить употребление натурального сахара, а пользоваться его заменителями: 1. некалорийные: - сахарин (Е 420) - в 500 раз слаще сахарозы. В сутки можно употреблять не более 2,5 мг на 1 кг веса тела. Обладает мочегонным действием, безопасен; аспартам (Е 951) - в 200 раз слаще сахарозы. При его использовании калорийность продуктов снижается на 95 %. Противопоказан при фенилкетонурии. Употребление в сутки - не более 40 мг/кг веса тела. 2. Сорбитол (Е 420) - сладость 0,6 % от сахарозы. Является стабилизатором цвета, не токсичен. Способствует росту кишечной микрофлоры, синтезирующей витамины группы В. Употребляется без ограничений. 3. Ксилитол (Е 967) - имеет сладкий вкус с легким "холодком". Не вызывает повышение сахара в крови - показан при сахарном диабете. Не токсичен и не нормируется. В больших количествах может вызвать диарею. Использование «жевательных резинок» с ксилитом имеет положительную роль: удаляются остатки пищи и, частично, зубной налет с фиссур зубов и акт жевания приводит к выделению большого количества слюны.

Профилактику поражений зубов и десен ребенка следует начинать с ранних периодов беременности, т.к. зубы ребенка начинают формироваться задолго до его рождения. В рационе будущей мамы должно быть достаточно кальция, фосфора, фтора, витаминов. Продукты, богатые витамином Д – молочные, рыба, яйца; кальций содержащие – молочные, рыба, сыр; фтор содержащие – рыба, куриная печень, хлеб. Беременной женщине требуется 1,5 г. кальция в день. Однако, усвоение кальция организмом происходит в присутствии витамина D. Витамин D содержится в морской рыбе и вырабатывается и организмом под влиянием ультрафиолетовых лучей. Витамин D жирорастворим, поэтому усваивается в составе жиросодержащих продуктов. Если же имеется недостаток этих веществ в период развития ребенка, вследствие болезни ребенка, матери в период беременности или лактации, эти вещества могут быть введены в организм с помощью медикаментов.

Первичная профилактика болезней пародонта во многом сходна с профилактикой кариеса зубов. Жесткая пища и активное жевание способствуют правильному формированию и развитию зубочелюстной системы. Людям, у которых есть признаки заболеваний пародонта, необходима диета с ограничением жиров и легкоусвояемых углеводов. Важную роль в развитии пародонтита играет наследственная предрасположенность. Часто возникает при системных заболеваниях, сахарном диабете и др. нарушениях деятельности желез внутренней секреции, при хронических заболеваниях внутренних органов (атеросклероз, гипертония, вегетососудистая дистония), а также поражениях костей (остеопении). Необходимо употреблять в пищу полноценные белки, которые играют важную роль в профилактике атеросклероза. Еще одной причиной пародонтита является недостаточность кровоснабжения тканей пародонта, что приводит к ее атрофии и потере зубов. Большое внимание уделяется нормализации питания с достаточным количеством витаминов Е, С и Р: а) продукты, содержащие бета-каротин, цинк, витамин С (шиповник, черная смородина, апельсины, лимоны, помидоры, красный перец, петрушка, капуста, черника); б) побольше твердой пищи (морковь и яблоки), что обеспечит деснам необходимую нагрузку и удаляет зубной налет; в) ранней весной делают настои из почек, побегов и листьев березы, сосны, липы, крапивы, сныти, шавеля, салаты из молодых листьев одуванчика (предварительно вымочив их в соленой воде). Полезно также ежедневно есть молодые листочки кресс-салата, богатого витамином С. Существенную роль в профилактике пародонтита играют комплексы микроэлементов - "Центрум", "Мультиабс" и др. Медь содержится в чечевице, раках, крабах, печени, пшенице, хлебопродуктах, чае, кофе, картофеле. Она влияет на усвоение организмом железа, участвует в кроветворении, важна при иммунных реакциях. Способствуют усвоению меди творог, сметана, соя, чернослив, овсяные

хлопья, яичные желтки, сыр, патока. Препятствуют усвоению меди продукты, содержащие много витамина С, фрукты, овощи. Железо содержится в говядине, темном мясе птицы, особенно индейки, фасоли, гречке, печени, овощах, фруктах. Оно обеспечивает нормальную "сцепку" красных кровяных телец с кислородом для транспортировки его к мышечным тканям. Способствует усвоению железа лук-порей, орехи, овощи, тушеные в горшочке, горох, яблоки. Препятствует усвоению железа пшеница, продукты с повышенным содержанием кальция, фосфора и цинка, чай, кофе. Цинк содержится в говядине, различных крупах, крабах, устрицах, яичных желтках, сыре, бобах. Он влияет на репродуктивную функцию, а также на формирование костной и хрящевой ткани, необходим для зрения. Усвоению цинка способствует белое сухое вино. Препятствуют усвоению цинка продукты, богатые медью, кальцием и железом. Совсем недавно для лечения пародонтоза начали использовать антиоксиданты животного происхождения, благодаря созданию из рыбы корюшки лечебно-профилактического препарата "Каротиноли М", содержащего жирорастворимые витамины А, D, E, F, бета-каротин, ненасыщенные жирные кислоты, в том числе семейства омега-3 и омега-6, микроэлементы и минеральные вещества. Профилактика стоматологических заболеваний включает в себя сбалансированное питание, при котором в пище содержатся в необходимом количестве белки, жиры, углеводы, витамины, минеральные вещества. В рекомендациях по рациональному питанию человека не стоит забывать о роли пищи как фактора самоочищения полости рта, естественного процесса освобождения от остатков пищи и мягкого зубного налета.

#### Литература

1. Лукиных Л.М. Профилактика кариеса зубов и болезней пародонта. - М.: Медицинская книга, 2003. - 196 с.;
2. Лукиных Л.М. Кариес зубов (этиология, клиника, лечение, профилактика); изд. организация Нижегородская государственная медицинская академия. - 4-е изд. – Нижний Новгород: НГМА, 2004. - 186 с.;
3. Трушкина Л.Ю., Трушкин А.Г., Демьянова Л.М. Гигиена и экология человека, учебное пособие, 2003;
4. Стожаров А.Н. Медицинская экология, учебное пособие, 2007;
5. Большаков А. М., Маймулов В. Г. Общая гигиена: учебное пособие - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 735 с.

УДК 616.31-02:614

# КАРИЕС ЗУБОВ – БОЛЕЗНЬ ЦИВИЛИЗАЦИИ

**В.К. Леонтьев**

Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

*Эл. почта: leontyevvk@mail.ru*

*Статья получена редакцией 25.03.2010, принята к печати 15.06.2010*

Рассмотрены различные факторы этиологии, патогенеза кариеса зубов, в том числе питание, социальные нравы и привычки человека и их роль в возникновении кариеса зубов. Показано, что это заболевание является типичной болезнью цивилизации. Его широкое распространение и возрастание пораженности им населения прямо связаны с введением в рацион человека сахара как массового, недорогого и вкусного продукта питания. Это произошло в конце XIX – начале XX вв., что совпадает с резкой волной увеличения заболеваемости кариесом. Дальнейшее возрастание доли сахара в питании быстро привело к сплошной заболеваемости населения кариесом. Во многом этому способствовали особенности сахара как пищевого продукта, а также нравы и привычки людей. Показаны взаимосвязи этиологических и патогенетических аспектов кариеса зубов с питанием человека, особенностями потребления углеводов и другими факторами, а также даны основные рекомендации по профилактике кариеса зубов.

**Ключевые слова:** *кариес, питание, сахар, образ жизни.*

## DENTAL CARIES AS A CIVILIZATION DISEASE

**V.K. Leontyev**

Moscow Medico-Stomatological University, Moscow, Russia

*E-mail: leontyevvk@mail.ru*

The article discusses different factors of etiology and pathogenesis of dental caries, including dietary, social, and behavioral habits. Caries is shown to be a typical disease of civilization. Its wide prevalence and the high level of related teeth lesions are associated with the advent of sugar as a cheap, highly available and attractive foodstuff, which occurred at the turn of the XIX and XX centuries and was accompanied by a burst caries prevalence. Further increase in sugar consumption resulted in total caries-related morbidity. The causes of this situation include sugar characteristics proper as well as human habits. Some relationships between the etiological and pathogenetic aspects of dental caries and human nutrition, carbohydrate consumption and other factors are discussed. Recommendations for caries prevention are described.

**Keywords:** *dental caries, sugar, diet, lifestyle.*

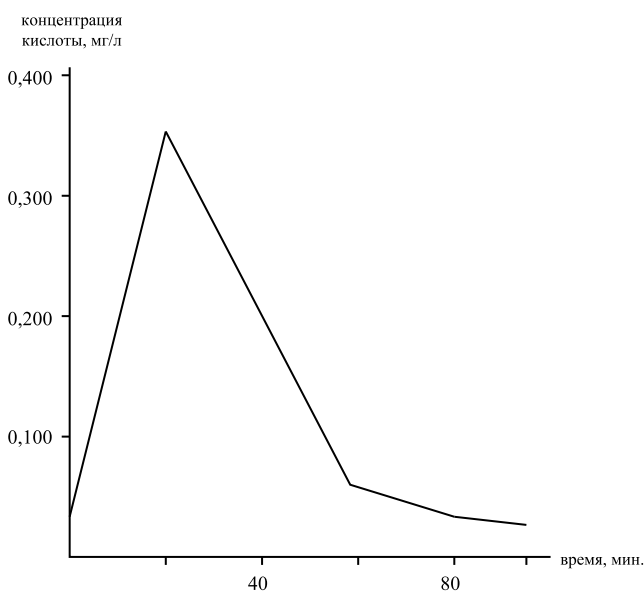
Важнейшим результатом изучения кариеса зубов на протяжении 100 последних лет явилось признание того факта, что возникновение, развитие и широкое распространение кариеса находится в прямой связи с цивилизацией общества, особенно с важнейшим фактором цивилизации – модификацией диеты и питания в целом.

Достоверно известно, что древние народы практически не знали кариеса. В раскопках IX–XII вв. кариес встречался в 0–10% черепов, а его интенсивность была представлена единичными поражениями. Особенно интересен факт, что знать уже в древние времена (Египет, Рим) поражалась кариесом в десятки раз чаще, чем обычное население.

Первое значительное увеличение поражаемости кариесом зубов совпало по времени с появлением методов тонкого помола муки и массовых пищевых продуктов из нее. Это произошло в XVIII–XIX вв. и повлекло за собой возникновение первой волны распространения кариеса зубов. В этот период постепенно возрастала как распространенность, так и интенсивность кариеса зубов, с единичных поражений до 20–40% населения, и постепенно поражаемость кариесом становилась всеобщей [9].

Вторая, основная волна увеличения распространенности кариеса зубов у населения Земли связана с разработкой способов массового производства дешевого и доступного свекловичного и тростникового сахара (сахарозы). Это случилось на рубеже XIX–XX вв. В результате сахар стал массовым и общедоступным продуктом питания. Одновременно продолжилось значительное возрастание распространенности и интенсивности кариеса зубов, продолжающееся до настоящего времени. С конца прошлого века до сегодняшнего дня распространенность кариеса зубов с 20–40% населения возросла до 80–100% (табл. 1). При этом средняя интенсивность поражения кариесом зубов сегодня составляет 3,0–7,0 зубов на человека в возрасте 12 лет против 1,0–2,0 в конце XIX в. Эра галопирующего нашествия кариеса в большинстве стран мира, где не проводится массовая профилактика, продолжается, и проявляется она в двух показателях – в увеличении интенсивности поражения у каждого человека и во все более ранней потере зубов. Наблюдаются случаи полной беззубости у лиц 30–35 лет.

Особенно показательны примеры роли цивилизации при модификации питания народов Севера, которые еще в середине XX в. практически не имели кариеса (ханты,

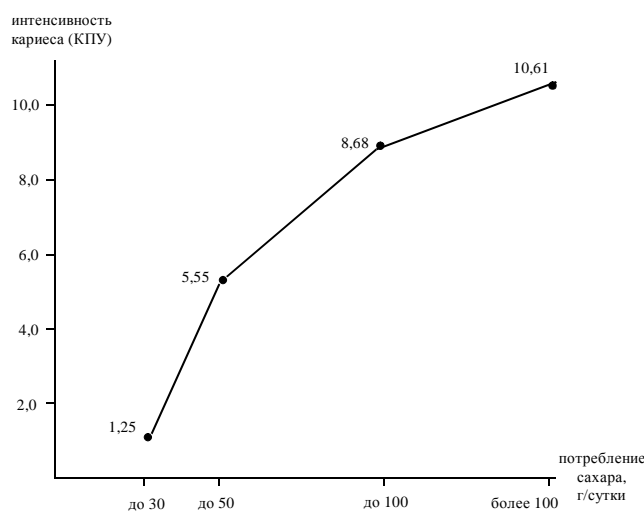


**Рис. 1.** Влияние приема сахара на кислотопродукцию во рту («метаболический взрыв»).

манси, ненцы и др.). Революционное изменение характера питания, произошедшее у них в 50–70-е гг. прошлого века, привели к возрастанию распространенности кариеса у них до 50–70%. За это время аборигенное население Севера России от традиционного употребления сырой рыбы, мяса, большого количества жира перешло на обычное питание северян привозными продуктами – мясом, крупы, хлеб, консервы, сахар и сахаросодержащие продукты с соответствующей кулинарной обработкой пищи и условиями ее потребления. В результате с 70-х гг. до настоящего времени как распространенность, так и интенсивность заболеваемости кариесом у них практически сравнялись с уровнем заболеваемости пришлое населения [11]. Произошло все это за какие-то 40 лет!

В победном шествии кариеса зубов по Земле важнейшую роль сыграли два фактора: особенности сахара как пищевого продукта, а также нравы и привычки человека. Сахар (сахароза) является практически единственным продуктом питания, метаболизм которого начинается и может завершиться в полости рта. В ней для этого имеется все: достаточная влажность, оптимальная и постоянная температура, наличие полного набора ферментных систем микробного происхождения, необходимых для процесса гликолиза. В результате любой прием сахара вызывает мгновенный «метаболический» взрыв во рту, результатом которого является активная продукция и накопление кислоты в местах ретенции пищи (рис. 1), в полости рта (язык, зубной налет, ямки и фиссуры зубов, контактные и придесные поверхности зубов).

Второй фактор, который определяется нравами и привычками человека, – использование сладкой пищи бесконтрольно, как последнего продукта питания при приеме пищи (десерт), между приемами пищи, на ночь. Это значительно усугубляет ситуацию, так как такие привычки препятствуют нормальному самоочищению полости рта, усугубляют кислотопродукцию и ее вредное влияние на зубы. Потребление сладкой пищи в описанные периоды неизбежно ведет к ее задержке во рту, увеличению времени ее пребывания, активизации метаболизма сладкого и активной кислотопродукции.



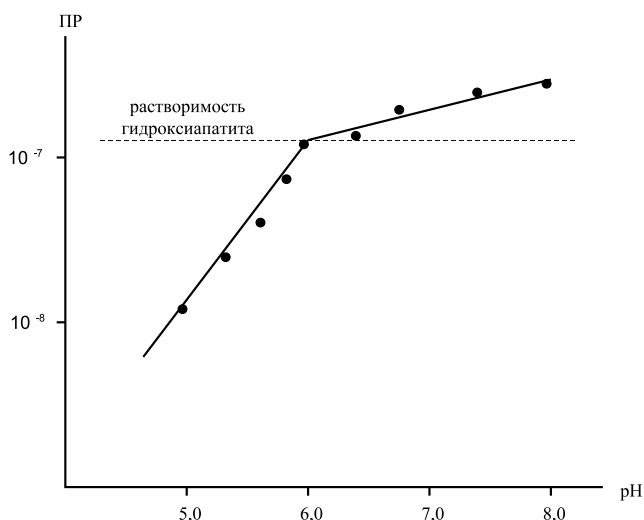
**Рис. 2.** Зависимость поражения кариесом зубов (КПУ – средняя сумма кариозных, пломбированных и удаленных/подлежащих удалению зубов) от суточного потребления сахара.

Определенную лепту в описанные процессы внесло и изменение жевательной активности человека и появление новых видов пищевых продуктов и способов их употребления, неизменно сопутствующих цивилизации. Это связано как с улучшением кулинарной обработки пищи, так и с новыми ее свойствами – увеличением липкости и мягкости пищевых продуктов, увеличением времени пребывания их во рту, снижением потребности в жевательных усилиях. Это неизбежно влечет за собой развитие жевательной лености и ухудшение самоочищения полости рта. Проведенные исследования показали, что большинству населения в наше время свойственна жевательная леность. Люди предпочитают хлебную мякоть, молотое мясо, очищенные фрукты. Лишь 20–30% населения любят грубую, твердую, жесткую пищу. Несомненно, что этот фактор цивилизации также внес свой вклад в заболеваемость кариесом.

Имеются и серьезные объективные данные о роли углеводов в питании населения. С конца XIX в. до настоящего времени количество сахара, потребляемого на душу населения, возросло с 0,5–2,0 кг в год до 40–60 кг в настоящее время. Соответственно этому имеется и прямая доказанная зависимость между потреблением сахара и заболеваемостью кариесом зубов (рис. 2).

Таким образом, возникновение и развитие кариеса зубов у человечества тесно связано с цивилизацией, с изменением характера питания и привычек человека, в связи с чем кариес зубов можно с полным основанием отнести к болезням цивилизации.

Этиология и патогенез кариеса зубов хорошо изучены и известны. С абсолютной точностью доказано, что кариес зубов является хроническим инфекционным заболеванием, и причина его – неспецифическая микрофлора полости рта человека, в основном *Streptococcus mutans*. Точно доказано, что без микробов нет кариеса. С 1950-х гг. хорошо известны опыты исследователей, которые извлекали крысят из полости матки крыс в стерильных условиях и затем содержали их в стерильной атмосфере на самых жестких кариесогенных диетах. Некоторые диеты приводили даже к гибели



**Рис. 3.** Произведение растворимости (ПР) гидроксиапатита в слюне при различных pH.

животных, но ни в одном случае никогда не развивался кариес. Если же в диету этих животных добавлялась неспецифическая микрофлора, это неизбежно приводило к развитию кариеса зубов.

У человека основную кариесогенную роль играет неприхотливая микрофлора полости рта типа *Streptococcus mutans*, которая способна к длительному существованию в условиях полости рта человека и хорошо адаптировалась к периодическому приему пищи.

Патогенез кариеса зубов в значительной степени связан с нравами и привычками человека и свойствами микрофлоры полости рта. В основе патогенеза кариеса зубов лежит систематическое нарушение в полости рта равновесия процессов де- и реминерализации [5]. Деминерализация происходит в результате периодических актов кислотопродукции, связанной с приемами пищи, содержащей сахар. В результате задержки в полости рта остатков сахарозы (главным образом на языке) под влиянием микрофлоры происходит их утилизация, сопровождающаяся выработкой органических кислот. Этот процесс совершается в зубном налете – тонкой беловато-прозрачной пленке на поверхности зубов, преимущественно на их плохо очищаемых поверхностях – пришеечных участках, в фиссурах, на контактных поверхностях. Этот налет, по существу, является микробной колонией и представляет собой автономное образование, состоящее из неспецифической микрофлоры полости рта [4]. Он содержит депо полисахаридов (левана, дектрана) покрытых пленкой, специально-вырабатываемой микробами, защищающей колонию от действия факторов полости рта. При поступлении в рот сахара немедленно начинается его метаболизм путем гликолиза до образования органических кислот, в основном молочной, а также запасание пищи впрок в виде депо полисахаридов. Эти явления сопровождаются снижением pH в налете до 4,0–6,0. При таком pH происходит растворение эмали зубов (рис. 3). Кислотопродукция в налете воздействует также на слюну. За счет поступления кислот из налета pH слюны подкисляется до 5,8–6,2. Такое подкисление слюны нарушает степень ее насыщенности солями Са и Р (табл. 2). Она из обычно перенасыщенного минеральными компонентами состояния переходит в ненасыщенное, что способствует растворению эмали. В ре-

зультате под действием кислот налета эмаль не только не восстанавливается, но и, при многократном воздействии сахара и кислот, быстро разрушается дальше. Если такой процесс происходит часто, то постепенно наступает некомпенсируемый сдвиг на поверхности эмали зубов в сторону деминерализации и развивается кариес. Патогенетическая роль в возникновении кариеса зубного налета также точно доказана опытами по ежедневному его удалению. Если эта процедура совершается качественно и регулярно, то кариес не развивается.

В патогенезе кариеса зубов большую роль играет и резистентность зубных тканей. Уровень резистентности зависит от состояния здоровья человека, от закладки и развития зубов в онтогенезе, от наследственных факторов, от содержания фтора в воде и пище. Поэтому разные люди имеют различный уровень резистентности к действию кариесогенных факторов. Однако, как показывают наблюдения клиники и эпидемиологические обследования, у абсолютного большинства населения этот уровень недостаточен для противостояния кариесогенным факторам. Влияние уровня резистентности проявляется в интенсивности кариозного поражения, а также в большей или меньшей возрастной динамике возникновения кариеса.

Табл. 1

**Средний КПУ зубов населения в возрасте от 35 до 44 лет в Европе, 1987–96 гг. (WHO/ORH/Caries 35 – 44 1996 г.)**

Страна	Средний КПУ	Уровень интенсивности кариеса по ВОЗ
Казахстан	5,4	Низкий (1,6–6,2)
Молдавия	6,3	Средний (6,3–12,7)
Туркмения	7,6	
Румыния	8,5	
Армения	8,8	
Украина	9,0	
Грузия	9,2	
Узбекистан	9,9	
Албания	10,7	
Турция	11,6	
Италия	12,0	
Россия	12,4	Высокий (12,8–16,2)
Беларусь	13,8	
Литва	13,8	
Франция	14,6	
Венгрия	15,0	
Греция	15,8	
Хорватия	16,1	Очень высокий (≥ 16,3)
Германия	16,3	
Чехия	17,7	
Нидерланды	17,7	
Латвия	18,5	
Ирландия	19,0	
Великобритания	19,0	
Польша	19,3	
Финляндия	20,1 (35 лет)	
Норвегия	20,5	
Дания	22,0	
Швейцария	22,3	

Влияние pH на степень насыщенности слюны ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ 

pH	$a_{\text{Ca}^{++}} \times a_{\text{HPO}_4^{2-}}$	Степень насыщенности слюны гидроксиапатитом
8,0	$7,27 \times 10^{-7}$	Резко перенасыщена
7,25	$5,80 \times 10^{-7}$	Резко перенасыщена
7,06	$4,69 \times 10^{-7}$	Резко перенасыщена
6,76	$3,86 \times 10^{-7}$	Резко перенасыщена
6,26	$1,85 \times 10^{-7}$	Насыщена
6,00	$1,16 \times 10^{-7}$	Не насыщена
5,90	$9,57 \times 10^{-8}$	Не насыщена
5,75	$6,95 \times 10^{-8}$	Не насыщена
5,50	$4,37 \times 10^{-8}$	Резко недонасыщена
5,00	$1,40 \times 10^{-8}$	Резко недонасыщена

В патогенезе кариеса значительную роль играет также содержание фтора в воде и пище. Его воздействие имеет три патогенетических аспекта. Во-первых, фтор образует с гидроксиапатитом эмали гидроксифторапатит – новое соединение, гораздо менее подверженное растворению в кислотах, чем гидроксиапатит. Поэтому оптимальное содержание фтора в воде (1 мг/л) и в пище, отложение его при закладке и развитии в эмали зубов способствует резистентности зубов кариесу. Во-вторых, фтор ингибирует один из ферментов гликолиза, что также препятствует кислотопродукции. В-третьих, фтор способствует задержанию Ca и P в минерализованных тканях и их лучшей минерализации.

Клинические проявления кариеса до возникновения осложнений выражаются в возникновении кариозных полостей, особенно на плохо очищаемых и малодоступных слюне поверхностях зубов. На ранних стадиях возникает кислотная деминерализация в виде пятна, которая может быть подвергнута реминерализации с помощью специальных реминерализующих смесей лечебной и профилактической направленности, содержащих Ca, P и фтор. Однако при возникновении полостей имеется лишь один метод лечения – пломбирование. Его сущность заключается в очищении и удалении разрушенной части зуба с помощью специальных инструментов, создании условий для замещения и фиксации в полости зуба материала, замещающего ткани зуба – пломбы. Имеется много различных материалов, инструментов для обработки зубов, приемов для надежной фиксации пломбы, но до сих пор во многом успех такого лечения зависит от искусства и мануальных навыков стоматолога.

В изучении проблем кариеса большую роль сыграли отечественные ученые. Еще в 20-е гг. проф. Д.А. Энтин [12] показал важную роль нарушения взаимодействия слюны с поверхностью зубов в патогенезе кариеса. Профессор И.Г. Лукомский [9] был одним из первых ученых в мире, показавших роль фтора в патогенезе и профилактике кариеса. В 50–90 гг. XX в. российскими учеными впервые была доказана роль и значение механизма проницаемости и растворимости тканей зубов

в условиях физиологии и патологии. Впервые в мире были разработаны методы диагностики и лечения начального и фиссурного кариеса зубов. До сих пор российские ученые [2, 3, 5, 6, 10] имеют уникальный опыт лечения начального кариеса зубов, методы которого были разработаны и внедрены в России. Ими предложены оригинальные и принципиально новые подходы к диагностике и лечению начальных форм кариеса.

Основным направлением кариесологии в настоящее время является профилактика. На основе хорошо изученных этиологии и патогенеза кариеса зубов, главные направления профилактики прекрасно разработаны и дают четко предсказуемые хорошие результаты. В профилактике кариеса есть два патогенетических направления – усиление резистентности зубных тканей и снижение кариесогенного действия микрофлоры во рту. Повышение резистентности зубных тканей тесно связано с применением препаратов фтора. При этом используется как фторирование в массовых масштабах (воды, соли, молока), так и местное применение ионов фтора в составе зубных паст, гелей, полосканий. Массовое фторирование воды и пищевых продуктов – хорошо доказанный и эффективный метод профилактики кариеса зубов. В США более 50% населения используют фторированную воду [7]. Применение этого метода позволило многим странам за 10–20 лет резко снизить заболеваемость кариесом. Такой эффект наблюдается в большинстве развитых стран мира. Сейчас в широкую профилактическую практику активно входят методы фторирования молока и соли. Одним из главных остается метод местного применения фторидов, в основном в виде зубных паст. В их действии соединены два подхода – усиление резистентности зубных тканей в результате фторирования и снижение кариесогенности путем удаления зубного налета. Эффективность этого метода очень высока, она не уступает способам массовой профилактики кариеса, однако этот способ более дорог. В России в 50–60-х гг. также было построено более 100 установок для фторирования питьевой воды. Однако большинство из них систематически не работало и не работает из-за экономических причин и недооценки

социальной и медицинской значимости мероприятий. Там же, где эти методы использовались (города Мончегорск, Норильск, Москва), были получены результаты, не отличающиеся от мировых. Сейчас практически повсеместно фторирование воды прекращено.

В России в последние 10 лет начато фторирование молока (города Смоленск, Майкоп, Воронеж и др.), которое ежедневно выдается детям в школах [8]. Показана значительная эффективность этого метода, однако он действует только при длительном и постоянном использовании продукта. Использование этого метода сейчас расширяется.

Огромную роль в профилактике стоматологических заболеваний в России играет использование зубных паст, содержащих фторид. Проведены глубокие научные исследования, доказавшие их высокую профилактическую эффективность, вплоть до 70% редукции кариеса [1].

Сейчас в России имеется достаточно широкий выбор превосходных зубных паст, как поставляемых зарубежными фирмами, так и выпускаемых в нашей стране («Невская косметика»). Их широкое применение явилось одним из основных факторов, ограничивших распространенность и интенсивность основных стоматологических заболеваний при наблюдающейся в настоящее время снижении доступности стоматологической помощи населению.

Имеется еще один важнейший момент, без разработки и внедрения которого нельзя даже говорить о разработке социально значимых программ в стоматологии. Речь идет о санитарной пропаганде, санитарно-просветительской работе и обучении детей. Без внедрения этих методов в нашу жизнь нельзя ставить всерьез ни одну из программ массовой, групповой, индивидуальной профилактики кариеса. Основную роль во внедрении санпросветработы и других методов профилактики должны играть организация, управление и созданная на их осно-

ве программа работы с населением, с властями, с детьми в школах и детских учреждениях, с их родителями.

Огромное место в этих процессах должны занимать средства массовой информации, специальные образовательные программы, проведение санпросветработы в школах, детских садах. Очень важную роль при этом имеет создание специально обученного персонала со средним медицинским образованием для этих целей. На Западе именно эти лица практически осуществляют проведение и мониторинг различных профилактических стоматологических программ. Указанные подходы совершенно надежно позволяют за 10 лет проведения профилактики в два-три раза снизить заболеваемость населения кариесом, что убедительно доказано во всех развитых странах мира.

Важную роль играет также контроль и некоторая модификация питания, в основном за счет ликвидации или ограничения вредных привычек, связанных с потреблением сладкого.

Для широких слоев населения, особенно для детей, рекомендуется четыре правила культуры потребления сладкого:

1. Не есть сладкое на ночь.
2. Не есть сладкое как последнее блюдо при приеме пищи.
3. Не есть сладкое между основными приемами пищи.
4. Если нарушено какое-либо из этих трех правил – надо либо почистить зубы, либо съесть твердый фрукт или овощ, либо тщательно прополоскать рот.

Очень важно, что с помощью простых, понятных, доступных, но надежных методов можно добиться прекрасных результатов в снижении заболеваемости кариесом, что уже достигнуто в Финляндии, США, Англии и других западных странах [7]. Однако проведение таких мероприятий в масштабе большой страны невозможно без помощи и участия государства.

## Литература

1. Аврамова О.А. Использование фторидсодержащих зубных паст в системе профилактики основных стоматологических заболеваний у детей. – Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2005.
2. Боровский Е.В. Пути проникновения и распределения кальция в твердых тканях зуба // Стоматология. – 1957. – № 6. – С. 11–13.
3. Боровский Е.В. О проницаемости эмали зуба // Стоматология. – 1966. – № 1. – С. 25–27.
4. Левицкий А.П., Мизина Н.К. Зубной налет. – Киев: Здоровье, 1987. – 80 с.
5. Леонтьев В.К. Кариес и процессы минерализации. – Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1978.
6. Леонтьев В.К., Иванова Г.Г., Жорова Т.Н. Электрометрическая диагностика поражений твердых тканей зуба. – Стоматология. – 1990. – № 5. – С. 19–24.
7. Леонтьев В.К., Пахомов Г.Н. Профилактика стоматологических заболеваний. – М., 2006. – 416 с.
8. Леонтьев В.К., Пахомов Г.Н., Борроу Н. Фторирование молока. – Москва–Воронеж, 2004. – 70 с.
9. Лукомский И.Г. Кариес зуба. – М.: Медгиз, 1948.
10. Пахомов Г.Н. Кариес зубов и его профилактика. – Рига: Зинатне, 1976.
11. Сунцов В.Г. и соавт. Инновационная деятельность кафедры стоматологии детского возраста по проблемам диагностики, профилактики и лечения стоматологических заболеваний. – Омск, 2007.
12. Энтин Д.А., Гейкин М.Н. Материалы к изучению по вопросу о биохимии смешанной слюны человека. 3. О содержании фосфора в слюне // Одонтол. стоматол. – 1928. – № 5. – С. 5–20.

© СИМОНОВА К.К. – 2006

## БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА И ПРОФИЛАКТИКИ КАРИЕСА ЗУБОВ

К.К. Симонова

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.В. Малов, кафедра биологической химии, зав. – д.м.н., проф. В.И. Кулинский)

**Резюме.** Рассмотрены и проанализированы биохимические аспекты патогенеза и профилактики кариеса зубов. На основе ингибирования ферментов обмена углеводов окисленным глутатионом предложена гипотеза о возможности его использования для профилактики кариеса.

**Ключевые слова.** Микробный метаболизм сахарозы, кариес зубов, окисленный глутатион (GSSG).

Кариес – это патологический процесс, проявляющийся после прорезывания зубов, при котором происходит деминерализация и размягчение твёрдых тканей зуба с последующим образованием полости.

Лечение кариеса – оперативное. Оно представляет собой полное иссечение пораженных тканей с последующим замещением дефекта пломбировочным материалом. Однако это не останавливает кариозный процесс и довольно часто возникают рецидивы, что в конечном итоге ведёт к утрате зуба – к безвозвратной потере органа [3,10]. Поэтому необходима профилактика кариеса – важная и очень трудная задача, касающаяся практически любого человека.

Тот факт, что при наличии огромного количества научных исследований до настоящего времени дискутируются некоторые механизмы кариозного процесса и его профилактики, указывает на его сложность. Высокая специфичность эмали зуба, не имеющей в своём составе ни сосудов, ни нервов, не позволяет провести аналогии с патологией любого другого органа или ткани [3].

*Роль микробного метаболизма в патогенезе кариеса*

Ещё в глубокой древности предпринимались попытки выявить причину разрушения зубов. В I веке н.э. древнеримский врач Скибрионий высказал предположение, что причина кариеса зубов в «дурных соках» и связывал это заболевание с патологическим состоянием

печени, желудка, селезёнки и других органов. В XVII веке возникла химическая теория, в соответствии с которой разрушение зубов объясняли действием кислот, попадающих в полость рта. К тому времени относится фраза, что «где нет кислот, там нет и кариеса зубов». Обнаружение в полости рта и разрушенных тканях зуба обилия микроорганизмов позволило трактовать кариес как гнилостный процесс, вызываемый находящимися в полости рта микробами. Эти данные обобщил В. Миллер в книге «Микроорганизмы полости рта человека» (1884): «Разрушение зуба является химико-паразитарным процессом, состоящим из двух разнообразных стадий: декальцинации, или размягчения тканей, и разрушения размягченных остатков. Кислоты, которые вызывают обезызвляющий эффект, происходят главным образом от частиц, содержащих крахмал, и сахаросодержащих субстанций, располагающихся в ретенционных пунктах и подвергающихся ферментации» (цит. по [1]).

Следует отметить, что химико-паразитарная теория, получив ряд новых данных в процессе клинко-лабораторных исследований, приобрела законченную форму и в современной трактовке полнее раскрывает процесс возникновения и течения кариозного процесса [1,3]. В настоящее время возникновение кариеса зубов связывают с локальным изменением pH на поверхности зуба под зубным налётом.

Зубная бляшка начинает расти уже через 2 ч после чистки зубов. В течение суток в налёте преобладает кокковая флора, а затем она меняется. Первоначально образованный налёт содержит анаэробные микроорганизмы, более зрелый — аэробные и анаэробные. Индивидуальные колебания велики, но более 70% колоний составляют стрептококки, 15% — вейлонеллы и нейссерии и 15% — вся остальная микрофлора [9]. В 50-х годах Oglander и соавт. доказали, что у молодых крыс, содержащихся на кариесогенном рационе, но в стерильных условиях, кариес не возникал, тогда как у животных контрольной группы зубы были поражены (цит. по [1]). В настоящее время признано, что без микроорганизмов кариес не возникает.

