

镧、钙、氟对菌斑 pH 影响的实验研究

刘大力 袁诗芬 王小平

摘要 目的:对比镧、钙、氟对菌斑 pH 变化过程的影响,从菌斑代谢角度探讨镧的抗龋作用。方法:采用接触法连续测定含 La^{3+} 、 Ca^{2+} 、 F^{-} 的蔗糖溶液含漱后的菌斑 pH 值,对 pH 值下降至最低所用的时间、最低 pH、pH 下降的幅度 (pH) 以及 pH 变化曲线中 pH6.5 以下的曲线下面积 ($AUC_{6.5}$) 进行双因素方差分析。结果:8 名受试对象之间各参数均无明显差别;各处理方法相比蔗糖溶液对照组导致菌斑 pH 下降的幅度最大,其次是含钙蔗糖溶液处理组,再次是含氟蔗糖溶液处理组及含镧蔗糖溶液处理组,后两者之间差异无显著性;各处理方法导致菌斑 pH 下降所需时间差异无明显性。结论:钙、镧、氟均可减小摄入蔗糖后菌斑 pH 的下降幅度,钙的作用最弱,镧和氟的作用相似,表明镧可干扰菌斑的产酸过程。

关键词 镧 钙 氟 菌斑 pH

A Comparative Study About the Influence of Lanthanum, Calcium, Fluoride on Plaque pH

Liu Dali, Yuan Shifen, Wang Xiaoping

Stomatologic Hospital, Tongji University

Abstract

Objective: The study is designed to compare the effects of Lanthanum (La), Calcium (Ca), Fluoride (F) on pH changes of plaque, and to discuss the anti-cariogenic mechanisms of Lanthanum in terms of metabolism. **Methods:** Plaque pH values after sucrose solution (containing La^{3+} , Ca^{2+} , F^{-}) rinse were measured contiguously using micro-touch method, and then the minimum pH, time of minimum pH, ranges of plaque pH (pH), and areas of the response curves below ($AUC_{6.5}$) were analyzed using two-way analysis of variance (ANOVA). **Results:** No statistical difference was found in the above monitored parameters of 8 subjects. For the decreasing degree of plaque pH, the pH value in the control group fell down the most obvious, and the second was that in the Ca group. The pH value decreased the least in the F and La group, and there was no significant difference between the F and La group. The time of minimum pH was the same in each group. **Conclusion:** Ca, La, F can decrease the range of plaque pH drop after sucrose solution rinse. The degree of Ca was the weakest, and F and La were same. All the above evidences prove that La may inhibit the acidogenicity of plaque.

Key words: lanthanum calcium fluorides plaque pH

氟化物可作用于牙齿硬组织与致龋微生物,是目前公认的有效的防龋物质,但氟的毒性和耐氟菌株问题促使人们不断寻找氟化物以外的防龋物质,镧盐就是研究报道较多的一种。以往研究显示镧除作用于牙体硬组织、影响脱矿和再矿化过程外,还有抑制口腔内致龋菌的粘附、生长的作用,机理可能与镧可干扰菌体与牙面的钙桥介导的粘附以及破坏菌体表面脂磷壁酸结构有关¹。目前尚未见到有关镧对菌斑产酸过程影响的报道。本文试

图通过连续测定蔗糖溶液含漱后菌斑 pH 值的变化过程,比较镧、钙、氟对菌斑产酸的影响,从菌斑酸代谢角度探讨镧的抗龋作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

氯化镧 ($LaCl_3 \cdot 7H_2O$), 湖南省金属材料研究所产品 (纯度 99.9%)。氟化钠、无水氯化钙、氢氧化钠、盐酸、蔗糖均为市售 (分析纯)。双蒸水 (自制)。

