

## ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КИСЛОТОПРОДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И ЗУБНОЙ БЛЯШКИ

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия»

### Вступление.

Главной причиной развития кариеса является микрофлора полости рта, а точнее – метаболическая активность её кислотопродуцирующих микроорганизмов (*Streptococcus mutans* и др.), индуцируемая углеводами. Снижение такой активности является важным звеном профилактики кариеса, распространённость которого среди детского и взрослого населения Украины очень высокая. С этой целью используются различные гигиенические и противомикробные средства, действие которых или входящих в них отдельных компонентов на метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов рта исследовано недостаточно [2, 4, 11]. Это относится и к антиоксидантам, которые применяются в пищевой промышленности для сохранения продуктов питания [13], в медицинской практике – для лечения разнообразных заболеваний [1, 3, 12] и в стоматологии в составе жевательных резинок, зубных паст, ополаскивателей полости рта [2, 4, 8, 11].

Мы предположили, что антиоксиданты могут влиять на метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов ротовой жидкости (РЖ) и зубной бляшки (ЗБ) людей, что повлечёт за собой изменение в них показателя рН, что может отразиться на поражаемости зубов кариесом. Однако этот вопрос изучен ещё недостаточно, поэтому является актуальным.

**Цель исследования.** Поиск средств профилактики кариеса зубов среди синтетических антиоксидантов, которые значительно тормозили бы метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов полости рта, вызванную углеводной нагрузкой.

**Материал и методы исследования.** Одним из показателей, свидетельствующих о противокариозном действии различных препаратов, является их способность подавлять кислотопродукцию микроорганизмами РЖ и ЗБ, вызванную углеводной нагрузкой [7]. Вот почему в нашей работе объектом исследования явилась способность трёх синтетических антиоксидантов предупреждать превращение РЖ в деминерализующую, а ЗБ – в кариесогенную, обусловленную углеводной нагрузкой. РЖ считается деминерализующей при значении рН 6,2 [5], а ЗБ становится кариесогенной при рН 5,2 [14]. Изучались порошки синтетических антиоксидантов, выработанных в России и США, которые не входят в список запрещённых или не разрешённых к применению в Украине: пропилгаллата, додецилгаллата и дибунола в виде их водных суспензий. Эти антиоксиданты подпадают под рубрику пищевых добавок в классификации ЕС как Е 310 (пропилгаллат), Е 312 (додецилгаллат) и Е 321 (дибунол). Категорически запрещены в Украине лишь пять веществ: Е 121, Е 123, Е 240, Е 924а и Е 924b. В перечень разрешённых в Украине включены 250 веществ,

а в соответствии с директивами ЕС в Европе допущены к применению более 300. В сборнике же стандартов «Codex Alimentarius», который действует в рамках ВТО, – более 400 [13]. В связи с вступлением Украины в ВТО получено формальное основание ввозить и использовать в стране все импортные красители, консерванты и прочие ингредиенты, которые раньше ввозить запрещалось. Вот почему в Украине сейчас используются едва ли не все существующие в мире ароматизаторы, консерванты и прочие составляющие, в том числе опасные для здоровья.

Исследования *in vitro* были проведены в условиях так называемого «искусственного рта» [8], а исследования *in situ* были проведены на ЗБ с использованием методики, предложенной Hardwick, Manley [14]. В качестве источника, имеющего кислотопродуцирующую микрофлору, для исследований *in vitro* была взята РЖ детей, страдающих системной красной волчанкой (6 человек) и ревматоидным артритом (6 человек), в активной фазе заболевания, у которых были зубы, поражённые кариесом на самых ранних и более поздних стадиях его развития.

Для проведения исследований *in situ* были использованы ЗБ толщиной в 3 балла и находившиеся на нижних третьих молярах 9 студентов-добровольцев с неконтролируемой гигиеной рта. Толщина ЗБ была определена с использованием индекса зубного налёта Silnes-Löe [5]. Эти ЗБ до углеводной нагрузки не были

кариесогенными, а после неё превращались в кариесогенные, что было заранее установлено с использованием методики Hardwick, Manley [14]. В качестве индикатора показателя pH в ЗБ был применен раствор 0,1% метилового красного, который изменяет свой цвет от желтого при pH > 6,2 к красному при значении pH 5,2 и ниже [14]. Если ЗБ после аппликации водной суспензии антиоксиданта, а затем 50 % раствора сахарозы окрашивалась метиловым красным в желтый цвет, то она считалась некариесогенной, а в красный – кариесогенной.

