Lepsky V. V., Anisimov V. Yu., Lepsky V. V. Биохимические механизмы кариеспрофилактического действия гексафторсиликатов = Biochemical mechanisms of the caries prophylaxis action of hexafluorosilicates. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(11):289-299. ISSN 2391-8306. DOI http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.34024
http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2811%29%3A289-299
https://pbn.nauka.gov.pl/works/670448
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014 http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive

Deklaracja.
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).
© The Author (s) 2015;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 25.09.2015. Revised 25.10.2015. Accepted: 10.11.2015.

УДК 616.31+612.084+546.161

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КАРИЕСПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕКСАФТОРСИЛИКАТОВ
BIOCHEMICAL MECHANISMS OF THE CARIES PROPHYLAXIS ACTION OF HEXAFLUOROSILICATES

В. В. Лепский[1], В. Ю. Анисимов[2], В. В. Лепский[1]
V. V. Lepsky[1], V. Yu. Anisimov[2], V. V. Lepsky[1]

[1]ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» (г. Одесса, Украина)
[2]Одесский национальный медицинский университет (Украина)
[1]SE«The Institute of Stomatology of the National acfdemie of medical science of Ukraine» (Odessa, Ukraine)
[2]Odessa National Medical University (Ukraine)

Summary

Aim: To determine the biochemical mechanisms of the anticariotic action of hexafluorosilicates and select the most active of them.

Methods: In this work there were used 5 "onium" hexafluorosilicates (containing NH3, chlorhexidine, polyhexamethyleneguanidine, cetylpyridinium, pyridoxine) and sodium fluoride. Those were used in the form of gels and applied on teeth and gums in the dose containing 1.36 mg / kg of fluoride per day. The caries prophylaxiseffectiveness was evaluated by the number of dental caries in rats treated with the Stefan‘s cariogenic diet for 35 days. Alkaline (AlP) and acid (AcP) phosphatases‘ activities among with lysozyme activity

were determined in the dental pulp. The index of mineralized pulp was calculated as the ratio AlP / AcP.

Results: All tested hexafluorosilicates were more effective than sodium fluoride. The most efficient was cetylpyridinium hexafluorosilicate in the dose 15 mg / kg. The biochemical mechanism of the caries prophylaxis action of hexafluorosilicates is the activation of alkaline phosphatase AlP and pulp‘s lysozyme.

Keywords: hexafluorosilicates, dental caries, pulp, phosphatase, lysozyme, oral gels.

Резюме

«Ониевые» гексафторсиликаты (ГФС) обладают более высокой кариеспрофилактической эффективностью по сравнению с фторидом натрия. Наиболее активным оказался цетилпиридиниевый гексафторсиликат в дозе 15 мг/кг при использовании в виде оральных аппликаций геля. Механизм действия ГФС состоит в активации щелочной фосфатазы и лизоцима пульпы зубов.

Ключевые слова: гексафторсиликаты, кариес зубов, пульпа, фосфатаза, лизоцим, оральные гели.

Введение

Биохимическая роль фтора как алиментарного фактора (биомикроэлемент) состоит в его участии в минеральном обмене в костях и зубах. Проявлением этого участия является кариеспрофилактическое и остеопротекторное действие, что обусловило его широкое применение в стоматологии и ортопедии [1-3].

К сожалению, повышенная доза фтора может приводить к связыванию иона кальция, превращая его в инертный кальция фторид, а также оказывать гепатотоксическое действие [4-8].

Поэтому были предложены разные комплексные формы фтора, которые снизили его способность связывать ион кальция, однако не устранили (а в некоторых случаях даже усилили) его гепатотоксическое действие [9].

Одной из связанных форм фтора являются гексафторсиликаты (SiF_6), которые практически полностью лишены вышеуказанных недостатков фторида натрия [10-12].