Накопились данные, свидетельствующие о том, что в этиологии кариеса зубов ведущую роль играют оральные стрептококки группы *Streptococcus mutans*. Впервые *S. mutans* был выделен от больного кариесом в 1924 г. Дж. Кларком. Но прошло много лет, прежде чем его роль в этиологии кариеса была достаточно обоснована. Этот стрептококк обнаруживается в зубных бляшках, в слюне, в испражнениях и в крови. *S. mutans* отличается от других стрептококков по морфологии колоний, его способности ферментировать маннит, сорбит; некоторым другим биохимическим признакам (ферментирует рамнозу и салицин; не образует перекиси водорода, дает положительную реакцию Фогеса-Проскауэра); способностью клеток прилипать к гладкой поверхности в присутствии сахарозы и антигенными свойствами. Изучение других свойств *S. mutans* показало, что существует несколько видов кариесогенных стрептококков: *S. mutans*, *S. macacae*, *S. sobrinus*, *S. rattus*, *S. ferus*, *S. cricetus*. Детальные таксономические исследования четко показали, что каждый из них представлен отдельным видом. Тем не менее, в основном это *S. mutans* и *S. sobrinus*, которые выделяют не только у человека, они также вызывают кариес и у животных, таких как хомяки, крысы и обезьяны [9]. Кариес у человека вызывают и другие бактерии — лактобациллы и актиномицеты.

Кариес протекает стадийно, ферментативная деятельность бактерий зубной бляшки приводит к образованию органических кислот, вызывая локальное снижение pH, и начинается деминерализация (обратимый процесс), затем нарушаются микроскопические связи и появляются щели вдоль эмалевых призм, идет образование полости и вовлечение нижележащих тканей зуба. Параллельно с этими стадиями доминирующая бактериальная флора подвергается изменениям, демонстрируя феномен, известный как «микробиологическая последовательность» [3].

Во время стадий развития кариеса баланс между аутохтонной транзитной флорой на поверхности зуба (супрагингивальный налет) и облигатной флорой ведет к началу деминерализации эмали зуба. Растет количество таких микроорганизмов как *S. mutans* и *Lactobacillus*, что наверняка связано с понижением pH (до 5,0-4,5), а количество *S. sanguis* и *A. naeslundii*, наоборот, уменьшается. Когда белый налет уже образовался, преобладают *S. mutans*, далее идет колонизация видами *Lactobacillus* [9].

Патогенность *S. mutans* связана, прежде всего, с его способностью прикрепляться к гладкой поверхности зубов и формировать кариесогенные бляшки. Это свой-

ство опосредуется синтезом полимеров из сахарозы, которая присутствует в пище. У *S. mutans* обнаружен фермент глюкозилтрансфераза, которая расщепляет сахарозу на фруктозу и глюкозу и осуществляет синтез глюкановых полимеров. Образующийся при этом нерастворимый глюкан играет ключевую роль в прикреплении и агрегации *S. mutans* и в формировании зубных бляшек. Глюкозилтрансфераза обладает двумя активностями: декстраназы и мутансинтетазы. Оба фермента необходимы для синтеза глюкана из сахарозы. На клеточной стенке *S. mutans* имеются рецепторы полисахаридной и белковой природы, с которыми соединяется глюкозилтрансфераза. Этот фермент не только обеспечивает синтез глюкана из сахарозы, но и служит посредником, с помощью которого нерастворимый глюкан прикрепляется к поверхности клеток стрептококка. В дополнение к глюканам *S. mutans* синтезируют из сахарозы фруктаны с помощью особого фермента — фруктозилтрансферазы. Фруктаны, как и глюканы, участвуют в формировании зубной бляшки, которая состоит из полисахаридного матрикса, связанного с различными видами бактерий. Благодаря образованию глюканов и фруктанов, *S. mutans* вызывает межклеточную агрегацию как самого *S. mutans*, так и других видов бактерий, колонизирующих бляшки (*Neisseria*, *Nocardia*, *Actinomyces viscosus*, *Candida*) [3].

После прикрепления бактерий к поверхности зуба процессы их жизнедеятельности оказываются зависимыми от окружающих условий и приспособляемости микроорганизмов к этим условиям. Нормальный рост и жизнедеятельность микроорганизмов зависят от наличия питательного субстрата, pH среды, насыщенности кислородом ферментных систем. Продукты метаболизма одного вида микроорганизмов могут негативно влиять на другой вид. Например, определённые виды стрептококков выделяют вещества, препятствующие росту *Actinobacillus actinomycescomitans* [5].

В одном из последних исследований были обнаружены существенные различия между микробиологическим составом зубного налета и налетом на корне зуба. Это было выявлено в мазках нижележащего слоя — в кариозном дентине. В основном в зараженном дентине было выявлено большое количество лактобацилл и племорфных Gr (+) палочек. Недавно опубликованные исследования показали, что бактерии, покрывающие корень зуба при кариесе, сходны с теми, которые ассоциированы с гингивитом, с преобладанием видов *Actinomyces* и различных других Gr (+) и Gr (-), они впоследствии способствуют образованию кариеса корня зуба. Дальнейшие исследования налетов поверхности корня зуба обнаружили большое количество *A. naeslundii* и других видов *Actinomyces*. Хотя Gr (+) бактерии были представлены примерно в 90%, в налете были найдены и Gr (-) анаэробы, такие как *Prevotella*, *Selenomonas*, *Bacteroides* [3].

Однако кислота, вырабатываемая микроорганизмами, может и не приводить к кариесу. Растворение зубной эмали и дентина происходит в условиях, когда по тем или иным причинам естественные буферы, присутствующие в слюне, не обеспечивают должной нейтрализации бактериальных кислот. Ферментные системы бактерий способствуют минерализации зубной бляшки.

У бактерий обмен сахарозы имеет свои особенности. Он идет по пути молочнокислого брожения до пирувиноградной кислоты, а затем конкурируют два альтернативных пути использования последней (рис. 1): первый — это восстановления лактатдегидрогеназой (ЛДГ) в молочную кислоту (этот путь идентичен гликолизу у человека и других животных), а второй — распад на уксусную и муравьиную кислоту при помощи пируватформатлиазы (ПФЛ). ЛДГ бактерий активируется высокими концентрациями фруктозо-1,6-бисфосфата, а ПФЛ ингибируется высокими концентрациями глицеральдегид-3-фосфата. Это объясняет преимущественное образование молочной кислоты при избыточном поступлении углеводов. При недостатке углеводов происходит индукция синтеза ПФЛ, и ПВК превращается в ацетат и муравьиную кислоту, а не в лактат [10].

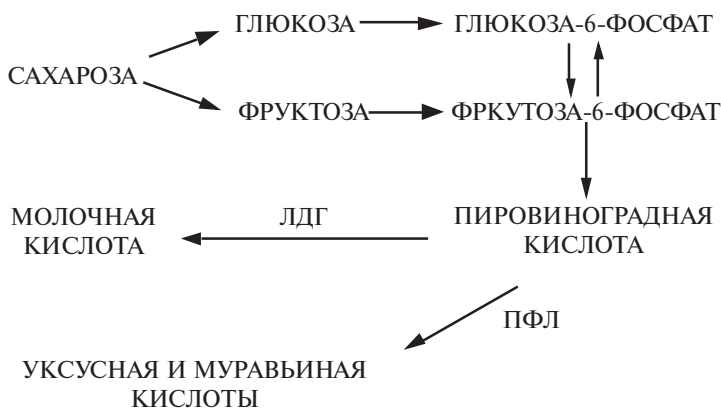


Рис. 1. Микробный метаболизм сахарозы.

Второй особенностью метаболизма сахарозы бактериями полости рта является их способность при избытке углеводов синтезировать гликоген. Механизм синтеза и распада гликогена бактериями подобен таковым у животных за исключением того, что для синтеза используется не УДФ-производные глюкозы, а АДФ-производные. Наиболее «преуспевают» в этом отношении стрептококки. Такой микроорганизм зубного налета как *Streptococcus mitis* может синтезировать гликоген в количестве до 37% от своей сухой массы. Гликоген используется этими бактериями для поддержки жизнеобеспечения в отсутствии углеводов [10].

*Биохимические аспекты фторидной профилактики кариеса*

Сегодня с целью профилактики кариеса наиболее широко применяются средства гигиены на основе растворимых солей фтора. Механизм противокариозного действия фторидов реализуется повышением устойчивости эмали зубов к растворяющему действию кислот [4,6]. Анализируя клиническую литературу, нетрудно убедиться, что противокариозная эффективность большинства зубных паст, используемых в режиме «ежедневная двукратная чистка зубов», — не превышает 25-30% снижения риска кариеса. Сегодня широко распространена точка зрения, что все разрешенные к применению в средствах гигиены источники фтора в равной степени эффективны для защиты зубов [4], однако информация о свойствах органических солей фтора, а также данные клинических исследований о противокариозной эффективности аминофторидов демон-

стрируют их более высокий потенциал в сравнении с неорганическими солями фтора [12,15,16].

Были проведены сравнительные клинические испытания эффективности двух зубных паст, одна из которых содержала аминофторид (зубная паста «R.O.C.S. school»), другая — фторид натрия, при этом в концентрации на 70% более высокой. Исследование проводилось двойным слепым методом. Для определения структурно-функциональной кариесрезистентности эмали и реминерализующей способности ротовой жидкости при применении исследуемых зубных паст применялся КОСРЭ-тест (клиническая оценка скорости реминерализации эмали). Процесс деминерализации оценивали по интенсивности окрашивания протравленного участка эмали. Скорость реминерализации эмали контролировали ежедневно, окрашивая метиленовым синим участок зуба, подвергавшийся протравливанию, до полного исчезновения окрашивания. В группе детей, использовавших пасту, содержащую аминофторид, повышение кислотоустойчивости зубов зафиксировано у абсолютного большинства испытуемых (92%). Среднее значение индекса деминерализации зубов, в начале исследования составившее 2,96, в течение одного месяца применения пасты понизилось до 1,36. В среднем значения индекса деминерализации понизились на 56%, а сроки восстановления зубов (реминерализации) сократились с 2,6 суток до 1,5 дней.

Такие результаты можно связать с механизмом действия аминофторида, создающего на поверхности зубов, в отличие от других солей

фтора, высокостабильную пленку, устойчивую к растворяющему действию кислоты.

Использованная в группе сравнения зубная паста известной мировой марки из фторида натрия за аналогичный период не показала значимых изменений этих показателей. У 88% детей не зафиксировано никаких изменений кислоторезистентности зубов. Однако, несмотря на то, что зубные пасты с аминофторидом являются высокоэффективным средством повышения кислотоустойчивости зубов, при неблагоприятном исходном состоянии зубов их эффективность недостаточна [7]. Эти данные согласуются с меньшей противокариозной эффективностью зубных паст с аминофторидом для лиц с дестабилизированным течением кариеса, где авторы указывают на необходимость изменения профилактической схемы [11].

Следовательно, назревает проблема поиска альтернативного средства профилактики кариеса зубов, которое будет ингибировать первичное поражение и препятствовать усугублению уже имеющихся кариозных поражений зубов.

*Потенциальная альтернатива фторидам*

Основным запускающим моментом кариозного поражения зубов является выработка из сахарозы органических кислот микроорганизмами полости рта вследствие течения реакций молочнокислого брожения. Поэтому целесообразно и заманчиво вместо увеличения устойчивости эмали к кислотам снизить накопление этих кислот. Возможно, процесс деминерализации эмали можно уменьшить, если ингибировать течение ре-

акций брожения в полости рта. Полезно было бы одновременно ингибировать ферменты обмена гликогена, так как он, как уже упоминалось, используется кариесогенной флорой для поддержки жизнеобеспечения в отсутствии сахарозы. Таким, давно доказанным влиянием на ферменты гликолиза и ферменты обмена гликогена, обладает окисленный глутатион (GSSG).

GSSG обладает выраженным влиянием на активность многих ферментов. Он тормозит активность ферментов обмена гликогена (фосфатаза фосфорилазы, гликогенсинтаза D, противостевающий фермент), гликолиза/брожения (гексокиназа, фосфофруктокиназа и L-пируваткиназа), тиолсульфидного обмена (ТПОР), гуанилилциклазу и бактериальную ацетаттиокиназу; активирует фосфорилазу, ферменты глюконеогенеза (пируваткарбоксилаза, фруктозоdifосфатаза, глюкозо-6-фосфатаза) [2]. SH-группы в белках необходимы и для активности рецепторов гормонов и мембран [5,8,13,14].

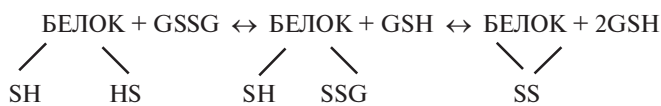


Рис.2. Схема тиол-дисульфидного обмена.

Механизм действия GSSG связан с ковалентной модификацией ферментов: с их обратимым S-тиолиро-

ванием и образованием смешанных дисульфидов или в последующем S-S связей [5]. Образование S-S связей в белках может быстро происходить при помощи тиол-дисульфидного обмена. Это реализуется при участии глутатиона, существующего и в мономерной тиольной (GSH), и в димерной дисульфидной (GSSG) формах, — и происходит по схеме (рис. 2).

Окисление тиолов приводит к нарушению нативной структуры белков и утрате ими биологической активности [5,8,13,14].

Если будет доказана эффективность воздействия GSSG на жизнедеятельность кариесогенной флоры *in vitro*, а также в ротовой полости, то GSSG можно будет использовать для предотвращения возникновения кариозных поражений зубов, например, включив GSSG в состав жевательных резинок, пастилок, леденцов.

Таким образом, кариес зубов — повсеместно распространенное заболевание, ведущее в конечном итоге к потере органа (зуба). Хирургическое лечение не исключает возможности возникновения рецидивов. Фторсодержащие препараты, являющиеся основным средством профилактики, к сожалению, не дают желаемых результатов при неблагоприятном исходном состоянии зубов. Сформулирована гипотеза о возможном использовании окисленного глутатиона для уменьшения образования органических кислот и в результате для профилактики кариеса.

## BIOCHEMICAL ASPECTS OF PATHOGENESIS AND PROPHYLAXIS OF DENTAL CARIES

K.K. Simonova

(Irkutsk State Medical University)

Biochemical aspects of pathogenesis and prevention of dental caries were considered and analyzed. On the basis of the inhibition of the carbohydrates metabolism enzymes by oxidized glutathione the hypothesis of possibility to use it for caries prevention has been proposed.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Боровский Е.В., Максимовский В.С., Максимовская Л.Н. Терапевтическая стоматология. — М.: Медицина, 2001. — С.736.
2. Колесниченко Л.С. Регуляция катехоламинами и цАМФ ферментов обмена тиолов и дисульфидов в норме, при стрессе и усиленной пролиферации: Дисс. на соискание ученой степени доктора мед. наук. — Красноярск, 1986. — С.29.
3. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. — СПб.: Специальная литература, 1998. — С.59.
4. Кузьмина Э.М. Профилактика стоматологических заболеваний. — М., 2001.
5. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. — 1990. — Т. 110, вып. 1 (4). — С.23-24.
6. Луцкая И. Влияние фторсодержащих зубных паст на кислотоустойчивость эмали // Клиническая имплантология и стоматология — электронная версия — № 3.
7. Саран Л.Р., Терентьева Н.В. Сравнительные клинические исследования зубных паст, содержащих аминофторид и фторид натрия. — Internet:// www.glavmed.ru/action-08/sub-/id-21618/index.html.
8. Торчинский Ю.М. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков. — М., 1971.
9. Царев В.Н., Ушаков Р.В., Давыдова М.М. Лекции по клинической микробиологии для студентов стоматологических факультетов. — Иркутск, 1996. — 86 с.
10. Авербаум П.М., Васильев В.Г. Биохимия челюстно-лицевой области: Учеб.-методич. пособие для студентов, интернов, ординаторов стоматологического фак-та. — 2-е изд. — Иркутск: ИГМУ, 2002. — С.85-88.
11. Brambilla E., et al. Caries-preventive effect of topical amine fluoride in children with high and low salivary levels of mutans streptococci // Caries Res. — 1999. — Vol. 33. — P.423-427.
12. Cahen, et al. Comparative unsupervised clinical trial on caries inhibition effect of monofluorophosphate and amine fluoride dentifrices after 3 years in Strasbourg, France // Community Dent. Oral Epidemiol. — 1982. — Vol. 10. — P.238-241.
13. Jocelyn P.C. Biochemistry of the SH group. — L. — N.Y., 1972.
14. Friedman M. The chemistry and biochemistry of the sulfhydryl group in amino acids, peptides and proteins. — Oxf. — N.Y., 1973.
15. Lussi A., Hellwig E. Erosive potential of oral care products // Caries Res. — 2001. — Vol. 35, Suppl. 1. — P.52-56.
16. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive *in vitro* study of the CaF<sub>2</sub> precipitation and microstructure // Caries Res. — 2001. — Vol.35. — P.45-51.



## ЭТИОЛОГИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРОФИЛАКТИКИ КАРИЕСА ЗУБОВ

Юдина Наталья Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей стоматологии Белорусской медицинской академии последипломного образования, Минск

Natalia Yudina, MD, Professor, Head of the Department of General Dentistry of the Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk  
Etiology and prevention of dental caries

**Резюме.** Одним из самых распространенных стоматологических заболеваний является кариес зубов. В настоящее время признанными на мировом уровне стратегиями профилактики кариеса выступают гигиена, питание и использование фторидов.

**Ключевые слова:** кариес, микробы, гигиена, фтор.

Современная стоматология. – 2022. – №2. – С. 2–7.

**Summary.** One of the most common dental diseases is dental caries.

The current globally recognized caries prevention strategies are hygiene, nutrition, and the use of fluoride.

**Keywords:** caries, microbes, hygiene, fluorine.

Sovremennaya stomatologiya. – 2022. – N2. – P. 2–7.

Достижения научного прогресса за последние 50 лет значительно изменили технологии в современной стоматологии. Эта эволюция была бы невозможной без улучшения понимания причин стоматологических болезней и объяснения механизмов их развития, а также обоснования профилактических мероприятий.

Одним из самых распространенных стоматологических заболеваний является кариес зубов. Многочисленные дискуссии о причинах возникновения кариеса отразились и в его определениях [70], на протяжении столетия кариес рассматривался как процесс и инфекционное заболевание (таблица).

Доказанными этиологическими факторами развития кариеса являются микроорганизмы зубного налета и питание.

### Причины развития кариозной болезни

#### Микроорганизмы зубного налета

Миллер постулировал химико-паразитарную теорию кариеса зубов, согласно которой кислоты, образующиеся в результате ферментации

сахаров бактериями, выступают основным фактором кариеса зубов [53].

На протяжении большей части XX века бушевали споры о роли конкретных микробных видов в этиологии кариеса. В 1924 году J.K. Clarke [19] идентифицировал стрептококкоподобную бактерию из кариозных поражений зубов. Автор предположил, что микроб кокко-бациллярной формы под микроскопом является мутантным стрептококком, и дал ему название *Streptococcus mutans*.

Разработка безмикробных (гнотобиотических) методов на животных позволила убедительно продемонстрировать существенную роль микроорганизмов в развитии кариеса. У крыс, содержащихся в стерильных условиях, но на кариесогенной диете, не развивался кариес, тогда как у эквивалентных животных, находившихся в обычных условиях на такой же диете, отмечались многочисленные кариозные поражения [60].

Начиная с 1960-х годов, большое количество клинических исследований установили связь между присутствием стрептококков и восприимчивостью к кариесу [14, 24, 26, 37]. Ученые

определили *S. mutans* как «одонтопатоген» [43].

Экологические исследования, продемонстрировавшие большую способность *S. mutans* к выживанию и процветанию в условиях низкого pH, возникающего в результате метаболизма сахара [9, 10], помогли объяснить преобладание *S. mutans* при кариесогенной ситуации (в условиях высокого потребления сахара). Кроме того, другие факторы *in vivo*, такие как сниженная буферная способность при ксеростомии, также способствуют селекции *S. mutans* в зубном налете.

Исследования, проведенные в 2001 году [77], подтвердили центральную роль *S. mutans* в развитии кариеса зубов.

По мере выяснения генома *S. mutans* было установлено, как микроорганизм адаптировался к своей экологической нише: обнаружен исключительно широкий спектр генов для систем поглощения углеводов, а также ряд механизмов кислотостойчивости и связывания глюкана [68]. Определена уникальная возможность *S. mutans* к выработке экстра- и интрацеллюлярных полисахаридов

Таблица Определения кариеса

№	Определение кариеса	Автор, год
1	Химико-паразитарный процесс	Miller, 1890
2	Локализованное, неспецифическое, инфекционное заболевание, частично обусловленное условиями цивилизации	Hellwig et al, 1995
3	Динамический процесс взаимодействия микробной биопленки с твердыми тканями зуба в течение определенного временного промежутка	Selwitz et al, 2007
4	Инфекционная болезнь с прогрессирующей деструкцией тканей зуба	Леус П.А., 2008
5	Биопленка-опосредованное, мультифакторное динамическое заболевание, результатом которого является деминерализация тканей	Global Summit on ECC, 2018

(глюкана и др.), которые способствуют отложению матрицы зубного налета.

В то же время молекулярно-микробиологические исследования выявили более широкий спектр видов бактерий, связанных с кариесом [6], включая *Actinomyces*, *Abiotrophia*, *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Veillonella*. Авторы исследования [6] установили взаимосвязь обнаружения *Veillonella spp.* с наличием кариозного процесса, особенно с суммарным количеством кислотопродуцирующих бактерий.

Для кариеса поверхности корня характерно наличие актиномицет, при этом сочетание *S. mutans* и *Lactobacilli* не теряет своей значимости [3].

Сегодня из многочисленных видов бактерий зубного налета ученые единодушно выдвинули в качестве «подозреваемых» возбудителей кариеса *S. mutans* и *Lactobacilli* [3].

Для выявления факторов риска развития кариеса зубов при стоматологическом обследовании пациентов применяются экспресс-методы определения *S. mutans* и *Lactobacillus*. Правда, одного кариесогенного потенциала микроорганизмов зубного налета недостаточно, поэтому исследуются и другие факторы риска развития кариозной болезни.

#### **Диета и кариес, метаболизм зубного налета**

Наиболее изученными компонентами диеты в отношении кариеса

являются сахара и, в частности, сахароза, которой на протяжении многих лет приписывали центральную роль в этиологии кариеса.

Одним из доказательств выступает снижение заболеваемости кариесом среди населения во время Второй мировой войны, когда потребление сахара в рационе было ограничено нормированием [15, 74]. В то время исследования были сосредоточены почти исключительно на роли сахарозы в развитии кариеса зубов. Исследования кариеса [30] однозначно связали количество и частоту потребления сахарозы с кариесом, а также установили значительное влияние на кариесогенность физической формы пищи, содержащей сахарозу.

Ряд работ показали, что крахмалистые продукты не приводят к столь значительному падению pH, как сахароза или глюкоза [39, 40]. Тем не менее, другие исследования установили, что пищевые продукты, содержащие высокие концентрации крахмала, особенно в приготовленном виде, такие как картофельные чипсы и печенье, хорошо задерживаются в полости рта [33]. Это и более позднее исследование [34], проведенное той же группой авторов, показало, что частицы пищи из приготовленного крахмала сохраняют свой кариесогенный потенциал до 20 минут. В то время как карамель и шоколадные батончики вызывали

высокие начальные концентрации сахарозы, которые быстро терялись, и всего через 3 минуты после приема пищи оставались в небольшом количестве или совсем не обнаруживались, напротив, печенье и крекеры давали рост значений сахарозы до 15 минут. Аналогичные профили наблюдались для органических кислот, образующихся в пищевых частицах в результате микробного разложения. Точно так же исследование, проведенное Н.А. Linke, L.H. Birkenfeld [42], показало, что общая проблема, связанная с приготовленными крахмальными продуктами, выше, чем с явно более богатыми сахарами батончиками. Широкий обзор более ранней литературы по крахмалу и кариесу был предоставлен Lingström и соавт. [41].

Перспективные исследования заболеваемости кариесом, основанные на изучении привычек питания, показали, что обработанные или приготовленные крахмалы связаны с более высоким риском возникновения новых кариозных поражений [16, 18]. В последнем из этих исследований авторы разделили потребление продуктов с потенциальным риском развития кариеса, когда они употреблялись в качестве закусок, а не как часть еды. Установлена корреляционная связь развития кариеса с употреблением в пищу приготовленных крахмалов в виде закусок; регулярное употребление газированных напитков также было связано с кариесом, в то время как чистка зубов играла защитную роль [18].

В ряде авторитетных обзоров делается вывод о том, что существует взаимосвязь развития кариозного процесса не с количеством сахара, а с частотой его употребления [7, 13, 29].

При рассмотрении влияния частоты приемов пищи на развитие кариеса следует учитывать химические и микробиологические характеристики

зубного налета, а также состав и свойства ротовой жидкости.

**Фактор ротовой жидкости и кариес**

Слюна, ротовая жидкость, их состав и свойства оказывают большое значение на развитие кариеса зубов. Наиболее изученными показателями, которые также учитываются при прогнозировании возникновения кариеса, является количество слюны и буферная емкость [4].

Растворится ли эмаль или нет, во многом зависит от «степени насыщения» контактирующей с ней ротовой жидкости. При pH покоя в ней присутствует достаточное количество кальция и фосфатов, чтобы предотвратить деминерализацию и стимулировать реминерализацию. Однако, при падении pH (критические значения варьируют от 5,0 до 5,5), будет достигнута точка, когда произойдет результирующая деминерализация.

Доказано, что оптимальные концентрации фторидов снижают критический pH до 5,0, фтор снижает скорость деминерализации эмали. При чем низкий уровень pH способствуют ускорению образования фтороапатитов, которые более устойчивы к последующему растворению.

Во время ацидогенеза в зубном налете высвобождаются кальций и фтор [28]. Также может иметь место растворение минералов, подобных фториду кальция, которые с точки зрения растворимости являются pH-зависимыми.

**Микробы, рацион питания и кариес**

В относительно небольшом количестве исследований с использованием передовых методов молекулярной биологии были предприняты попытки связать ключевые компоненты, участвующие в развитии кариеса: диету и бактериальную микрофлору. Эти ключевые факторы исследованы в отношении раннего детского кариеса с использованием полимеразной цеп-

ной реакции (ПЦР) с обнаружением трех заранее определенных целевых бактерий: *S. mutans*, *S. sobrinus* и видов *Bifidobacterium* [61]. Исследование выявило ряд диетических факторов, положительно связанных с кариесом, включая употребление сока между приемами пищи, ретенционную пищу, предполагаемую кариесогенность пищи и частоту приемов пищи. Все три отобранные бактерии были ассоциированы с ранним детским кариесом, а *S. mutans* – с рецидивом поражения. Носительство *S. mutans* сочеталось с кариесогенным приемом пищи, а сочетание различных пищевых факторов с присутствием *S. mutans* также коррелировало с кариесом. Используя более традиционные методы, в том числе новую селективную среду для бифидобактерий, Каур и соавт. [35] обнаружили повышенное количество бифидобактерий, лактобацилл, мутантных стрептококков и дрожжей в слюне у кариесвосприимчивых, по сравнению с кариесрезистентными субъектами. При этом наличие бактерий коррелировало с «поведением, связанным с кариесом» (то есть плохой гигиеной полости рта, общим потреблением сахара и частотой его потребления).

**Стратегии профилактики кариеса  
Борьба с микробным фактором**

P.W. Caufield и его коллеги [17] продемонстрировали «окно инфицированности» для *S. mutans*. Исследованы подходы к исключению попадания микроорганизма в детском возрасте, например, применение хлоргексидиновых лаков [65].

Учеными исследованы стратегии вакцинации (M.W. Russell и соавт. [69]), хотя соотношение риска и пользы этого подхода еще предстоит установить. Также была разработана заместительная терапия, при которой родственные виды мутантных стрептококков с дефицитом определенного метаболического пути используются

для вытеснения мутантных стрептококков дикого типа [83].

Авторы для подавления активности кариесогенной микрофлоры предлагают применять препараты на основе хлоргексидина и йода [8, 38, 80].

Для профилактики раннего детского кариеса очень важно прервать «инфекционную цепь» развития кариеса – предупредить перенос *S. mutans* из источника инфекции в полость рта ребенка. Добиться результатов можно при изменении стереотипов поведения в семье, этому способствует мотивация и изменение поведенческих стереотипов [5].

**Фториды – компоненты**

**с противокариозным потенциалом**

Фтор, поступающий либо с питьевой водой, либо, с зубными пастами и другими продуктами для ухода за полостью рта, считается ключевым фактором в снижении заболеваемости кариесом населения разных стран [47, 48, 82].

Способность фтора смягчать последствия частого употребления углеводов была продемонстрирована в ходе исследований *in situ*. Duggal и соавт. [23] сообщили, что у субъектов, которые не использовали зубную пасту с фтором, происходила значительная деминерализация эмалевых вставок, установленных внутри ротовой полости, при потреблении сахарозы более трех раз в день, в отличие от ситуации, когда использовалась зубная паста с фтором, в таком случае требовалось более 7 поступлений сахарозы, чтобы произошла какая-либо деминерализация. Об аналогичном эффекте сообщили Cury и соавт. [20].

Более того, исследования, такие как Chanpanka соавт. [18], показали положительное влияние чистки зубов на снижение риска развития кариеса. Снижение кариеса чаще всего связывают с воздействием фтора на зубную эмаль [78].

Однако фтор оказывает как прямое, так и косвенное воздействие на бактерии полости рта. Концентрации фтора могут оказывать значительное метаболическое воздействие на различные бактерии полости рта, включая *S. mutans* [31, 49]. Кроме того, по крайней мере, *in vitro* эти низкие концентрации фтора могут оказывать сильное влияние на конкурентоспособность *S. mutans* в условиях производства гликолитической кислоты [12, 50]. Исследования Marquis и его коллег [50], описывающие метаболические эффекты фтора на бактерии полости рта, показали, что эти эффекты в значительной степени проявляются при более низких значениях pH.

ВОЗ подтверждает важность регулярной гигиены полости рта с применением фторидсодержащих зубных паст для профилактики на популяционном уровне.

Эксперты сразу нескольких профессиональных сообществ Германии, Австрии, Швейцарии и Нидерландов во время конференции в Берлине утвердили новые рекомендации для детских зубных паст [21] – применение зубной пасты с концентрацией фтора 1000 ppm с раннего возраста.

#### **Изменение привычек питания, выбор продуктов с низким кариесогенным потенциалом**

В настоящее время существуют научно-обоснованные данные о влиянии ряда факторов питания на стоматологическое здоровье.

К общим факторам, представляющим риск для стоматологического здоровья, можно отнести несбалансированное употребление продуктов основных групп (недостаточное поступление белков, жиров, углеводов, витаминов и минералов), необходимых для здоровья человека в целом, в том числе дефицит поступления фторидов. Несомненно, ведущее значение в развитии кариеса име-

ет частота приемов пищи. Поэтому в качестве профилактики кариеса пациентам предлагается ведение дневника питания [2].

Ряд пищевых продуктов обладают предполагаемыми кариостатическими свойствами, включая молоко и молочные продукты, яблоки, клюкву, чай, арахис и продукты с высоким содержанием клетчатки [54]. Традиционно молоко и молочные продукты ассоциируются со здоровыми зубами из-за их относительно высокого содержания кальция и, предположительно, некоего системного эффекта. Хотя коровье молоко содержит лактозу, ее наличие компенсируется защитным действием казеина и других молочных белков. Эпидемиологические исследования показали, что связь между потреблением молока и кариесом, по крайней мере, нейтральна [51].

Потребление некоторых видов сыра может изменить «баланс ре- и деминерализации» в пользу чистой реминерализации благодаря их способности увеличивать слюноотделение и pH [67], повышать концентрацию кальция в зубном налете [55] и, возможно, доставлять фосфопептид кальция-аморфный фосфат кальция (CPP-ACP), наноконплексы. Имеются клинические данные о том, что CPP-ACP обладает клинической активностью в процессе реминерализации [66].

В экспериментальных исследованиях на животных и, в некоторых случаях, на людях, продемонстрированы эффекты флавоноидов в яблоках, клюкве, чае и других продуктах, включая способность снижать адгезию бактерий и антибактериальные свойства. В обзоре [64] были рассмотрены доказательства того, что пищевые полифенолы снижают риск развития кариеса. Волокнистые продукты и арахис также продемонстрировали способность стимулировать слюноотделение, что само по себе

связано с пользой для профилактики кариеса [54].

В течение многих лет был известен потенциал соединений, таких как мочевины, которые меняют среду в зубном налете на щелочную и, таким образом, борются с повреждающим действием кислот, генерируемых микробами [75]. Несколько лет назад также было установлено, что у пациентов с заболеванием почек частота кариеса ниже [59, 63], что сочетается с повышенными концентрациями мочевины в слюне и повышенным pH слюны в состоянии покоя. На этом основании пропагандируется добавление мочевины либо в стоматологические продукты [36], либо в жевательные резинки [32]. Однако, по неподтвержденным данным, отчеты о запахе аммиака в таких продуктах при использовании могут ограничивать приемлемость для потребителей.

Существует определенная литература о противокариозном потенциале аргинина [57]. Аргинин – это натуральная аминокислота, которая является обязательным элементом для многих биологических процессов. Аргинин присутствует в слюне в естественных условиях, он совместим со фтором. US Food and Drug Administration аргинин категоризирован как безопасный пищевой ингредиент. Аргинин является биполярной молекулой, которая имеет как положительно, так и отрицательно заряженные группы. Аргинин способствует преципитации ионов кальция и фосфора с формированием богатого кальцием слоя.

#### **Использование сахарозаменителей**

В течение многих лет в качестве решения растущей проблемы кариеса, связанной с пристрастием людей к сладкому, предлагается широкий спектр заменителей сахара и подсластителей. В частности, ксилит рекламировался в качестве потенциального противокариозного средства. Ксилит представляет со-

бой 5-углеродный сахарный спирт, встречающийся в природе в различных растениях. Он обладает потенциальной противокариозной активностью благодаря ингибирующему эффекту, обусловленному циклом, на метаболизм сахара *S. mutans* [72], в то время как большая часть микрофлоры полости рта вообще не метаболизирует ксилит. Недавно обсуждалось влияние ксилита на снижение вероятности развития ка-

риеса, связанное как с включением его в жевательные резинки [22], так и в рацион питания [52]. Клинические преимущества наблюдались в некоторых исследованиях [45, 46]. Однако преимущества его применения требуют проведения большего количества исследований [27].

Ксилит снижает адгезию кариесогенных микроорганизмов к твердым тканям зубов, препятствует образованию микробной биопленки, что спо-

собствует лучшему гигиеническому состоянию полости рта [1, 73].