Способность изучаемых антиоксидантов подавлять метаболизм кислотопродуцирующих микроорганизмов РЖ исследовалась так. У 12 детей было собрано в мерные пробирки не менее чем по 6 мл свободно истекающей РЖ. В каждую пробирку было добавлено столько раствора 40 % глюкозы, чтобы её концентрация составила 1 %. В полученном содержимом было измерено исходное значение pH. Затем содержимое пробирок каждого ребёнка было разлито по 1,5 мл по четырем новым пробиркам. Получилось 6 групп пробирок детей, страдающих СКВ,

и 6 групп пробирок детей, страдающих РА. Все пробирки были пронумерованы, а затем с использованием таблицы случайных чисел они были распределены в 4 новые группы с таким расчётом, чтобы в каждую группу входило 6 пробирок детей с системной красной волчанкой и 6 пробирок детей с ревматоидным артритом. После этого лотерейным методом было определено, в какую группу пробирок надо добавить тот или иной антиоксидант, а в какие пробирки антиоксиданты добавлять не следует (контроль). Затем в каждую пробирку из первой группы было внесено по 1,5 мг пропилгаллата. Во вторую группу пробирок внесено по 1,5 мг додецилгаллата. В третью группу пробирок внесено по 1,5 мг дибунула. Четвёртая группа пробирок была контрольной – в неё антиоксиданты не добавляли. После этого пробирки закрывали, встряхивали и ставили в термостат при температуре 37°C. В содержимом пробирок через 3 ч., 24 ч. и 7 суток пребывания в термостате измерялся показатель pH на «Микроаструпе VTS-13» датского производства. Для одного исследования достаточно было 0,1 мл жидкости. Исследование pH

в содержимом пробирок через 7 суток инкубации проведено с целью выяснения предельного падения pH, что может пролить свет на возможное предельное падение pH в ЗБ in situ после углеводной нагрузки. Ведь ЗБ могут иногда находиться на зубах людей многие дни и недели. В общей сложности произведено 192 измерения. Состав содержимого пробирок и фамилии детей лаборанту не сообщались.

В ЗБ способность пропилгаллата тормозить кариесогенную активность кислотопродуцирующих микроорганизмов определялась измерением значения pH после трёхминутной аппликации его водной суспензии (к 1,5 мл дистиллированной воды добавлялось столько же мг антиоксиданта) на ЗБ нижних третьих моляров с последующим полосканием рта в течение 1 мин. 50 % водным раствором сахарозы.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием вариационного анализа с определением вероятности различия по таблицам Стьюдента и непараметрического критерия  $\chi^2$  с использованием таблицы вероятностей  $P(\chi^2)$  [9, 10].

таблица

**Влияние антиоксидантов пропилгаллата, додецилгаллата и дибунула на динамику pH инкубированной при 37°C ротовой жидкости, обогащённой глюкозой**

Время инкубации	Пропилгаллат		Додецилгаллат		Дибунул		Контроль		P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>6</sub>
	M±m		M±m		M±m		M±m				
До инкубации	7,07 n=12	0,021	7,07 n=12	0,021	7,07 n=12	0,021	7,07 n=12	0,021	-	-	-
Через 3 часа	7,06 n=12	0,025	5,18 n=12	0,013	5,00 n=12	0,028	4,94 n=12	0,050	<0,05	<0,05	<0,5
Через 24 часа	6,38 n=12	0,050	4,00 n=12	0,075	3,72 n=12	0,050	3,69 n=12	0,057	<0,05	<0,05	<0,5
Через 7 суток	3,40 n=12	0,062	3,25 n=12	0,028	3,20 n=12	0,056	3,25 n=12	0,028	<0,5	<0,5	<0,5
P <sub>1</sub>	<0,5		<0,05		<0,05		<0,05		-	-	-
P <sub>2</sub>	<0,05		<0,05		<0,05		<0,05		-	-	-
P <sub>3</sub>	<0,05		<0,05		<0,05		<0,05		-	-	-

**Примечания:** показатель вероятности различия при сравнении: P<sub>1</sub> – pH исходного с 3- часовой инкубацией; P<sub>2</sub> – pH исходного с 24- часовой инкубацией; P<sub>3</sub> – pH исходного с 7- суточной инкубацией; P<sub>4</sub> – pH контроля с группой с пропилгаллатом; P<sub>5</sub> – pH контроля с группой с додецилгаллатом; P<sub>6</sub> – pH контроля с группой с дибунулом.

## Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования влияния синтетических антиоксидантов пропилгаллата, додецилгаллата и дибунуола на метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов ротовой жидкости, обусловленную инкубацией пробирок в термостате при температуре 37°C с глюкозой, наведены в таблице.

Через 3 ч. инкубации в содержимом контрольных пробирок показатель рН снизился по сравнению с исходным значением в 1,43 раза ( $P < 0,05$ ). Почти во столько же раз снизился показатель рН и в пробирках с дибунуолом – в 1,41 раза ( $P < 0,05$ ) и додецилгаллатом – в 1,36 раза ( $P < 0,05$ ). В пробирках с пропилгаллатом значение рН осталось на прежнем уровне ( $P < 0,5$ ).