Целью настоящей работы стало определение биохимических механизмов кариеспрофилактического действия «ониевых» гексафторсиликатов и выбор из них наиболее активного соединения. Оценивали уровень активности фосфатаз, минерализующий индекс и активность лизоцима в пульпе зубов, а также уровень гемоглобина, аланинтрансаминазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и лизоцима в сыворотке крови.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы «ониевые» гексафторсиликаты [12], перечень которых приведены в таблице 1. Они использовались в составе мукозо-адгезивных фитогелей [13] в концентрации, которая обеспечивала одинаковую дозу фтора 1,36 мг/кг живой массы в день.

Было проведено две серии экспериментов. В первой серии было использовано 56 белых крыс линии Вистар, обоего пола в возрасте 1,5-2 месяца, которые распределили в 8 равных групп (табл. 1). Крысы 2-8 групп получали кариесогенный рацион (КГР) Стефана [14] и ежедневно аппликации на зубы и десна соответствующего геля в дозе 0,3 мл на крысу (за 30 мин. до еды). Продолжительность опыта составила 35 дней. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Таблица 1

Экспериментальные группы крыс, получавших КГР и гексафторсиликаты (все группы по 7 крыс)

№ п/п	Группы	Препарат	Доля фтора	Содержание препарата в геле, мг/мл
1	Норма	(интактная)	-	-
2	КГР	контроль	-	-
3	КГР	Фторид натрия NaF	0,4529	1,50
4	КГР	Гексафторсиликат аммония $(NH_4)_2SiF_6$	0,6398	1,06
5	КГР	Гексафторсиликат хлоргексидина $(C_{22}H_{32}Cl_2N_{10})SiF_6$	0,1755	3,88
6	КГР	Гексафторсиликат полигексаметиленгуанидиния $(C_{21}H_{45}N_9)(SiF_6)_{1,5}$	0,2673	2,54
7	КГР	Гексафторсиликат цетилпиридиния $(C_{21}H_{38}N)_2SiF_6$	0,1517	4,49
8	КГР	Гексафторсиликат пиридоксина $(C_8H_{12}NO_3)_2\ SiF_6$	0,2291	2,97

Выделяли челюсти, извлекали пульпу из резцов и осуществляли подсчет кариозных полостей и глубину кариозных поражений [14]. В пульпе определяли активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз по расщеплению пара-нитрофенилфосфата натрия при pH 10,5 и 4,8 соответственно [15], а также активность лизоцима бактериолитическим методом [16]. По соотношению ЩФ/КФ рассчитывали минерализующий индекс МИ [17].

Во второй серии было использовано 24 белых крысы линии Вистар (самцы, один месяц), распределенные в 4 равные группы: 1-ая (контроль) получала пустой гель без фторпрепарата. Крысы 2-й, 3-й и 4-й групп получали аппликации по 0,3 мл гелей, содержащих 1,5 мг/мл, 3,0 мг/мл и 6,0 мг/мл цетилпиридиниевого гексафторсиликата соответственно. Это давало следующие дозировки гексафторсиликата: 7,5; 15 и 30 мг/кг живой массы соответственно (в пересчете на фтор 1,14; 2,27 и 4,55 мг/кг). Продолжительность эксперимента составила 35 дней. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом путем тотального кровопускания из сердца. Выделяли челюсти, из резцов извлекали пульпу, в гомогенате которой определяли активность ЩФ и КФ и по их соотношению индекс МИ. В сыворотке крови определяли содержание гемоглобина [18], активность АЛТ [18], ЩФ и лизоцима.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты определения кариеспрофилактической эффективности (КПЭ) фитогеля с гексафторсиликатами, из которых видно, что все фторсиликаты обладают более высокой КПЭ по сравнению с NaF, причем в наибольшей степени цетилпиридиниевый гексафторсиликат. У этого препарата оказалась и самая высокая минерализующая способность пульпы (рис. 1). Индекс МИ зависит, главным образом от уровня ЩФ, которая продуцируется остеобластами. Как видно из данных, представленных на рис. 2, гексафторсиликаты значительно повышают активность ЩФ, особенно цетилпиридиниевый гексафторсиликат. КГР вызывает 5-кратное снижение в пульпе активности лизоцима (показателя неспецифического иммунитета) [16]. Аппликации гелей достоверно повышают активность лизоцима в пульпе, причем в наибольшей степени цетилпиридиниевый гексафторсиликат.