#### Заключение

В настоящее время признанными на мировом уровне стратегиями профилактики кариеса являются гигиена, питание и использование фторидов. Другие подходы изучаются в отдельных научных исследованиях, но до их массового внедрения пройдет немало времени, должна сформироваться достаточная база доказательной медицины.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Афиногенов Г.Е., Афиногенова А.Г., Доровская Е.Н., Матело С.К. Влияние ксилита в составе зубных паст на специфическую адгезию некоторых клинических штаммов микроорганизмов полости рта // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2008. – №2. – С.73–78.
- Леус П.А. Профилактическая коммунальная стоматология. – М.: Медицинская книга, 2008. – 444 с.
- Леус П.А. Микробный биофильм на зубах. Физиологическая роль и патогенное значение. – М.: Издательский дом «STBOODK», 2008. – 88 с.
- Модринская Ю.В. Диагностическое значение и прогностическая эффективность экспресс-методов исследования слюны при кариесе зубов // Стоматолог. журн. – 2001. – №2. – С.42–47.
- Попруженко Т.В., Шаковец Н.В., Терехова Т.Н. Современная концепция профилактики и лечения кариеса временных зубов // Современная стоматология. – 2011. – №1. – С.51–57.
- Aas J.A., Griffen A.L., Dardis S.R., et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults // J Clin Microbio. – 2008. – Vol.46. – P.1407–1417.
- Anderson C.A., Curzon M.E., van Loveren C., et al. Sucrose and dental caries: a review of the evidence // Obes Rev. – 2009. – Vol.10 (Suppl.1). – P.41–54.
- Berkowitz R.J. Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective // J. of the Canadian Dental Association. – 2003. – Vol.69. – P.304–307.
- Bradshaw D.J., Marsh P.D. Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities *in vitro* // Caries Res. – 1998. – Vol.32. – P.456–462.
- Bradshaw D.J., McKee A.S., Marsh P.D. Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities *in vitro* // J Dent Res. – 1989. – Vol.68. – P.1298–1302.
- Bradshaw D.J., McKee A.S., Marsh P.D. Prevention of population shifts in oral microbial communities *in vitro* by low fluoride concentrations // J Dent Res. – 1990. – Vol.69. – P.436–441.
- Bradshaw D.J., Richard J.M. Lynch. Diet and the microbial aetiology of dental caries: new paradigms. // International Dental Journal. – 2013. – Vol.63, s2. – P.64–72.
- Bowen W.H. Food components and caries // Adv. Dent Res. – 1994. – Vol.8. – P.215–220.
- Bowden G.H., Hardie J.M., Fillery E.D., et al. Microbial analyses related to caries susceptibility. In: Bibby B.G., Shern R.J., editors. Proceedings, Methods of Caries Prevention // London: Information Retrieval. – 1978. – P.83–97.
- Bransby E.R., Knowles E.M. A comparison of the effects of enemy occupation and postwar conditions on the incidence of dental caries in children in the Channel Islands in relation to diet and food supplies // Br Dent J. – 1949. – Vol.87. – P.237–243.
- Campaign A.C., Morgan M.V., Evans R.W., et al. Sugar-starch combinations in food and the relationship to dental caries in low-risk adolescents // Eur J Oral Sci. – 2003. – Vol.111. – P.316–325.
- Caufield P.W., Cutter G.R., Dasanayake A. Initial acquisition of mutans streptococci: evidence for a discrete window of infectivity // J Dent Res. – 1993. – Vol.72. – P.37–45.
- Chankanka O., Marshall T.A., Levy S.M., et al. Mixed dentition cavitated caries incidence and dietary intake frequencies // Pediatr Dent. – 2011. – Vol.33. – P.233–240.
- Clarke J.K. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries // Br J Exp. Pathol. – 1924. – Vol.5. – P.141–147.
- Cury J.A., do Amaral R.C., Tenuta L.M., et al. Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure // Eur J Oral Sci. – 2010. – Vol.118. – P.370–375.
- DGZ/DGKiZ; Prof. Dr. Stefan Zimmer, Präsident der Deutschen Gesellschaft für Präventivzahnmedizin (DGPZM), Leiter des Departments für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde an der Universität Witten/Herdecke, «Neue Fluoridempfehlungen für Kinderzahnpasten». – 2018. <https://www.ada.org/en>; <http://www.eapd.eu/>
- Dodds M.W.J., Chidichimo D., Haas M.S. Delivery of active agents from chewing gum for improved remineralization // Adv Dent Res. – 2012. – Vol.24. – P.58–62.
- Duggal M.S., Toumba K.J., Amaechi B.T., et al. Enamel demineralization *in situ* with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste // J Dent Res. – 2001. – Vol.80. – P.1721–1724.
- Edwardsson S. Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *Streptococcus mutans* // Arch Oral Biol. – 1968. – Vol.13. – P.637–646.
- Ekstrand J. Fluoride in plaque fluid and saliva after NaF or MFP rinses // Eur J Oral Sci. – 1997. – Vol.105. – P.478–484.
- Fitzgerald R.J. Plaque microbiology and caries // Ala J Med Sci. – 1968. – Vol.5. – P.239–246.
- Fontana M., Gonzalez-Cabezas C. Are we ready for definitive clinical guidelines on xylitol/polyol use? // Adv Dent Res. – 2012. – Vol.24. – P.123–128.
- Gao X.J., Fan Y., Kent R.L. Jr., et al. Association of caries activity with the composition of dental plaque fluid // J Dent Res. – 2001. – Vol.80. – P.1834–1839.
- Geddes D.A. Diet patterns and caries // Adv Dent Res. – 1994. – Vol.8. – P.221–224.
- Gustafsson B.E., Quensel C.E., Lanke L.S., et al. The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years // Acta Odontol Scand. – 1954. – Vol.11. – P.232–264.
- Hamilton I.R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria // J Dent Res. – 1990. – Vol.69. – P.660–667.
- Imfeld T., Birkhed D., Lingstrom P. Effect of urea in sugar-free chewing gums on pH recovery in human dental plaque evaluated with three different methods // Caries Res. – 1995. – Vol.29. – P.172–180.
- Kashket S., Van Houte J., Lopez L.R., et al. Lack of correlation between food retention on the human dentition and consumer perception of food stickiness // J Dent Res. – 1991. – Vol.70. – P.1314–1319.
- Kashket S., Zhang J., Van Houte J. Accumulation of fermentable

- sugars and metabolic acids in food particles that become entrapped on the dentition // *J Dent Res.* – 1996. – Vol.75. – P.1885–1891.
35. Kaur R., Gilbert S.C., Sheehy E.C., et al. Salivary levels of bifidobacteria in caries-free and caries-active children // *Int. J. Paediatr Dent.* – 2013. – Vol.23. – P.32–38.
36. Kesel R.G., Kirch E.R. Recent developments in the biologic production of ammonia and the use of ammonia and carbamide in caries prevention // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* – 1949. – Vol.2. – P.459–473.
37. Krasse B., Jordan H.V., Edwardsson S., et al. The occurrence of certain “caries-inducing” streptococci in human dental plaque material with special reference to frequency and activity of caries // *Arch Oral Biol.* – 1968. – Vol.13. – P.911–918.
38. Laurence J. Platt, Martiza C. Cabezas Early childhood dental caries. – Los Angeles, 2000. – 32 p.
39. Lingstrom P., Birkhed D., Ruben J., et al. Effect of frequent consumption of starchy food items on enamel and dentin demineralization and on plaque pH *in situ* // *J Dent Res.* – 1994. – Vol.73. – P.652–660.
40. Lingstrom P., Birkhed D., Granfeldt Y., et al. pH measurements of human dental plaque after consumption of starchy foods using the microtouch and the sampling method // *Caries Res.* – 1993. – Vol.27. – P.394–401.
41. Lingstrom P., Van Houte J., Kashket S. Food starches and dental caries // *Crit Rev Oral Biol Med.* – 2000. – Vol.11. – P.366–380.
42. Linke H.A., Birkenfeld L.H. Clearance and metabolism of starch foods in the oral cavity // *Ann Nutr Metab.* – 1999. – Vol.43. – P.131–139.
43. Loesche W.J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay // *Microbiol Rev.* – 1986. – Vol.50. – P.353–380.
44. Lynch R.J.M., Navada R., Walia R. Low levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes // *Int Dent J.* – 2004. – Vol.54. – P.304–309.
45. Makinen K.K., Bennett C.A., Hujoel P.P., et al. Xylitol chewing gums and caries rates: a 40-month cohort study // *J Dent Res.* – 1995. – Vol.74. – P.1904–1913.
46. Makinen K.K., Hujoel P.P., Bennett C.A., et al. Polyol chewing gums and caries rates in primary dentition: a 24-month cohort study // *Caries Res.* – 1996. – Vol.30. – P.408–417.
47. Marinho V.C. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries // *Eur Arch Paediatr Dent.* – 2009. – Vol.10. – P.183–191.
48. Marinho V.C. Evidence-based effectiveness of topical fluorides // *Adv Dent Res.* – 2008. – Vol.20. – P.3–7.
49. Marquis R.E. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria // *Can J Microbiol.* – 1995. – Vol.41. – P.955–964.
50. Marquis R.E., Clock S.A., Mota-Meira M. Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology // *FEMS Microbiol Rev.* – 2003. – Vol.26. – P.493–510.
51. Marshall T.A., Levy S.M., Broffitt B., et al. Dental caries and beverage consumption in young children // *Pediatrics.* – 2003. – Vol.112. – P.184–191.
52. Milgrom P., Soderling E.M., Nelson S., et al. Clinical evidence for polyol efficacy // *Adv Dent Res.* – 2012. – Vol.24. – P.112–116.
53. Miller W.D. The Micro-Organisms of the Human Mouth: The Local and General Diseases Which are Caused by them. Basel: (Reprinted in English, 1973). – Karger, 1890.
54. Moynihan P. Foods and dietary factors that prevent dental caries // *Quintessence Int.* – 2007. – Vol.38. – P.320–324.
55. Moynihan P.J., Snow S., Jepson N.J., et al. Intake of non-starch polysaccharide (dietary fibre) in edentulous and dentate persons: an observational study // *Br Dent J.* – 1994. – Vol.177. – P.243–247.
56. O’Mullane D.M. Systemic fluorides // *Adv Dent Res.* – 1994. – Vol.8. – P.181–184.
57. Nascimento M.M., Gordan V.V., Garvan C.W. et al. Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience // *Oral Microbiol Immunol.* – 2009. – Vol.24. – P.89–95.
58. Newby E.E., Bosma M.L., Yadav M. Evaluation of plaque fluid fluoride retention after dentifrice application // *Caries Res.* – 2009. – Vol.43. – P.208.
59. Obry F., Belcourt A., Frank R.M., et al. Low caries activity and salivary pH in youngsters dialyzed for chronic renal failure // *J Biol Buccale.* – 1984. – Vol.12. – P.181–186.
60. Orland F.J., Blayney J.R., Harrison R.W., et al. Use of the germfree animal technique in the study of experimental dental caries: I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms // *J Dent Res.* – 1954. – Vol.33. – P.147–174.
61. Palmer C.A., Kent R. Jr, Loo C.Y., et al. Diet and caries-associated bacteria in severe early childhood caries // *J Dent Res.* – 2010. – Vol.89. – P.1224–1229.
62. Pearce E.I., Cutress T.W., Sissons C.H., et al. Supplementation of domestic sugar (sucrose) with fluoride. Effects on experimental dental caries, plaque pH, and fluoride levels in plaque and enamel // *N Z Dent J.* – 1992. – Vol.88. – P.84–88.
63. Peterson S., Woodhead J., Crall J. Caries resistance in children with chronic renal failure: plaque pH, salivary pH, and salivary composition // *Pediatr Res.* – 1985. – Vol.19. – P.796–799.
64. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: a review // *J Dent.* – 2009. – Vol.37. – P.413–423.
65. Pienihakkinen K., Jokela J. Clinical outcomes of risk-based caries prevention in preschool-aged children // *Community Dent Oral Epidemiol.* – 2002. – Vol.30. – P.143–150.
66. Reynolds E.C. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? // *Aust Dent J.* – 2008. – Vol.53. – P.268–273.
67. Rugg-Gunn A.J., Edgar W.M., Geddes D.A., et al. The effect of different meal patterns on plaque pH in human subjects // *Br Dent J.* – 1975. – Vol.139. – P.351–356.
68. Russell R.R. How has genomics altered our view of caries microbiology? // *Caries Res.* – 2008. – Vol.42. – P.319–327.
69. Russell M.W., Childers D.W., Michalek S.M., et al. A caries vaccine. The state of the science of immunization against dental caries // *J Dent Res.* – 2004. – Vol.38. – P.230–235.
70. Selwitz R.H., Ismail A.I., Pitts N.B. // *Dental Caries Lancet.* – 2007. – Vol.369. – P.51–59.
71. Saunders F.G., Bosma M.L., Buch R.M. Evaluation of Plaque Fluid Fluoride Retention after Dentifrice Application // *IADR Abstract 20070511.*
72. Soderling E.M. Xylitol, mutans streptococci, and dental plaque // *Adv Dent Res.* – 2009. – Vol.21. – P.74–78.
73. Soderling E., et al. Effect of xylitol and sorbitol on polysaccharide production by and adhesive properties of *Streptococcus mutans* // *Caries Res.* – 1987. – Vol.21. – P.109–116.
74. Sognaes R.F. Analysis of wartime reduction of dental caries in European children; with special regard to observations in Norway // *Am J Dis Child.* – 1948. – Vol.75. – P.792–821.
75. Stephan R.M. The effect of urea in counteracting the influence of carbohydrates on the pH of dental plaques // *J Dent Res.* – 1943. – Vol.22. – P.63.
76. Tanaka Y., Margolis H.C. Release of mineral ions in dental plaque following acid production // *Arch Oral Biol.* – 1999. – Vol.44. – P.253–258.
77. Tanzer J.M., Livingston J., Thompson A.M. The microbiology of primary dental caries in humans // *J Dent Educ.* – 2001. – Vol.65. – P.1028–1037.
78. Ten Cate J.M., van Loveren C. Fluoride mechanisms // *Dent Clin North Am.* – 1999. – Vol.43. – P.713–742.
79. Vogel G.L., Zhang Z., Chow L.C., et al. Effect of *in vitro* acidification on plaque fluid composition with and without a NaF or a controlled-release fluoride rinse // *J Dent Res.* – 2000. – Vol.79. – P.983–990.
80. Wan A.K., Seow W.K., Purdie D.M., Bird P.S., Walsh L.J., Tudehope D.I. A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonizations in infants after tooth eruption // *J Dent Res.* – 2003. – Vol.82. – P.504–508.
81. Watson P.S., Pontefract H.A., Devine D.A., et al. Penetration of fluoride into natural plaque biofilms // *J Dent Res.* – 2005. – Vol.84. – P.451–455.
82. Wong M.C., Clarkson J., Glenn A.M., et al. Cochrane reviews on the benefits/risks of fluoride toothpastes // *J Dent Res.* – 2011. – Vol.90. – P.573–579.
83. Zahradnik R.T., Magnusson I., Walker C., et al. Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora3, a probiotic mouthwash // *J Appl Microbiol.* – 2009. – Vol.107. – P.682–690.
84. Zero D.T. Sugars – the arch criminal? // *Caries Res.* – 2004. – Vol.38. – P.277–285.

Поступила 18.09.2021

Принята в печать 20.04.2022

## Взаимосвязь некоторых параметров мукозального иммунитета полости рта с уровнем витамина D у пациентов с множественным кариесом

Путнева А.С., Караваева Т.М., Максименя М.В., Терешков П.П., Мищенко М.Н., Фелелова Е.В., Цыбиков Н.Н., Паршина А.А.

Читинская государственная медицинская академия (ЧГМА)  
Россия, 672090, г. Чита, ул. Горького 39а

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – оценить содержание иммунорегуляторных молекул в слюне у лиц с множественным кариесом и дефицитом 25(OH)D<sub>3</sub> и определить взаимосвязи их величин с концентрацией 25(OH)D<sub>3</sub> в крови.

**Материалы и методы.** Обследованы две группы лиц в возрасте 20–22 лет. В одну включены 15 человек с кариесом и уровнем 25(OH)D<sub>3</sub> менее 20 нг/мл, в другую (контрольную) – 15 здоровых человек с содержанием 25(OH)D<sub>3</sub> 30–100 нг/мл. В ротовой жидкости определены концентрации растворимых форм молекул B7.2 (CD86), Free Active TGF-b1, CTLA-4, PD-1, Tim-3, LAG-3, IGFBP-4, ICAM-1 методом проточной цитофлуориметрии, количество кателицидина LL-37, секреторного иммуноглобулина А (IgA) методом иммуноферментного анализа. Между определяемыми показателями рассчитан критерий корреляции Спирмена.

**Результаты.** У лиц с кариесом и дефицитом витамина D выявлено снижение значений Free Active TGF-b1, B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, sIgA, кателицидина LL-37 и повышение уровня IGFBP-4 и ICAM-1 в слюне. Обнаружено наличие прямых корреляционных связей между количеством 25(OH)D<sub>3</sub> в крови, с одной стороны, и значениями Free Active TGF-b1, CTLA-4, B7.2 (CD86), секреторного IgA, пептида LL-37 – с другой. Зафиксирована отрицательная взаимосвязь между величинами 25(OH)D<sub>3</sub> и ICAM-1.

**Заключение.** На фоне дефицита витамина D при множественном кариесе в ротовой жидкости регистрируются низкие концентрации Free Active TGF-b1, B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, секреторного IgA, кателицидина LL-37 по сравнению с контролем, но увеличены значения IGFBP-4 и ICAM-1.

**Ключевые слова:** множественный кариес, гиповитаминоз D, мукозальный иммунитет.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ЧГМА (протокол № 9 от 24.06.2019).

**Для цитирования:** Путнева А.С., Караваева Т.М., Максименя М.В., Терешков П.П., Мищенко М.Н., Фелелова Е.В., Цыбиков Н.Н., Паршина А.А. Взаимосвязь некоторых параметров мукозального иммунитета полости рта с уровнем витамина D у пациентов с множественным кариесом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (4): 32–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-32-38>.

## The association between parameters of oral mucosal immunity and 25-hydroxyvitamin D in patients with rampant caries

Putneva A.S., Karavaeva T.M., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P., Mishchenko M.N., Fefelova E.V., Tsybikov N.N., Parshina A.A.

Chita State Medical Academy (CSMA)

39a, Gorkogo Str., Chita, 672090, Russian Federation

**Aim.** To determine the saliva level of immunoregulatory proteins in patients with rampant caries and 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) deficiency and evaluate the association of their concentration with 25(OH)D plasma level.

**Materials and methods.** The study was performed in two groups. The experimental group included 15 patients aged 20–22 years with rampant caries and the 25(OH)D plasma level of < 20 ng / ml. The control group encompassed 15 healthy age-matched volunteers with the 25(OH)D plasma level of 20–100 ng / ml. The concentrations of B7.2 (CD86), free active TGF- $\beta$ 1, CTLA-4, PD-1, Tim-3, LAG-3, IGFBP-4, and ICAM-1 were assessed using flow cytometry. The levels of LL-37 and secretory immunoglobulin A (sIgA) were measured using ELISA. The Spearman's rank correlation coefficient was used to reveal a correlation between the indicated proteins and the 25(OH)D plasma level.

**Results.** A decrease in B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, sIgA, and LL-37 and elevation of IGFBP-4 and ICAM-1 saliva levels were detected in patients with rampant caries and 25-hydroxyvitamin D deficiency. A positive Spearman's rank correlation coefficient was revealed between plasma 25(OH)D and saliva levels of free active TGF- $\beta$ 1, CTLA-4, B7.2 (CD86), LL-37, and sIgA. A negative correlation was revealed between 25(OH)D and ICAM-1.

**Conclusion.** 25(OH)D deficiency in patients with rampant caries is associated with decreased levels of B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, sIgA, and LL-37 and elevated levels of IGFBP-4 and ICAM-1 in the saliva.

**Key words:** rampant caries, 25-hydroxyvitamin D deficiency, mucosal immunity.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** All individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Chita State Medical Academy (Protocol No. 9 of 24.06.2019).

**For citation:** Putneva A.S., Karavaeva T.M., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P., Mishchenko M.N., Fefelova E.V., Tsybikov N.N., Parsina A.A. The association between parameters of oral cavity mucosal immunity and 25-hydroxy-vitamin D3 plasma level in patients with multiple tooth decay. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (4): 32–38. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-32-38>.

### ВВЕДЕНИЕ

Зубной кариес является многофакторным динамическим патологическим процессом, сопровождающимся деминерализацией и протеолизом твердых тканей зуба [1]. Это хроническое заболевание широко распространено как среди взрослых, так и детей [2]. Во всем мире выявлено приблизительно 2,4 млрд человек с нелеченым процессом [3], что, в свою очередь, обуславливает значимость поиска методов прогнозирования течения патологии и способов устранения причин ее развития.

Кариозный процесс формируется в результате комплексного воздействия внешних и внутренних факторов, среди которых важную роль играют не

только особенности питания (частота употребления сахара), присутствие ацидогенных бактерий, но и нарушение состояния местного иммунитета [2]. В реакции как врожденного, так и приобретенного местного иммунитета вовлечены многочисленные белки, присутствующие в слюне. Резистентность или восприимчивость к кариесу значительно коррелирует с изменениями содержания белков ротовой жидкости, модулирующих микрофлору полости рта, поэтому протеиновый состав слюны является чувствительным показателем здоровья зубов, неинвазивным биомаркером прогнозирования риска развития и течения патологии [4].

В ряде исследований показано, что множественный кариес развивается на фоне недостат-

ка витамина D [5]. Активная форма витамина D – кальцитриол – это один из основных гормонов, регулирующих фосфорно-кальциевый метаболизм и обеспечивающий минерализацию твердых тканей зубов [6]. Данное биологически активное вещество обладает иммуномодулирующей функцией, в частности способностью стимулировать выработку антимикробных пептидов, в том числе кателицидина LL-37, влиять на клетки иммунной системы [7–9].

Проведенное нами ранее исследование показало, что у лиц со средней и высокой интенсивностью кариозного процесса содержание  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови ниже, чем у лиц с меньшей активностью процесса. Это, на наш взгляд, подтверждает данные литературы о том, что недостаток активных форм витамина D является значимым фактором развития кариеса.

Цель работы – оценка уровня некоторых иммунорегуляторных белков в ротовой жидкости у лиц с множественным кариесом и дефицитом витамина D и определение взаимосвязи их величин с концентрацией  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в крови.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 30 мужчин одного социального уровня в возрасте 20–22 лет (студенты ЧГМА), которые были распределены на две группы. В первую группу (контрольную) вошли 15 здоровых человек (индекс КПУ – сумма кариозных (К), пломбированных (П) и удаленных (У) зубов – равен 0,00 (0,00; 0,00)) с нормальным содержанием витамина D (30–100 нг/мл). Во вторую группу были включены 15 человек с высокой интенсивностью кариозного процесса (индекс КПУ = 10,3 (9,5; 11,5)) и дефицитом витамина D (количество  $25(\text{OH})\text{D}_3$  менее 20 нг/мл). Группы формировали, учитывая Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых (2016). Уровень метаболита витамина D –  $25(\text{OH})\text{D}_3$  определяли в сыворотке крови методом хемилюминесцентного иммунного анализа (Access 2).

Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (с поправками 2013 г.). У всех лиц, принявших участие в исследовании, собирали ротовую жидкость, в которой определяли концентрацию растворимых мембранных белков (мембранного белка суперсемейства иммуноглобулинов, продукта гена *CD86* B7.2 (CD86), свободной фракции трансфор-

мирующего ростового фактора бета-1 (Free Active TGF- $\beta$ 1), коингибирующих рецепторов (цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA-4) и белка запрограммированной смерти клеток 1 (PD-1), белка Т-клеточного иммуноглобулина и муцинового домена-3 (Tim-3), белка гена активации лимфоцитов-3 (LAG-3)), белка 4, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-4), молекулу межклеточной адгезии 1 (ICAM-1)), используя набор для мультиплексного анализа Human Immune Checkpoint Panel 1 (Biolegend, США).

Анализ ротовой жидкости проводили без разведения, все этапы исследования выполнялись согласно инструкции набора ([https://www.biolegend.com/Files/Images/media\\_assets/pro\\_detail/datasheets/750000504\\_HU\\_Immune\\_Checkpoint\\_Panel\\_1\\_Manual\\_R01.pdf](https://www.biolegend.com/Files/Images/media_assets/pro_detail/datasheets/750000504_HU_Immune_Checkpoint_Panel_1_Manual_R01.pdf)). Результаты оценивали с помощью проточного цитофлуориметра Cytotflex LX (Beckman Coulter, США).

Кроме того, в ротовой жидкости оценивали количество антимикробного пептида – кателицидина LL-37, секреторного иммуноглобулина А (IgA) методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов Hycult Byotechnology (Дания), «ИФА-БЕСТ» (Россия) соответственно. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_{25}; Q_{75})$ ; для сравнения двух независимых выборочных совокупностей применялся критерий Манна – Уитни. Для корреляционного анализа рассчитывался непараметрический критерий ранговой корреляции Спирмена. Значение  $p < 0,05$  рассматривалось как статистически значимое. В работе использовались программные пакеты Statistica 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования показал, что при высокой интенсивности кариозного процесса в слюне значительно снижено (на 67,82%) содержание Free Active трансформирующего фактора роста (TGF)  $\beta$ 1 относительно контроля (рис.).

Известно, что в пульпе зуба имеется несколько изоформ TGF, которые экспрессируются одонтобластами, макрофагами, Т- и В-лимфоцитами пульпы зуба на поверхности плазматической мембраны клеток либо связываются с межклеточным матриксом [10]. Показано, что TGF- $\beta$ 1 индуцирует в онтобласти синтез коллагена III типа, регулирует транскрипцию неколлагеновых белков (дентинового сиалофосфопротеина (DSPP), дентинового матричного белка 1 (DMP1)) [10], играет важную роль в репаративном процессе, в развитии зубов, регулируя пролиферацию, дифференцировку клеток [10–12].

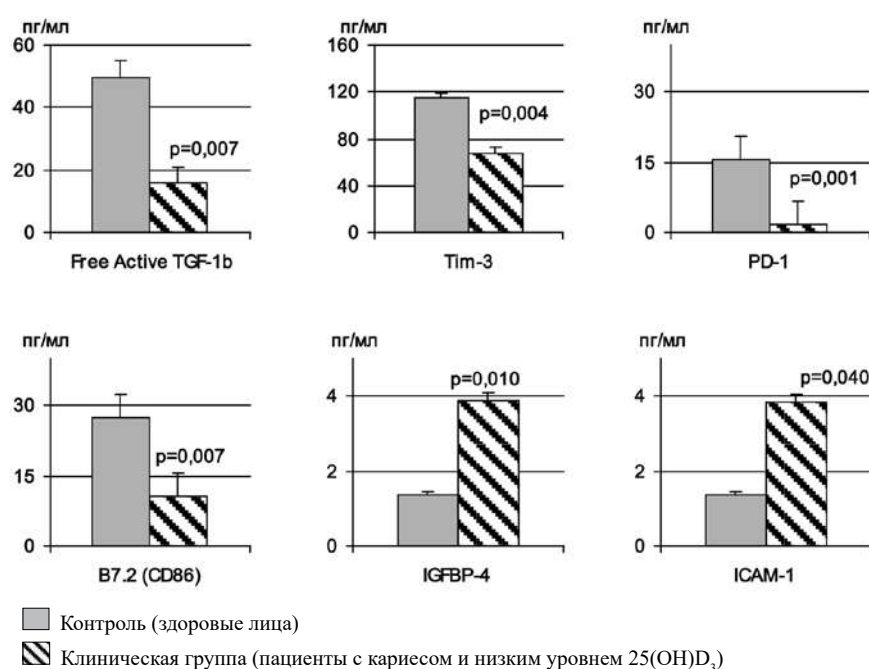


Рисунок. Уровень растворимых мембранных белков в слюне, регулирующих иммунный ответ, пг/мл

Предполагают, что физиологическая функция TGF- $\beta$  в зрелых одонтобластах связана с образованием вторичного дентина, минерализацией интактных и здоровых зубов, а также с деградацией матрикса при повреждении зубов [11]. Вероятно, TGF- $\beta$ 1 принимает участие и в антимикробной защите зуба, хотя этот механизм до конца не понятен.

Нами обнаружено наличие прямой корреляционной связи средней силы ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,001$ ) между уровнями Free Active TGF-b1 в слюне и 25(OH)D<sub>3</sub> в крови у лиц с множественным кариесом и дефицитом витамина D. В контрольной группе такой зависимости обнаружено не было. В научной литературе тоже имеются данные о наличии корреляционных связей между значениями TGF-b1 и витамина D<sub>3</sub> при некоторых заболеваниях [13], описывается роль витамина в метаболизме данного протеина [14].

Важное значение в оптимальном формировании клеточного иммунитета имеют костимуляторные и коингибиторные сигнальные молекулы, называемые еще иммунологическими контрольными «точками» (ИКТ). Существует несколько путей костимуляции и коингибирования Т-клеток. Костимулирование обеспечивается связыванием белка В7.2 (CD86) с CD28, локализованными на мембране Т-клеток. Коингибирующий сигнал, вызывающий ограничение клеточного иммунного ответа, индуцируется рецепторами, включающими в себя молекулы семейства CTLA-4 (Tim-3, Lag-3 и TIGIT). Эти молекулы начинают экспрессироваться на мембране Т-клеток после их акти-

вации и, связываясь с тем же протеином В7.2 (CD86), тормозят образование эффекторных Т-клеток.

Вторым компонентом ИКТ является коингибирующий рецептор PD-1, функция которого несколько отличается от таковой CTLA-4. Оба рецептора подавляют пролиферацию Т-клеток, их выживаемость, синтез цитокинов, но CTLA-4 угнетает клеточный иммунный ответ в ранней фазе и прежде всего в лимфоидных тканях, а PD-1 – в поздней фазе и в периферических тканях [15]. Коингибирующие рецепторы играют ключевую роль в поддержании иммунного гомеостаза и в предотвращении развития аутоиммунных процессов, при этом обеспечивая эффективные иммунные реакции для уничтожения патогенных микроорганизмов [15].

В нашем исследовании при высокой интенсивности кариозного процесса и дефиците витамина D по сравнению с контрольной группой в слюне статистически значимо были снижены величины PD-1 – на 83,82% ( $p = 0,001$ ), Tim-3 – на 40,75% ( $p = 0,004$ ) и В7.2 (CD86) – на 61,47% ( $p = 0,007$ ) (см. рис.). Концентрации Lag-3 лишь демонстрировали тенденцию к снижению и были ниже на 50,11% по сравнению с контролем.

Корреляционный анализ выявил наличие прямых связей между значениями CTLA-4 слюны и 25(OH)D<sub>3</sub> ( $r = 0,63$ ;  $p = 0,010$ ) сыворотки крови, а также между цифрами В7.2 (CD86) и 25(OH)D<sub>3</sub> ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,001$ ) у пациентов с кариесом и дефицитом витамина. Также в этой группе исследования обнаруже-

на прямая зависимость между величинами CTLA-4 и B7.2 (CD86) слюны ( $r = 0,77$ ;  $p < 0,001$ ). В контроле были обнаружены корреляции только между значениями показателей CTLA-4 и B7.2 (CD86) ( $r = 0,56$ ;  $p = 0,019$ ).

В нашем исследовании также было выявлено превышение содержания IGFBP-4 на 187,39% ( $p = 0,01$ ) в ротовой жидкости относительно контроля у пациентов с множественным кариесом (см. рис.). IGFBP4 – это белок, который модулирует действие инсулиноподобного фактора роста (IGF-1). Инсулиноподобный фактор роста, его рецепторы, связывающие белки (IGFBPs), играют критическую роль в нормальном развитии, росте тканей, обмене веществ и гомеостазе [16]. IGF-1 является наиболее распространенным фактором роста в костном матриксе [16], некоторые из молекулярных механизмов его участия в остеогенной дифференцировке изучены, но о функции шести высокоаффинных белков, связывающих IGF (IGFBP 1–6), доступно гораздо меньше информации. Такие исследования в значительной степени ограничены ролью IGFBP-4 и IGFBP-5 в костной ткани [17].

Также нами обнаружено увеличение значений ICAM-1 в слюне у пациентов с кариесом на 181,02% ( $p = 0,04$ ) относительно контроля (см. рис.). Интересно, что в этой группе была зафиксирована отрицательная взаимосвязь ( $r = -0,56$ ;  $p = 0,024$ ) между значениями метаболита витамина D и величинами данной молекулы межклеточной адгезии, в группе контроля сила корреляции была слабее ( $r = -0,44$ ;  $p = 0,047$ ). ICAM – протеин, регулирующий контакты между клетками иммунной системы, а также эндотелием сосудов [18], обеспечивающий прочную адгезию лейкоцитов к сосудистой стенке и способствующей проникновению этих клеток в слой интимы. Воспалительный процесс увеличивает экспрессию ICAM-1 [18]. Существуют работы, показывающие, что уровень sICAM-1 в крови коррелирует с тяжестью периодонтита [19]. C.L. Greillera и соавт. продемонстрировали, что метаболиты витамина D ослабляют индуцированную RV экспрессию ICAM-1 [20].

Кроме других прочих защитных механизмов, слюна человека содержит несколько иммуноглобулинов, составляющих около 5–15% от всех слюнных белков [21]. Основным подклассом иммуноглобулинов, обнаруженных в слюне, является IgA (50–60%), который действует как первая линия защиты [4]. В ряде исследований изучалась взаимосвязь между иммуноглобулинами слюны и формированием кариеса. A. Bagherian и соавт. [22], Т.К. Fidalgo и соавт. [23] выявили более высокие концентрации IgA при

данном заболевании, однако в другой работе сообщалось об обратной взаимосвязи между уровнем этого иммуноглобулина в слюне и интенсивностью кариеса у детей в возрасте 3–6 лет [24]. В то же время не было обнаружено каких-либо корреляций между концентрацией иммуноглобулина и активностью патологического процесса [22].

В нашем исследовании мы регистрировали снижение уровня IgA в слюне при множественном кариесе относительно контроля на 77,62% ( $p < 0,001$ ) и уменьшение концентрации LL-37 на 62,5% ( $p = 0,045$ ) (таблица). Корреляционный анализ выявил прямые связи между значениями метаболита витамина D, с одной стороны, и уровнем sIgA ( $r = 0,88$ ;  $p = 0,001$ ), а также пептида LL-37 ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,037$ ) – с другой, в группе лиц, страдающих кариесом, и подобные корреляции в контроле.

Таблица

Содержание антимикробных пептидов ротовой полости в слюне у пациентов с множественным кариесом и дефицитом 25(OH)D<sub>3</sub>, Me (Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Показатель	Контроль, n = 15	Клиническая группа, n = 15
Секреторный IgA, г/л	55,00 (50,00; 61,46)	12,31 (9,11; 15,53) $p < 0,001$
Кателицидин LL-37, нг/мл	0,56 (0,37; 0,72)	0,21 (0,13; 0,38) $p = 0,045$

Примечание. Уровень значимости различий по сравнению с контролем –  $p$ .

