

Л.О.Хоменко
Г.В.Сороченко

Національний медичний
університет імені
О.О.Богомольця
Київ

Ключові слова: емаль, постійні зуби, мінералізація, казеїнфосфопептид–аморфний фосфат кальцію, кальцію гліцерофосфат, магнію хлорид, профілактика карієсу.

Надійшла: 24.02.2015

Прийнята: 23.03.2015

УДК 616.314-002-084 :616.314.13

ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ПОВЕРХНІ ЕМАЛІ ПОСТІЙНИХ ЗУБІВ IN VITRO ПІД ВПЛИВОМ ЗАСОБІВ ЕКЗОГЕННОЇ ПРОФІЛАКТИКИ КАРІЄСУ З ВМІСТОМ РІЗНИХ СПОЛУК КАЛЬЦІЮ

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи «Загальні чинники у формуванні стоматологічного здоров'я дітей та підлітків» (номер державної реєстрації 0113U001484).

Реферат. Методом скануючої електронної мікроскопії вивчено in vitro морфологічні зміни поверхневого шару 35 зразків емалі постійних зубів, які щойно прорізилися, під впливом ремінералізуючого гелю, який містить кальцію гліцерофосфат, магнію хлорид і ксиліт та водорозчинного крему, який містить казеїнфосфопептид–аморфний фосфат кальцію. Встановлено, що емаль зубів, які щойно прорізилися, має візуальні ознаки недостатньої мінералізації та, відповідно, має недостатній рівень карієсрезистентності; протягом експерименту під впливом досліджуваних засобів екзогенної профілактики на поверхні емалі спостерігаються морфологічні зміни, які свідчать про збільшення ступеня мінералізації.

Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 65-70.

© Л.О.Хоменко, Г.В.Сороченко, 2015

✉ sorochenkogw@mail.ru

Khomenko L.O., Sorochenko G.V. The in vitro investigation of morphological changes of permanent teeth enamel surface under the influence of exogenous means for caries prevention containing different calcium compounds.

ABSTRACT. Background. Rationalizing of the choice of the most effective means for exogenous prevention, especially during secondary mineralization, will increase cariesresistance of tooth enamel. **Objective** - in vitro study of changes of just erupted permanent teeth enamel surface under the influence of exogenous means for caries prevention containing different calcium compounds. **Methods.** For the study we used 35 enamel samples of permanent teeth that had erupted within the same term (premolars of 11-13 years old children, less than 6 months after eruption). 5 samples were the control group before the experiment. 30 samples were randomly divided equally into three groups (10 samples in each group) and stored in boxes with artificial saliva. Enamel samples of the first group were treated with cream "TOOTH MOUSSE" (10% casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate), samples of the second group were treated with gel "R.O.C.S.® Medical minerals" (calcium glycerophosphate, magnesium chloride, xylitol). Samples of the first and second groups were treated at the beginning of the research and 3, 6 and 9 months later during 10 days, twice a day for 30 minutes. Samples of the third group were the control and were not treated. Investigation of the enamel surface was performed at the beginning of the experiment, after 6 and 12 months. The structure of the samples surface was studied at the equator zone with the scanning electron microscope. **Results.** At the beginning of the experiment signs of insufficient mineralization were observed on the surface of the enamel samples of the control group. After 12 months of treatment with cream with casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate and gel with calcium glycerophosphate, surface of the enamel samples of both groups had the signs of an increased mineralization due to the long-term preservation of a layer of additional chemical compounds. **Conclusion.** The surface of the permanent teeth enamel immediately after the eruption, and during next 12-18 months has visible signs of insufficient mineralization. Under the influence of exogenous means for caries prevention with casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate and calcium glycerophosphate for 12 months visible signs of increased mineralization level of enamel surface appear.

Key words: enamel, permanent teeth, mineralization, casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate, calcium glycerophosphate, magnesium chloride, caries prevention.

Citation:

Khomenko LO, Sorochenko GV. [The in vitro investigation of morphological changes of permanent teeth enamel surface under the influence of exogenous means for caries prevention containing different calcium compounds]. Morphologia. 2015;9(1):65-70. Ukrainian.

Вступ

Емаль зуба є найбільш твердою та міцною

тканиною організму людини, що обумовлено високим вмістом в ній неорганічних речовин. Це

створює умови для виконання основної функції емалі – захисту дентину та пульпи від зовнішніх пошкоджень [1]. Хімічний склад твердих тканин значно змінюється під впливом місцевих та загальних чинників, особливо відразу після прорізування зуба. В цей період для емалі характерним є низький ступінь мінералізації (знижений вміст кальцію, фосфору та фтору в поверхневому шарі), збільшений вміст води та органічної складової, висока проникність (за рахунок великої кількості мікропор, щілин тощо), значно виражений мікрорельєф поверхні. Такі фізіологічні особливості створюють оптимальні умови для реалізації вторинної мінералізації [2; 3]. Поряд із цим збільшується ризик виникнення карієсу, що підтверджується даними про значне зростання показників приросту розповсюдженості та інтенсивності карієсу постійних зубів в період від 6 до 15 років [4]. Отже, рівень мінералізації твердих тканин зуба є провідним фактором для прогнозування розвитку карієсу.