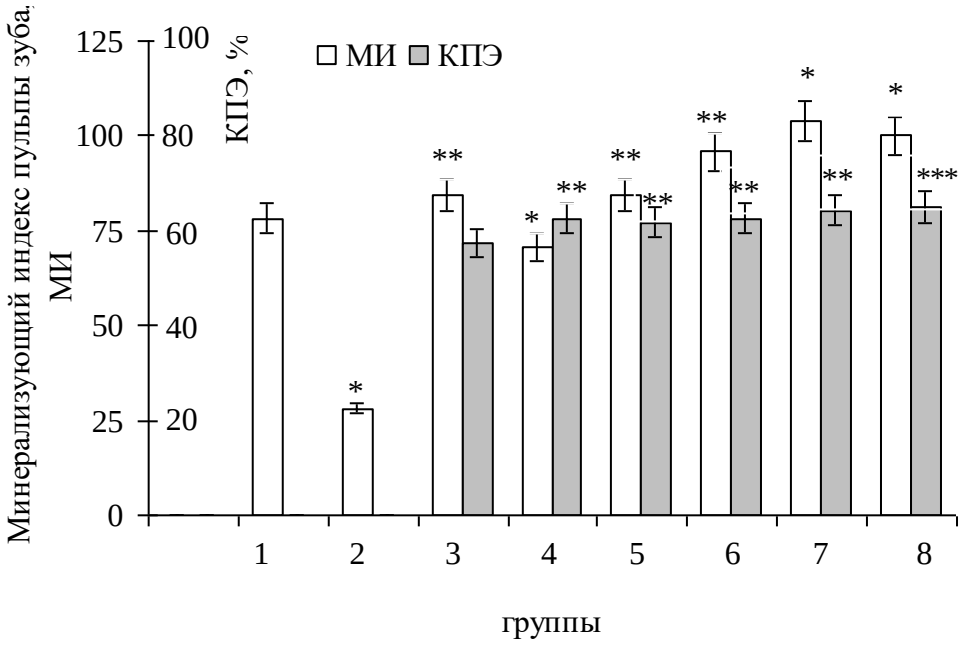

Рис. 1 Влияние гексафторсиликатов на минерализующий индекс пульпы зубов и КПЭ у крыс, получавших КГР (*-р<0,05 в сравнении с группой 1; **-р<0,05 в сравнении с группой 2; ***-р<0,05 в сравнении с группой 3; группы - см. табл. 1)

Исследования во второй серии опытов зависимости «доза-эффект» показало, что с увеличением дозы цетилпиридиниевого гексафторсиликата снижается число кариозных поражений и их глубина, причем высокий эффект достигается уже с дозы 15 мг/кг-день (рис. 3).

Определение индекса МИ в пульпе (рис. 4) также показало наибольший уровень при дозе 15 мг/кг, обусловленный более высокой активностью ЩФ (табл. 2).