Кателицидины, относящиеся к антимикробным пептидам, являются важными факторами врожденного иммунитета в полости рта [25, 26]. S. Davidopoulou и соавт. обнаружили, что концентрация LL-37 в слюне была ниже у детей с высокой активностью кариозного процесса по сравнению с детьми без данной патологии [27]. Активная форма витамина D также влияет на гуморальный Th2-иммунный ответ, угнетая экспрессию цитокинов Th1 и увеличивая секрецию Th2-цитокинов, в том числе IL-4 [9], что, возможно, сказывается на секреции иммуноглобулинов, в частности, на продукции IgA.

Таким образом, данные литературы и полученные нами результаты свидетельствуют о дисбалансе мукозального иммунитета как о важном факторе развития кариеса. Также, на наш взгляд, недостаток витамина D в организме может служить фактором развития этой патологии, наряду с пониженным содержанием в слюне Free Active TGF-b1, B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, секреторного IgA, кателицидина LL-37 и повышенным уровнем IGFBP-4 и ICAM-1. Назначение

витамина, вероятно, приведет к нивелированию обнаруженных нарушений в мукозальном иммунитете.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне дефицита витамина D при множественном кариесе в ротовой жидкости регистрируются низкие концентрации иммунорегуляторных белков Free Active TGF- $\beta$ 1, B7.2 (CD86), PD-1, Tim-3, секреторного IgA, кателицидина LL-37 и высокие концентрации IGFBP-4 и ICAM-1 по сравнению с контрольной группой.

## ЛИТЕРАТУРА

- Petersen P.E. Challenges to improvement of oral health in the 21st century – The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Int. Dent. J.* 2004; 54 (6; Suppl. 1): 329–343. DOI: 10.1111/j.1875-595X.2004.tb00009.x.
- Takahashi N., Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J. Dent. Res.* 2011; 90 (3): 294–303. DOI: 10.1177/0022034510379602.
- Simon-Soro A., Sherriff A., Sadique S., Ramage G., Macpherson L., Mira A., Culshaw S., Malcolm J. Combined analysis of the salivary microbiome and host defence peptides predicts dental disease. *Sci. Rep.* 2018; 8 (1): 1484. DOI: 10.1038/s41598-018-20085-x.
- Hemadi A.S., Huang R., Zhou Y., Zou J. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *Int. J. Oral Sci.* 2017; 9 (11): e1. DOI: 10.1038/ijos.2017.35.
- Deane S., Schroth R.J., Sharma A., Rodd C. Combined deficiencies of 25-hydroxyvitamin D and anemia in preschool children with severe early childhood caries: A case-control study. *Paediatr. Child. Health.* 2018; 23 (3): e40–e45. DOI: 10.1093/pch/pxx150.
- Ахполова В.О., Брин В.Б. Обмен кальция и его гормональная регуляция. *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* 2017; 2: 38–47.
- Фирсова И.В., Мокрова Е.А., Заводовский Б.В., Македонова Ю.А. Витамин D и его роль в развитии стоматологических заболеваний (Обзорная статья). *Современные проблемы науки и образования.* 2014; 6: 1047.
- Bivona G., Agnello L., Ciaccio M. The immunological implication of the new vitamin D metabolism. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2018; 43 (3): 331–334. DOI: 10.5114/ceji.2018.80053.
- Mak A. The impact of vitamin D on the immunopathophysiology, disease activity, and extra-musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 (8): 2355. DOI: 10.3390/ijms19082355.
- Niwa T., Yamakoshi Y., Yamazaki H., Karakida T., Chiba R., Hu J.C.-C., Nagano T., Yamamoto R., Simmer J.P., Margolis H.C., Gomi K. The dynamics of TGF- $\beta$  in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Sci. Rep.* 2018; 8 (1): 4450. DOI: 10.1038/s41598-018-22823-7.
- Jain A., Bahuguna R. Role of matrix metalloproteinases in dental caries, pulp and periapical inflammation: An overview. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research.* 2015; 5 (3): 212–228. DOI: 10.1016/j.jobcr.2015.06.015.
- Chan C.P., Lan W.H., Chang M.C., Chen Y.J., Lan W.C., Chang H.H., Jeng J.H. Effects of TGF- $\beta$ s on the growth, collagen synthesis and collagen lattice contraction of human dental pulp fibroblasts in vitro. *Arch. Oral Biol.* 2005; 50 (5): 469–479. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2004.10.005.
- Isik S., Ozuguz U., Tutuncu Y.A., Erden G., Berker D., Acar K., Aydin Y., Akbaba G., Helvacı N., Guler S. Serum transforming growth factor-beta levels in patients with vitamin D deficiency. *European Journal of Internal Medicine.* 2011; 23 (1): 93–97. DOI: 10.1016/j.ejim.2011.09.017.
- Fischer K.D., Agrawal D.K. Vitamin D regulating TGF- $\beta$  induced epithelial-mesenchymal transition. *Respir. Res.* 2014; 15 (1): 146. DOI: 10.1186/s12931-014-0146-6.
- Joller N., Kuchroo V.K. Tim-3, Lag-3, and TIGIT. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2017; 410: 127–156. DOI: 10.1007/82\_2017\_62.
- Smith T.J. Insulin-like growth factor-I regulation of immune function: a potential therapeutic target in autoimmune diseases? *Pharmacol. Rev.* 2010; 62 (2): 199–236. DOI: 10.1124/pr.109.002469.
- Alkharobi H., Alhodhodi A., Hawsawi Y., Alkafaji H., Devine D., El-Gendy R., Beattie J. IGFBP-2 and -3 co-ordinately regulate IGF1 induced matrix mineralisation of differentiating human dental pulp cells. *Stem Cell Res.* 2016; 17 (3): 517–522. DOI: 10.1016/j.scr.2016.09.026.
- Naeini A.E., Moeinzadeh F., Vahdat S., Ahmadi A., Hedayati Z.P., Shahzeidi S. The effect of vitamin D administration on intracellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 levels in hemodialysis patients: a placebo-controlled, double-blinded clinical trial. *J. Res. Pharm. Pract.* 2017; 6 (1): 16–20. DOI: 10.4103/2279-042X.200994.
- Liu J., Duan J., Wang Y., Ouyang X. Intracellular adhesion molecule-1 is regulated by porphyromonas gingivalis through nucleotide binding oligomerization domain-containing proteins 1 and 2 molecules in periodontal fibroblasts. *J. Periodontol.* 2014; 85 (2): 358–368. DOI: 10.1902/jop.2013.130152.
- Greillera C.L., Suria R., Jolliffe D.A., Keadzeb T., Hirsmanbd A.G., Griffithsc Ch.J., Johnstonbe S.L., Martineauac A.R. Vitamin D attenuates rhinovirus-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and platelet-activating factor receptor (PAFR) in respiratory epithelial cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2019; 187: 152–159. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2018.11.013.
- Van Nieuw Amerongen A., Bolscher J.G.M., Veerman E.C. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res.* 2004; 38 (3): 247–253. DOI: 10.1159/000077762.
- Bagherian A., Asadikaram G. Comparison of some salivary characteristics between children with and without early childhood caries. *Indian J. Dent. Res.* 2012; 23 (5): 628–632. DOI: 10.4103/0970-9290.107380.
- Fidalgo T.K., Freitas-Fernandes L.B., Ammari M., Matos C.T., Ribeiro de Souza I.P., Maia L.C. The relationship between unspecific s-IgA and dental caries: a systematic review and meta-analysis. *J. Dent.* 2014; 42 (11): 1372–1381. DOI: 10.1016/j.jdent.2014.07.011.
- Shifa S., Muthu M.S., Amaral D., Prabhu Rathna V. Quantitative assessment of IgA levels in the unstimulated whole

- saliva of caries-free and caries-active children. *J. Indian Soc. Pedodont. Prev. Dent.* 2008; 26 (4): 158–161. DOI: 10.4103/0970-4388.44031.
25. Khurshid Z., Naseem M., Yahya I., Asiri F., Mali M., Khan R.S., Sahibzada H.A., Zafar M.S., Moin S.F., Khan E. Significance and diagnostic role of antimicrobial cathelicidins (LL-37) peptides in oral health. *Biomolecules.* 2017; 7 (4): 80. DOI: 10.3390/biom7040080.
26. Murakami M., Ohtake T., Dorschner R.A., Gallo R.L. Cathelicidin antimicrobial peptides are expressed in salivary glands and saliva. *J. Dent. Res.* 2002; 81 (12): 845–850. DOI: 10.1177/154405910208101210.
27. Davidopoulou S., Diza E., Menexes G., Kalfas S. Salivary concentration of the antimicrobial peptide LL-37 in children. *Arch. Oral. Biol.* 2012; 57 (7): 865–869. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.008.

---

## Вклад авторов

Путнева А.С., Караваева Т.М., Максименя М.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н. – концепция и дизайн исследования. Путнева А.С., Терешков П.П., Мищенко М.Н., Фефелова Е.В. – сбор и обработка клинического и биологического материала. Терешков П.П., Путнева А.С., Паршина А.А. – статистическая обработка, дизайн графического материала. Путнева А.С., Караваева Т.М., Максименя М.В. – написание текста рукописи. Цыбиков Н.Н., Фефелова Е.В., Терешков П.П., Мищенко М.Н., Паршина А.А. – редактирование рукописи. Путнева А.С., Караваева Т.М., Максименя М.В., Терешков П.П., Мищенко М.Н., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н., Паршина А.А. – утверждение окончательного варианта статьи.

---

## Сведения об авторах

**Путнева Александра Сергеевна**, аспирант, кафедра патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0003-3225-1333.

**Караваева Татьяна Михайловна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины; доцент, кафедра химии и биохимии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-0487-6275.

**Максименя Мария Владимировна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины; доцент, кафедра химии и биохимии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0001-6308-3411.

**Терешков Павел Петрович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины; доцент, кафедра химии и биохимии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-8601-3499.

**Мищенко Мария Николаевна**, канд. мед. наук, ассистент, кафедра стоматологии ФПК и ППС, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0003-4678-0527.

**Фефелова Елена Викторовна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-0724-0352.

**Цыбиков Намжил Нанзатович**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-0975-2351.

**Паршина Анастасия Анатольевна**, ассистент, кафедра патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-1458-2385.

(✉) Путнева Александра Сергеевна, e-mail: putnevaas@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.09.2020

Подписана в печать 28.12.2020

УДК 616.314.13–003–085.242

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.2.37–43

## Обзор реминерализующих лекарственных средств, применяющихся для профилактики и лечения начального кариеса эмали

А.Л. Голованенко

*Пермская государственная фармацевтическая академия (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2)*

Одно из ведущих мест в профилактике и лечении начального кариеса эмали занимает реминерализующая терапия. В статье представлен обзор моно- и комплексных лекарственных средств в различных лекарственных формах, применяющихся для профилактики и лечения начального кариеса эмали. Рассмотрена основная проблема реализации сочетанной минерализующей профилактики – нестабильность растворов с ионами кальция, фосфатов и фторида, а также теоретическая основа сочетанной минерализующей профилактики и механизм действия местных реминерализующих средств, заключающийся в дополнении околозубной среды реминерализующими ионами. Показана перспективность применения аппликационных лекарственных форм на основе полимеров – гелей и пленок. Благодаря структурированным водным пространствам в гелях и пленках обеспечивается защитный эффект относительно взаимодействия основных минерализующих ионов, что позволяет сохранить их в свободном активном состоянии и тем самым обеспечить существенное повышение проникновения в кристаллическую решетку эмали.

**Ключевые слова:** кариес, кальций, фосфор, фторид

Распространенность кариеса зубов представляет серьезную проблему для здравоохранения в большинстве стран мира. В настоящее время в России и за рубежом отмечена высокая интенсивность и распространенность этого заболевания, достигающая 99%. Несмотря на большие успехи в профилактике и лечении кариеса зубов данная патология представляет серьезную проблему, осложняющуюся ростом стоимости восстановительного лечения и новыми доказательствами взаимосвязей осложнений кариеса и ряда соматических заболеваний [3, 37]. Поэтому одно из ведущих мест в профилактике и лечении начального кариеса эмали занимает реминерализующая терапия, которая рассматривается в качестве приоритетной стоматологической процедуры и считается экономически более эффективной, чем оперативно-восстановительное лечение [16].

Современный ассортимент препаратов для лечения и профилактики начального кариеса эмали представлен лекарственными средствами (ЛС) в различных лекарственных формах (ЛФ) с одним или несколькими реминерализующими компонентами. Основным механизмом действия местных реминерализующих средств служит дополнение околозубной среды реминерализующими ионами. Существенная часть этих средств принадлежит к виду не только активной субстанции для терапевтического воздействия, но и к виду ЛФ, которая обеспечивает полноту и скорость воздействия и, как следствие, наступление фармакологического эффекта [34].

Химическая суть начального кариеса связана с дисбалансом постоянно сменяющихся (в норме) друг друга процессов растворения и репреципитации

кристаллов фосфата кальция – апатитов эмали. Основные процессы протекают на границе сред – эмали и жидкости, ее омывающей (как правило, жидкости зубной бляшки). Направленность процесса определяется степенью насыщенности околозубной среды апатитами (которая, в свою очередь, определяется концентрацией ионов кальция, фосфатов и водородным показателем – рН), а также кислотоустойчивостью апатитов эмали, определяемой их химическим составом. Изначально деминерализации подвергается поверхностный слой эмали, затем, если ситуация возле тканей зуба не нормализуется, в процесс вовлекаются все более и более глубокие слои тканей – деминерализация смещается вглубь. Растворение неорганической фазы обеспечивается кислотами зубного налета, хелатные соединения им «помогают», связывая кальций, протеолитические ферменты вызывают деструкцию органических молекул матрицы дентина после их обнажения вследствие деминерализации [5, 26, 32, 33, 38, 49].

Основная цель минерализующей профилактики кариеса зубов – сохранить баланс путем химических преобразований эмали и насыщением околозубной среды ионами, составляющими апатиты. Сократить утраты минералов из эмали и поощрить их репреципитацию из околозубной среды можно, если извне привнести в проблемную зону нужные для перенасыщенности среды ионы кальция и фосфата из пищевых продуктов, профилактических и ЛП. В этом случае можно надеяться на формирование тех или иных соединений кальция и фосфата, которые могут постепенно модифицироваться до апатита. При введении фторида в ЛП, содержащие ионы фосфата и кальция, растет вероятность репреципитации соединений кальция даже при относительно низком уровне рН [5, 10, 15, 17, 27, 33].

Таким образом, теоретической основой сочетанной минерализующей профилактики можно назвать добавление ионов кальция и фосфата в околозубную среду. Но при низком уровне pH этого не всегда достаточно для достижения перенасыщенности по гидроксипатиту. Одновременное внесение в такую среду ионов фторида помогает достичь перенасыщенности по фторпатиту и таким образом получить преципитацию (фторированного) апатита.

Основной проблемой реализации сочетанной минерализующей профилактики считается нестабильность растворов с ионами кальция, фосфатов и фторида (быстрое объединение ионов в молекулы и, соответственно, снижение биодоступности минералов), поэтому специалисты традиционно предлагали последовательные аппликации препаратов фторида, кальция и фосфата.

Наиболее популярными комбинациями монопрепаратов являются 15-минутные аппликации 10 % раствором кальция глюконата, 2,5 % раствором глицерофосфата кальция или 5 % раствором хлорида кальция курсом по 15 сеансов, с повторными курсами 2–3 раза в год. Метод Боровского–Леуса заключается в комбинации растворов: 15-минутные (3 раза по 5 минут) аппликации 10 % раствором глюконата кальция с последующей аппликацией 2 % раствором фторида натрия в течение 3 минут. Профилактический курс предусматривает 10–15 процедур 2 раза в год. В методе Боровского–Волкова используется двухкомпонентная комбинация, которая состоит из 10 % раствора нитрата кальция и 10 % раствора кислого фосфата аммония. Подготавливают зубы и последовательно проводят аппликации каждым из данных растворов в течение 3–5 минут. Через 5–7 процедур на поверхности эмали и в микропространствах под поверхностным слоем образуется вещество брушит, которое является источником ионов фосфора и кальция. Метод Т.Ф. Виноградовой заключается в аппликации 2 % раствором глюконата кальция (2–4 минуты) с последующим полосканием 0,2 % раствором натрия фторида или с аппликацией фторлаком. Метод В.Г. Сунцова: аппликация 2 % раствором натрия фторида (3–5 минут) с последующей аппликацией раствором глюконата кальция [4, 6, 9, 21, 30, 43].

К комплексным реминерализующим растворам относятся «Ремодент» и «Профокар». Препарат «Ремодент» разработан в Рижском медицинском институте в 1975 г. Г.Н. Пахомовым, Е.В. Боровским и А.А. Лусте и в настоящее время зарегистрирован в 11 странах мира. Порошок «Ремодента» представляет собой высокоочищенную костную муку из челюстных костей молодняка крупного рогатого скота, полученную методом лиофилизации или вакуумной сушки. Состав ремодента: кальций – 4,35, фосфор – 1,36 %, магний – 0,15 %, калий – 0,2 %, натрий – 16 %, хлор – 30 %, органические вещества – 44 %, марганца, железа, цинка, меди и других микроэлементов – до 100 %. Препарат выпускается в виде порошка, таблеток

и гранул, входит в состав зубных порошков, паст, гелей, растворов. Его 3 % раствор применяется для аппликаций и ротовых полосканий (15–25 мл раствора на одно полоскание) 1–2 раза в неделю в течение 10 месяцев в году. Имеются ограничения в применении у детей дошкольного возраста из-за выраженного горько-солевого вкуса. В настоящее время выпуск этого препарата приостановлен [20].

«Профокар» – многокомпонентное реминерализующее средство с оптимальным содержанием и соотношением основных химических элементов, необходимых для построения кристаллической решетки апатитов эмали. Включает в себя кальций, фосфор, фтор, магний, железо, цинк, калий, натрий, хлор, медь и свинец. Материал для его получения – деминерализат трубчатых костей крупного рогатого скота. В отличие от «Ремодента» содержит фтор. Представляет собой прозрачную жидкость с едва заметным беловатого цвета осадком, солоноватую на вкус. Может применяться для ротовых полосканий и аппликаций [20].

Профилактические и терапевтические эффекты «классических» кальций-фосфорных препаратов достигаются путем длительных процедур и курсов, и не являются стойкими. В то время как основным требованием к идеальному современному кальций-фосфорному средству считается обеспечение долговременного контакта эмали с адекватным количеством кальция и фосфатов, которые могут внедриться в нее в заданных (в т.ч. при помощи самого препарата) условиях – в частности, pH околозубной среды.

До 90-х годов XX века широко применяли «классические» монопрепараты и их комбинации, преимущественно в форме растворов, путем длительных процедур и курсов. Такие препараты обладают слабыми адгезивными свойствами и кумулятивным эффектом в месте воздействия, незначительной глубиной проникновения активных компонентов в ткани зуба, а их терапевтический эффект кратковременен. В форме растворов минеральные компоненты кариеостатических средств вступают в реакцию между собой с образованием нерастворимых соединений, практически не проникающих в эмаль, поэтому рекомендации к применению заключались в назначении этих средств последовательно [6, 21, 31, 43].

В целях повышения биодоступности данных схем лечения введение препаратов может осуществляться с помощью электрофореза, что значительно эффективнее, чем обычные полоскания и аппликации. Электрофорез реминерализующих препаратов выполняется специалистом в физиотерапевтическом кабинете клиники и считается одним из наиболее эффективных способов профилактики кариеса вследствие активного (под действием тока) проникновения ионов в твердые ткани зуба. Этот метод применим у взрослых, детей старших возрастных групп и подростков, так как предполагает адекватное поведение пациента во время процедуры. Использование этого

метода требует наличия специального оборудования и непосредственного участия врача-стоматолога и связано с многократным посещением стоматологического кабинета и рядом других неудобств, как для врача, так и для пациента [6, 9, 21, 30, 43].

Систематическое проведение описанных методик (3–4 раза в год) позволяет снизить прирост кариеса на 30–40%. Эффективность применения препаратов кальция и фосфатов повышается при их внедрении в эмаль при помощи электрофореза. Однако сложность проведения данных аппликаций в амбулаторных условиях, применение нескольких препаратов, кратковременный эффект, в связи с которым необходимы частые повторные курсы лечения, предполагают замену данных схем лечения и препаратов более действенными пролонгированными и комбинированными.

Перспективными для применения в реминерализующей терапии считаются аппликационные ЛФ на основе полимеров – гели и пленки лекарственные. Благодаря структурированным водным пространствам в гелях и пленках обеспечивается защитный эффект относительно взаимодействия  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , что позволяет сохранить минерализующие компоненты в свободном активном состоянии и тем самым обеспечить существенное повышение их проникновения в кристаллическую решетку эмали.

Т.Н. Мельниковой разработаны пленки реминерализующего действия, содержащие глюконат кальция и фурацилин на основе натрий-КМЦ [23]. В.К. Леонтьевым предложен для аппликаций 1–2% гель фторида натрия на 3% агаре, который после профессиональной чистки зубов в разогретом виде кисточкой наносят на высушенные зубы, спустя 1–2 минуты гель застывает в виде тонкой пленки [16, 28].

Современными требованиями к реминерализующим препаратам служат не только обеспечение длительного контакта эмали, но и наличие адекватных количеств кальция и фосфора, которые могут повысить рН околозубной среды и внедриться в зубную эмаль. Применение таких ЛФ позволяет в условиях массового стоматологического приема минимизировать затраты времени, без использования сложных и дорогостоящих приборов [7, 47].

При патентном обзоре выявлены современные средства реминерализующей терапии, производимые на территории РФ и за рубежом.

*Пластины ЦМ-2*, в качестве минерализующего компонента, содержат кальций, однако ввиду отсутствия фосфат-ионов они имеют недостаточно высокий реминерализующий потенциал [21].

*Продукт на основе мела SentiStat* представляет собой комплекс карбоната кальция и бикарбоната аргинина – аналог естественного кальцийтропного компонента слюны, обеспечивающий присоединение комплекса к поверхности зуба. Медленное растворение карбоната кальция на поверхности эмали способствует ее обогащению кальцием [40].

На основе препарата «Ремодент», созданного Г.А. Пахомовым и группой сотрудников ЦНИИ стоматологии, фирмой «ВладМиВа» разработан *гель «Белгель Са/Р»* пролонгированного действия. Длительность воздействия препарата достигается за счет образования пленки, из которой постепенно высвобождаются и проникают в эмаль реминерализующие ионы кальция, фосфора, магния, калия и т.д. В связи с отсутствием в геле фторид-иона фторирование осуществляется препаратами «Белгель F» и «Белак F», производимыми на основе природного полисахарида хитозана. Однако последовательное использование нескольких препаратов делает данную схему затруднительной к применению в условиях амбулаторного лечения и современного ритма жизни [9, 40, 42].

*Формула NovaMin* представляет собой синтетическое стекло – натриевый фосфосиликат кальция. При контакте с эмалью натрий стекла замещается ионами водорода, фосфат и кальций мигрируют из формулы, создавая условия для собственной преципитации. Формула *NovaMin* включена в ряд продукции: зубные порошки и пасты Oravive Tooth Revitalizing Paste [46, 48]. Однако абразивные компоненты зубных паст затрудняют проникновение минерализующих компонентов в эмаль, поэтому наиболее рационально использовать самостоятельные препараты для лечения и профилактики кариеса эмали.

*Формула MINERALIN* (Россия, Швейцария) введена в состав зубных паст, ополаскивателей и гелей (гель реминерализующий R.O.C.S). В основе формулы лежит кальций глицерофосфат и магния хлорид, введенный для работы фосфатаз, гидролизующих глицерофосфат кальция, и ксилит [11, 13, 35, 36, 39–41, 43, 48, 50]. Кальция глицерофосфат обеспечивает насыщение эмали двумя ионами, однако их соотношение 1:1 не обеспечивает достаточного реминерализующего эффекта.

В современных профилактических пастах и лаках применяют *аморфный фосфат кальция (АСР) двухфазные системы*, в которых растворимые соединения кальция и фосфатов хранятся отдельно и смешиваются перед аппликацией с образованием аморфного кальция фосфата. В 1987 г. запатентована формула – *аморфный фосфат кальция, связанный с фосфопептидами казеина (СРР–АСР)*. Действие препарата основано на казеиновом протеине, который содержит ионы кальция и фосфата. Казеин-фосфопептид сохраняет кальций и фосфат в аморфном некристаллическом состоянии и обеспечивает высокую адгезию препарата к твердым тканям зуба, к пелликуле, к компонентам бляшки и мягким тканям полости рта, благодаря чему обеспечивает пролонгированное воздействие. Сорбированный на эмали комплекс высвобождает в околозубную среду часть ионов кальция и фосфата, а часть аморфного фосфата кальция, все еще фиксированного казеином, поддерживает активность этих ионов, обеспечивая градиент концентрации, необходимый для перемещения ионов в подповерхностную зону очага

деминерализации. СРР–АСР вырабатывается из казеина молока, поэтому противопоказан пациентам с аллергией на протеины молока и/или гидроксibenзоаты. Препараты на основе глицерофосфата кальция, аморфного фосфата кальция и аморфного фосфата кальция, связанного с фосфопептидами казеина, выпускаются в форме паст, муссов, геля и позиционируются как профессиональные средства [8, 12–14, 24, 39, 43–46, 48].

Добавление ионов кальция и фосфата в околозубную среду необходимое, но при низком уровне рН – недостаточное условие для достижения перенасыщенности по гидроксиапатиту. Одновременное внесение в такую среду фторид-ионов помогает достичь перенасыщенности по фторапатиту и получить преципитацию фторированного апатита. В то время как добавление в среду только одного фторида недостаточно для достижения подобной перенасыщенности из-за недостатка в среде ионов кальция и фосфатов (их внесение повышает шансы на репреципитацию фторированного апатита). Препараты для кальций–фосфор–фтор-минерализующей терапии выпускаются в форме паст, геля и муссов для реминерализации тканей зуба и зачастую содержат высокие концентрации фторидов [7, 10, 18, 19, 40, 46].

Фирмой «Норд-ост» предложена *стоматологическая полимерная самоклеящаяся пленка «Диплен Ф»* (патент РФ № 2245710), обеспечивающая поступление на поверхность зуба строго контролируемого количества фтора и хлоргексидина биглюконата, что способствует нормализации микробиоценоза полости рта и купированию дисбиоза, однако выраженность ее реминерализующего эффекта недостаточна из-за наличия только одного реминерализующего компонента – фтора [1, 2, 29, 36, 43].

Компаниями Germiphene Corporation (Канада), DMG (Германия) и рядом других разработаны *лечебно-профилактические средства в виде фторидных пенек*. Активным компонентом их является 1,23% фторид натрия, подкисленный фосфорной кислотой, что обеспечивает быстрое и эффективное поглощение фторида, всего за 60 с. Содержащийся в фосфорной кислоте ион фосфата не позволяет развиваться деминерализации эмали, однако в научной литературе эффективность применения фторидных пенек с позиций доказательной медицины еще не подтверждена. Пасты и гели на их основе вмещают 1,23% фтора и аморфного фосфата кальция, лак содержит 5% натрия фторида и аморфного фосфата кальция, гель Topical A.P.F. Gel представлен 1,23% фторидом натрия. Однако регулярное поступление в организм повышенных доз фторида может привести к развитию флюороза зубов [14, 22, 25, 32, 39, 41].

Перспективными для применения в реминерализующей терапии можно назвать *аппликационные ЛФ на основе полимеров*, моделирующие по фосфорно-кальциевому коэффициенту слюну здорового человека, разработанные с учетом основных требований реминерализующей терапии. Они перенасыщены ионами

кальция и фосфора, что повышает минерализующий потенциал средств по сравнению с потенциалом здоровой слюны во много раз. Превалирование фосфатов над кальцием в соотношении 4:1, благодаря структурированным водным пространствам в гелях и пленках, обеспечивает защитный эффект относительно взаимодействия  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , что позволяет сохранить минерализующие компоненты в свободном активном состоянии и тем самым обеспечить существенное повышение их проникновения в кристаллическую решетку эмали.

В связи с перегруженностью бюджетных стоматологических учреждений и высокой стоимостью приемов в частных клиниках, рационален перевод профилактического лечения в амбулаторные условия на индивидуальном уровне. Это согласуется с аспектами современной социально-экономической жизни и предъявляет ряд требований к реминерализующим препаратам: удобство применения с минимальными затратами времени, без использования дополнительного оборудования, доступная стоимость препарата, с сохранением высокого фармакологического эффекта. К принципиально новым технологиям относятся аппликационные ЛФ на основе полимеров, в которых благодаря структурированному водному пространству предотвращается взаимодействие кальция и фосфата, что позволяет использовать различные химически несовместимые соединения этих ионов и осуществлять коррекцию их содержания по кальциево-фосфорному коэффициенту для достижения наиболее высокого реминерализующего эффекта. Наличие фторид-иона в дополнении к кальцию и фосфату обеспечивает состояние перенасыщенности по гидроксиапатиту. Это дает возможность объединить эффект в одной аппликации, позволяет индивидуализировать лечение и профилактику начального кариеса эмали, а простота, удобство, безопасность и доступность для применения – охватить большую часть населения и снизить общий уровень распространенности кариеса.

#### Литература / References

1. Ананьев В.Н., Новиков Ю.Т., Фурин В.А. Новая адресная иммобилизованная лекарственная форма – лекарственные желатиновые пленки. М.: Медицинская книга, 2004. 215 с. Anan'ev V.N., Novikov Yu.T., Furin V.A. New address immobilized dosage form – medicinal gelatinous films. Moscow: Meditsinskaya kniga, 2004. 215 p.
2. Арутюнов С.Д., Царев В.Н. Применение пленки «Диплен Ф» при лечении кариеса в стадии меловидного пятна // Стоматолог Инфо. 2008. № 1. С. 45–47. Arutyunov S.D., Tsarev V.N. The use of the film “Diplen F” in the treatment of caries in the stage of a petty spot // Stomatolog Info. 2008. No. 1. P. 45–47.
3. Атежанов Д.О. Профилактика кариеса зубов у детей дошкольного возраста с применением отечественного стоматологического средства «Ремин» // Вестник Казахского национального медицинского университета. 2016. № 1. С. 298–301. Atejanov D.O. Prevention of dental caries in preschool children using domestic dental tools “Remin” // Bulletin of Kazakh National Medical University. 2016. No. 1. P. 298–301.

4. Барера Г.М., Зорян Е.В. Рациональная фармакотерапия в стоматологии. М.: Литтерра, 2006. 568 с.  
Barera G.M., Zoryan E.V. Rational pharmacotherapy in dentistry. Moscow: Litterra, 2006. 568 p.
5. Боровский Е.Б., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М.: Медицина, 1991. 304 с.  
Borovskii E.B., Leontev V.K. Biology of the oral cavity. Moscow: Medicine, 1991. 304 p.
6. Боровский Е.В., Завьялова Т.Г. Лечение кариеса в стадии белого пятна у детей методом глубокого фторирования // Стоматология. 2002. № 9. С. 52–54.  
Borovskii E.V., Zavyalova T.G. Treatment of caries in the stage of white spots in children by the method of deep fluorination // Stomatology. 2002. No. 9. P. 52–54.
7. Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Кармалькова И.С. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов // Вестник Витебского гос. мед. ун-та. 2011. Т. 10, № 1. С. 138.  
Butvilovskii A.V., Barkovskii E.V., Karmalkova I.S. Chemical basis of the demineralization and remineralization of tooth enamel // Vestnik of Vitebsk State Medical University. 2011. Vol. 10, No. 1. P. 138.)
8. Жаркова О.А., Лобкова О.С. Реминерализующая терапия с использованием GC Tooth Mousse // Совр. стоматология. 2011. № 2. С. 42–45.  
Jarkova O.A., Lobkova O.S. Remineralizing therapy with the use of GC Tooth Mousse // Sovremennaya Stomatologiya. 2011. No. 2. P. 42–45.
9. Камина Т.В. Выбор реминерализующего препарата – вопрос серьезный // Вісник проблем біології і медицини. 2013. Т. 1, № 4. С. 53–56.  
Kamina T.V. The choice of conservative drug is a serious question // Visnyk problem biologii i medicyny. 2013. Vol. 1, No. 4. P. 53–56.
10. Кириллова Е.В. Изучение эффективности реминерализующего геля с ксилитом в комплексном лечении кариеса зубов у детей раннего возраста: сб. мат. Первой научно-практической конференции молодых ученых «Инновационная наука – эффективная практика». М.: ЦНИИС, 2010. С. 43–46.  
Kirillova E.V. Study of the efficiency of remineralizing gel with xylitol in the complex treatment of dental caries in children of early age: Collection of materials of the First scientific-practical conference of young scientists “Innovative Science – good practice”. Moscow: ZNIIS, 2010. P. 43–46.
11. Кобиясова И.В. Опыт применения аппликационного геля R.O.C.S. Medical Minerals в профилактике и лечении кариеса в стадии пятна // Клини. стоматология. 2009. № 2. С. 72–74.  
Kobiyasova I.V. Experience of application of application of gel R.O.C.S. Medical Minerals in the prevention and treatment of caries in the stage spots // Clinical Dentistry. 2009. No. 2. P. 72–74.
12. Коваленко И.П. Теоретическое обоснование использования реминерализующих препаратов и физических факторов при лечении неосложненного перелома коронки зуба // Совр. стоматология. 2015. № 2. С. 18–22.  
Kovalenko I.P. The theoretical rationale for the use of remineralizing agents and physical factors in the treatment of uncomplicated fracture of the crown // Sovremennaya Stomatologiya. 2015. No. 2. P. 18–22.
13. Конова Е.Ю., Бурцев А.А. Сравнение эффективности применения реминерализующих средств на основе фосфата кальция после использования брекет-систем // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2017. Т. 7, № 9. С. 1410–1412.  
Konova E.Yu., Burcev A.A. A comparison of the effectiveness of remineralizing agents on the basis of calcium phosphate after the use of braces // Bulletin of Medical Internet Conferences. 2017. Vol. 7, No. 9. P. 1410–1412.
14. Кузьмина Э.М. Современные подходы к профилактике кариеса зубов // Dental Forum. 2011. № 2. С. 2–9.  
Kuzmina E.M. Modern approaches to caries prevention // Dental Forum. 2011. No. 2. P. 2–9.
15. Леонтьев В.К., Вершинина О.И. Механизмы кислотного растворения эмали // Стоматология. 1982. № 1. С. 4–7.  
Leontev V.K., Vershinina O.I. Mechanisms of acid dissolution of the enamel // Stomatology. 1982. No. 1. P. 4–7.
16. Леонтьев В.К., Пахомов Г.Н. Профилактика стоматологических заболеваний. М.: КМК-Инвест, 2006. 416 с.  
Leontev V.K., Pahomov G.N. Prevention of dental diseases. Moscow: KMK Invest, 2006. 416 p.
17. Леонтьев В.К., Петрович Ю.А. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии: метод. пособие. Омск, 1976. 93 с.  
Leontev V.K., Petrovich Yu.A. Biochemical tests in clinical and experimental dentistry: metodicheskoye posobie. Omsk, 1976. 93 p.
18. Леонтьева Е.Ю., Ткачук О.Е., Нектаревская И.Б. Реминерализующая терапия с использованием Tooth Mousse и MI Paste (GS) // Проблемы стоматологии. 2012. № 1. С. 31–35.  
Leonteva E. Yu., Tkachuk O. E., Nektarevskaya I. B. Remineralization therapy with the use of Tooth Mousse and MI Paste (GS) // Actual Problems in Dentistry. 2012. No. 1. P. 31–35.
19. Ломиашвили Л.М., Погадаев Д.В., Елендо М.Б., Михайловский С.Г. Минимально-инвазивные методы лечения кариеса зубов // Клиническая стоматология. 2010. № 1. С. 30–33.  
Lomiashvili L.M., Pogadaev D.V., Elendo M.B., Mihailovskii S.G. Minimally invasive treatment of dental caries // Clinical Dentistry. 2010. No. 1. P. 30–33.
20. Максимовская Л. Н., Рощина П.И. Лекарственные средства в стоматологии. М.: Медицина, 2000. 240 с.  
Maksimovskaya L. N., Roschina P. I. Drugs in dentistry. Moscow: Meditsina, 2000. 240 p.
21. Манукян А.А., Маркрян М.М. Сравнительный анализ эффективности лечения деминерализованных очагов с применением глицерофосфата кальция и пластин «ЦМ2 с кальцием». 2016. Конференция № 25. URL: <http://euroasia-science.ru/medicinskie-nauki/sravnitelnyj-analiz-effektivnosti-lecheniya-demineralizovannyx-ochagov-s-primeneniem-glicerofosfata-kalciya-i-plastin-cm2-s-kalciem> (дата обращения: 06.03.2018).  
Manukyan A.A., Markaryan M.M. Comparative analysis of the effectiveness of treatment of demineralized lesions with the use of calcium glycerophosphate and plates “ЦМ2 with calcium”. 2016. Conference No. 25. URL: <http://euroasia-science.ru/medicinskie-nauki/sravnitelnyj-analiz-effektivnosti-lecheniya-demineralizovannyx-ochagov-s-primeneniem-glicerofosfata-kalciya-i-plastin-cm2-s-kalciem> (date of access: 06.03.2018).
22. Маслак Е.Е., Наумова В.Н., Фурсик Д.И. [и др.] Проблемы внедрения фторидной профилактики кариеса зубов в Волгоградской области // Лекарственный вестник. 2013. Т. 7, № 2. С. 26–31.  
Maslak E.E., Naumova V.N., Fursik D.I. [et al.]. Problems of implementation of fluoride prevention of dental caries in the Volgograd region // Bulletin of Medicinal. 2013. Vol. 7, No. 2. P. 26–31.
23. Мельникова Т.Н. Разработка состава, технологии и стандартизация стоматологических лекарственных пленок реминерализующего действия: дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 1996. 142 с.  
Melnikova T.N. Development of composition, technology and standardization of medicinal films dental remineralizing action: The dissertation of the candidate of science. Perm, 1996. 142 p.
24. Митропанова М.Н., Павловская О.А., Знейбат М.С., Синицина Н.С. Влияние буферной системы на реминерализацию твердых тканей зуба // Проблемы стоматологии. 2013. № 2. С. 69–75.  
Mitropanova M.N., Pavlovskaya O.A., Zneybat M.S., Sinizina N.S. The influence of buffer systems on the remineralization of hard tissues of tooth of dentistry // Actual Problems in Dentistry. 2013. No. 2. P. 69–75.