Підвищення ступеня мінералізації емалі зубів є одним з основних патогенетично обґрунтованих напрямків профілактики карієсу [5; 6]. Реалізація цього напрямку полягає в систематичному місцевому застосуванні засобів профілактики, які містять сполуки кальцію, фосфору, фтору, магнію тощо. Проблема розробки, впровадження та вивчення ефективності нових засобів профілактики карієсу є надзвичайно актуальною як для науковців, так і для практикуючих лікарів [5-8]. Одночасно існує питання вибору найбільш ефективних засобів профілактики з-поміж наявних на стоматологічному ринку.

Тому обґрунтування вибору найбільш ефективних засобів екзогенної профілактики, особливо в період вторинної мінералізації, сприятиме підвищенню карієсрезистентності емалі зубів.

Мета дослідження – вивчення *in vitro* змін поверхні емалі постійних зубів, які щойно прорізувалися, під впливом засобів екзогенної профілактики, які містять різні сполуки кальцію.

Матеріали та методи

Для проведення дослідження було використано 35 зразків емалі постійних зубів, що прорізувалися в однаковий термін. Зразки емалі отримували з постійних зубів, які були видалені за ортодонтичними показаннями (премоляри 11-13 річних дітей, не пізніше 6 місяців після прорізування). Забір матеріалу для дослідження проводився з урахуванням морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини та відповідних Законів України.

Одразу після видалення корені зубів відрізували на рівні емалево-цементного з'єднання та видаляли залишки м'яких тканин. Коронарні сегменти очищували за допомогою ультразвуку та полірувальної пасти і щітки.

5 зразків емалі склали групу контролю на

початку дослідження. Інші 30 зразків були довільно розподілені порівну на три групи. Вони були розміщені у трьох окремих герметичних боксах (по 10 зразків у боксі), які були заповнені штучною слиною. У подальшому зразки емалі першої групи обробляли водорозчинним кремом "TOOTH MOUSSE" (активний компонент - 10% казеїнфосфопептид-аморфний фосфат кальцію (RECALDENT™, CPP-ACP) (GC, Японія), другої – ремінералізуючим гелем "R.O.C.S.® Medical minerals" (CaPMgX) (активні компоненти - Calcium Glycerophosphate, Magnesium Chloride, Xylitol; формулу запатентовано EA011254) (WDS, Росія-Швейцарія). Зразки третьої групи слугували контролем, їх нічим не обробляли. Обробку зразків першої та другої груп проводили на початку дослідження, через 3, 6 та 9 місяців курсами по 10 днів, двічі на день по 30 хвилин згідно рекомендації виробників та стандартизації дослідження.

Зразки емалі для подальших досліджень зрізали з вестибулярної та оральної поверхонь коронкової частини зубів на рівні екватора за допомогою алмазного диску товщиною 0,2 мм під струменем води, очищували за допомогою ультразвуку, знежирювали та вакуумували. Дослідження поверхні емалі проводили на початку експерименту, через 6 та 12 місяців.

Структуру поверхні зразків вивчали на рівні екватора в скануючому електронному мікроскопі (SEM, INCA PENTA FET×3, Oxford Instruments, Co., UK) із збільшенням від 500 до 5000. При проведенні дослідження поверхні зразків не напильовали для максимальної достовірності результату. Дослідження виконані у відділі фізико-хімічних досліджень матеріалів (завідувач відділу – академік НАН України Г. М. Григоренко) Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України. Особлива подяка висловлюється відповідальному науковому співробітнику відділу Л.М.Капітанчуку.

Результати та їх обговорення

Впродовж дослідження було встановлено зміни, які відбуваються на поверхні незрілої емалі постійних зубів під впливом досліджуваних засобів екзогенної профілактики (рис. 1, 2).

На початку експерименту на поверхні емалі зразків групи контролю при збільшенні в 500 разів чітко простежуються перикимати (лінії Ретціуса), на кордоні яких відмічається вихід емалевих призм аркадоподібної форми, поверхня емалі тьмяна, шерехата (рис. 1А). Це свідчить про низький рівень мінералізації поверхневого шару емалі, відсутність захисного шару на поверхні, високу проникність незрілої емалі, наявність умов для додаткової ретенції мікроорганізмів. Наведені фактори зумовлюють низьку карієсрезистентність незрілої емалі та високий ризик вразливості емалі в період вторинної мінералізації.