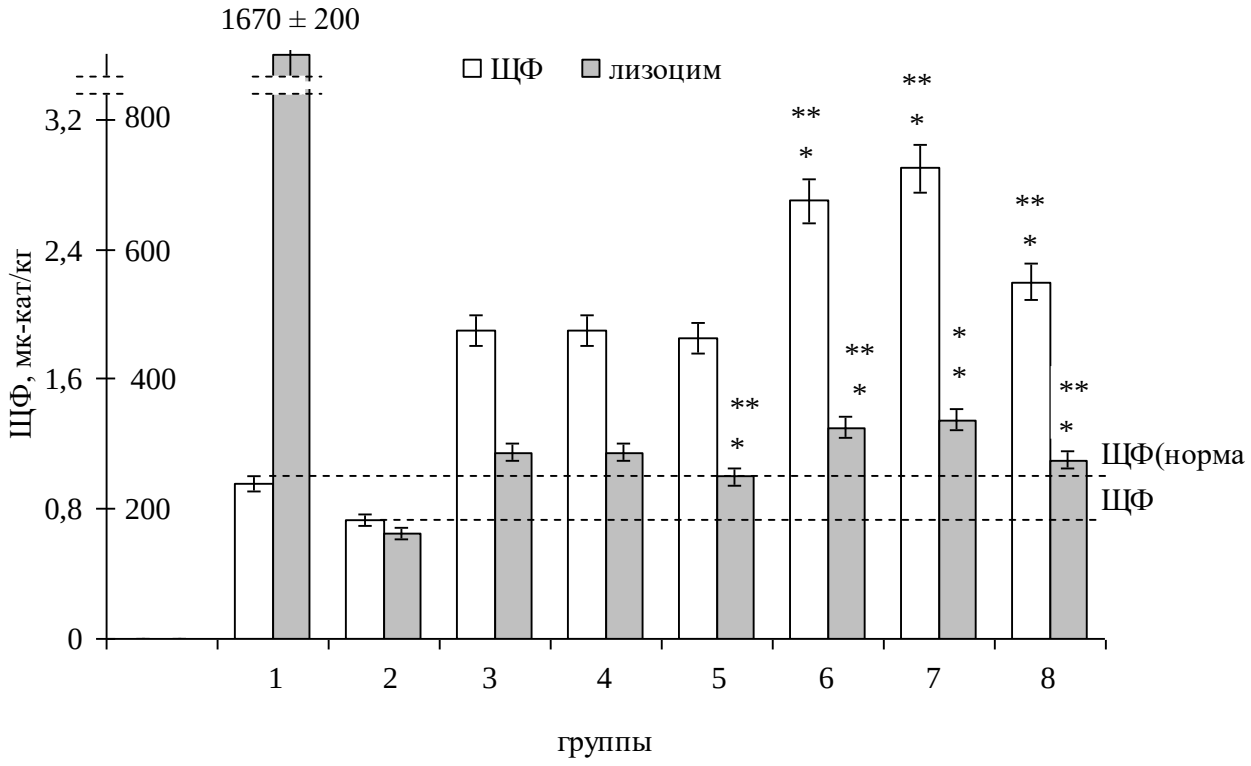

Рис. 2 Влияние гексафторсиликатов на активность ЩФ и лизоцима в пульпе зубов крыс, получавших КГР (* - p<0,05 в сравнении с группой 1; ** - p<0,05 в сравнении с группой 2)

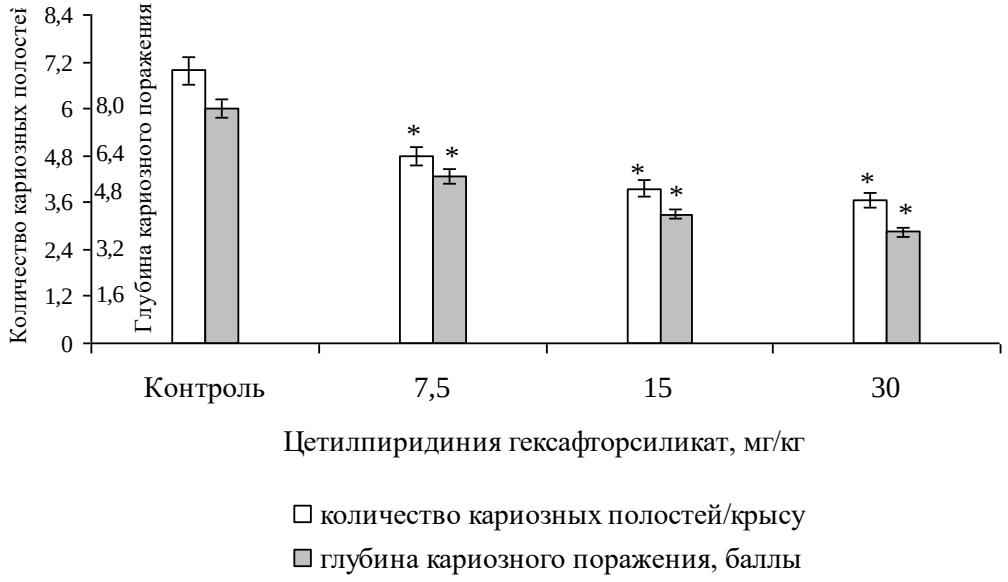

Рис. 3. Влияние дозы цетилпиридиния гексафторсиликата на число и глубину кариозных поражений