25. Михальченко А.В., Гаврикова С.В., Дьяченко Д.Ю. Сравнительная эффективность применения фторидов при профилактике и лечении патологии твердых тканей зубов // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2016. № 2. С. 54–58.  
Mihalchenko A.V., Gavrikova S.V., Dyachenko D.Yu. Comparative efficacy of fluorides in the prevention and treatment of diseases of hard tissues of teeth // Volgograd Scientific Medical Journal. 2016. No. 2. P. 54–58.
26. Овруцкий Г.Д., Водолацкий М.П., Водолацкая А.М. Прогнозирование и донозологическая диагностика кариеса зубов. Ставрополь, 1990. 96 с.  
Ovruckii G.D., Vodolackii M.P., Vodolackaya A.M. Prediction and prenosological diagnostics of dental caries. Stavropol, 1990. 96 p.
27. Окушко В.Р. Физиология эмали и проблема кариеса зубов. Кishinev: Штиинца, 1989. 78 с.  
Okushko V.R. Physiology of enamel and tooth decay teeth. Kishinev: Shtiintsa, 1989. 78 p.
28. Павленко Л.Г. Профилактика стоматологических заболеваний. Полтава, 2004. 80 с.  
Pavlenko L.G. Prevention of dental diseases. Poltava, 2004. 80 p.
29. Патент № 2245710, Российская Федерация. Способ профилактики кариеса. Заявл. 25.12.2001 г.; опубл. 10.02.2005 г. Pat. No. 2245710 of Russian Federation. Method of caries prevention. Appl. 25.12.2001; publ. 10.02.2005.
30. Пашков К. А. Зубовращение и стоматология в России: основные этапы и направления развития (IX–XX век). Казань: Центр инновационных технологий, 2011. 304 с.  
Pashkov K.A. Dentistry and dentistry in Russia: basic stages and directions of development (IX–XX century). Kazan: Center for Innovative Technology, 2011. 304 p.
31. Пиминов А.Ф. Теоретические и технологические аспекты разработки новых лекарственных форм для стоматологии: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. Харьков, 1990. 47 с.  
Piminov A.F. Theoretical and technological aspects of developing new dosage forms for dentistry: PhD Abstract. Kharkov, 1990. 47 p.
32. Попруженко Т.В., Терехова Т.Н. Профилактика основных стоматологических заболеваний. М.: МЕДпресс-информ, 2009. 464 с.  
Poprujenko T.V., Terehova T.N. Prevention of major dental diseases. Moscow: MEDpress-inform, 2009. 464 p.
33. Руле С., Циммер Ж.Ф. Профессиональная профилактика в практике стоматолога: атлас по стоматологии / пер. с нем. Т.Н. Тереховой, Т.В. Попруженко; под общ. ред. С.Б. Улитовского и С.Т. Пыркова. М.: МЕДпресс-информ, 2010. 368 с.  
Rule S., Cimmer J.F. Professional prophylaxis in the practice of a dentist: Atlas of dental medicine / T.N. Terekhova, T.V. Popruzenko (trans.); S.B. Litovsky and S.T. Pyrkov (eds). Moscow: MEDpress-inform, 2010. 368 p.
34. Сампиев А.М., Никифорова Е.Б., Соповская А.В. Современное состояние исследований в области создания стоматологических пленок // Междунар. журн. приклад. и фундам. исследований. 2016. № 3. С. 293–297.  
Sampiev A.M., Nikiforova E.B., Sopovskaya A.V. The current status of research in the field of creation of dental films // International Journal of Applied and Fundamental Research. 2016. No. 3. P. 293–297.
35. Сарап Л.Р., Подзорова Е.А., Мателло С.К. [и др.] Использование «R.O.C.S. Medical Minerals» в стоматологической практике // Современная стоматология. 2007. № 1. С. 35–37.  
Sarap L.R., Podzorova E.A., Matello S.K. [et al.]. The use of R.O.C.S. Medical Minerals in the dental practice // Sovremennaya Stomatologiya. 2007. No. 1. P. 35–37.
36. Сарап Л.Р., Подзорова Е.А., Мателло С.К., Купец Т.В. Использование «R.O.C.S. Medical Minerals» в стоматологической практике // Клиническая стоматология. 2005. № 2. С. 52–56.  
Sarap L.R., Podzorova E.A., Matello S.K., Kupec T.V. Using R.O.C.S. Medical Minerals in dental practice // Clinical Dentistry. 2005. No. 2. P. 52–56.
37. Сысоева О.В., Бондаренко О.В., Токмакова С.И., Дударева С.И. Оценка эффективности средств для реминерализующей терапии // Проблемы стоматологии. 2013. № 3. С. 32–35.  
Sisoeva O.V., Bondarenko O.V., Tokmakova S.I., Dudareva S.I. The assessment of tools for remineralization therapy of dentistry // Actual Problems in Dentistry. 2013. No. 3. P. 32–35.
38. Терехова Т.Н., Попруженко Т.В. Профилактика стоматологических заболеваний: учебное пособие. Минск: Беларусь, 2004. 526 с.  
Terehova T.N., Poprujenko T.V. Prevention of dental diseases: Textbook. Minsk: Belarus, 2004. 526 p.
39. Фаттал П.К., Соловьева Ж.В. Сравнительная оценка клинической эффективности современных препаратов для реминерализующей терапии // Совр. пробл. науки и образования. 2014. № 4. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14326> (дата обращения: 06.03.2018).  
Fattal R.K., Soloveva J.V. Comparative evaluation of clinical efficacy of modern drugs for remineralization therapy // Modern Problems of Science and Education. 2014. No. 4. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14326> (date of access: 06.03.2018).
40. Федоров Ю.А., Жрожжина В.А., Матело С.К., Туманова С.А. Клинические возможности применения современных реминерализующих составов у взрослых // Клиническая стоматология. 2008. № 3. С. 32–34.  
Fedorov Yu.A., Jrojzina V.A., Matelo S.K., Tumanova S.A. Clinical possibilities of application of modern remineralization formulations in adults // Clinical Dentistry. 2008. No. 3. P. 32–34.
41. Хошевская И.А., Маслак Е.Е., Наумова В.Н. [и др.]. Особенности формирования мотивации врачей-стоматологов и пациентов к применению микроинвазивного лечения кариеса в стадии пятна // Клиническая стоматология. 2012. № 3. С. 4–7.  
Hoshevskaya I.A., Maslak E.E., Naumova V.N. [et al.]. Features of formation of motivation of dentists and patients to microinvasive treatment of dental caries in the stage spots // Clinical Dentistry. 2012. No. 3. P. 4–7.
42. Чуев В.П., Колченко Л.А. «Белгель» – высокоэффективное средство реминерализации эмали и профилактики кариеса // Стоматолог. URL: [http://www.provisor.com.ua/100matolog/archive/2001/5/art\\_39.htm](http://www.provisor.com.ua/100matolog/archive/2001/5/art_39.htm) (дата обращения: 06.03.2018).  
Chuev V.P., Kolchenko L.A. «Belagel» – vysokoeffektivnoe sredstvo remineralizacii emali i profilaktiki kariesa // Stomatolog. URL: [http://www.provisor.com.ua/100matolog/archive/2001/5/art\\_39.htm](http://www.provisor.com.ua/100matolog/archive/2001/5/art_39.htm) (date of access: 06.03.2018).
43. Ярова С.П., Саноян В.В. Современные принципы лечения начального кариеса // Украинський стоматологічний альманах. 2014. № 2. С. 108–111.  
Yarova S.P., Sanoyan V.V. Modern principles of treatment of primary caries // Ukrainian dental almanac. 2014. No. 2. P. 108–111.
44. Baroni C., Marchionni S. MIH Supplementation strategies: Prospective clinical and laboratory trial // Journal of Dental Research. 2010. Vol. 90, No. 3. P. 371–376.
45. Cochrane N.J., Cai F., Hug N.L. [et al.]. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel // Journal of Dental Research. 2010. Vol. 89. P. 1187.
46. Eric C. Reynolds Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? // Australian Dental Journal. 2008. Vol. 53, No. 3. P. 268–273.
47. Exterkate, R.A.M., Damen J.J.M., Cate Ten J.M. A single-section model for enamel de- and remineralization studies. I. The effects of different Ca/P ratios in remineralization solutions // Journal of Dental Research. 1993. Vol. 72. P. 1599.

48. Laurence J. Walsh contemporary technologies for remineralization therapies: A review // International Dentistry SA. 2009. Vol. 11, No. 6. P. 6–16.
49. Newborn E. Cariology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1978. 229 p.
50. Vahid Golpayegani M., Sohrabi A., Biria M., Ansari G. Remineralization effect of topical NovaMin versus sodium fluoride (1.1%) on caries-like lesions in permanent teeth // J. Dent (Tehran). 2012. Vol. 9, No. 1. P. 68–75.

Поступила в редакцию 23.11.2017.

#### REVIEW OF REMINERALIZING DRUGS APPLIED FOR PREVENTION AND TREATMENT OF THE INITIAL CARIES OF ENAMEL

A.L. Golovanenko

Perm State Pharmaceutical Academy, (2 Polevaya St. Perm 614990 Russian Federation)

**Summary.** One of the leading places in the prevention and treatment of initial caries of enamel is remineralization therapy. The

article presents an overview of mono- and complex medicines in various dosage forms used for prevention and treatment of initial caries of enamel. Considered the main problem of implementation of associated mineralizing prevention is the instability of solutions with ions of calcium, phosphate and fluoride, as well as the theoretical basis combined mineralisa prevention and mechanism of action of local remineralization of funds, namely, to Supplement the periodontal environment remineralizing ions. Shown promising application in remineralization therapy application of medicinal forms on the basis of polymers – gels and films of drug. Due to the structured water in gels and films provided a protective effect regarding the interaction of the main mineralizing ions of calcium and phosphorus, which allows you to save them in the free active state and thereby provide a substantial increase in penetration into the crystal lattice of enamel.

**Keywords:** caries, calcium, phosphorus, fluoride

Pacific Medical Journal, 2018, No. 2, p. 37–43.

УДК 616.316–006–06:616.89–008.437–009.11–08

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.2.43–45

## Методы оптимизации лечения послеоперационного пареза мимической мускулатуры у пациентов с доброкачественными новообразованиями слюнных желез

А.М. Ковалевский<sup>1</sup>, А.А. Бочарников<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6),

<sup>2</sup> Приморский центр микрохирургии глаза (690080, г. Владивосток, ул. Борисенко, 100е),

<sup>3</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Наблюдали 70 человек 18–86 лет с парезом лицевого нерва после оперативного лечения доброкачественных новообразований слюнных желез. Пациенты, получавшие традиционное медикаментозное лечение (33 человека), сформировали контрольную, пациенты, получавшие комплексное лечение (37 человек), – основную группу. В комплексное лечение помимо медикаментов входили методы иглотерапии и гирудотерапии. У пациентов основной группы уже через месяц отсутствовали нарушения функций мимических мышц в покое и при произвольных движениях, патологические произвольные движения и синкинезии. Восстанавливалась симметрия лица, соответствовавшая морфофизиологическим особенностям индивидуума. В контрольной группе время реабилитации доходило до 6 месяцев.

**Ключевые слова:** парез лицевого нерва, послеоперационная реабилитация, акупунктура, гирудотерапия

Проблема лечения послеоперационных осложнений в челюстно-лицевой хирургии приобретает актуальность в связи с увеличением частоты оперативных вмешательств по поводу новообразований слюнных желез. По данным Российского онкологического научного центра, новообразования слюнных желез составляют 1–5 % среди всех онкологических заболеваний человека и 3 % – среди опухолей головы и шеи, где преобладают доброкачественные опухоли [1]. Статистические данные о распространенности послеоперационных осложнений у пациентов с доброкачественными новообразованиями слюнных желез в литературе отсутствуют, но отмечено, что чаще они встречаются у женщин [2]. Здесь можно назвать кровотечения из операционной раны и ее нагноение, парез мимической мускулатуры, синдром Фрея, слюнные свищи являются послеоперационными осложнениями. 50 %

осложнений приходится на парез мимической мускулатуры на стороне оперативного вмешательства из-за повреждения ветвей лицевого нерва [3]. Парез мимических мышц может развиваться и в результате ишемии нерва вследствие повреждения сосудистой сети в ходе его выделения. Индивидуальные особенности строения лицевого нерва, локализация и размеры опухоли, взаимоотношение опухоли и ветвей нерва, предшествующее лечение, объем операции, возраст пациента – все эти критерии влияют на степень выраженности пареза мимической мускулатуры [4].

В 90 % случаев длительность пареза составляет от нескольких недель до 6 месяцев, у отдельных пациентов – до года [5]. На продолжительность восстановительного периода влияют предшествующая операция и характер опухоли, если он ухудшает условия для сходящего выделения нерва. Бережное выделение ветвей лицевого нерва, по возможности не нарушающее его кровоснабжение, – главный способ профилактики пареза.



Н. В. БЕРЕЗИНА, В. Ю. ХИТРОВ, Л. В. ШПРЕНГЕР  
Казанская государственная медицинская академия

## Применение салфеток Spiffies для профилактики кариеса зубов у детей раннего возраста

**Березина Нина Васильевна**

кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапевтической и детской стоматологии и ортодонтии КГМА  
420012, г. Казань, ул. Булterова, 16, тел. (843) 236-67-48

*Статья посвящена вопросам первичной профилактики кариеса зубов у детей раннего возраста. Обосновано назначение одного из современных методов этиотропного воздействия на органы полости рта и его безопасности. Показано, что метод позволяет выработать у ребенка позитивное отношение к гигиеническому уходу за полостью рта.*

**Ключевые слова:** дети, кариес, профилактика

**H. V. BEREZINA, V. Y. KHITROV, L. V. SHPRENGER**

## Application of napkins Spiffies for preventive maintenance of caries of a teeth at children of early age

*Article is devoted to questions of primary preventive maintenance of caries of a teeth at children of early age. Destination of one of modern methods etiotropic influences on bodies of an oral cavity and his safety is proved. It is shown, that a method will allow to produce at the child the positive relation to hygienic care of an oral cavity.*

**Keywords:** teeth, children, prevention

Проблема кариеса зубов — одна из основных проблем современной стоматологии и медицины. ВОЗ включила кариес зубов в число шести болезней современности, предупреждение которых является наиболее актуальной задачей медицинской науки и органов здравоохранения [8]. По данным Всемирной организации здравоохранения, кариесом зубов поражено свыше 90% населения земного шара [5, 7]. К тому же заболеваемость кариесом во всем мире проявляет тенденцию к росту, особенно среди детского населения. Так, уже к 6-7 годам 80-90% детей имеют кариозные зубы.

Отсутствие своевременного лечения кариеса зубов приводит к их преждевременной потере и, следовательно, к раннему старению организма. Кариес зубов — это длительный хронический процесс, который является очагом и источником инфекции и развития аллергии у ребенка, поскольку с пищей ребенок постоянно заглатывает большое количество микроорганизмов, а также продуктов разложения тканей зуба и пищи, задерживающихся в кариозной полости. Кроме того, эти же микроорганизмы, их токсины и продукты жизнедеятельности всасываются через слизистую оболочку рта и в местах контакта зуба с челюстью. Последствия кариеса часто приводят не только к разрушению жевательного аппарата, осложненные формы его ведут часто к воспалительным процессам челюстно-лицевой области, заболеваниям лор-органов, сердечно-сосудистой системы, ревматизма, опорно-двигательного аппарата, почек, глаз, кожных покровов и др. [3, 6]. Кроме того, для любого государства зубоорточная помощь является материалоемкой и дорогостоящей.

Первые признаки поражения зубов кариесом могут проявляться у детей в период прорезывания временных зубов.

Количество кариозных зубов у одного ребенка, так же, как и число кариозных полостей в одном зубе, время их появления различно, зависит от многих факторов и определяет степень активности кариозного процесса.

Анализ распространенности кариеса зубов у детей, проживающих в городе Казани, показал, что в возрасте от 0 до 3-х лет заболеваемость составляет 30,1%, в возрасте 4-6 лет — 76,1%. В целом по Республике Татарстан распространенность кариеса у детей до 4-х лет составляет 48,2%, среди детей 6 лет — 68,5% при средней интенсивности 3,32 [2].

Исходя из современных представлений о причине возникновения кариеса зубов, его предупреждение может быть осуществлено комплексом мер, направленных с одной стороны на устранение кариесогенной ситуации в полости рта, а с другой — на повышение резистентности тканей зуба.

К настоящему времени получены достаточно убедительные доказательства роли микроорганизмов в возникновении кариеса. Считается, что возбудителем кариеса являются бактерии *Streptococcus mutans* (*St. mutans*). Теория микробной этиологии кариеса зубов долгое время была предметом дискуссий, однако в настоящее время роль микроорганизмов в возникновении кариеса можно считать доказанной. В частности доказана зависимость между наличием *St. mutans* в слюне, формированием микробной биопленки и развитием кариеса зубов [1, 8].

Бактерии *St. mutans* передаются от человека к человеку, к моменту рождения полость рта младенца практически свободна от микроорганизмов, инфицирование обычно происходит в раннем возрасте, зачастую *St. mutans* обнаруживаются во рту

ребенка еще до прорезывания первых зубов. Заражение кариесом начинается с инфицирования полости рта бактериями *St. mutans*. Отсутствие регулярного ухода за зубами у детей в период прорезывания зубов и формирования жевательного аппарата приводит к накоплению микробного налета и формированию зубной бляшки, которая мешает процессу созревания эмали. В местах скопления зубного налета возникает кариес и воспаление десны.

Зубная бляшка представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотип ротовой полости, в составе которого входят практически все представители полости рта. Собственно зубная бляшка представляет собой своего рода биопленку, образованную скоплениями бактерий в конгломерате протеинов и полисахаридов. Бляшкообразование начинается с взаимодействия кислых гликопротеинов слюны с ионами  $Ca^{2+}$  зубной эмали, одновременно основные группы гликопротеинов реагируют с фосфатами гидроксиапатитов с образованием пелликулы на поверхности зуба. Биопленка облегчает микробную колонизацию поверхности зуба и первыми появляются стрептококки — *S. sanguis*, *S. salivarius*, а затем и прочие представители микрофлоры. Мягкий зубной налет прилегает к клеткам полости рта неплотно, поэтому его относительно легко удалить. Если это не сделать, зубной налет способствует образованию зубной бляшки. Стрептококки способствуют разложению углеводов до образования декстрана, основного склеивающего компонента зубной бляшки, и левана, разлагающегося в дальнейшем до кислот. Зубная бляшка прикреплена к поверхности зуба довольно плотно и удалить ее значительно сложнее, чем зубной налет.

При высоком содержании углеводов в диете происходит образование больших количеств молочной кислоты. В месте образования зубной бляшки — то есть практически в анаэробных условиях, изолированных от внешней среды, кислые метаболиты, выделяемые бактериями, в частности молочная кислота, начинают разрушать эмаль зубов. *St. mutans* не только продуцируют органические кислоты, но и толерантны к кислой среде, они способны существовать в кислых условиях бляшки при pH ниже 5,5. Под воздействием кислот на месте зубной бляшки начинает образовываться дефект тканей зуба и появляется кариозная полость. Наиболее частые места локализации кариеса — это естественные углубления на зубах человека, чаще на жевательной поверхности, пространство между зубами, область шейки зуба вдоль десневого края.

В зубах непрерывно происходят два противоположно направленных процесса — деминерализация и восстановление минерализации (реминерализация): благодаря воздействию микроорганизмов вначале на зубную эмаль, а затем и на твердые ткани зуба, вымываются минеральные вещества, например, кальций, то есть зубы деминерализуются. Слюна действует на этот процесс нейтрализующе: излишки минеральных веществ в ее составе откладываются обратно в твердую субстанцию зубов — происходит реминерализация зубов. Смещение равновесия в сторону деминерализации приводит к ослаблению зубной эмали.

Деминерализованные участки зубной поверхности имеют вид белых пятен. Распознать кариес на этой стадии не просто, белые пятна на зубах легко спутать с проявлением флюороза. Кариес на первых зубах ребенка развивается медленно, процесс может занять месяцы, а при недостаточной минерализации эмали происходит достаточно быстро. Впоследствии, по мере развития инфекции, эти белые пятна могут приобрести коричневый цвет. Заметное повреждение зубов означает, что патологический процесс зашел очень далеко. Впоследствии кариес будет распространяться гораздо быстрее, и бороться с ним станет намного сложнее.

Кариес временных зубов в возрасте до 2-х лет локализуется преимущественно на тех поверхностях зуба, которые формировались в антенатальный период (гладкие поверхности резцов верхней и нижней челюстей), особенно если он был неблаго-

приятным для развития плода (гипоксия различной этиологии, гипотрофия, хронические экстрагенитальные болезни матери, анемия, токсикоз беременных и др.).

После 3-х лет кариесом поражаются жевательные поверхности моляров, после 4-х лет — контактные поверхности временных моляров. Следует отметить высокую поражаемость кариесом жевательной поверхности (80,8%) постоянных моляров.

Лучший способ уберечь зубы ребенка от кариеса — предотвратить поражение. Наиболее эффективной и реально осуществимой стратегией борьбы с кариесом раннего возраста является внедрение здоровых привычек гигиены полости рта и пропаганда методов ухода за зубами в домашних условиях. Остатки пищи, являющиеся питательной средой для *St. mutans*, должны регулярно и вовремя удаляться. Родителям и лицам, осуществляющим уход за детьми, необходимо регулярно проводить детям гигиенические процедуры по очищению полости рта. Чтобы процедура закрепилась и прочно вошла в ежедневную процедуру ухода, средство гигиены полости рта должно быть эффективным, безопасным, удобным и, что немаловажно, должно позитивно восприниматься ребенком.

Как средство профилактики кариеса хорошо зарекомендовал себя ксилит  $CH_2OH(CH_2OH)_3CH_2OH$  — безопасный натуральный подсластитель [8].

Ксилит — это натуральное сладкое вещество, которое в природе присутствует в овощах и фруктах и есть даже в человеческом организме. Он обладает сладким вкусом. В отличие от обычных сахаров (присутствующих в молоке, соке, в составе большинства смесей детского питания), химическая структура которых содержит шесть атомов углерода, ксилит имеет только пять углеродных атомов. *Str. mutans* использует в качестве источника энергии углеводы с шестью атомами углерода. Ксилит, который содержит пять атомов углерода, усваивается бактериями очень медленно, более того, он ингибирует рост и размножение *St. mutans*. Показано, что потребление ксилита практически не снижает pH зубного налета [3]. Регулярное использование ксилита фактически прекращает рост бактерий, вызывающих кариес и заболевания десен. Ксилит конкурирует с шестиатомными сахарами в процессе трансмембранного переноса, а также в метаболических процессах внутри клетки. В отличие от метаболизма шестиатомных сахаров, который приводит к высвобождению энергии и способствует бактериальному росту, при расщеплении бактериями *St. mutans* ксилита энергия только расходуется, но не высвобождается. Более того, при метаболизме ксилита промежуточные соединения, являющиеся источниками энергии, поглощаются, но не воспроизводятся [5]. Кроме того, как показали исследования, ксилит снижает выработку бактериальной клеткой и концентрацию в слюне декстрана, обеспечивающего прикрепление бактериальной клетки к поверхности зуба. Было также показано, что ксилит ингибирует передачу бактерий от матери к ребенку более эффективно, чем хлоргексидин [6]. И, наконец, ксилит не только ингибирует рост микроорганизмов, вызывающих кариес, но и способствует реминерализации зубной эмали за счет повышения буферной емкости слюны.

Лучший способ предотвратить кариес — начать ухаживать за зубами еще до того, как они прорезались! Детские стоматологи давно рекомендуют после каждого кормления протирать полость рта ребенка мягкой стерильной салфеткой, смоченной в кипяченой воде. Теперь у мам появилось новое, гораздо более эффективное средство гигиены полости рта — дентальные салфетки Spiffies. Они изобретены в США доктором Реем Вагнером, действительным членом Американской Академии Педиатрии и практикующим стоматологом.

Салфетки пропитаны раствором, содержащим ксилит, и герметично запечатаны в удобные пакетики. Ксилит, оставаясь в полости рта, снижает риск развития кариеса. Таким образом,



Spiffies действуют по двум направлениям: механически удаляют с зубов налет и создают в полости рта среду, угнетающую развитие бактерий, вызывающих кариес.

Салфетки Spiffies из нетканого материала (на основе полипропилена), не оставляющего волокон. Состав пропитки: очищенная вода — носитель; ксилит — ингибитор кариеса; глицерин — увлажняющее вещество; гидроксиэтилцеллюлоза — загуститель; цитрат натрия (натрий лимоннокислый) — регулятор pH; лимонная кислота — регулятор pH; бензоат натрия — консервант; натуральный ароматизатор (3 аромата: манго, виноград, яблоко).

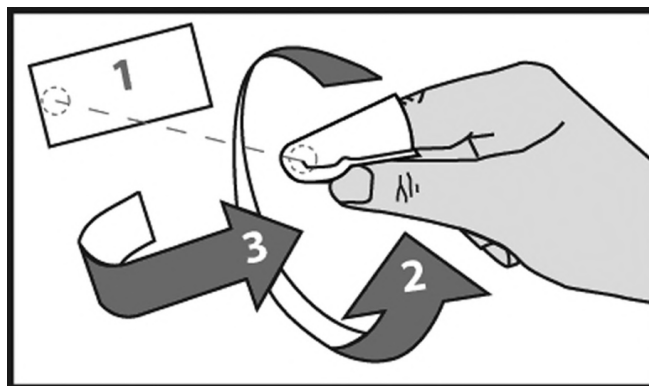
Салфетки Spiffies удобны, просты в употреблении и безопасны. Салфетки рекомендуется использовать, начиная с возраста 4 мес. Пропитка салфеток, в состав которой входит ксилит в концентрациях 20-40%, обладает приятным свежим вкусом, поэтому салфетки обычно воспринимаются детьми позитивно. Другие подсластители в составе отсутствуют. Как показали исследования Гарвардской школы стоматологии, ксилит более эффективен для предотвращения кариеса, чем сочетания ксилита с сорбитом [7]. Использование салфеток Spiffies — это сочетание механического удаления налета и создания в полости рта здоровой среды, препятствующей развитию кариеса. Салфетки Spiffies: не содержат искусственных ароматизаторов. Аромат салфеток создается путем добавления натуральных ароматических веществ — эфиров, создающих природные ароматы соответствующих фруктов и ягод. В процессе многоступенчатой очистки удаляются все компоненты, способные вызывать аллергические реакции, и остаются только низкомолекулярные сложные эфиры, не вызывающие аллергии. В качестве консерванта используется бензоат натрия, широко применяемый в пищевой промышленности, в том числе и в детском питании.

Очищение рта ребенка осуществляет взрослый. Способ применения салфетки исключает опасность того, что салфетка соскользнет с пальца и останется во рту ребенка. Материал салфеток не раздражает и не травмирует слизистую оболочку ребенка. Салфетки Spiffies позволяют ненавязчиво приучать детей раннего возраста к гигиене полости рта, которая очень важна для его здоровья в целом. Эти салфетки являются очень удобным средством личной гигиены детей в возрасте 4-15 мес., пока ребенок не привыкнет к зубной щетке. Полоскать рот после использования салфеток ни в коем случае не рекомендуется, так как в состав пропитки входит ксилит, который обладает пролонгированным действием и способствует профилактике кариеса. Массаж десен при помощи салфетки Spiffies также улучшает циркуляцию крови в тканях и является важной мерой профилактики заболеваний пародонта. Ребенку раннего возраста такой массаж проводят родители. Регулярный массаж десен в возрасте до трех лет впоследствии формирует у ребенка стойкую привычку к таким процедурам и желание следовать им на протяжении всей жизни. Нерегулярный уход практически неэффективен, так как зубной налет успевает пропитаться солями и трудно снимается, вредное действие пищевых остатков и микробов сохраняется. Салфетки Spiffies рекомендованы Американской академией педиатрии. Клинические испытания показали, что салфетки Spiffies эффективно удаляют зубной налет и воспринимаются детьми более позитивно, чем зубная щетка [8].

Клиническая эффективность салфеток показана на группе детей с высоким риском развития кариеса зубов. Чистоту рта до и после очищения оценивали с использованием индексов выявленного налета, визуальные результаты очищения фиксировали с использованием цифровой фотографии. Для объективизации результатов изучали обсемененность полости рта с помощью стандартных микробиологических тестов *St. mutans* до и после проведения профилактических мероприятий. Было установлено, что применение детских салфеток является безопасным и эффективным методом

очищения полости рта. При этом значительно снижается количество зубного налета на передних временных зубах и существенно снижается обсемененность полости рта *St. mutans*.

Рисунок



**Способ применения:**

Салфетка обматывается вокруг указательного пальца и придерживается большим пальцем. При этом снижается риск соскальзывания салфетки в полости рта ребенка.

Систематический уход за полостью рта необходим после появления первого зуба и с началом прикорма. Рекомендуется использовать салфетки Spiffies для протирания зубов, десен и языка малыша с 3-4 месяцев после каждого кормления ребенка. Примерно в это время прорезываются первые зубы. Особенно важно очищать полость рта, когда в рацион ребенка вводится прикорм. Материнское молоко содержит природные антимикробные вещества, защищающие от кариеса, но молочные смеси таких компонентов не содержат. Мельчайшие остатки молока из молочной смеси или твердой пищи являются субстратом для роста микроорганизмов, вызывающих кариес.

Также салфетки могут применяться для уменьшения боли при прорезывании зубов, в качестве дополнительного средства при заболеваниях полости рта (стоматиты, молочница), в дороге, после сладкого перекуса. Другие члены семьи также могут применять Spiffies, когда зубная щетка недоступна.

Использование салфеток не вызывает негативной реакции у ребенка, не нарушает ночной сон.

Детские зубные салфетки являются эффективным методом удаления зубного налета. Полученные результаты дают основание рекомендовать очищение полости рта с помощью ксилитосодержащих гигиенических салфеток Spiffies Tooth Wipes детям младшей возрастной группы с целью снижения риска развития кариеса.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Боровский Е. В., Леус П. А. Кариес зубов. // М., «Медицина», 1979. — 256 с.
2. Дрешер В. Л. Медико-социальное обоснование критериев качества первичной профилактики кариеса зубов у населения Республики Татарстан. // Автореф. на соискание ... к.м.н. — Казань, 2003. — 24 с.
3. Кузьмина Э. М. распространенность стоматологических заболеваний среди населения различных регионов России. // Проблемы нейростоматологии и стоматологии. — 1998. — № 1. — С. 68-69.
4. Леонтьев В. К. Об этиологии кариеса зубов. // Стоматология. — 1994. — № 3. — С. 19-21.
5. Лукиных Л. М., Гажва С. И., Казарина Л. Н. Кариес зубов (этиология, клиника, лечение). — Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 1996. — 126 с.
6. Медико-социальная профилактика кариеса зубов: Метод. рекомендации. / Сост.: А. Н. Галиуллин и др. — М., 1990. — 57 с.
7. Мониторинг и оценка оздоровления полости рта: Доклад Комитета экспертов ВОЗ. — М.: Медицина, 1991. — 73 с.
8. Профилактика стоматологических заболеваний (под редакцией проф. Кузьминой Э. М.). — М., Изд-во «Поли Медиа Пресс» 2001. — 216 с.