复合式 pH 微电极 (自制, 制作方法及性能另文报道), pH - 4 型 pH 计、雷磁 E - 201 - C AC 型塑壳可充式复合电

极(上海精密仪器公司雷磁仪器厂),XWT-S小型台式记录仪(上海自动化仪表三厂)。

1.2 实验对象

选择在校本科生及青年教工8名(男、女各4名),年龄22~26岁。入选条件是,龋失补牙面数(DMFS) 5,无明显牙周疾病,近1个月内未服用过抗生素,未使用过含氟牙膏。实验前停止口腔卫生36h,测试前2h禁食、禁饮。每名受试者共进行4次实验,使用的溶液分别是,含25mmol/L Ca²⁺的10%蔗糖溶液;含7.2mmol/L La³⁺的10%蔗糖溶液;含53mmol/L F⁻的10%蔗糖溶液;10%蔗糖溶液(对照)。上述溶液配制后,用NaOH和HCl调整其pH至7,高压蒸气灭菌后,4℃保存。每次实验间隔约1周。

1.3 菌斑pH值测定

每次测试前,将复合式微pH电极插入标准磷酸盐缓冲溶液(pH4和pH6.86)中,测定其电位,反复3次,取平均值,求得其工作曲线的斜率和截距。测试时,受试者首先用双蒸水含漱1min,然后用测试溶液含漱4min。将微电极插入受试者右侧上颌侧切牙远中邻面接触点下方,并借助正畸用前方牵引器固定,电极与pH计相连,电信号输出至记录仪记录电位的变动,连续测定45min。然后通过电极的工作曲线求得各时间的pH值。

1.4 统计分析

绘制受试溶液含漱后菌斑pH值随时间变动曲线,并对实验组pH下降至最低值所需时间、最低pH值、pH下降幅度及pH变化曲线中pH6.5以下的曲线下面积(AUC_{6.5})进行双因素方差分析,检验水准为α=0.05,得到差异有显著性的指标再进一步作两两均数比较(q检验)。

2 结果

图1~4显示蔗糖溶液、含Ca²⁺的蔗糖溶液、含La³⁺的蔗糖溶液、含F⁻的蔗糖溶液含漱后菌斑pH随时间的变化。

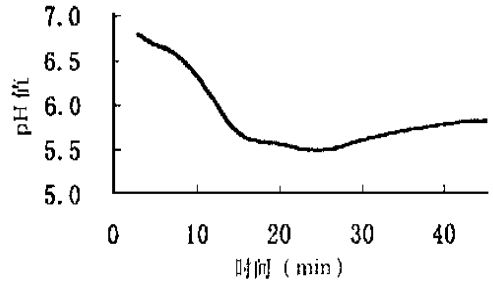


图1 蔗糖溶液含漱后菌斑pH值的变化(n=8)

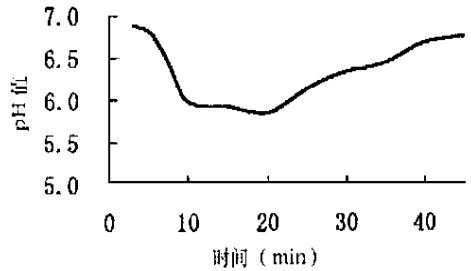


图2 含Ca²⁺的蔗糖溶液含漱后菌斑pH值的变化(n=8)

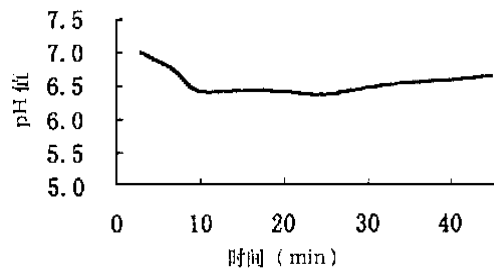


图3 含La³⁺的蔗糖溶液含漱后菌斑pH值的变化(n=8)