Таким образом, только пропилгаллат за 3 часа инкубации пробирок в термостате полностью затормозил метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов РЖ, тем самым предупредив её превращение из минерализующей в деминерализующую. Ни додецилгаллат, ни дибунуол не затормозили кислотопродукцию микроорганизмами РЖ настолько, чтобы она не превратилась для эмали в деминерализующую. Ведь показатель рН в пробирках с додецилгаллатом и дибунуолом снизился до 6,2 и ниже.

Через 24 ч. инкубации в контрольных пробирках показатель рН продолжал снижаться и снизился по сравнению с исходным уровнем в 1,92 раза ( $P < 0,05$ ). Почти во столько же раз снизился показатель рН и в пробирках с дибунуолом – в 1,90 раза ( $P < 0,05$ ). При этом существенной разницы между показателями рН в контрольных пробирках и в пробирках с дибунуолом не было ( $P < 0,5$ ). В пробирках с додецилгаллатом через 24 ч. инкубации показатель рН снизился по сравнению с исходным значением в 1,77 раза ( $P < 0,05$ ), но по сравнению с контролем – на 0,31 меньше ( $P < 0,05$ ). Несмотря на это, РЖ всё

же превратилась в деминерализующую.

В пробирках с пропилгаллатом через 24 ч. инкубации показатель рН снизился по сравнению с исходным значением в 1,11 раза, то есть незначительно, хотя и достоверно ( $P < 0,05$ ), но по сравнению с контролем – на 2,69 меньше ( $P < 0,05$ ). При этом показатель рН ещё не достиг значения, при котором РЖ становится для эмали зуба деминерализующей.

Через 7 суток инкубации в содержимом контрольных пробирок показатель рН снизился по сравнению с исходным уровнем в 2,18 раза ( $P < 0,05$ ). Почти во столько же раз снизился показатель рН и в пробирках с дибунуолом – в 2,21 раза ( $P < 0,05$ ) и додецилгаллатом – в 2,18 раза ( $P < 0,05$ ). В пробирках с пропилгаллатом показатель рН снизился в 2,08 раза ( $P < 0,05$ ) или на 0,15 меньше, чем в контроле, хотя эта разница и была недостоверной. Через 7 суток инкубации при температуре 37°C значение рН в содержимом всех пробирок снизилось до показателя 3,20–3,40, что является ориентиром возможного снижения рН и в зубной бляшке после углеводной нагрузки. При таком значении рН может раствориться эмаль зуба любой степени минерализации.

Таким образом, в процессе инкубации РЖ с глюкозой происходило постепенное снижение рН как в контрольных, так и в опытных пробирках. Но если в пробирках, содержащих додецилгаллат и дибунуол, падение рН происходило почти с такой же скоростью, как и в контрольных, то в пробирках с пропилгаллатом значение рН в первые 3 часа инкубации оставалось без изменений. В последующий 21 час показатель рН снижался в 1,1 раза, т. е. значительно медленнее, чем в контроле и в пробирках с дибунуолом и додецилгаллатом. Следовательно, из трёх исследованных синтетических антиоксидантов только пропилгаллат существенно и значительно затормозил метаболическую активность кислотопродуцирующих

микроорганизмов ротовой жидкости, обогащённой глюкозой. Через 7 суток тормозящий эффект пропилгаллата исчез, что вероятнее всего обусловлено расходом растворившейся в воде его части или другими причинами. Отсутствие ожидаемого действия додецилгаллата и дибунуола, вероятно, обусловлено прежде всего тем, что они не растворяются в воде, тогда как пропилгаллат, хотя и в мизерном количестве, но в воде растворяется.

Полученные результаты послужили основанием для изучения действия пропилгаллатана метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов ЗБ, находящейся на зубах взрослых людей, то есть *in situ*. Установлено, что во всех 9 зубных бляшках аппликация водной суспензии порошка пропилгаллата предупредила падение в них значения рН до 5,2, так как ЗБ оставалась жёлтой, не окрашиваясь в красный цвет. Следовательно, в условиях *in situ* кариесогенная активность кислотопродуцирующих микроорганизмов ЗБ, обусловленная однократной углеводной нагрузкой, пропилгаллатом тормозилась полностью ( $P(\chi^2) < 0,01$ ). Механизм тормозящего действия пропилгаллата на кислотопродуцирующую активность микроорганизмов РЖ и ЗБ можно объяснить тем, что он ингибирует неферментативные окислительные процессы в микробной клетке.