# The effect of xylitol on dental caries and oral flora

Prathibha Anand Nayak<sup>1</sup>  
Ullal Anand Nayak<sup>2</sup>  
Vishal Khandelwal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Periodontics, NIMS Dental College and Hospital, Jaipur, Rajasthan, India; <sup>2</sup>Department of Pedodontics and Preventive Dentistry, NIMS Dental College and Hospital, Jaipur, Rajasthan, India; <sup>3</sup>Department of Pedodontics and Preventive Dentistry, Index Dental College and Hospital, Indore, Madhya Pradesh, India

**Abstract:** Dental caries, the most chronic disease affecting mankind, has been in the limelight with regard to its prevention and treatment. Professional clinical management of caries has been very successful in cases of different severities of disease manifestations. However, tertiary management of this disease has been gaining attention, with numerous methods and agents emerging on a daily basis. Higher intake of nutritive sweeteners can result in higher energy intake and lower diet quality and thereby predispose an individual to conditions like obesity, cardiovascular disorders, and type 2 diabetes mellitus. Non-nutritive sweeteners have gained popularity as they are sweeter and are required in substantially lesser quantities. Xylitol, a five-carbon sugar polyol, has been found to be promising in reducing dental caries disease and also reversing the process of early caries. This paper throws light on the role and effects of various forms of xylitol on dental caries and oral hygiene status of an individual.

**Keywords:** xylitol, caries preventive effect, oral flora

## Introduction

Xylitol, a naturally occurring five-carbon sugar polyol, is a white crystalline carbohydrate known since a century ago. It has been widely studied during the last 40 years for its effect on dental caries. It is found naturally in fruit, vegetables, and berries and is artificially manufactured from xylan-rich plant materials such as birch and beechwood.<sup>1</sup> Since a study conducted in Turku, Finland, evaluating the effectiveness of xylitol on dental plaque reduction in 1970, xylitol has been widely researched and globally accepted as a natural sweetener approved by the US Food and Drug Administration (FDA) and the American Academy of Pediatric Dentistry.<sup>2</sup>

It has been observed that when all associated factors of dental caries, such as age, sex, race, number of teeth, and oral hygiene, were controlled, taste was found to be the only variable that was related to overall caries experience.<sup>3</sup> In the recent past, sugar consumption has increased, especially in children and adolescents, to 120 pounds per person each year or 20 teaspoons of table sugar per day.<sup>4</sup> This excessive consumption of sugar has led to negative health concerns like diabetes mellitus and dental caries and has increased awareness among the public and medical and dental professionals regarding the benefits of replacing sugar with nonsugar sweeteners. Hence, artificial sweeteners or noncaloric sweeteners are effective in reducing weight and such health disorders. However, an artificial sweetener is 300–400 times sweeter than table sugar, and a small amount of it can provide the same level of sweetness.

Sweeteners can be divided into nutritive and non-nutritive sweeteners. The nutritive sweeteners contain carbohydrates and provide energy. The non-nutritive sweeteners

Correspondence: Prathibha Anand Nayak  
Department of Periodontics, NIMS  
Dental College and Hospital, Shobha  
Nagar, Jaipur-Delhi Highway, Jaipur,  
Rajasthan 303121, India  
Tel +91 88 9031 8168  
Email drprathibha\_an@yahoo.co.in

offer little or no energy when they are consumed. The US Department of Agriculture pattern for 2,000 kcal recommends no more than 32 g (8 tsp added sugars per day) or 6% of 2,000 kcal. The FDA regulates health claims on food labels, and the claim that sweeteners do not promote dental caries has been successfully approved for sugar alcohols, isomaltulose, erythritol, D-tagatose, and sucralose.<sup>5</sup>

Currently, more than 35 countries have approved the use of xylitol in foods, pharmaceuticals, and oral health products, principally in chewing gums, toothpastes, syrups, and confectioneries.

Habitual xylitol consumption may be defined as daily consumption of 5–7 g of xylitol at least three times a day.<sup>6</sup> The recommended dose for dental caries prevention is 6–10 g/d. For those with temporomandibular joint dysfunction and who have difficulty in chewing, xylitol candy should be used instead of chewing gum. At high dosages, xylitol can cause diarrhea in children at 45 g/d and 100 g/d in adults. The amount tolerated varies with individual susceptibility and body weight. Most adults can tolerate 40 g/d.

## Mechanism of action

Xylitol reduces the levels of mutans streptococci (MS) in plaque and saliva by disrupting their energy production processes, leading to futile energy cycle and cell death.<sup>7</sup> It reduces the adhesion of these microorganisms to the teeth surface and also reduces their acid production potential.<sup>8,9</sup>

Xylitol, like any other sweetener, promotes mineralization by increasing the salivary flow when used as chewing gum or large xylitol pastille. The uniqueness of xylitol is that it is practically nonfermentable by oral bacteria. Also, there is a decrease in levels of MS, as well as the amount of plaque, when there is habitual consumption of xylitol.<sup>10</sup>

*Streptococcus mutans* transports the sugar into the cell in an energy-consuming cycle that is responsible for growth inhibition. Xylitol is then converted to xylitol-5-phosphate via phosphoenolpyruvate: fructose phosphotransferase system by *S. mutans* resulting in development of intracellular vacuoles and cell membrane degradation.<sup>11</sup> Unwittingly contributing to its own death, *S. mutans* then dephosphorylates xylitol-5-phosphate. The dephosphorylated molecule is then expelled from the cell. This expulsion occurs at an energy cost with no energy gained from xylitol metabolism. Thus, xylitol inhibits *S. mutans* growth essentially by starving the bacteria. Xylitol can inhibit the growth of harmful oral bacteria such as *S. mutans*, but its benefits do not stop in the oral cavity.<sup>12</sup> Xylitol alcohol has been shown to impact growth of nasopharyngeal bacteria such as *S. pneumonia* and *S. mitis*, and hence has a role to play in nasopharyngeal pneumonia.

## Oral health benefits of xylitol

Xylitol decreases the incidence of dental caries by increasing salivary flow and pH<sup>13</sup> and reducing the number of cariogenic (MS) and periodontopathic (*Helicobacter pylori*) bacteria, plaque levels, xerostomia, gingival inflammation, and erosion of teeth.<sup>14</sup>

Xylitol is well tolerated by the human body as a sweetener, but its absorption rate in the small intestine is very slow. Excess xylitol is known to induce osmotic diarrhea, indicating there is an upper limit to its dosage that can be tolerated.<sup>12</sup> Optimal inhibition of *S. mutans* growth by xylitol occurs with its total daily consumption of 5–6 g at a frequency of three or more times per day. The plaque samples of habitual xylitol users showed a significant reduction in plaque adhesiveness and insoluble extracellular polysaccharides produced by *S. mutans* when compared with those who did not consume xylitol at all.<sup>12</sup>

## Xylitol chewing gum

The predominant modality for xylitol delivery has been chewing gum.<sup>15</sup> Chewing gum accelerates the processes of rinsing away acid and uptake of beneficial calcium phosphate molecules to remineralize tooth enamel. The recommended length of time for chewing after eating is approximately 20 minutes.

Consumption of xylitol chewing gum for  $\geq 3$  weeks leads to both long-term and short-term reduction in salivary and plaque *S. mutans* levels.<sup>16,17</sup> A decrease in caries incidence has been reported among children exposed to the daily use of xylitol for 12–40 months.<sup>18</sup> The long-term benefits have been observed up to 5 years after cessation of xylitol use.<sup>19</sup> A prospective controlled, double-blind clinical trial confirmed that MS levels in plaque decreased as exposure to xylitol increased. However, a plateau effect was observed between 6.88 g/d and 10.32 g/d. The caries preventive effect was observed to be long term in relation to the teeth erupting during the period of xylitol use.<sup>20</sup>

A study among Montreal children showed that children who chewed xylitol gum had significantly lower caries progression after 24 months than those who did not use gum. These children exhibited a significantly higher number of reversals of carious lesions than the control group, suggesting that remineralization has occurred.<sup>21</sup> In a long-term study it was confirmed that by using xylitol chewing gum, caries risk can be reduced by 59%, and the optimum time for introducing the chewing gum for caries prevention is at least 1 year prior to the eruption of permanent teeth.<sup>22</sup>

The effectiveness of various dosages of xylitol in the chewing gum was studied on *S. mutans* growth in adults. In a study by Milgrom et al<sup>23</sup> in 2006, a daily xylitol dose

of 3.44 g/d, 6.88 g/d, and 10.32 g/d was given to the first, second, and third group, respectively. No xylitol gum was given to control group subjects. Saliva samples were obtained at the beginning of the study as well as after 5 weeks and 6 months of chewing gum with the indicated dosage of xylitol. *S. mutans* colonization in plaque and saliva was observed to decrease with increasing xylitol dosage. The *S. mutans* levels for subjects receiving 6.88 g and 10.32 g of xylitol per day were reduced over time compared with control subjects. There was no significant difference between subjects receiving 3.44 g/d and the control group; this indicated that xylitol levels of 3.44 g/d were insufficient to alter *S. mutans* levels in plaque and saliva. However, a plateau effect was evident between 6.88 g and 10.32 g when comparing the 5-week plaque and saliva samples and also in samples of 6 months of using chewing gum. This plateau effect showed no significant difference in the *S. mutans* plaque and saliva levels between the 6.88 g/d and 10.32 g/d samples in any time period; however, both groups showed a reduction in *S. mutans* levels in plaque and saliva compared with the control and 3.44 g/d samples in any time period. Chewing xylitol gum did not change colonization of the aerobic or facultative flora; this suggests that xylitol specifically impacts *S. mutans* without significantly altering the overall flora. The lack of difference of effect between 6.88 g and 10.32 g suggests that dosages >10.32 g would not have any additional inhibitory effect on *S. mutans*.

### Xylitol gummy bear snacks

Milgrom et al<sup>23</sup> studied the effect of habitual consumption of xylitol gummy bear snacks (11.7 g/d) in reducing cariogenic microorganisms in school-going children. There was a significant reduction in *S. mutans* and *S. sobrinus*. A plateau effect was observed at higher xylitol doses (>11.7 g/d). Ly et al<sup>24</sup> reported that consumption of gummy bear snack containing xylitol (11.7 or 15.6 g/day divided in three exposures) causes reductions in *S. mutans/sobrinus* levels.

### Xylitol syrups

Xylitol syrup is indicated in young children with early childhood caries, as they are more likely to develop dental caries in permanent teeth than those without early childhood caries. This method of administration of xylitol is most acceptable and safe for toddlers and young children. Twice-daily administration of xylitol oral syrup at a total daily dose of 8 g was observed to be effective in preventing caries.<sup>25</sup> The studies confirm that the anticaries effect is attributed to xylitol itself and not to chewing and digestion activities of products consumed.

The syrup needs to be applied twice daily for effectiveness, thereby increasing the compliance as well as therapeutic effect. As xylitol syrup is not currently available in the retail market, commercially available products such as pudding jam and maple syrup may be used alternatively. The therapeutic dose of 4 g per serving can sometimes result in loose stools and diarrhea.<sup>6</sup> Hence, a gradual increase in dose can acclimatize the patient to xylitol, thereby reducing potential gastrointestinal problems.

### Xylitol mouth rinse

The effect of a combination of xylitol and chlorhexidine on the viability of *S. sanguis* or *S. mutans* during the early stages of biofilm development has been studied in comparison with xylitol and chlorhexidine alone.<sup>26</sup> The xylitol/chlorhexidine combination inhibited streptococci more when compared with xylitol or chlorhexidine being used alone. This newly discovered synergistic action could be used for high-risk caries patients or for reducing MS transmission from mother to child. Chlorhexidine alone and xylitol/chlorhexidine solutions are effective against both *S. mutans* and *S. sanguis*. *S. sanguis* was most sensitive to the antiseptic effects of chlorhexidine alone, while *S. mutans* colonies were more sensitive to the xylitol/chlorhexidine solution.

### Xylitol dentifrice

Toothpaste with xylitol led to a decrease in *S. mutans* colonies in saliva, the amount of secreted saliva, and the increase of pH value. It has a positive effect on the quality of the oral environment and it would be useful introducing it into prophylactic programmes.<sup>27</sup> Low xylitol concentration in fluoride toothpastes has been shown to improve the cariostatic effects on tooth enamel.<sup>28</sup> Synergistic use of xylitol with small doses of fluoride ions helps in caries control and avoiding contact of fluoride with tooth enamel during stages of mineralization.<sup>29</sup>

Chewing gum has been the most widely used xylitol medium. Holgerson confirmed that continuous and long-term exposure of the teeth to xylitol is required irrespective of whether the medium used is chewing gum, toothpaste, mouth rinse, sucking tablets, or candy tablets. A clinician can choose from the various options available in a given situation. For example, an individual with temporomandibular joint disorder would not be able to chew xylitol gum.

### Xylitol on dental caries

Five FDA-approved non-nutritive sweeteners with intense sweetening power are acesulfame-K, aspartame, neotame,

saccharin, and sucralose.<sup>5</sup> These have estimated intakes below the acceptable daily intake (level that a person can safely consume every day over a lifetime without risk). By increasing palatability of nutrient-dense foods/beverages, sweeteners can promote diet healthfulness. Scientific evidence supports neither that intake of nutritive sweeteners by themselves increases the risk of obesity nor that nutritive or non-nutritive sweeteners cause behavioral disorders. However, nutritive sweeteners increase risk of dental caries.

MS are the target organisms of xylitol, though several other bacterial species are also inhibited. Only certain strains of MS are inhibited by xylitol, and the degree of inhibition differs among the different strains.<sup>30</sup> It has been observed that 80% of the total MS count was resistant to xylitol among the habitual xylitol consumers. However, the MS not inhibited by xylitol were found to be less virulent.<sup>31</sup>

High concentrations of xylitol have been found to inhibit *Lactococcus lactis* over time, but not *S. salivarius* and *Lactobacillus casei*. Xylitol prevents the adherence of pneumococcal and *Haemophilus influenzae* to nasopharyngeal cells due to fructose phosphotransferase system-mediated uptake and phosphorylation of xylitol in the cell.

Xylitol reduces the levels of MS in plaque by various mechanisms. Firstly, plaque microorganisms cannot ferment xylitol. The ability of certain organisms to ferment xylitol is negated by inaction of other plaque organisms, which prevents the plaque pH from falling.<sup>32</sup> Secondly, xylitol is incorporated into the cells of MS as xylitol-5-phosphate through the phosphoenolpyruvate phosphotransferase system. This results in inhibition of both growth and acid production.<sup>31</sup> Thirdly, when exposed to xylitol, MS develop resistance to xylitol. These resistant strains are less virulent in an oral environment.<sup>33</sup> Fourthly, xylitol increases the concentrations of ammonia and amino acids in plaque, thereby neutralizing plaque acids.<sup>34</sup>

Milestone studies like the Turku sugar study and trials of partial substitution suggest that xylitol decreases the formation of plaque compared with sugars and other polyols. However, there is no evidence that xylitol is superior to any other sweetener in increasing the salivary flow rate during and immediately after chewing over varying lengths of time.<sup>35</sup>

Remineralization of initial caries lesions has been documented by various clinical and laboratory-based studies. However, remineralization has been observed in all such experiments where nonsugar sweeteners were used. The remineralization occurs due to increased flow of saliva rich in calcium and phosphate and a shorter time interval of low

plaque pH. The anticaries action of xylitol is mainly attributed to its effect on plaque and cariogenic microorganisms.<sup>36</sup> Remineralization in vivo is generally considered to be a slow process, and it is perhaps surprising that significant remineralization occurs within 3 weeks.

The stimulated saliva remineralizes enamel crystals damaged by initial caries attack more effectively than unstimulated saliva because it has a higher concentration of ions that make up the lattice structure of hydroxyapatite ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$ ). Remineralization of the enamel lesions was observed to be twice more with gum than without the gum.<sup>37</sup>

An anticaries effect of xylitol and sorbitol usage has been demonstrated and compared among primary and permanent teeth. The xylitol group had 27% fewer caries than the sorbitol group. This experiment also concluded that xylitol positively impacts permanent teeth.

Recently, Murthykumar<sup>38</sup> reported in 2013 that xylitol in milk demonstrated a beneficial anticaries effect and is well accepted by both children and adults.

## Xylitol and mother-child transmission of salivary *S. mutans*

An intriguing link between mothers who chew xylitol and a decrease in their children's caries development has been observed.<sup>11</sup> Until the age of around 3 years, children's immune systems are underdeveloped, and hence newborns are extremely susceptible to bacterial colonization. These age group children frequently receive affectionate kisses from their parents/caretakers and also share utensils with them while eating. Due to these practices, parents transmit *S. mutans* from their mouths to their children's mouths.

Regular use of xylitol is reported to reduce vertical transmission of dental caries from mother to child.<sup>39</sup> The compliance of the patient is an important contributing factor that influences the efficacy of xylitol.

Pregnancy can be an appropriate time for reducing mother-child transmission of MS. Studies have reported that children using xylitol exhibited significantly more nondetectable, MS-negative levels on the tooth ridges or tongue and the gingival ridge at 9, 12, and 24 months. The xylitol group children were also significantly less likely to be MS positive than the control group children at and after 9 months of age. The children whose mothers did not chew xylitol gum acquired MS 8.8 months earlier than did those whose mothers did chew the gum.<sup>40</sup>

Xylitol chewing gum consumption among pregnant women with high salivary MS counts was compared with fluoride and chlorhexidine varnish treatments in a randomized

controlled field study. The mothers were consuming 6–7 g of xylitol per day, whereas fluoride and chlorhexidine varnishes were applied biannually until the child was aged 2 years. The percentage colonization of MS was 10% in the xylitol group, 29% in the chlorhexidine group, and 49% in the fluoride varnish group at the children's age of 2 years. At the age of 5 years, the caries occurrence was observed to be 71% lower in the xylitol group as compared with the fluoride varnish group. After 10 years, the need for restoration was least in the xylitol group.<sup>41</sup>

## Xylitol and oral hygiene

Xylitol consumption reduced MS counts in plaque but had no effect on the microbial composition of plaque or saliva in general. In a study, xylitol was compared with manuka honey and chlorhexidine mouthwash for its antiplaque efficacy. This study was performed among dental students aged between 21 and 25 years, and their plaque score was reduced to zero by performing the oral prophylaxis prior to the onset of the study. However, it was observed that chlorhexidine and manuka honey had significantly better antiplaque action than did xylitol.<sup>42</sup> It has been confirmed by previous studies that chlorhexidine is more effective as an antiplaque agent when the oral hygiene status of the patient is reasonably good. At the same time, xylitol is recommended, especially in those children or individuals who lack manual dexterity and when their brushing cannot be supervised.<sup>43</sup>

When used in mentally handicapped children, regular use of xylitol candies thrice daily effectively reduces plaque and gingival index scores, thereby supporting its role in oral hygiene routines in such children.<sup>44</sup>

Limited studies are available in literature on the synergistic effects of xylitol and other oral health-promoting products like fluorides, chlorhexidine, and probiotics. Xylitol when combined with probiotics has been proved to beneficially influence the gut microflora.<sup>45</sup> Probiotics like *L. reuteri* and *L. rhamnosus GG* are very effective in decreasing the counts of these oral pathogens and benefit from the presence of xylitol in them.<sup>46</sup>

## Conclusion

In spite of the abundant literature on xylitol, still more research is needed on the mechanisms of action of xylitol, the clinical significance of xylitol resistance, and the effect of xylitol on the plaque–saliva distribution of MS. Properly designed randomized controlled clinical trials are needed to demonstrate the feasibility of xylitol prevention in different populations with different dietary and oral hygiene habits.

Further, suitable delivery vehicles for xylitol and the extent to which xylitol can be “diluted” with other polyols without losing the caries-preventive effects have to be ascertained methodically. A minimum daily dose and frequency necessary for xylitol effects on MS, plaque, and caries occurrence should be calibrated. While these issues of xylitol still need to be expanded, the benefits it offers are literally worth salivating over.

## Disclosure

All the authors report that there is no conflict of interest (financial or other) in this work.

## References

1. Bär A. Caries prevention with xylitol. A review of the scientific evidence. *World Rev Nutr Diet.* 1988;55:183–209.
2. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on the use of xylitol in caries prevention. *Pediatr Dent.* 2010;32(Special issue):36–38.
3. Rupesh S, Nayak UA. Genetic sensitivity to the bitter taste of 6-n propylthiouracil: a new risk determinant for dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2006;25(2):63–68.
4. Burt B. The use of sorbitol and xylitol sweetened chewing gum in caries control. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(2):190–196.
5. Food and Drug Administration. *Food Labeling: Health Claims; Sugar Alcohols and Dental Caries.* Available from: <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-1995-07-20/pdf/95-17505.pdf>. Accessed September 29, 2014.
6. Milgrom P, Ly KA, Rothen M. Xylitol and its vehicles for public health needs. *Adv Dent Res.* 2009;21:44–47.
7. Trahan L, Néron S, Bareil M. Intracellular xylitol-phosphate hydrolysis and efflux of xylitol in *Streptococcus sobrinus*. *Oral Microbiol Immunol.* 1991;6(1):41–50.
8. Tanzer JM, Thompson A, Wen ZT, Burne RA. *Streptococcus mutans*: fructose transport, xylitol resistance, and virulence. *J Dent Res.* 2006;85(4):369–373.
9. Roberts MC, Riedy CA, Coldwell SE, et al. How xylitol-containing products affect cariogenic bacteria. *J Am Dent Assoc.* 2002;133(4):435–441.
10. Maguire A, Rugg-Gunn AJ. Xylitol and caries prevention: is it a magic bullet? *Br Dent J.* 2003;194:429–436.
11. Marttinen AM, Ruas-Madiedo P, Hidalgo-Cantabrana C, Saari MA, Ihalin RA, Söderling EM. Effects of xylitol on xylitol-sensitive versus xylitol-resistant *Streptococcus mutans* strains in a three-species in vitro biofilm. *Curr Microbiol.* 2012;65:237–243.
12. Kontiokari T, Uhari M, Koskela M. Effects of xylitol on growth of nasopharyngeal bacteria in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(8):1820–1823.
13. Mäkinen KK. The rocky road of xylitol to its clinical application. *J Dent Res.* 2000;79:1352–1355.
14. Nordblad A, Suominen-Taipale L, Murtomaa H, Vartiainen E, Koskela K. Smart Habit xylitol campaign, a new approach in oral health promotion. *Community Dent Health.* 1995;12:230–234.
15. Honkala E, Honkala S, Shyama M, Al-Mutawa SA. Field trial on caries prevention with xylitol candies among disabled school children. *Caries Res.* 2006;40(6):508–513.
16. Mäkinen KK. An end to crossover designs for studies on the effect of sugar substitutes on caries? *Caries Res.* 2009;43(5):331–333.
17. Deshpande A, Jadad AR. The impact of polyol-containing chewing gums on dental caries: a systematic review of original randomized controlled trials and observational studies. *J Am Dent Assoc.* 2008;139(12):1602–1614.

18. Kandelman D, Bar A, Hefti A. Collaborative WHO xylitol field study in French Polynesia, part I: baseline prevalence and 32 month caries increment. *Caries Res.* 1988;22(1):55–62.
19. Isokangas P, Mäkinen KK, Tiekso J, Alanen P. Long-term effect of xylitol chewing gum in the prevention of dental caries: a follow-up 5 years after termination of a prevention program. *Caries Res.* 1993;27(6):495–498.
20. Scheie AA, Fejerskov OB. Xylitol in caries prevention: what is the evidence for clinical efficacy? *Oral Dis.* 1998;4:268–278.
21. Kandelman D, Gagnon G. Clinical results after 12 months from a study of the incidence and progression of dental caries in relation to consumption of chewing-gum containing xylitol in school preventive programs. *J Dent Res.* 1987;66:1407–1411.
22. Hujoel PP, Makinen KK, Bennett CA, et al. The optimum time to initiate habitual xylitol gum-chewing for obtaining long-term caries prevention. *J Dent Res.* 1999;78:797–803.
23. Milgrom P, Ly KA, Roberts ME, Rothen M, Mueller G, Yamaguchi DK. Mutans streptococci dose response to xylitol chewing gum. *J Dent Res.* 2006;8:177–181.
24. Ly KA, Riedy CA, Milgrom P, Rothen M, Roberts MC, Zhou L. Xylitol gummy bear snacks: a school-based randomized clinical trial. *BMC Oral Health.* 2008;8(20):1–11.
25. Milgrom P, Ly KA, Tut O, et al. Xylitol pediatric topical oral syrup to prevent dental caries. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009;163(7):601–607.
26. Decker EM, Maier G, Axmann D, Brex M, vonOhle C. Effect of xylitol/chlorhexidine versus xylitol or chlorhexidine as single rinses on initial biofilm formation of cariogenic streptococci. *Quintessence Int.* 2008;39(1):17–22.
27. Surdacka A, Stopa J. The effect of xylitol toothpaste on the oral cavity environment. *J Prev Med.* 2005;13(1–2):98–107.
28. Makinen KK, Soderling E, Hurttia H, Lehtonen OP, Luukala E. Biochemical, microbiologic, and clinical comparisons between two dentifrices that contain different mixtures of sugar alcohols. *J Am Dent Assoc.* 1985;111(5):745.
29. Petersson LG, Birkhed D, Gleeurup A, Johansson M, Jonsson G. Caries-preventive effect of dentifrices containing various types and concentrations of fluorides and sugar alcohols. *Caries Res.* 1991;25(1):74.
30. Vadeboncoeur C, Trahan L, Mouton C, Mayrand D. Effect of xylitol on the growth and glycolysis of acidogenic oral bacteria. *J Dent Res.* 1983;62:882–884.
31. Trahan L. Xylitol: a review of its action on mutans streptococci and dental plaque – its clinical significance. *Int Dent J.* 1995;45(1 Suppl 1):77–92.
32. Drucker D, Verran J. Comparative effects of the substance-sweeteners glucose, sorbitol, sucrose, xylitol and trichlorosucrose on lowering of pH by two oral *Streptococcus mutans* strains in vitro. *Arch Oral Biol.* 1980;24:965–970.
33. Soderling E, Trahan L, Tammiala-Salonen T, Hakkinen L. Effects of xylitol, xylitol-sorbitol, and placebo chewing gums on the plaque of habitual xylitol consumers. *Eur J Oral Sci.* 1997;105:170–177.
34. Soderling E, Talonpoika J, Makinen KK. Effect of xylitol-containing carbohydrate mixtures on acid and ammonia production in suspensions of salivary sediment. *Scand J Dent Res.* 1987;95:405–410.
35. Aguirre-Zero O, Zero DT, Proskin HM. Effect of chewing xylitol chewing gum on salivary flow rate and the acidogenic potential of dental plaque. *Caries Res.* 1993;27:55–59.
36. Bowen WH, Pearson SK. The effects of sucralose, xylitol, and sorbitol on remineralization of caries lesions in rats. *J Dent Res.* 1992;71:1166–1168.
37. Leach SA, Lee GTR, Edgar WM. Remineralization of artificial caries-like lesions in human enamel in situ by chewing sorbitol gum. *J Dent Res.* 1989;68:1064–1836.
38. Murthykumar K. The impact of milk with xylitol on dental caries: a review. *J Pharm Sci Res.* 2013;5(9):178–180.
39. Söderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, Tenovu J. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. *J Dent Res.* 2000;79:882–887.
40. Nakai Y, Shinga-Ishihara C, Kaji M, Moriya K, Murakami-Yamanaka K, Takimura M. Xylitol gum and maternal transmission of mutans streptococci. *J Dent Res.* 2010;89(1):56–60.
41. Isokangas P, Söderling E, Pienihäkkinen K, Alanen P. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. *J Dent Res.* 2000;79:1885–1889.
42. Nayak PA, Nayak UA, Mythili R. Effect of manuka honey, chlorhexidine gluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque. *Contemp Clin Dent.* 2010;1(4):214–217.
43. Kovari H, Pienihäkkinen K, Alanen P. Use of xylitol chewing gum in daycare centers: a follow-up study in Savonlinna, Finland. *Acta Odontol Scand.* 2003;61:267–270.
44. Shyama M, Honkala E, Honkala S, Al-Mutawa SA. Effect of xylitol candies on plaque and gingival indices in physically disabled school pupils. *J Clin Dent.* 2006;17:17–21.
45. Taipale T, Pienihäkkinen K, Alanen P, Jokela J, Söderling E. Dissolution of xylitol from a food supplement administered with a novel slow-release pacifier: preliminary results. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2007;8:123–125.
46. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Ped Dent.* 2008;18:3–10.

# Inhibition of Oral Pathogens Adhesion to Human Gingival Fibroblasts by Wine Polyphenols Alone and in Combination with an Oral Probiotic

Adelaida Esteban-Fernández,<sup>†</sup> Irene Zorraquín-Peña,<sup>†</sup> Maria D. Ferrer,<sup>‡,§</sup> Alex Mira,<sup>‡,§</sup> Begoña Bartolomé,<sup>†</sup> Dolores González de Llano,<sup>†</sup> and M. Victoria Moreno-Arribas<sup>\*,†,§</sup>

<sup>†</sup>Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM, c/Nicolás Cabrera, 9, 28049 Madrid, Spain

<sup>‡</sup>Department of Health and Genomics, Center for Advanced Research in Public Health, FISABIO Foundation, 46020 Valencia, Spain

<sup>§</sup>CIBER Epidemiology and Public Health, 28029 Madrid, Spain

**ABSTRACT:** Several benefits have been described for red wine polyphenols and probiotic strains in the promotion of colonic metabolism and health. On the contrary, knowledge about their role in the management of oral health is still scarce. In this work, the antiadhesive capacity of selected red wine polyphenols and oenological extracts against the oral pathogens *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Streptococcus mutans* in an in vitro model of human gingival fibroblasts has been explored as well as their complementary action with the candidate oral probiotic *Streptococcus dentisani*. Results highlighted the antiadhesive capacity of caffeic and *p*-coumaric acids as well as grape seed and red wine oenological extracts. Both, caffeic and *p*-coumaric acids increased their inhibition potential against *S. mutans* adhesion when combined with *S. dentisani*. Additionally, UHPLC–MS/MS analysis demonstrated the oral metabolism of wine phenolics due to both, cellular and bacterial activity.

**KEYWORDS:** wine polyphenols, oral bacteria, probiotics, cell adhesion, oral health, metabolism

## INTRODUCTION

Polyphenols are defense secondary metabolites found in numerous plant species and their fruits. Their antioxidant activity has been widely studied; however, other beneficial properties have been described for polyphenol-rich food, including promotion of cardiovascular health, protective effect in neurodegenerative disorders, and metabolic diseases prevention.<sup>1</sup> Red wine is a rich source of dietary polyphenols which possesses a unique combination of phenolic structures (mainly flavonoids but also nonflavonoids).<sup>2</sup> Several intervention studies in humans and animals have provided further evidence of the protective effects of moderate wine consumption (~250 mL per day), on cardiovascular diseases, diabetes, and neurodegenerative disorders as well as in promotion of gut health among others.<sup>2–4</sup> Phenolic components in wine may also have an effect on human microbiota. In particular, different studies have recently shown that red wine consumption can significantly modulate the growth of selected bacteria of colonic microbiota in healthy humans.<sup>5–7</sup>

Oral microbiota is characterized by a high variability and abundance, containing more than 700 species.<sup>8</sup> Most oral bacteria are located in dental plaque, in a biofilm structure attached to hard and soft tissues,<sup>9</sup> due to the production of microbial exopolysaccharides (EPSs). Therefore, attachment to buccal surfaces is a key step on the development of microbial-derived oral pathologies and it takes place in two steps: first, initial surface attachment by primary colonizers (usually streptococci), which originates a microbial monolayer; then, migration of these colonizers and addition of secondary and late colonizers (i.e., *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas. gingivalis*),<sup>10</sup> which leads to the formation of a multilayered matrix. However, the oral cavity is a dynamic open system which can easily change. Environmental stimuli (i.e., host susceptibility, poor oral hygiene

or dietary habits) can modify oral microbiota, altering the natural balance between commensal and pathogenic microorganisms. This imbalance could be translated into an overgrowth of pathogenic population on detriment of commensal microbes, resulting in a shift of microbial ecology and subsequent development of microbial origin oral diseases.<sup>10</sup> Among them, caries and periodontal diseases (periodontitis and gingivitis) can be distinguished. Caries disease results on the dissolution of the tooth enamel due to excessive organic acids production (low pH conditions) by pathogenic bacteria, such as *Streptococcus mutans* and *Streptococcus. sobrinus*, considered as starters of the lesion.<sup>11</sup> On the other hand, periodontal diseases are characterized by an increase of Gram-negative species (i.e., *P. gingivalis*, *Campylobacter spp.*, *Treponema denticola*, among others) which produce endotoxins which trigger processes of tissue damage, bleeding, inflammation, irritation and, finally, gum detachment.<sup>12</sup> Furthermore, these pathogens are able to display structural moieties that are recognized by host receptors, triggering inflammatory signaling pathways and exacerbated cytokine production.<sup>10</sup> If *S. mutans* plays an essential role as initiator on caries disease, *P. gingivalis* is typically found on chronic periodontitis and has been proposed as the “keystone” microbe in periodontitis initiation, whereas *F. nucleatum* has been mostly described in gingivitis lesions.<sup>10,13</sup>

Traditional therapies used for the maintenance of oral health present some limitations, and the search of natural-origin therapies is gaining attention. In this regard, benefits of polyphenols

**Received:** November 22, 2017

**Revised:** January 23, 2018

**Accepted:** January 25, 2018

**Published:** February 21, 2018

as new strategies in the prevention and treatment of microbial derived oral pathologies have been widely described.<sup>10</sup> The main action mechanisms of polyphenols against oral microbial diseases include antiadhesive, antimicrobial, or anti-inflammatory activity as well as inhibition of the expression of proteins responsible of bacterial invasiveness.<sup>10</sup>

The use of probiotics in oral health is limited, and most of them are *bifidobacteria* and *lactobacilli*, whose natural niche is the gut,<sup>14</sup> which makes it difficult for a successful colonization of the oral cavity. Despite this, the use of probiotics as preventive agents in microbial-derived oral diseases is gaining attention,<sup>15</sup> and some discoveries have pointed out *Streptococcus* strains as potential candidate probiotics in this field.<sup>16</sup> Concretely, *Streptococcus dentisani* 7746 has been isolated from dental plaque of caries-free individuals, and the last evidence<sup>14</sup> has demonstrated that this probiotic expresses bacteriocins against the major oral pathogens, including *S. mutans*, *Prevotella intermedia*, and *F. nucleatum*. In addition, other beneficial mechanisms of action have been described for this novel isolate, such as buffering ability in acidogenic biofilms in the presence of arginine, a component of some tooth pastes.<sup>14</sup>

Most bacterial phenolic metabolism takes places in the gut, where microbiota transform polyphenols into simple phenols, lactones, and phenolic and aromatic acids,<sup>17</sup> which are believed to be the real executors of the benefits associated with these bioactive molecules. However, this metabolism starts in the oral cavity due to salivary enzymatic action, chewing, and oral microbiota activity.<sup>2</sup> Despite some evidence describing a degradation of red wine and grape seed extracts flavan-3-ols by pathogenic oral biofilm,<sup>18</sup> knowledge about the role of oral components in phenolic metabolism is still preliminary.