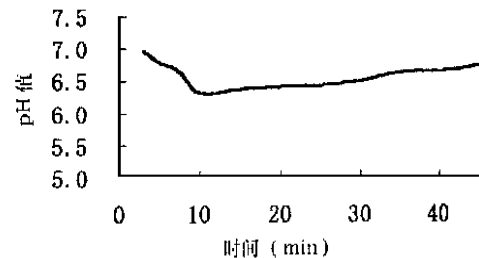


图4 含F⁻的蔗糖溶液含漱后菌斑pH值的变化(n=8)

表1 菌斑pH变化的各参数方差分析结果

参数名称	$\bar{x} \pm s^{1)}$				配伍组		处理组		两两比较结果 ²⁾						
	S	C	L	F	F值	P	F值	P	S与C	S与L	S与F	C与L	C与F	L与F	
pH下降至最低所需时间	24.4 ±7.3	17.5 ±4.6	24.3 ±8.2	18.8 ±9.5	0.145	>0.05	1.434	>0.05							
最低pH	5.5 ±0.3	5.7 ±0.2	6.2 ±0.2	6.2 ±0.3	0.898	>0.05	56.607	<0.01	**	**	**	**	**	NS	
pH下降幅度	1.3 ±0.2	1.2 ±0.2	0.8 ±0.2	0.7 ±0.2	0.916	>0.05	21.474	<0.01	NS	**	**	**	**	NS	
pH6.5以下的曲线下面积	28.2 ±4.0	12.0 ±4.7	3.4 ±1.6	2.9 ±1.8	1.241	>0.05	107.287	<0.01	**	**	**	**	**	NS	

注1) S为蔗糖溶液含漱组 C为含钙蔗糖溶液含漱组 L为含镧蔗糖溶液含漱组 F为含氟蔗糖溶液含漱组

注2) NS表示P>0.05 **表示P<0.01

对pH值下降至最低所用的时间、最低pH、pH下降的幅度(pH)以及pH变化曲线中pH6.5以下

的曲线下面积(AUC_{6.5})进行双因素方差分析,得到差异有显著性的指标再进一步作两两比较的q检

验,结果列于表1。

可见8名受试对象之间各参数均无明显差别;4种处理方法相比蔗糖溶液对照组导致菌斑pH下降的幅度最大,其次是含钙蔗糖溶液处理组,再次是含氟蔗糖溶液处理组及含镧蔗糖溶液处理组,后两者之间差异无显著性;4种处理方法导致菌斑pH下降所需时间差异无显著性。

3 讨 论

体外实验和动物实验均已证实氟化物可以抑制致龋菌产酸,并认为这与氟化物干扰细菌对糖和H⁺转运及抑制糖代谢中烯醇化酶的活性有关。本实验用含F⁻的蔗糖溶液含漱,发现与对照组相比,菌斑pH下降的幅度有所减小,约为对照组的一半。

钙与致龋菌作用的研究主要集中在钙对致龋菌粘附的影响方面。钙桥学说认为,口腔链球菌和牙齿获得性膜表面都带负电,钙与其静电作用导致细菌粘附至牙面。蔗糖存在的条件下,钙还可通过活化细菌表面的葡糖基转移酶受体,间接促进细菌的粘附。但也有实验认为^{2,3},钙的浓度与变形链球菌和远缘链球菌的粘附呈明显负相关。在菌斑产酸过程中,随pH的下降,菌斑中的结合钙可释放出来,使菌斑中游离钙的浓度上升⁴。Kashket等⁵的实验中,菌斑的pH值的变动并未因咀嚼含钙的饼干而受影响,但在本实验中,用含Ca²⁺的蔗糖溶液含漱,菌斑pH下降的程度却小于对照组。外源的钙离子到底对菌斑产酸有无影响,若有影响,又是作用于什么环节,还需进一步深入研究。实验中镧处理组获得了与氟处理组相似的减小菌斑pH下降幅度的效果,推测其机理可能是三价的镧离子与糖酵解过程中的金属蛋白酶竞争结合的结果。糖酵解产酸过程中,果糖激酶、磷酸甘油酸激酶、烯醇化酶、己糖激酶和丙酮酸激酶的活化均需金属离子的参与,其中,果糖激酶和丙酮酸激酶是主要的限速酶。以往的实验证实,La³⁺可与胶原酶、凝胶酶的Ca²⁺发生置换,形成稳定的酶—La³⁺—底物复合物,从而抑制酶蛋白的活性^{6,7}。这些酶具有共同的金属离子结合的特性,因而推测,La³⁺也可通过与上述金属蛋白酶的结合而抑制其活性。另外,La³⁺的电荷多,比Ca²⁺更具对酸性基团的亲和力,中性或碱性条件下La³⁺促进有机磷酸酯分解,使细菌细胞壁脂磷壁酸(lipoteichoic acid,