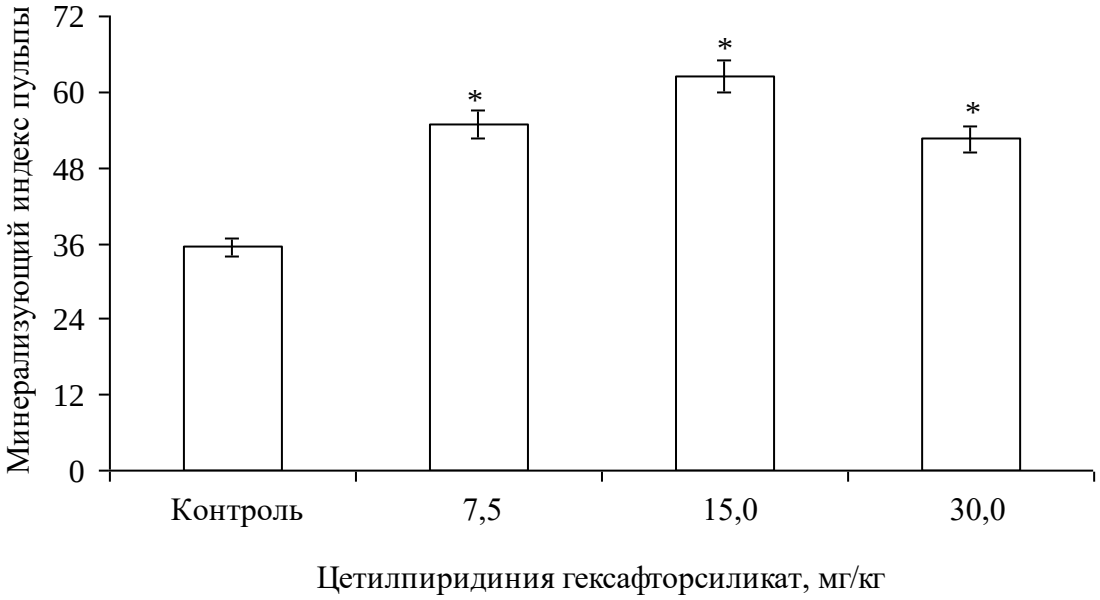

Рис. 4. Влияние дозы цетилпиридиния гексафторсиликата на минерализующий индекс пульпы зубов

Таблица 2

Влияние разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата на активность фосфатаз пульпы

зубов крыс, получавших кариесогенный рацион (M±m, n=6)

Доза препарата	Щелочная фосфатаза, мк-кат/кг	Кислая фосфатаза, мк-кат/кг
Контроль	1910±130	54±1
7,5 мг/кг (F=1,14 мг/кг)	2650±170 p<0,05	48±2 p<0,05
15 мг/кг (F=2,27 мг/кг)	2820±210 p<0,01	45±4 p<0,05
30 мг/кг (F=4,54 мг/кг)	2200±190 p>0,05	42±1 p<0,01

Результаты исследования биохимических маркеров крови крыс, получавших разные дозы цетилпиридиниевого гексафторсиликата, представлены в таблице 3, из которой следует, что в исследованных дозах этот препарат не оказывает токсического действия.

Таблица 3

Влияние разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата на биохимические показатели крови крыс, получавших кариесогенный рацион (M±m, n=6)

Показатели	Гр. 1	Гр. 2	Гр. 3	Гр. 4
	Цетилпиридиния гексафторсиликат, мг/кг			
	Контроль	7,5	15,0	30,0
Гемоглобин крови, г/л	176,0±1,9	175,6±7,5 p>0,5	170,2±12,5 p>0,3	170,2±5,7 p>0,3
АЛТ сыворотки крови, мк-кат/л	0,49±0,10	0,42±0,11 p>0,3	0,38±0,02 p>0,05	0,39±0,02 p>0,05
ЩФ сыворотки крови, ед/л	5,60±0,41	7,72±0,60 p<0,05	6,08±0,58 p>0,3	5,11±0,02 p>0,1
Лизоцим, ед/л	111±4	112±5 p>0,8	120±4 p>0,05	108±6 p>0,3

Выводы

1. «Ониевые» гексафторсиликаты оказывают более высокий кариеспрофилактический эффект, чем фторид натрия.