In this context, the effect of selected wine phenolic compounds (caffeic and *p*-coumaric acids), and red wine and grape seed extracts (Provinols and Vitaflavan, respectively) on *F. nucleatum*, *S. mutans*, and *P. gingivalis* adherence to HGF-1 human fibroblasts has been studied. Furthermore, a possible complementary effect between polyphenols and the candidate oral probiotic *S. dentisani* 7746 with anticariogenic ability was explored. Finally, the role of oral bacteria and cells to metabolize polyphenols with the subsequent release of phenolic metabolites has been determined.

## MATERIALS AND METHODS

**Wine Extracts and Compounds.** Two oenological phenolic extracts (Vitaflavan and Provinols) and two pure phenolic metabolites, caffeic acid (Sigma-Aldrich) and *p*-coumaric acid (Extrasynthese, France), were used in this study. Vitaflavan, kindly provided by Dr. Piriou (Dérives Resinique & Terpéniques, S.A., France), is a commercial phenolic extract from grape seeds with a total phenolic content of 629 mg of gallic acid equivalents per g. Provinols, kindly supplied by Safic-Alcan Especialidades S.A.U. (Barcelona, Spain) is a red wine extract with a total phenolic content of 474 mg of gallic acid equivalents per g. The phenolic compositions of both extracts were previously determined by UHPLC–ESI-MS/MS (Table 1)<sup>19,20</sup> for other studies. The same batches of both oenological extracts in the papers referred to in Table 1 were employed. So, the concentrations in Table 1 have been assumed from these analyses and are considered as approximated values.

**Bacterial Strains and Culture Conditions.** Three bacterial strains including a microaerophilic, *S. mutans* (CECT 479), and two strict anaerobes, *P. gingivalis* (ATCC 33277) and *F. nucleatum* (DSMZ 15643), were selected as cariogenic and periodontal pathogens, respectively. Also, a facultative anaerobe *S. dentisani* 7746 (CECT 8313), previously characterized as oral probiotic,<sup>14</sup> was included.

*S. dentisani* 7746 and *S. mutans* were cultured in Brain Heart Infusion medium (BHI) (BD, Bèrgès, France) at 37 °C for 18 h and 5%

**Table 1. Phenolic Characterization (mg/g) of Provinols (Red Wine Extract) and Vitaflavan (Grape Seed Extract), As Previously Determined by UHPLC–ESI-MS/MS<sup>19,20</sup>**

flavan-3-ols and others	Provinols	Vitaflavan <sup>a</sup>
gallic acid	1.06 ± 0.05	9.11 ± 0.01
catechin	9.90 ± 0.32	74.6 ± 0.09
epicatechin	6.87 ± 0.15	67.7 ± 0.75
epicatechin-3-O-gallate	0.226 ± 0.018	26.2 ± 0.41
procyanidin B1	11.1 ± 0.1	61.0 ± 1.42
procyanidin B2	4.69 ± 0.10	45.1 ± 0.95
procyanidin B3	1.23 ± 0.02	20.4 ± 0.33
procyanidin B4	0.827 ± 0.018	15.0 ± 0.13
procyanidin B2-3-O-gallate	0.0271 ± 0.0106	1.80 ± 0.06
procyanidin B2-3'-O-gallate	0.0258 ± 0.0028	1.61 ± 0.01
procyanidin C1	1.07 ± 0.04	7.07 ± 0.08
procyanidin T2	1.24 ± 0.09	6.81 ± 0.06
tyrosol	18.9 ± 1.3	nd
<i>p</i> -coumaric acid <sup>b</sup>	0.36 ± 0.01	0.71 ± 0.18
coumaric acid	2.00 ± 0.12	nd
caftaric acid	0.192 ± 0.071	nd
Anthocyanins		
delphinidin-3-O-glucoside	0.568 ± 0.012	nd
cyanidin-3-O-glucoside	0.265 ± 0.010	nd
petunidin-3-O-glucoside	1.47 ± 0.03	nd
malvidin-3-O-glucoside	9.01 ± 0.50	nd
malvidin-3-O-(6"-acetyl) glucoside	1.92 ± 0.02	nd
malvidin-3-O-(6"- <i>p</i> -coumaroyl) glucoside	1.24 ± 0.01	nd
quercetin	22.4 ± 0.6	nd
kaempferol	0.0366 ± 0.0055	nd
myricetin	2.55 ± 0.07	nd
quercetin-3-O-glucoside	0.137 ± 0.023	nd
quercetin-3-O-galactoside	0.107 ± 0.006	nd
resveratrol	0.427 ± 0.020	nd
resveratrol-3-O-glucoside	9.17 ± 0.17	nd

<sup>a</sup>nd, not detected. <sup>b</sup>Determined in this study.

CO<sub>2</sub> atmosphere in the case of *S. mutans*. Anaerobic bacteria were cultured under anaerobic conditions (90% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 5% H<sub>2</sub>) at 37 °C in Tryptic Soy Broth medium (TSB) (Scharlau, Barcelona, Spain), supplemented with hemein (5 µg/mL), vitamin K (1 µg/mL), yeast extract (5 mg/mL), and L-cysteine hydrochloride (0.5 mg/mL), according to ATCC specifications. *F. nucleatum* and *P. gingivalis* cultures were grown from fresh inoculum during 18 h and 72 h, respectively.

**Cell Culture.** Human gingival fibroblasts (HGF-1) (ATCC CRL-2014), used as the oral epithelial model in this study, were cultured in high glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Lonza, Basel, Switzerland) supplemented with 1% (v/v) penicillin/streptomycin solution (1:1) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) and 10% (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) (Biowest, Nuaille, France). Cells were maintained at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub> atmosphere and media was renewed every 3 days. Fibroblasts were subcultured once per week with a split ratio of 1:3 using 0.25% trypsin-EDTA solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

**Antimicrobial Study.** Stock solutions of extracts and compounds mentioned above were prepared at 2 mg/mL final concentration in 4% dimethyl sulfoxide (DMSO) BHI or TSB media, depending on bacterial strain. Then, stock solutions were filtered (0.22 µm, Symta, Spain) and diluted to 1000, 500, 200, 100, 50, 25, 10 µg/mL final concentration. Microtitre assay<sup>21</sup> was carried out in a 96-wells plate, and 100 µL of each phenolic extract/compound was added to the pertinent well. Then, 100 µL of bacterial inoculum at 10<sup>6</sup> CFUs/mL final concentration was added. Negative (culture media without any inoculum/phenolic compound) and positive controls (bacteria without

any treatment) as well as blanks (phenolic compounds dissolved in the culture media) were used to ensure the adequacy of the assay. A measurement (O.D.<sub>600 nm</sub>) as  $t = 0$  absorbance was taken on a Multiskan FC plate reader (Thermo Scientific). The microplate was incubated according to each strain requirements for 24–42 h at 37 °C under aerobic, anaerobic, or 5% CO<sub>2</sub> conditions, and absorbance was measured at selected intervals during 24 h, in order to determine the bacterial growth along time. MIC (minimum inhibitory concentration) and MBC (minimum bactericidal concentration) parameters were calculated and confirmed by microbial plate counting on BHI or modified TSB agar media. Assays were carried out in triplicate and three independent experiments were performed.

**Cytotoxicity Assay.** Cytotoxic effect of phenolic extracts and compounds at 50 and 10 µg/mL final concentration on HGF-1 fibroblasts viability was explored using the colorimetric 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Cells were seeded on 96-wells plate cells 24 h prior to the assay. Then, complete culture media was replaced by compounds/extracts dissolved in cell culture media without FBS. Plate was incubated for 30 min or 24 h, and then media was replaced by MTT reagent diluted on sterile Dulbecco's Phosphate-Buffered saline (DPBS) solution (Lonza, Basel, Switzerland) (2 mg/mL). After 3 h incubation, MTT reagent was removed and ethanol–DMSO (1:1) mixture was added to dissolve formazan crystals. Absorbance was then measured at 570 nm on a Multiskan plate reader (Thermo Scientific). The absorbance ratio between cell culture treated with phenolics and the untreated control multiplied by 100 represents cell viability (percentage of control, %).

**Bacterial Adherence Assay.** *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, and *S. mutans* were separately grown in their respective optimal conditions and all assays were carried out with single species bacterial cultures. Bacterial cells from an overnight culture (O.D.<sub>600 nm</sub> = 1) were harvested by centrifugation (4500 rpm, 10 min at 4 °C) and resuspended in sterile DPBS solution. Fibroblasts were seeded on 48-well plates 24 h prior to the assay at a density of  $2 \times 10^5$  CFUs/mL. The cell monolayer was washed twice with DPBS to remove any FBS or antibiotic residue, and 0.5 mL of a mixture of pure specie bacterial suspension at 10<sup>7</sup> CFUs/mL final concentration plus phenolic extracts, pure compounds or DPBS solutions was added to each well of HGF-1 cells (100:1 ratio of bacteria per fibroblast, in agreement with previous works<sup>22</sup>). After 30 min of incubation, supernatants were removed and cells were washed twice with DPBS in order to remove unbound bacteria. Then, cells and bound bacteria were detached with 0.25% trypsin–EDTA solution, and the reaction was stopped by adding cold DPBS. Bacterial counts were carried out on BHI agar plates for *S. mutans* and *S. dentisani* after 24 h of incubation while counts for other pathogens were carried out in TSB agar plates, after 48 h (*F. nucleatum*) or 5 days (*P. gingivalis*) of incubation. *S. mutans* and *S. dentisani* presented differences in the morphology of their colonies, which makes it possible to clearly differentiate them during counting. Adhesion capacity was calculated as the number of adhered bacteria (CFUs/mL) relative to the total number of bacteria initially added (% adhesion = [adhered bacteria/total bacteria] × 100). Results are expressed as percentage of adherence inhibition (%), calculated as  $100(1 - T1/T2)$ , where T1 and T2 are the number of oral pathogens adhered in the presence and absence of phenolics, respectively. Assays were performed in triplicate, and three independent experiments were carried out.

**Antiadherence Assays: Exclusion, Competition, and Displacement of *S. mutans* by *S. dentisani*.** *a. Adherence Exclusion.* For the exclusion assay, 0.5 mL per well of the mixed solution of *S. dentisani* (~10<sup>7</sup> CFUs/mL) and phenolic compounds or extracts were first added. After 15 min of incubation, nonbound bacteria were removed, 0.5 mL per well of *S. mutans* suspension (~10<sup>7</sup> CFUs/mL) was added, and the mixture was incubated again for 15 min. Cells together with bound bacteria were then detached with trypsin–EDTA solution, and the number of oral bacteria adhered to gingival cells was determined on BHI agar plates, as described above. Results are expressed as percentage of adherence inhibition (%), calculated as  $100(1 - T1/T2)$ , where T1 and T2 are the number of oral pathogens adhered in the presence and absence of *S. dentisani* and phenolics,

respectively. Assays were performed in triplicate, and three independent experiments were carried out.

*b. Adherence Displacement.* Ability of *S. dentisani* and phenolics to displace previously adhered *S. mutans* was assessed as described above but first adding *S. mutans* suspension (~10<sup>7</sup> CFUs/mL) and later, *S. dentisani* suspension (~10<sup>7</sup> CFUs/mL) plus phenolic extracts and compounds. Displacement of pathogen was expressed as percentage of adhesion (%) of oral pathogen in the presence and absence of *S. dentisani* and phenolics, as described above.

*c. Adherence Competition.* The same experimental protocol as in exclusion was employed for the assays of competitiveness between *S. dentisani* and *S. mutans*, with the difference that oral pathogen (~10<sup>7</sup> CFUs/mL) and *S. dentisani* probiotic strain (10<sup>7</sup> CFUs/mL) plus phenolics were simultaneously added. Competitiveness was calculated as the percentage of adhesion (%) of *S. mutans* in combination with *S. dentisani* and phenolics relative to pathogen adhesion in the absence of *S. dentisani* and phenolic compounds (control).

**UHPLC–DAD–ESI–TQ MS Targeted Analysis of Phenolic Metabolites.** Incubations of cell monolayers with phenolic compounds (50 µg/mL) in absence (cellular metabolism) or presence of oral pathogens (bacterial and cellular metabolism) were carried out as mentioned above in three independent assays. After 30 min of incubation at controlled conditions, supernatants were collected and an aliquot was immediately frozen away (–80 °C) until further UHPLC–MS/MS analysis. Incubations only with phenolic compounds (blanks) or oral pathogens (bacterial metabolism) were also carried out.

Prior to their analysis, cellular supernatants were filtered (0.22 µm, Symta, Spain), and 200 µL of sample was mixed with 50 µL of internal standard (4-hydroxybenzoic-2,3,5,6-tetradeuterated acid) (IS) prepared in acetonitrile and 0.1% formic acid at 0.25 µg/mL final concentration. A volume of 2.0 µL of sample was injected onto the chromatographic system. Analysis of each sample was performed in duplicate.

Phenolic metabolites were analyzed using an UPLC–ESI–MS/MS following a method previously published<sup>23</sup> with some modifications. The liquid chromatographic system was a Waters Acquity UPLC (Milford, MA) equipped with a binary pump, an autosampler thermostated at 10 °C, and a heated column compartment (40 °C). The column employed was a BEH-C18, 2.1 mm × 100 mm and 1.7 µm particle size from Waters (Milford, MA). The mobile phases were 0.1% formic acid in water (A) and 0.1% formic acid in acetonitrile (B). The gradient program was as follows: 0 min, 0.1% B; 1.5 min, 0.1% B; 11.17 min, 16.3% B; 11.5 min, 18.4% B; 14 min, 18.4% B; 14.1 min, 99.9% B; 16.6 min, 99.9% B; 16.7 min, 0.1% B; 22 min 0.1% B. Equilibrium time was set at 2.4 min, resulting in a total runtime of 22.4 min. The flow rate was set constant at 0.5 mL/min and injection volume was 2 µL.

The LC effluent was pumped to an Acquity TQD tandem quadrupole mass spectrometer equipped with a Z-spray electrospray ionization (ESI) source operated in negative polarity mode. The ESI parameters were set as follows: capillary voltage, 3 kV; source temperature, 130 °C; desolvation temperature, 400 °C; desolvation gas (N<sub>2</sub>) flow rate, 750 L/h; cone gas (N<sub>2</sub>) flow rate, 60 L/h. The ESI was operated in negative ionization mode. For quantification purposes, data were collected in the multiple reaction monitoring (MRM) mode, tracking the transition of parent and product ions specific to each compound. The MS/MS parameters (cone voltage, collision energy, and MRM transition) of the 54 phenolic compounds targeted in the present study (hydroxyl(phenyl)-propionic, hydroxy-(phenyl)-acetic, hydroxycinnamic, hydroxybenzoic, and hydroxymandelic acids and flavan-3-ols) were previously determined.<sup>23</sup> All metabolites were quantified using the calibration curves of their corresponding standards. Data acquisition were carried out in multiple reaction mode (MRM) using transition of parent and product specific ions for each compound as well as by using the internal calibration curves. Data processing was performed with MassLynx v4.1 software (Waters) and results are presented as final concentration (µg/L) of the sample.

**Statistical Analysis.** Data obtained were submitted to statistical analysis in GraphPad Software v6.0 (GraphPad). Two-way ANOVA of multiple comparisons was applied to data of the study of the inhibitory effect against pathogenic adherence, followed by posthoc Dunnett test.

Table 2. Antimicrobial Activity of Phenolic Compounds and Grape Seed and Red Wine Phenolic Extracts

microorganisms	MIC/MBC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	caffeic acid	<i>p</i> -coumaric acid	Vitaflavan	Provinols
<i>S. mutans</i>	>1000/>1000	>1000/>1000	>1000/>1000	>1000/>1000
<i>P. gingivalis</i>	200/500	500/1000	500/1000	500/>1000
<i>F. nucleatum</i>	1000/>1000	200/500	500/1000	500/1000
<i>S. dentisani</i>	1000/>1000	>1000/>1000	>1000/>1000	>1000/>1000

Data of UHPLC–MS/MS from the study of phenolic metabolism (three values from three independent assays, each value corresponding to the mean of the duplicate analysis of each sample) was analyzed by one-way ANOVA test followed by Bonferroni test. A value of  $p < 0.05$  was fixed for the level of significance of the tests.

## RESULTS

**Antimicrobial Activity.** Study of antimicrobial activity of phenolics against oral bacteria was assessed in order to select a concentration under the MIC for all compounds, for antiadherence assays (Table 2).<sup>21</sup> Phenolic compounds and extracts only showed antimicrobial activity at higher concentrations (above 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), and consequently, it was possible to use concentrations in the range normally found in wine, which is 0.3–33 mg/L for caffeic acid and 0.1–8 mg/L for *p*-coumaric acid.<sup>24</sup> Therefore, selected concentrations for the next assays were 10 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for each oenological extract and pure phenolic compound.

**Cytotoxic Effect.** With regards to a possible cytotoxic effect of compounds at selected concentrations on human fibroblasts, none of the phenolic compounds or extracts altered cell viability at 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  nor 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Figure 1) after 30 min of

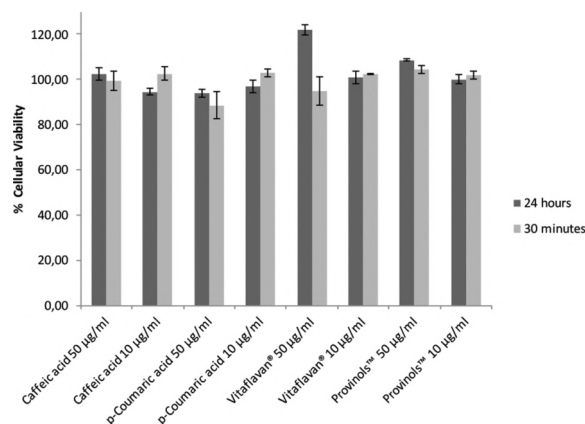


Figure 1. Cellular viability of HGF-1 fibroblasts in the presence of phenolic compounds and extracts (10 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) after 30 min and 24 h incubations. Results are expressed as media of three independent assays  $\pm$  standard deviation.

pretreatment but neither after 24 h incubation with compounds and extracts.

**Antiadhesive Effects on Oral Pathogen Adherence to HGF-1 Human Fibroblasts.** With respect to antiadhesive activity of phenolic compounds and extracts, a different effect was perceived depending on the strain, phenolic concentration, and compound (Figure 2). In general terms, pure phenolic compounds (caffeic and *p*-coumaric acids) showed a greater ability to inhibit *S. mutans* and *F. nucleatum* adherence than phenolic extracts, whereas a similar effect for both treatments was reported in the case of *P. gingivalis* adherence to human fibroblasts.

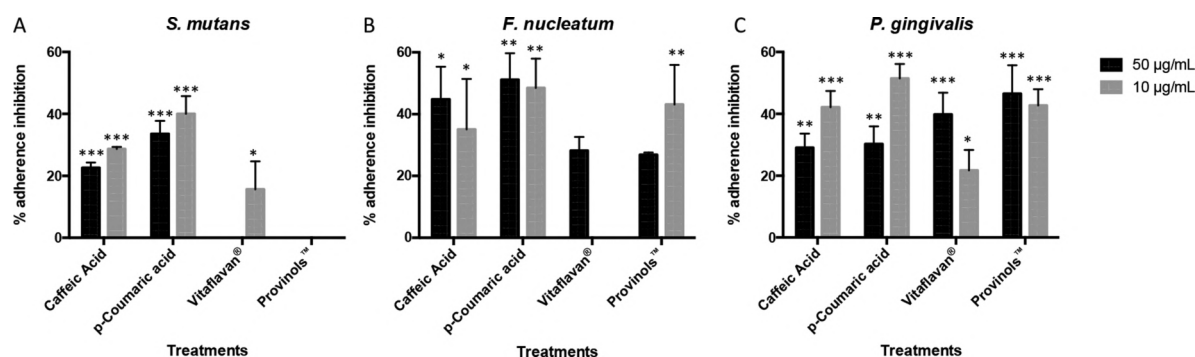
*S. mutans* pathogen is normally related to caries disease, and therefore the ability of this bacterium to adhere fibroblasts is limited, around 1% (data not shown). Despite this fact, caffeic acid and *p*-coumaric acid at 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentrations were able to decrease *S. mutans* adherence 20% and 40%, respectively ( $p < 0.001$ ). Both compounds had a similar effect at 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration, reaching an inhibition of around 20–30% ( $p < 0.001$ ). However, phenolic extracts Vitaflavan and Provinols did not exert any inhibitory effect on *S. mutans* adherence, except for Vitaflavan (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) ( $p < 0.05$ ), and even an increase of adherence was observed for the higher concentration (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (values of adherence inhibition <0% are not represented).

Inhibition of *P. gingivalis* adherence was tested for all the assayed compounds, including both pure phenolics and extracts (Figure 2C). Phenolic compounds reached higher values of inhibition when added at 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration ( $p < 0.001$ ), whereas grape seed and red wine phenolic extracts were able to exert a stronger effect when used at 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration ( $p < 0.001$ ). Inhibitory effects of caffeic and *p*-coumaric acids were similar, in the range of 30–50%. Provinols, a red wine extract, showed higher inhibitory potential (~40–50%) than grape seed extract (Vitaflavan) (~20–40%). Finally, in the case of *F. nucleatum* adherence, compounds exerted a stronger inhibition of pathogen adherence ( $p$  values ranging from <0.05 to 0.01) than extracts, especially, in the case of *p*-coumaric acid ( $p < 0.01$ ) which caused a marked inhibition, upper than 50%. Furthermore, Provinols (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $p < 0.01$ ) inhibition values were again higher than those of Vitaflavan.

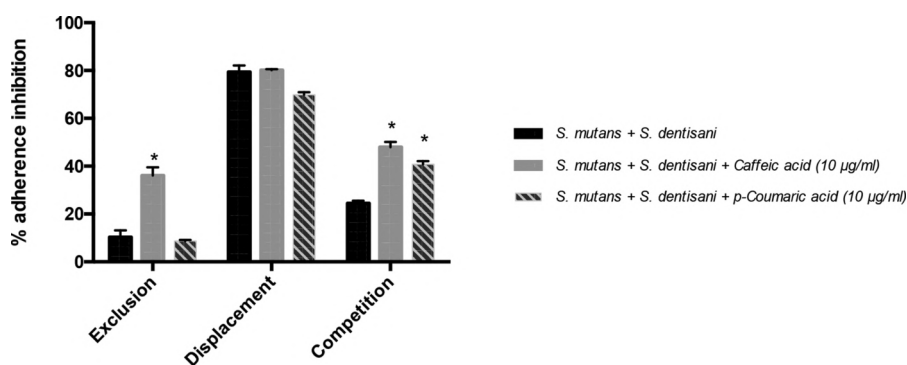
Previous studies highlighted the potential role of *S. dentisani* in oral diseases.<sup>14</sup> With the aim of studying a possible complementary effect between this candidate oral probiotic and red wine phenolic compounds against *S. mutans* adherence to human fibroblasts, assays of inhibition of bacterial adherence were performed (Figure 3). Results confirmed a complementary action of both caffeic acid and *p*-coumaric acid, and *S. dentisani* in the competence process against *S. mutans* adhesion ( $p < 0.05$ ), improving values from 25% to 40–50% in the presence of the coincubation of *S. dentisani* and phenolics. In the same way, exclusion was improved when caffeic acid was used together with the probiotic strain ( $p < 0.05$ ), reaching values of 30–40% from the initial 10%. However, phenolic compounds were not able to improve the high displacement values of *S. mutans* (close to 80%) when only *S. dentisani* was used.

**Bacterial and Cellular Metabolism of Oenological Extracts and Phenolic Compounds.** Results of bacterial and cellular metabolism from UHPLC–MS analysis (Tables 3–5) showed that the three pathogens studied (*P. gingivalis*, *S. mutans*, and *F. nucleatum*) were able to release different phenolic metabolites after their incubation with phenolic compounds and extracts. Additionally, evidence also indicates an existing cellular metabolism of polyphenols by fibroblasts, which in some cases resulted in a cumulative metabolism between oral bacteria and human cells.

Phenolic metabolism in the absence or presence of fibroblasts and *P. gingivalis* is presented in Table 3. Regarding



**Figure 2.** Adherence inhibition (%) of oral pathogens (A) *S. mutans*, (B) *F. nucleatum*, and (C) *P. gingivalis* by phenolic compounds and extracts (10 and 50 µg/mL). Results are expressed as the media of three independent assays ± standard error. \* indicates  $p < 0.05$ , \*\* indicates  $p < 0.01$ , and \*\*\* indicated  $p < 0.001$ .



**Figure 3.** Percentage (%) of exclusion, displacement and competition of *S. mutans* adherence by *S. dentisani* probiotic strain 7746 and polyphenols. Results are expressed as the media of three independent experiments ± standard error. Data were analyzed by two-way ANOVA and Bonferroni test. \* indicates  $p < 0.05$ .

oenological extracts, some compounds underwent thorough extensive metabolism during incubations. For instance, a significant degradation of gallic acid ( $p < 0.01$ ) was found in the case of Vitaflavan after bacterial incubations, as in a similar manner that occurred in the case of proanthocyanidin B1 ( $p < 0.05$ ) and Provinols, which reinforces the role of microbial catabolism of oligomeric tannins.

Regarding bacterial and cellular degradation of phenolic acids derived from the B-ring, 3,5-dihydroxybenzoic acid was metabolized reaching values close to 30% of degradation in the case of both oenological extracts, being especially significant in the case of Provinols ( $p < 0.01$ ). In regard with nonflavonoids compounds, there was a bacterial degradation of protocatechuic acid, which was significant in the case of the incubation of *P. gingivalis* with Provinols extract ( $p < 0.01$ ).

Additionally, 4-hydroxyphenyl acetic acid was detected only after incubations of all oenological extracts and phenolic compounds with *P. gingivalis* (ranging  $p$  values from  $<0.05$  to  $0.01$ ), which highlights the potential of this bacteria to synthesize it, most likely from the catabolism of flavonols precursors.

Concerning phenolic metabolism in the presence of *S. mutans* (Table 4), a strong bacterial metabolism was observed for flavan-3-ols (+)-catechin ( $p < 0.01$  to  $p < 0.001$ ) and (–)-epicatechin ( $p < 0.01$ – $0.001$ ) after incubations with Vitaflavan. In a similar manner, levels of gallic acid strongly decreased after incubation of this pathogen with both extracts ( $p < 0.01$ – $0.001$ ) and also when cells or both, cells and bacteria, were present. Procyanidins B1 and B2 were markedly metabolized from Vitaflavan when cells and bacteria were simultaneously present ( $p < 0.001$ ), whereas procyanidin B2 was increased in the presence of cells

after treatment with Provinols ( $p < 0.05$ ). In the same way, non-flavonoid protocatechuic acid from Provinols was significantly degraded after bacterial and cellular co-incubations in the case of both extracts ( $p$  value ranging from  $p < 0.05$  to  $p < 0.001$ ). In relation to incubations of caffeic acid with *S. mutans*, a significant degradation of this compound was found ( $p < 0.01$ ) only due to cumulative activity of *S. mutans* and HGF-1 cells.

Finally, data from phenolic metabolism in the absence or presence of fibroblasts and *F. nucleatum* assays were presented in Table 5. Metabolic activity of this bacterium seemed to be lower than the other two pathogens analyzed during this work. *F. nucleatum* was able to release gallic acid through bacterial catabolism ( $p < 0.001$ ) from Vitaflavan extract. On the contrary to other pathogens, levels of *p*-coumaric acid from Vitaflavan significantly decreased after incubations with *F. nucleatum* ( $p < 0.05$ ) or cells ( $p < 0.01$ ). In accordance with results obtained from the other bacteria, levels of *p*-coumaric acid remained stable after incubations with the three pathogens, which resulted in a notable interest.

## DISCUSSION

Previous studies discarded an antimicrobial effect of phenolic compounds and oenological extracts against gut microbial strains or respiratory pathogens in the range normally found in wine.<sup>25,26</sup> However, their effect on oral bacteria or on oral cells viability was unknown, and therefore, antimicrobial and cytotoxic effects were explored in the current work (Table 2, Figure 1). Antimicrobial activity of caffeic acid at high concentrations has been previously demonstrated.<sup>24–26</sup> However, concentrations used in our study (10 and 50 µg/mL) are not high enough to exert an

Table 3. Phenolic Metabolite Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) After Incubations in Absence or Presence of *P. gingivalis* and/or of HGF-1 Cells<sup>a</sup>

metabolite	Vitaflavan				Provinols				caffeic acid				<i>p</i> -coumaric acid			
	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells
Phenolic Acids																
gallic acid	884.18 ± 12.48	533.82 ± 51.72**	754.00 ± 115.46	663.24 ± 142.11	108.07 ± 20.38	91.77 ± 8.73	133.79 ± 51.01	96.81 ± 15.13	–	–	–	–	–	–	–	–
protocatechuic acid	60.79 ± 4.11	45.25 ± 5.98	37.85 ± 4.49	41.72 ± 15.87	20.45 ± 6.81	13.53 ± 4.23**	33.62 ± 4.49	15.65 ± 6.34*	–	–	–	–	–	–	–	–
3,5-dihydroxybenzoic acid	62.27 ± 3.74	45.00 ± 5.66	33.50 ± 7.78*	44.67 ± 10.02	29.46 ± 4.64	14.67 ± 1.15**	22.89 ± 10.21**	14.33 ± 3.51**	–	–	–	–	–	–	–	–
4-hydroxyphenyl acetic acid	33.26 ± 0.01	389.28 ± 152.16*	–	418.62 ± 0.141.06*	–	399.06 ± 85.27*	–	522.95 ± 166.37*	–	359.94 ± 58.69*	–	366.46 ± 81.44*	–	412–10 ± 138.78*	–	425.14 ± 68.70*
3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	14215.21 ± 2052.15	14686.16 ± 555.20	15593.41 ± 555.20	14484.549 ± 3078.04
caffeic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	57839.67 ± 1132.05	58879.37 ± 11895.37	69838.04 ± 7391.33	55997.27 ± 2718.09	–	–	–	–
<i>p</i> -coumaric acid	67.18 ± 17.94	33.06 ± 13.56*	17.33 ± 5.37**	34.21 ± 13.04*	37.26 ± 10.13	30.38 ± 3.84	31.14 ± 1.08	36.26 ± 3.10	–	–	–	–	25074.57 ± 460.25	23621.28 ± 2619.82	25232.70 ± 1974.38	23430.21 ± 2493.78
Flavan-3-ols																
(+)-catechin	3458.11 ± 84.41	3320 ± 237.15	3941.37 ± 414.31	3556.73 ± 771.64	227.94 ± 22.11	204.83 ± 49.66	415.15 ± 200.52	282.51 ± 42.92	–	–	–	–	–	–	–	–
(–)-epicatechin	2876.67 ± 162.40	2266.12 ± 616.34	3362.81 ± 713.87	2949.40 ± 602.27	208.72 ± 84.10	191.39 ± 27.13	189.48 ± 8.12	189.48 ± 26.31	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B1	1718.29 ± 0.125.84	1508.65 ± 159.78	1823.56 ± 326.68	1685.749 ± 205.02	363.75 ± 40.66	206.57 ± 34.78*	345.99 ± 86.58	265.87 ± 70.82*	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B2	973.33 ± 82.72	758.29 ± 148.29	1152 ± 71.39	927.90 ± 116.80	119.99 ± 26.56	126.25 ± 14.40	187.34 ± 64.02	115.05 ± 38.50	–	–	–	–	–	–	–	–

<sup>a</sup>Data are expressed as mean values ± standard deviations. Data were analyzed by two-way ANOVA followed by the Bonferroni test. The \* indicates values  $p < 0.05$ , \*\* indicates values  $p < 0.01$ , and \*\*\* indicates values  $p < 0.001$ ; – means not detected.

Table 4. Phenolic Metabolite Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) After Incubations with *S. mutans*<sup>a</sup>

metabolite	Vitaflavan				Provinols				caffeic acid				<i>p</i> -coumaric acid			
	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells
Phenolic Acids																
gallic acid	884.18 $\pm$ 12.48	147.75 $\pm$ 27.15***	258.17 $\pm$ 41.27***	258.17 $\pm$ 41.27***	108.07 $\pm$ 20.38	16.56 $\pm$ 2.03***	25.77 $\pm$ 30.72***	6.20 $\pm$ 2.71***	–	–	–	–	–	–	–	–
protocatechuic acid	60.79 $\pm$ 4.11	54.411 $\pm$ 18.23	37.85 $\pm$ 4.49*	14.24 $\pm$ 5.32**	20.45 $\pm$ 6.81	16.35 $\pm$ 5.32*	22.89 $\pm$ 10.20	1.90 $\pm$ 0.50***	–	–	–	–	–	–	–	–
3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	14215.21 $\pm$ 2052.15	15831.65 $\pm$ 855.37	15211.61 $\pm$ 547.44	14067.54 $\pm$ 1211.78
caffeic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	57839.67 $\pm$ 1132.05	69599.13 $\pm$ 2579.94	69838.04 $\pm$ 7391.33	27962.85 $\pm$ 3920.67**	–	–	–	–
<i>p</i> -coumaric acid	67.18 $\pm$ 17.94	15.28 $\pm$ 1.93**	47.76 $\pm$ 12.40	6.08 $\pm$ 2.34***	37.26 $\pm$ 10.13	134.70 $\pm$ 45.69**	40.85 $\pm$ 24.93	51.08 $\pm$ 20.30	–	–	–	–	25074.57 $\pm$ 460.25	24640.18 $\pm$ 1696.69	28867.96 $\pm$ 3155.56	28011.55 $\pm$ 3324.63
Flavan-3-ols																
(+)-catechin	3458.11 $\pm$ 84.41	1349.29 $\pm$ 152.56**	3906.32 $\pm$ 695.37	2700.28 $\pm$ 456.68	227.94 $\pm$ 22.11	307.15 $\pm$ 75.05*	384.83 $\pm$ 8.04	108.19 $\pm$ 47.67*	–	–	–	–	–	–	–	–
(–)-epicatechin	2876.67 $\pm$ 162.40	1180.91 $\pm$ 109.60**	3459.46 $\pm$ 572.47	2629.77 $\pm$ 412.49	208.72 $\pm$ 84.10	271.78 $\pm$ 106.24	301.45 $\pm$ 60.90*	91.87 $\pm$ 32.48	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B1	1718.29 $\pm$ 0.125.84	2357.70 $\pm$ 415.06*	2067.05 $\pm$ 384.88	662.76 $\pm$ 92.79***	363.75 $\pm$ 40.66	403.73 $\pm$ 46.23	370.95 $\pm$ 224.51	156.77 $\pm$ 52.58	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B2	973.33 $\pm$ 82.72	1480.67 $\pm$ 267.96**	1278.23 $\pm$ 60.59	451.80 $\pm$ 115.02**	119.99 $\pm$ 26.56	187.00 $\pm$ 21.97	224.80 $\pm$ 67.72*	136.59 $\pm$ 14.26	–	–	–	–	–	–	–	–

<sup>a</sup>Data are expressed as mean values  $\pm$  standard deviations. Data were analyzed by two-way ANOVA followed by the Bonferroni test. \* indicates values  $p < 0.05$ , \*\* indicates values  $p < 0.01$ , and \*\*\* indicates values  $p < 0.001$ ; – means not detected.