LTA)支架破坏,从而抑制一些致龋菌,如变形链球菌的生长和粘附¹。山口正人等⁸观察到镧系离子可促使变形链球菌和远缘链球菌细胞发生凝集,认为这是镧系离子与细胞壁阴性部位如LTA结合的结果。Kenichi等⁹对比稀土类金属的硝酸盐和醋酸盐对远缘链球菌粘附至玻璃表面的影响,发现所有稀土金属的硝酸盐和醋酸盐都可抑制这一粘附过程,且大部分稀土金属的硝酸盐可抑制葡糖基转移酶,但未观察到镧对葡糖基转移酶的抑制。以上分析可见,虽然La³⁺和Ca²⁺有一些相似的化学性质,但它们对致龋菌的粘附的作用却并不相同,La³⁺与Ca²⁺的置换可能成为镧干扰菌斑产酸的机理之一。本实验中它们都减少了菌斑pH下降的幅度,其机理有待深入研究。另外,尽管实验报告⁹镧具有较氟低得多的毒性,但本实验中,氟和钙溶液的口感远好于镧溶液,后者主要是比较涩,这也是应用镧抗龋时应考虑解决的问题。从本实验的结果来看,钙、镧、氟均可减小摄入蔗糖后菌斑pH的下降幅度,钙的作用最弱,镧和氟的作用相似。

(本实验得到上海大学环境科学院应太林副教授和朱邦尚、高孟娇硕士,上海铁路局中心医院口腔科唐小山医师的热忱帮助,在此表示衷心感谢。)

参考文献

- 1 宫内宪一,山口正人,岛野僚祐.ランタニドの抗う蚀作用(1)细菌附着阻害.齿保存誌,1995,20(5):93
- 2 李鸣宇,刘正.脂磷壁酸和钙对口腔链球菌粘附影响的体外实验.中华口腔医学杂志,1996,31(1):9-11
- 3 寺山利子,富樫久美,今井奖.ミネー タンスレンサ球菌の増殖と付着に及ぼす天然カキ壳电气分解产物(HYCEA-L)の影響.日大齿学,1997,71(6):844-850
- 4 Rose RK, Hogg SD, Shellis RP. A quantitative study of calcium binding by isolated streptococcal cell walls and lipoteichoic acid: comparison with whole cells. J Dent Res, 1994, 73(11): 1742-1748
- 5 Kashket S, Yaskell T. Effectiveness of calcium lactate added to food in reducing intraoral demineralization of enamel. Caries Res, 1997, 31(6): 429-433
- 6 Evans CH. The lanthanide-enhanced affinity chromatography of clostridial collagenase. Biochem J, 1985, 225(2): 553-560
- 7 李江,张伟国,刘瓊如.镧、铈、氟离子对胶原酶分解牙骨质作用的影响.上海口腔医学,1997,6(1):23-25
- 8 山口正人,宫内宪一,岛野僚祐.ランタニドの抗う蚀作用(1)细菌凝集阻害.齿保存誌,1995,20(5):94
- 9 Kenichi M, Ryoyu S. Acute toxicity from La in experimental mice. 爱知学院大学教养部纪要, 1993, 40(3): 95-99

(2000-05-17 收稿, 2001-05-15 修回)

(本文编辑 王 晴)