### Выводы

1. Синтетический антиоксидант пропилгаллат существенно и длительно замедлял метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов РЖ (*in vitro*) и ЗБ (*in situ*), обусловленную углеводной нагрузкой. Тем самым пропилгаллат предупреждал превращение РЖ в деминерализующую для эмали зуба, а ЗБ – в кариесогенную.

2. Додецилгаллат и дибунуол не способны существенно подавлять обусловленную углеводной нагрузкой метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов РЖ *in vitro* на-

столько, чтобы она не превращалась для эмали зуба в деминерализующую.

3. Не исключено, что в случае попадания пропилгаллата в полость рта вместе с продуктами питания или средствами гигиены он может повлиять на метаболи-

ческую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов РЖ и ЗБ.

**Перспективы дальнейших исследований.** Выявление среди синтетических антиоксидантов представителя (пропилгаллата), который существенно подавляет

кислотопродуцирующую активность микроорганизмов РЖ и ЗБ, обусловленную углеводной нагрузкой, свидетельствует о перспективности дальнейшего поиска противокариозных средств среди препаратов этой группы, но водорастворимых.

#### Литература

1. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей — основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами / В. Н. Бобырев, В. Ф. Почерняева, С. Г. Стародубцев [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 1994. - № 57(1). - С. 47-54.

2. Борисенко А. В. Кариес зубов / А. В. Борисенко. - К. : Книга-плюс, 2005. - 344 с.

3. Компендиум 2006 - Лекарственные препараты; под ред. В. М. Коваленко, О. П. Викторова. - К. : МОРИОН, 2006. - Т. 1. - 1128 С.

4. Косенко К. Н. Профилактическая гигиена полости рта / К. Н. Косенко, Т. П. Терешина. - Изд-во КПОГТ: Одесса, 2003. - 296 с.

5. Леонтьев В. К. Профилактика стоматологических заболеваний / В. К. Леонтьев, Г. Н. Пахомов. - М., 2006. - 416 с.

6. Леонтьев В. К. Биохимические методы исследования в экспериментальной и клинической стоматологии / В. К. Леонтьев, Ю. А. Петрович. - Омск, 1976. - 76 с.

7. Петрикас А. Ж. Определение действия на микрофлору полости рта противомикробных средств / А. Ж. Петрикас, В. А. Румянцев // Изобретательство и рационализация в медицине: респ. сб. науч. трудов. - М. : 2-й МОЛГМИ, 1990. - Вып. 165. - С. 112—113.

8. Интегральный коэффициент, характеризующий свободнорадикальное окисление и антиоксидантную защиту, и новый «остаточный» коэффициент, отражающий результативность применения антиоксидантов при пародонтите / Ю. А. Петрович, Т. И. Лемецкая, М. Н. Пузин, Т. В. Сухова // Стоматология. - 2001. - №1. - С. 38-41.

9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA / О. Ю. Реброва. - М. : Медиа Сфера, 2002. - 312 с.

10. Сепетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д. Сепетлиев. - М. : Медицина, 1968. - С. 419.

11. Современные средства экзогенной профилактики стоматологических заболеваний / Л. А. Хоменко, Н. В. Биденко, Е. И. Остапко, В. И. Шматко. - К. : Книга плюс, 2001. - 208 с.

12. Чекман І. С. Фармакологія: підручник для студ. стомат. ф-тів вищих мед. навч. закладів IV рівня акредит. / І. С. Чекман, В. М. Бобирьов, Н. О. Горчакова. - Вінниця: Нова книга, 2009. - 477 с.

13. Вредные пищевые Е-добавки // Режим доступа: [http://www.medicina.kharkov.ua/http-www-news-ru-ua/273-food\\_e-table.html](http://www.medicina.kharkov.ua/http-www-news-ru-ua/273-food_e-table.html).

14. Hardwick J. L. Caries of the enamel. II. Acidogenic caries / J. L. Hardwick, E. V. Manley // Brit. Dent. J. -1952. -Vol. 92. -P. 225-236.

Стаття надійшла  
30. 11. 2010 р.

#### Резюме

З трьох досліджених синтетичних антиоксидантів - пропілгалату, додецилгалату і дибунолу тільки пропілгалат істотно і тривало пригнічував кислотопродукуючу активність мікроорганізмів ротової рідини (in vitro) і зубної бляшки (in situ), зумовлену вуглеводним навантаженням.

**Ключові слова:** ротова рідина, зубна бляшка, антиоксиданти, кислотопродукуюча активність мікроорганізмів.

#### Summary

It has been found out that among three synthetic antioxidants such as propyl gallate, dodecyl gallate, and dibunole, which were under the investigation, only the propyl gallate significantly suppressed acid-producing activity of oral fluid microorganisms (in vitro) and tooth plaque microorganisms (in situ) caused by durative carbohydrate loading.

**Key words:** oral fluid, dental plaque, antioxidants, acid-producing activity of microorganisms.