Table 5. Phenolic Metabolite Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) After Incubations with *F. nucleatum*.<sup>a</sup>

metabolite	Vitaflavan				Provinols				caffeic acid				<i>p</i> -coumaric acid			
	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells	blank	bacterium	cells	bacterium + cells
Phenolic Acids																
gallic acid	884.18 $\pm$ 12.48	1667.51 $\pm$ 03.40***	754.00 $\pm$ 115.46	2130.56 $\pm$ 108.77***	108.07 $\pm$ 20.38	135.47 $\pm$ 15.40	133.79 $\pm$ 51.00	214.05 $\pm$ 13.26***	–	–	–	–	–	–	–	–
3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	14215.21 $\pm$ 2052.15	17307 $\pm$ 3024.75	1482056 $\pm$ 1023.07	16803.10 $\pm$ 2328.03
3,5-dihydroxybenzoic acid	62.27 $\pm$ 3.74	37.85 $\pm$ 16.45	33.62 $\pm$ 7.48	49.48 $\pm$ 13.20	29.46 $\pm$ 4.64	12.47 $\pm$ 1.50	22.89 $\pm$ 10.21	30.45 $\pm$ 11.58	–	–	–	–	–	–	–	–
caffeic acid	–	–	–	–	–	–	–	–	57839.67 $\pm$ 1132.05	68001.98 $\pm$ 4992.38	71072.47 $\pm$ 2413.96	65881.80 $\pm$ 2760.38	–	–	–	–
<i>p</i> -coumaric acid	67.18 $\pm$ 17.94	38.04 $\pm$ 12.81*	17.33 $\pm$ 5.37**	53.40 $\pm$ 3.52	37.26 $\pm$ 10.13	25.00 $\pm$ 4.80	31.14 $\pm$ 1.08	41.12 $\pm$ 6.28	–	–	–	–	25074.57 $\pm$ 460.25	28203.84 $\pm$ 3086.01	24505.26 $\pm$ 972.74	28818.61 $\pm$ 4431.67
Flavan-3-ols																
(+)-catechin	3458.11 $\pm$ 84.41	3033.77 $\pm$ 418.03	3941.37 $\pm$ 414.31	2817.76 $\pm$ 440.73	227.94 $\pm$ 22.11	244.62 $\pm$ 67.35	415.15 $\pm$ 200.52	278.25 $\pm$ 92.52	–	–	–	–	–	–	–	–
(–)-epicatechin	2876.67 $\pm$ 162.40	3313.05 $\pm$ 341.05	2951.31 $\pm$ 56.84	2629.77 $\pm$ 412.49	208.72 $\pm$ 84.10	139.72 $\pm$ 44.60	189.48 $\pm$ 8.12	262.21 $\pm$ 28.90*	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B1	1718.29 $\pm$ 125.84	1455.77 $\pm$ 17.00	1823.56 $\pm$ 326.68	1435.34 $\pm$ 232.38	363.75 $\pm$ 40.66	241.83 $\pm$ 105.44	345.99 $\pm$ 86.58	247.84 $\pm$ 69.60	–	–	–	–	–	–	–	–
procyanidin B2	973.33 $\pm$ 82.72	1174.52 $\pm$ 129.18	1152.08 $\pm$ 84.69	1281.20 $\pm$ 171.45*	119.99 $\pm$ 26.56	80.77 $\pm$ 18.00	187.34 $\pm$ 64.02	127.85 $\pm$ 11.09	–	–	–	–	–	–	–	–

<sup>a</sup>Data are expressed as mean values  $\pm$  standard deviations. Data were analyzed by two-way ANOVA followed by the Bonferroni test. \* indicates values  $p < 0.05$ , \*\* indicates values  $p < 0.01$ , and \*\*\* indicates values  $p < 0.001$ ; – means not detected.

antimicrobial effect against oral pathogens, and therefore, it makes it possible to study other mechanisms of action, such as the bacterial antiadhesive effect. For instance, caffeic acid was previously described to possess antimicrobial activity against *S. mutans* (2 mg/mL),<sup>27</sup> and an inhibition of cariogenic *S. mutans* and *S. sobrinus* growth by a propolis extract with elevated content of both caffeic and *p*-coumaric acids was reported.<sup>28</sup> In a similar manner, antimicrobial activity of caffeic acid (156.3  $\mu\text{g/mL}$ ) against pathogenic strains resistant to conventional antibiotics (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*) was observed.<sup>29</sup> Recent evidence suggested that antimicrobial action of caffeic acid (and other phenolics, such as gallic acid and proanthocyanidins) against *S. mutans* could be based on the ability of polyphenols to generate hydroxyl radicals which would produce  $\text{H}_2\text{O}_2$  and subsequent damage in bacterial DNA.<sup>30</sup> Antimicrobial effect of dietary polyphenols against periodontal pathogens has been explored too. Both grape seed and red wine extracts (>1000  $\mu\text{g/mL}$ ) reduced the counts of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*,<sup>31</sup> whereas Muñoz-González and colleagues reported a bactericidal action of caffeic acid from red wine (1600  $\mu\text{g/mL}$ ) and grape seed extract (250  $\mu\text{g/mL}$ ) against *F. nucleatum*.<sup>18</sup> Polyphenols from different berries have been also described to inhibit *F. nucleatum* (>63  $\mu\text{g/mL}$ ) and *S. mutans* (>16  $\mu\text{g/mL}$ ).<sup>32</sup> However, high ranges employed on the studies mentioned above are far from physiological levels, and so other mechanisms of action should be explored. Finally, red wine was recently reported to display an antimicrobial action in an oral biofilm model containing *Actinomyces oris*, *F. nucleatum*, *Streptococcus oralis*, *S. mutans*, and *Veillonella dispar* as well as against selected oral streptococci.<sup>18,33</sup>

A key step in bacterial infection is pathogenic adhesion to host cells,<sup>34</sup> and an antiadhesion therapy is an efficient way to prevent or treat bacterial infections. The percentage of adhesion of *S. mutans* control to human fibroblasts was around 1%, which is relatively low when compared to other species. Despite of this, our results showed that *S. mutans* adhesion to HGF-1 human fibroblasts was partially inhibited after treatment with caffeic (~20–25%) and *p*-coumaric (~35–40%) acids (Figure 2A). A similar study with phenolic acids of pu-erh and chrysanthemum tea enriched in tannins reported an inhibition of *S. mutans* attachment to oral cells and, in the same line, control adherence was around 1%.<sup>22</sup> *S. mutans* is a cariogenic pathogen and therefore is generally found on solid surfaces. Because of this, the most part of the studies regarding inhibition of bacterial attachment are carried out in solid surfaces that mimic human teeth.<sup>35</sup> However, last evidence suggested that it also inhabits soft oral tissues.<sup>36</sup> For instance, the antiadhesive effect of dealcoholized red wine over *S. mutans* in teeth was described,<sup>37</sup> and this fact was allocated to procyanidins, high weight tannins that could act as steric impediment for *S. mutans* attachment. In cellular surfaces, this merge is mediated through specific receptors and bacterial attachment to cells should be high enough to facilitate the injection of bacterial virulent proteins into host cells.<sup>34</sup> No effect was perceived for the extracts and, in agreement with our results, a previous study carried out in a 5-species oral biofilm, including *S. mutans*, with Vitaflavan and Provinols reported that none of these extracts affected *S. mutans* viability.<sup>18</sup> Concerning *F. nucleatum* adherence, an inhibitory action of caffeic and *p*-coumaric acids and Provinols extract was observed (Figure 2B). In accordance, it is known that *F. nucleatum* adheres to a selected range of human cells, including fibroblasts and a recent study demonstrated an antiadhesive action of a green tea extract, epigallocatechin, and theaflavins against *F. nucleatum* adherence

to oral epithelial cells.<sup>38</sup> The role of “physical bridge” described for this bacterium makes of the antiadhesive therapy a useful strategy to avoid periodontal diseases since it favors the attachment of other pathogens. As an example, *F. nucleatum* biofilm formation is stimulated by *P. gingivalis* due to the expression of signaling molecules,<sup>39</sup> as well as *F. nucleatum* protects *P. gingivalis* against aerobic conditions, by generating a capnophilic environment.<sup>40</sup> Therefore, the inhibition of *F. nucleatum* by phenolic compounds alone or in combination with *S. dentisani* is particularly relevant because this species has been shown to be a key player in biofilm architecture, and many periodontal pathogens use it as an attachment.<sup>41</sup> Thus, inhibition of *F. nucleatum* adhesion or growth has been proposed as a promising strategy to reduce plaque formation and prevent the settlement of oral pathogens.<sup>42</sup>

Our results showed that *P. gingivalis* adhesion to human fibroblasts was inhibited by all the assayed extracts and compounds (Figure 2C). In accordance with these observances, a high-molecular-weight fraction from cranberry, enriched in proanthocyanidins, prevented *P. gingivalis* attachment to surfaces coated with collagen, fibrinogen, and human serum,<sup>43</sup> whereas A-type proanthocyanidins from the same food source inhibited *P. gingivalis* adhesion to oral cells.<sup>44</sup> Furthermore, these compounds were able to prevent teeth demineralization during the cariogenic process.<sup>45</sup> Beneficial actions of resveratrol against periodontal diseases have been associated with its ability to neutralize *P. gingivalis* pathogenic factors.<sup>46,47</sup> In a similar manner, a green tea extract inhibited *P. gingivalis* attachment to buccal cells,<sup>48</sup> and also resveratrol (1–10  $\mu\text{M}$ ) blocked the expression of adhesion proteins of *P. gingivalis*.<sup>46</sup> In our study, resveratrol was present in red wine extract, which is in accordance with the higher inhibition of adherence observed after incubation with Provinols. In general terms, a dose-dependent inhibitory effect of pathogenic adherence was not perceived. One of the mechanisms that have been suggested for the antiadhesive potential of polyphenols is that they constitute a steric impediment for bacterial attachment to cellular receptors.<sup>49</sup> There is a limited number of surface receptor of mammalian cells for bacterial adhesins, and therefore, a maximum inhibitory effect of polyphenols is going to be achieved at a specific certain concentration, and therefore, an increase in the phenolics concentration may not be necessarily translated into more effectiveness.

*S. dentisani* presented a similar resistance to the antimicrobial potential of the selected polyphenols to *S. mutans* pathogen, as shown in Table 2. This fact makes possible a combinatory study of the preventive action of wine polyphenols and this candidate oral probiotic. After coinoculations with *S. dentisani* strain and phenolic compounds, a cumulative antiadhesive effect on *S. mutans* was perceived (Figure 3). A reciprocal action between polyphenols and probiotics has been previously reported in the case of red wine phenolic extract and gut probiotic strains (e.g., *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*)<sup>50</sup> and also oenological-origin probiotic strains, which improved inhibitory effects of Provinols against *E. coli* adhesion to intestinal cells.<sup>51</sup> It is a two way interaction: probiotics are able to improve polyphenols bioavailability,<sup>52</sup> whereas gut microbiota is modulated by dietary polyphenols.<sup>2,53</sup> Our results showed that such reciprocal effect was marked for both compounds in the case of adherence competition, which suggests that polyphenols could improve the competition of *S. dentisani* candidate oral probiotic strain against *S. mutans* for cellular receptors. Additionally, a significant effect was observed with caffeic acid on the of *S. mutans* adherence exclusion but not on its adherence displacement, which was

probably due to *S. mutans* being first attached to fibroblasts. These evidence highlight the potential of grape derived polyphenols as natural therapy to prevent caries and periodontal diseases, alone or in combination with traditional treatments. However, the effects mostly depend on particular combinations of phenolic structures, and it would be helpful to clarify the mechanisms of action involved on the prevention of oral diseases as well as determine the phenolic metabolism that take place *in vivo*, in order to design an effective strategy.

Dietary polyphenols go through several modifications along the digestive system before reaching systemic circulation, and recent evidence suggested that real executors of benefits implied from intake of dietary polyphenols are the metabolites rather than the parent compounds.<sup>2</sup> The most part of this phenolic metabolism takes place in the gut; however, these transformations start in the oral cavity, where dietary components suffer mechanical and chemical alterations.<sup>2</sup> As far as we are aware, only a little evidence has been focused on the study of oral metabolism of polyphenols,<sup>18,54,55</sup> and previous findings confirmed the ability of probiotic strains to metabolize oenological extracts releasing phenolic metabolites that enhanced bacterial growth.<sup>50</sup> Our results confirmed for the first time the relevance of bacterial and cellular phenolic metabolism as well as a complementary metabolic action (Tables 3–5). This metabolism included the degradation of precursors into phenolic metabolites as well as other enzymatic reactions. A relevant effect was perceived for bacterial metabolism of proanthocyanidins, catechins, and epicatechins. Microbial catabolism of monomeric galloylated flavan-3-ols start with the fast scission of the ester group from gallic acid by microbial esterases, which leads to the generation of pyrogallol and the monomers (+)-catechin and (–)-epicatechin.<sup>17</sup> A significant degradation of gallic acid, (+)-catechin, and (–)-epicatechin for *S. mutans* and of gallic acid by *P. gingivalis* was observed whereas *F. nucleatum* released gallic acid through esterase activity. Degradation of gallic acid by *S. mutans* and *P. gingivalis* could suggest a deeper transformation of these compounds into some other bioactive derivatives, which would prevent bacterial adhesion. In accordance with these observances, previous studies of the antimicrobial properties of red wine and grape seed extracts in an oral biofilm model revealed a bacterial metabolism of flavan-3-ols precursors, as determined by UHPLC–MS/MS.<sup>18</sup> Procyanidins B1 and B2 were strongly degraded after incubation with *S. mutans* and cells, especially in the case of Vitaflavan which is in agreement with the release and subsequent degradation of gallic acid.

Differences in the ability of oral pathogens to metabolize phenolics were perceived. For instance, *S. mutans* degraded gallic acid independently from phenolic source, whereas the action of *P. gingivalis* over this compound is moderate, which might suggest a stronger esterase and decarboxylase activities of *S. mutans*. 4-Hydroxyphenylacetic acid, originated from sequential  $\alpha$ -oxidations from (hydroxyphenyl)propionic acids, was only detected due to *P. gingivalis* metabolism. *p*-Coumaric acid metabolism rarely varied: it remained stable in all the incubations, standing out as a direct effector of the inhibition of the bacterial adhesion. On the contrary, *p*-coumaric acid from Vitaflavan become partially degraded by *P. gingivalis* and *S. mutans*. This suggests that the wide variety of bacterial functionalities observed *in vivo*, might be due to the existence of bacterial consortiums rather than to the activity of isolate species. In this context, phenolic metabolism would occur in a sequential manner, leading to the production of a huge variety of chemical structures, depending on the microbial ecology

present.<sup>56</sup> Other limiting factor in phenolic metabolism is their structural and stereo chemical characteristics, which determines the bioaccessibility to phenolic substrate.<sup>17</sup> Additionally, a bottleneck that limits these studies is the individual variability, in microbial composition and in physiological parameters, such as salivary composition. It is also important to point out the contribution of cellular metabolism, rarely explored.<sup>57</sup> In our study, a degradation of 3,5-dihydroxybenzoic acid from Provinols was perceived for *P. gingivalis* but only in the presence of cells or coincubations, which suggest a bacterial and cellular ability to transform it into some other derivatives, such as vanillic or hydroxybenzoic acids. In agreement with our evidence, Mena and coworkers recently demonstrated the role of cellular phenolic metabolism of flavan-3-ols in the inhibition of bacterial adhesion to bladder epithelial cells.<sup>58</sup> Also, caffeic acid was degraded by *S. mutans* in the presence of cells, highlighting the cellular hydrolytic activity, together with a collaborative action with the pathogen. This is in agreement with the oxidation of caffeic acid catalyzed by cellular enzymes, such as peroxidases and tyrosinases.<sup>59</sup> With regard to nonflavonoids compounds, the most common microbial metabolites of caffeic acid are hydroxyphenyl propionic and protocatechuic acids.<sup>18</sup> Protocatechuic acid (3,4-dihydroxybenzoic acid) was partially degraded only in the presence of *P. gingivalis*. Additionally, the content of this compound was significantly increased in the presence of *F. nucleatum*, whereas coincubations with cells improved its degradation.

Study of bacterial phenolic metabolism is of high relevance in order to determine which compounds are the real inhibitors of bacterial adhesion and design an antiadhesive strategy. Furthermore, in a condition of disease, an overgrowth of pathogenic bacteria is triggered and phenolic metabolism in plaque will be mainly due to pathogenic activity. At this point, LC–MS techniques constitute a useful approach, as shown in previous research. Walle and colleagues<sup>54</sup> reported a release of aglycones from flavonoid glycosides (e.g., quercetin, genistein) by microbial  $\beta$ -glucosidases and also hydrolytic activity of oral cells by using HPLC. A similar study with LC–MS/MS revealed a contribution of human oral epithelial tissue, salivary, and microbial enzymatic activity in phenolic metabolism of anthocyanidins.<sup>60</sup> Our study, based on an *in vitro* model of bacterial adherence results, is very useful as an initial approach to go deeper into the mechanisms of action of red wine polyphenols against oral diseases. Further steps should be addressed toward the use of mixed biofilms models which can mimic bacteria–bacteria interactions as well as some other conditioning factors that should be added to multifactorial assays. Once molecular mechanisms of action become elucidated, *in vivo* studies of periodontal and cariogenic diseases are recommended, in order to evaluate the potential of polyphenols as preventive therapies in the management of cariogenic and periodontal diseases.

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*E-mail: [victoria.moreno@csic.es](mailto:victoria.moreno@csic.es).

### ORCID

M. Victoria Moreno-Arribas: 0000-0002-4136-595X

### Funding

This work was funded by the Spanish MINECO (Grant AGL2015-64522-C2-R project) and Comunidad de Madrid (Grant ALIBIRD-CM S2013/ABI-2728).

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ACKNOWLEDGMENTS

A.E-F and I.Z-P are recipients of fellowships from the FPI-MINECO Programme.

## REFERENCES

- (1) Del Rio, D.; Costa, L. G.; Lean, M. E. J.; Crozier, A. Polyphenols and health: What compounds are involved? *Nutr., Metab. Cardiovasc. Dis.* **2010**, *20* (1), 1–6.
- (2) Cueva, C.; Gil-Sánchez, I.; Ayuda-Durán, B.; González-Manzano, S.; González-Paramás, A. M.; Santos-Buelga, C.; Bartolomé, B.; Victoria Moreno-Arribas, M. An integrated view of the effects of wine polyphenols and their relevant metabolites on gut and host health. *Molecules* **2017**, *22* (1), 99.
- (3) Estruch, R.; Ros, E.; Salas-Salvadó, J.; Covas, M.-I.; Corella, D.; Arós, F.; Gómez-Gracia, E.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Fiol, M.; Lapetra, J.; Lamuela-Raventós, R. M.; Serra-Majem, L.; Pintó, X.; Basora, J.; Muñoz, M. A.; Sorlí, J. V.; Martínez, J. A.; Martínez-González, M. A. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *368* (14), 1279–1290.
- (4) Vázquez-Fresno, R.; Llorach, R.; Urpi-Sarda, M.; Khymenets, O.; Bulló, M.; Corella, D.; Fitó, M.; Martínez-González, M. A.; Estruch, R.; Andres-Lacueva, C. An NMR metabolomics approach reveals a combined-biomarkers model in a wine interventional trial with validation in free-living individuals of the PREDIMED study. *Metabolomics* **2015**, *11* (4), 797–806.
- (5) Queipo-Ortuno, M. I.; Boto-Ordóñez, M.; Murri, M.; Gomez-Zumaquero, J. M.; Clemente-Postigo, M.; Estruch, R.; Cardona Diaz, F.; Andres-Lacueva, C.; Tinahones, F. J. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *Am. J. Clin. Nutr.* **2012**, *95* (6), 1323–34.
- (6) Moreno-Indias, I.; Sanchez-Alcoholado, L.; Perez-Martinez, P.; Andres-Lacueva, C.; Cardona, F.; Tinahones, F.; Queipo-Ortuno, M. I. Red wine polyphenols modulate fecal microbiota and reduce markers of the metabolic syndrome in obese patients. *Food Funct.* **2016**, *7* (4), 1775–1787.
- (7) Barroso, E.; Munoz-Gonzalez, I.; Jimenez, E.; Bartolome, B.; Moreno-Arribas, M. V.; Pelaez, C.; Del Carmen Martinez-Cuesta, M.; Requena, T. Phylogenetic profile of gut microbiota in healthy adults after moderate intake of red wine. *Mol. Nutr. Food Res.* **2017**, *61* (3), 1600620.
- (8) Palmer, R. J., Jr. Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontol.* **2000** **2014**, *64* (1), 20–39.
- (9) Marsh, P. D.; Bradshaw, D. J. Dental plaque as a biofilm. *J. Ind. Microbiol.* **1995**, *15* (3), 169–75.
- (10) Esteban-Fernández, A.; Zorraquín-Peña, I.; González de Llano, D.; Bartolomé, B.; Moreno-Arribas, M. V. The role of wine and food polyphenols in oral health. *Trends Food Sci. Technol.* **2017**, *69* (Part A), 118–130.
- (11) Takahashi, N.; Nyvad, B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J. Dent. Res.* **2011**, *90* (3), 294–303.
- (12) Conrads, G. Oral anaerobes in health and disease. *Anaerobe* **2015**, *35* (Pt A), 1–2.
- (13) Loesche, W. J. Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. In *Medical Microbiology*, 4th ed.; Baron, S., Ed.; University of Texas Medical Branch at Galveston: Galveston, TX, 1996.
- (14) López-López, A.; Camelo-Castillo, A.; Ferrer, M. D.; Simon-Soro, Á.; Mira, A. Health-Associated Niche Inhabitants as Oral Probiotics: The Case of *Streptococcus dentisani*. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 379.
- (15) Gupta, N. D.; Sharma, S.; Sharma, V. K. Probiotic – An emerging therapy in recolonizing periodontal pocket. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* **2017**, *7* (1), 72–73.
- (16) Burton, J. P.; Wescombe, P. A.; Moore, C. J.; Chilcott, C. N.; Tagg, J. R. Safety Assessment of the Oral Cavity Probiotic *Streptococcus salivarius* K12. *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, *72* (4), 3050–3053.
- (17) Monagas, M.; Urpi-Sarda, M.; Sanchez-Patan, F.; Llorach, R.; Garrido, I.; Gomez-Cordoves, C.; Andres-Lacueva, C.; Bartolome, B. Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Funct.* **2010**, *1* (3), 233–53.
- (18) Muñoz-González, I.; Thurnheer, T.; Bartolomé, B.; Moreno-Arribas, M. V. Red Wine and Oenological Extracts Display Antimicrobial Effects in an Oral Bacteria Biofilm Model. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (20), 4731–4737.
- (19) Sánchez-Patán, F.; Cueva, C.; Monagas, M.; Walton, G. E.; Gibson, M. G. R.; Quintanilla-López, J. E.; Lebrón-Aguilar, R.; Martín-Álvarez, P. J.; Moreno-Arribas, M. V.; Bartolomé, B. In Vitro Fermentation of a Red Wine Extract by Human Gut Microbiota: Changes in Microbial Groups and Formation of Phenolic Metabolites. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (9), 2136–2147.
- (20) Sánchez-Patán, F.; Cueva, C.; Monagas, M.; Walton, G. E.; Gibson, G. R.; Martín-Álvarez, P. J.; Victoria Moreno-Arribas, M.; Bartolomé, B. Gut microbial catabolism of grape seed flavan-3-ols by human faecal microbiota. Targetted analysis of precursor compounds, intermediate metabolites and end-products. *Food Chem.* **2012**, *131* (1), 337–347.
- (21) García-Ruiz, A.; Moreno-Arribas, M. V.; Martín-Álvarez, P. J.; Bartolomé, B. Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, *145* (2–3), 426–431.
- (22) Wang, Y.; Chung, F. F.; Lee, S. M.; Dykes, G. A. Inhibition of attachment of oral bacteria to immortalized human gingival fibroblasts (HGF-1) by tea extracts and tea components. *BMC Res. Notes* **2013**, *6*, 143.
- (23) Muñoz-González, I.; Jiménez-Girón, A.; Martín-Álvarez, P. J.; Bartolomé, B.; Moreno-Arribas, M. V. Profiling of Microbial-Derived Phenolic Metabolites in Human Feces after Moderate Red Wine Intake. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61* (39), 9470–9479.
- (24) García-Ruiz, A.; Bartolomé, B.; Martínez-Rodríguez, A. J.; Pueyo, E.; Martín-Álvarez, P. J.; Moreno-Arribas, M. V. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control* **2008**, *19* (9), 835–841.
- (25) Cueva, C.; Moreno-Arribas, M. V.; Martín-Álvarez, P. J.; Bills, G.; Vicente, M. F.; Basilio, A.; Rivas, C. L.; Requena, T.; Rodríguez, J. M.; Bartolome, B. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res. Microbiol.* **2010**, *161* (5), 372–82.
- (26) Cueva, C.; Mingo, S.; Munoz-Gonzalez, I.; Bustos, I.; Requena, T.; del Campo, R.; Martín-Álvarez, P. J.; Bartolome, B.; Moreno-Arribas, M. V. Antibacterial activity of wine phenolic compounds and oenological extracts against potential respiratory pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* **2012**, *54* (6), 557–63.
- (27) Almeida, A. A. P.; Naghietini, C. C.; Santos, V. R.; Antonio, A. G.; Farah, A.; Glória, M. B. A. Influence of natural coffee compounds, coffee extracts and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Food Res. Int.* **2012**, *49* (1), 459–461.
- (28) Barrientos, L.; Herrera, C. L.; Montenegro, G.; Ortega, X.; Veloz, J.; Alvear, M.; Cuevas, A.; Saavedra, N.; Salazar, L. A. Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Braz. J. Microbiol.* **2013**, *44* (2), 577–85.
- (29) Lima, V. N.; Oliveira-Tintino, C. D. M.; Santos, E. S.; Morais, L. P.; Tintino, S. R.; Freitas, T. S.; Geraldo, Y. S.; Pereira, R. L. S.; Cruz, R. P.; Menezes, I. R. A.; Coutinho, H. D. M. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microb. Pathog.* **2016**, *99*, 56–61.
- (30) Nakamura, K.; Ishiyama, K.; Sheng, H.; Ikai, H.; Kanno, T.; Niwano, Y. Bactericidal Activity and Mechanism of Photoirradiated Polyphenols against Gram-Positive and -Negative Bacteria. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (35), 7707–13.
- (31) Furiga, A.; Lonvaud-Funel, A.; Badet, C. In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chem.* **2009**, *113* (4), 1037–1040.
- (32) Ben Lagha, A.; Dudonne, S.; Desjardins, Y.; Grenier, D. Wild Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) Polyphenols Target *Fusobacterium nucleatum* and the Host Inflammatory Response:

Potential Innovative Molecules for Treating Periodontal Diseases. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (31), 6999–7008.

(33) Daglia, M.; Papetti, A.; Grisoli, P.; Aceti, C.; Dacarro, C.; Gazzani, G. Antibacterial Activity of Red and White Wine against Oral Streptococci. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55* (13), 5038–5042.

(34) Krachler, A. M.; Orth, K. Targeting the bacteria–host interface: Strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence* **2013**, *4* (4), 284–294.

(35) Yamanaka, A.; Kimizuka, R.; Kato, T.; Okuda, K. Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Oral Microbiol. Immunol.* **2004**, *19* (3), 150–4.

(36) Berlutti, F.; Catizone, A.; Ricci, G.; Frioni, A.; Natalizi, T.; Valenti, P.; Polimeni, A. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus are able to adhere and invade human gingival fibroblast cell line. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* **2010**, *23* (4), 1253–60.

(37) Daglia, M.; Stauder, M.; Papetti, A.; Signoretto, C.; Giusto, G.; Canepari, P.; Pruzzo, C.; Gazzani, G. Isolation of red wine components with anti-adhesion and anti-biofilm activity against Streptococcus mutans. *Food Chem.* **2010**, *119* (3), 1182–1188.

(38) Ben Lagha, A.; Haas, B.; Grenier, D. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 44815.

(39) Saito, Y.; Fujii, R.; Nakagawa, K. I.; Kuramitsu, H. K.; Okuda, K.; Ishihara, K. Stimulation of Fusobacterium nucleatum biofilm formation by Porphyromonas gingivalis. *Oral Microbiol. Immunol.* **2008**, *23* (1), 1–6.

(40) Diaz, P. I.; Zilm, P. S.; Rogers, A. H. Fusobacterium nucleatum supports the growth of Porphyromonas gingivalis in oxygenated and carbon-dioxide-depleted environments. *Microbiology (London, U. K.)* **2002**, *148* (2), 467–472.

(41) Kolenbrander, P. E.; Palmer, R. J., Jr; Periasamy, S.; Jakobovics, N. S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, *8*, 471.

(42) Mira, A. Oral microbiome studies: potential diagnostic and therapeutic implications. *Adv. Dent. Res.* **2018**, *29*, 71–77.

(43) Labrecque, J.; Bodet, C.; Chandad, F.; Grenier, D. Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of Porphyromonas gingivalis. *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, *58* (2), 439–443.

(44) La, V. D.; Howell, A. B.; Grenier, D. Anti-Porphyromonas gingivalis and anti-inflammatory activities of A-type cranberry proanthocyanidins. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54* (5), 1778–84.

(45) Silva, A. P.; Goncalves, R. S.; Borges, A. F.; Bedran-Russo, A. K.; Shinohara, M. S. Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *Journal of applied oral science: revista FOB* **2015**, *23* (3), 302–9.

(46) Park, H.-J.; Jeong, S.-K.; Kim, S.-R.; Bae, S.-K.; Kim, W.-S.; Jin, S.-D.; Koo, T. H.; Jang, H.-O.; Yun, I.; Kim, K.-W.; Bae, M.-K. Resveratrol inhibits Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced endothelial adhesion molecule expression by suppressing NF- $\kappa$ B activation. *Arch. Pharmacol. Res.* **2009**, *32* (4), 583–591.

(47) Minagawa, T.; Okui, T.; Takahashi, N.; Nakajima, T.; Tabeta, K.; Murakami, S.; Yamazaki, K. Resveratrol suppresses the inflammatory responses of human gingival epithelial cells in a SIRT1 independent manner. *J. Periodontal Res.* **2015**, *50* (5), 586–593.

(48) Sakanaka, S.; Aizawa, M.; Kim, M.; Yamamoto, T. Inhibitory Effects of Green Tea Polyphenols on Growth and Cellular Adherence of an Oral Bacterium, Porphyromonas gingivalis. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **1996**, *60* (5), 745–749.

(49) Kline, K. A.; Falker, S.; Dahlberg, S.; Normark, S.; Henriques-Normark, B. Bacterial Adhesins in Host-Microbe Interactions. *Cell Host Microbe* **2009**, *5* (6), 580–592.

(50) González de Llano, D.; Gil-Sánchez, I.; Esteban-Fernández, A.; Ramos, A. M.; Fernández-Díaz, M.; Cueva, C.; Moreno-Arribas, M. V.; Bartolomé, B. Reciprocal beneficial effects between wine polyphenols and probiotics: an exploratory study. *Eur. Food Res. Technol.* **2017**, *243* (3), 531–538.

(51) García-Ruiz, A.; González de Llano, D.; Esteban-Fernández, A.; Requena, T.; Bartolomé, B.; Moreno-Arribas, M. V. Assessment of

probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food Microbiol.* **2014**, *44*, 220–5.

(52) Pereira-Caro, G.; Oliver, C. M.; Weerakkody, R.; Singh, T.; Conlon, M.; Borges, G.; Sanguansri, L.; Lockett, T.; Roberts, S. A.; Crozier, A.; Augustin, M. A. Chronic administration of a micro-encapsulated probiotic enhances the bioavailability of orange juice flavanones in humans. *Free Radical Biol. Med.* **2015**, *84*, 206–14.

(53) Faria, A.; Fernandes, I.; Norberto, S.; Mateus, N.; Calhau, C. Interplay between anthocyanins and gut microbiota. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (29), 6898–902.

(54) Walle, T.; Browning, A. M.; Steed, L. L.; Reed, S. G.; Walle, U. K. Flavonoid glucosides are hydrolyzed and thus activated in the oral cavity in humans. *J. Nutr.* **2005**, *135* (1), 48–52.

(55) Muñoz-González, C.; Cueva, C.; Angeles Pozo-Bayon, M.; Victoria Moreno-Arribas, M. Ability of human oral microbiota to produce wine odorant aglycones from odourless grape glycosidic aroma precursors. *Food Chem.* **2015**, *187*, 112–9.

(56) Cueva, C.; Sanchez-Patan, F.; Monagas, M.; Walton, G. E.; Gibson, G. R.; Martín-Alvarez, P. J.; Bartolomé, B.; Moreno-Arribas, M. V. In vitro fermentation of grape seed flavan-3-ol fractions by human faecal microbiota: changes in microbial groups and phenolic metabolites. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2013**, *83* (3), 792–805.

(57) Aragónes, G.; Danesi, F.; Del Rio, D.; Mena, P. The importance of studying cell metabolism when testing the bioactivity of phenolic compounds. *Trends Food Sci. Technol.* **2017**, *69*, 230–242.

(58) Mena, P.; González de Llano, D.; Brindani, N.; Esteban-Fernández, A.; Curti, C.; Moreno-Arribas, M. V.; Del Rio, D.; Bartolomé, B. 5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)- $\gamma$ -valerolactone and its sulphate conjugates, representative circulating metabolites of flavan-3-ols, exhibit anti-adhesive activity against uropathogenic Escherichia coli in bladder epithelial cells. *J. Funct. Foods* **2017**, *29*, 275–280.

(59) Moridani, M. Y.; Scobie, H.; Jamshidzadeh, A.; Salehi, P.; O'Brien, P. J. Caffeic acid, chlorogenic acid, and dihydrocaffeic acid metabolism: glutathione conjugate formation. *Drug Metab. Dispos.* **2001**, *29* (11), 1432–1439.

(60) Mallery, S. R.; Budendorf, D. E.; Larsen, M. P.; Pei, P.; Tong, M.; Holpuch, A. S.; Larsen, P. E.; Stoner, G. D.; Fields, H. W.; Chan, K. K.; Ling, Y.; Liu, Z. Effects of human oral mucosal tissue, saliva, and oral microflora on intraoral metabolism and bioactivation of black raspberry anthocyanins. *Cancer Prev. Res.* **2011**, *4* (8), 1209–21.