2. В механизме кариеспрофилактического действия фторпрепаратов лежит их способность повышать минерализующий индекс и уровень неспецифического иммунитета пульпы зубов.

3. Наиболее активным «ониевым» гексафторсиликатом оказался цетилпиридиниевый гексафторсиликат в дозе 15 мг/кг при использовании в составе орального геля.

Литература

1. Мельниченко Э. М. Системное применение фторидов в профилактике кариеса зубов / Э. М. Мельниченко, Т. Н. Терехова, Т. В. Попруженко. – Минск: МГМИ, 1999. – 158с.

2. Яновский Л. М. Профилактика в XXI веке / Л. М. Яновский // Стоматология – 2003. – т. 82, № 3 – С. 61-63.

3. Порівняльна оцінка різних способів фторпрофілактики карієсу зубів / А. П. Левицький, Г. М. Варава, Т. Ю. Самохіна [та ін.] // Вісник стоматології. – 2005. – № 2. – С. 95-97.

4. Федоренко Ю. В. Протекторна роль пектину та кальцію при роздільній і комбінованій дії свинцю та фтору / Ю. В. Федоренко // Експериментальна фізіологія та біохімія. – 2003. – № 4 (23). – С. 13-18.

5. Влияние интенсивного воздействия фтора на остеокластическую активность / Hua K., Jang S.-F., Zhang W.-L., Li G.S. // J. Filin Univ. Med. Ed. – 2004. - № 3 (30). – P. 345-347.

6. Wu Yu. Влияние передозировки фторидов на экспрессию bFGF в пульпе зубов крыс / Wu Yu, He Kexin, Yang Yiping // J. Pract. Stomatol. – 2005. – V.21, № 5 – P. 641-644.

7. Левицкий А. П. Гепатотоксическое действие фторидов и роль кальцийсодержащих препаратов в его профилактике / А. П. Левицкий, В. Н. Горохивский, И. А. Селиванская // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. - № 3 (37). – С. 136-139.

8. Казарина Л. Н. Влияние реминерализующей терапии на некоторые показатели свободно-радикального окисления и иммунной защиты в слюне детей с флюорозом зубов / Л. Н. Казарина, А. Н. Самаркина, О. О. Гущина // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2015. – Т. 14, № 2(53). – С. 26-29.

9. Косенко К. Н. Профилактическая гигиена полости рта / К. Н. Косенко, Т. П. Терешина. – Одесса: КП ОГТ, 2003. – 296с.

10. Effect of ammonium hexafluorosilicate application for arresting caries treatment on demineralized primary tooth enamel / Y. Hosoya, K. Tadokoro, H. Otani [et al.] / J. Oral Science. – 2013. – V. 55, № 2. – P. 115-121.

11. Preparation, structure and properties of pyridinium / bipyridinium hexafluorosilicates / V. O. Gelmboldt, E. V. Ganin, M. M. Botoshansky [et al.] // Journal of Fluorine Chemistry. – 2014. – V. 160, № 4. – P. 57-63.

12. Gelmboldt V. O. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent / V. O. Gelmboldt, O. V. Prodan, V. Yu. Anisimov // American Journal of Pharmtech Research. – 2014. – V.4, № 6. – P. 513-521.

13. Оценка кариеспрофилактической эффективности «ониевых» гексафторсиликатов / В. В. Лепский, В. Ю. Анисимов, О. В. Продан, В. О. Гельмбольдт // Вісник стоматології. – 2015. - № 2. – С. 5-8.

14. Експериментальне вивчення токсичної дії та специфічної ефективності засобів для догляду за порожниною рота: методичні рекомендації / Т. П. Терешина, К. М. Косенко, А. П. Левицький [та ін.]. – К.: ДФЦ МОЗУ, 2003. – С. 42.

15. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. – Киев, 2005. – 50с.

16. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса, КП ОГТ. – 2005. – 74с.

17. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков, Ю. В. Зеленіна // Одеський медичний журнал. – 2006. - № 3. – С. 17-21.

18. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике [3-е изд.] / А. М. Горячковский. – Одесса: «Экология», 2005. – 616 с.

References

1. Mel'nichenko E. M., Terekhova T. N., Popruzhenko T. V. Sistemnoe primenenie ftoridov v profilaktike kariesa zubov [Systemic administration of fluoride in the prophylaxis of dental caries]. Minsk, MGMI, 1999: 158.

2. Yanovskiy L. M. Prophylaxis in the XXI century. Stomatologiya. 2003; 82(3): 61-63.

3. Levitsky A. P., Varava G. M., Samokhina T. Yu. [et al.]. Comparative evaluation of different methods of the fluoride prophylaxis of caries. Visnik stomatologiї. 2005; 2: 95-97.

4. Fedorenko Yu. V. The protective role of pectin and calcium at the separate and combined action of lead and fluoride. Eksperimental'na fiziologiya ta biokhimiya. 2003; 4(23): 13-18.

5. Hua K., Jang S.-F., Zhang W.-L., Li G. S. Effect of the intensive exposure of fluoride on the osteoclastic activity. J. Filin Univ. Med. Ed. 2004; 3(30): 345-347.

6. Wu Yu, He Kexin, Yang Yiping. Effect of the fluoride overdose on the bFGF expression in the rat dental pulp. J. Pract. Stomatol. 2005; 21(5): 641-644.

7. Levitsky A. P., Gorokhivskiy V. N., Selivanskaya I. A. Hepatotoxic effect of fluorides and the role of calcium-containing preparations in its prevention. Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny. 2014; 3(37): 136-139.

8. Kazarina L. N., Samarkina A. N., Gushchina O. O. The effect of the remineralization therapy on some indicators of the free radical oxidation and the immune defense in the saliva of children with dental fluorosis. Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2015; 14 (2(53): 26-29.

9. Kosenko K. N., Tereshina T. P. Profilakticheskaya gigiena polosti rta [The preventive oral hygiene]. Odessa, KP OGT, 2003: 296

10. Hosoya Y., Tadokoro K., Otani H. [et al.]. Effect of ammonium hexafluorosilicate application for arresting caries treatment on demineralized primary tooth enamel. J. Oral Science. 2013; 55(2): 115-121.

11. Gelmboldt V. O., Ganin E. V., Botoshansky M. M. [et al.. Preparation, structure and properties of pyridinium / bipyridinium hexafluorosilicates. Journal of Fluorine Chemistry. 2014; 160(4): 57-63.

12. Gelmboldt V. O., Prodan O. V., Anisimov V. Yu. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent. American Journal of Pharmtech Research. 2014; 4(6): 513-521.

13. Lepskiy V. V., Anisimov V. Yu., Prodan O. V., Gelmboldt V. O. Experimental evaluation of caries preventive efficiency “onium” hexafluorosilicates. Visnik stomatologii. 2015; 2: 5-8.

14. Tereshyna T.P., Kosenko K.N. Levitsky A.P. [et al.]. Eksperimentalne vyvchennya toksychnoyi diyi ta spetsyfichnoyi efektyvnosti zasobiv dlya doglyadu za porozhnynoyu rota: metodychni rekomendatsii [Experimental study of the toxic effect and the effectiveness of specific remedies for oral care: methodical recommendations]. Kiev, DFK, 2003: 42.

15. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. [et al.]. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005:50.

16. Levitsky A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.

17. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Khodakov I. V., Zelenina Yu. V. The enzymatic method of the estimation of the state of osseous tissue. Odeskiy medychnyy zhurnal. 2006; 3: 17-21.

18. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005: 616.