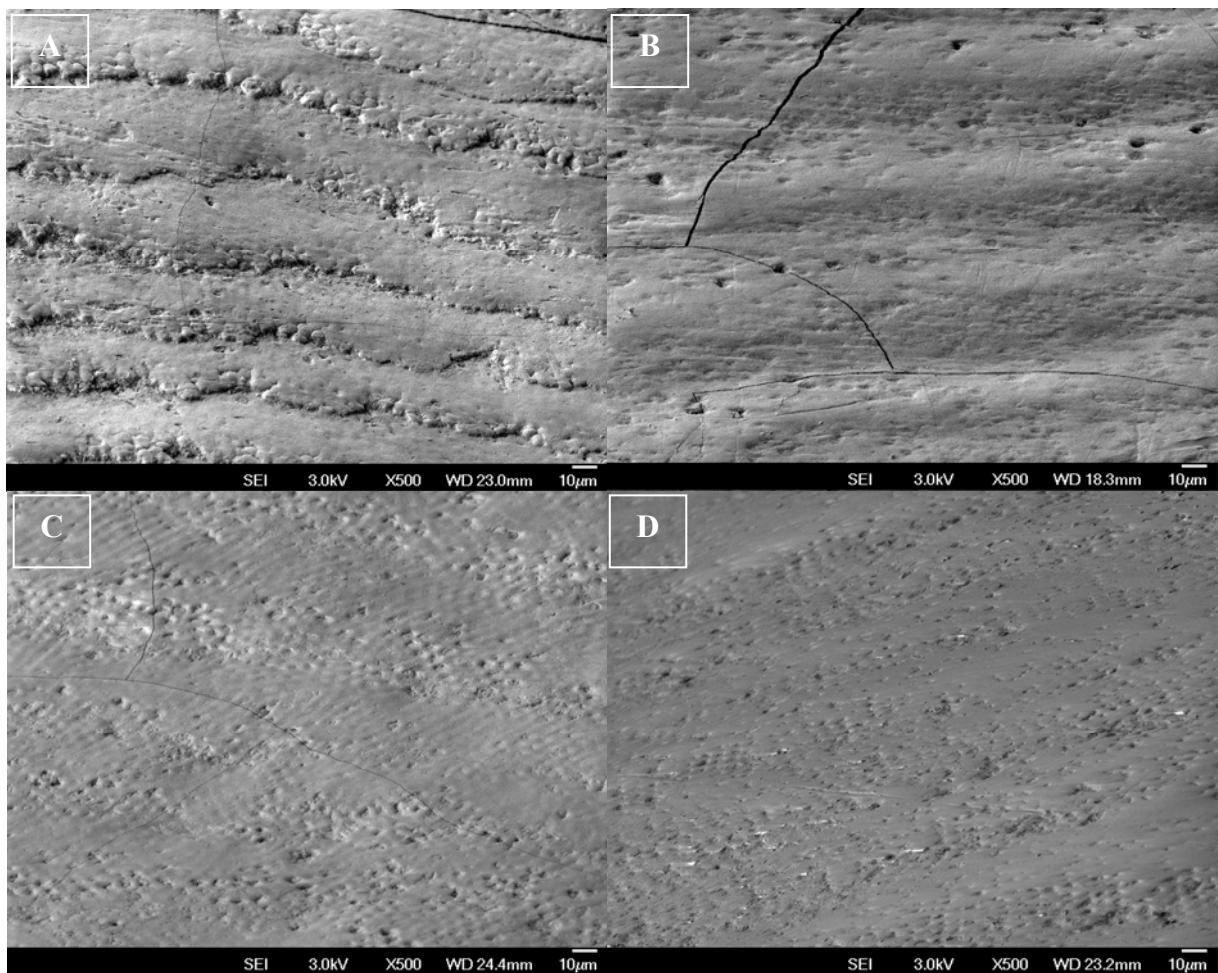


Рис. 1. Поверхня незрілої емалі постійних зубів. А - на початку дослідження, В - через 12 місяців в групі контролю, С - під впливом водорозчинного кремю з вмістом казеїнфосфопептиду-аморфного фосфату кальцію через 6 місяців, D - під впливом ремінералізуючого гелю з вмістом кальцію, фосфору та магнію через 6 місяців. SEM, $\times 500$.

Після 12 місяців експерименту на поверхні зразків групи контролю (рис. 1В) перикимати згладжуються, емаль залишається матовою, шерхатою, спостерігається значна кількість заглибин, які вказують на місце виходу емалевих призм. Зазначені зміни можуть вказувати на те, що на поверхні незрілої емалі відбувається відкладення шару мінеральних речовин, зменшення кількості ретенційних пунктів та зниження проникності емалі.

Через 6 місяців застосування водорозчинного кремю з вмістом казеїнфосфопептиду-аморфного фосфату кальцію та ремінералізуючого гелю, який містить гліцерофосфат кальцію, магнію хлорид та ксиліт, на поверхні емалі зразків групи обох груп при збільшенні в 500 разів спостерігаються подібні морфологічні зміни (рис. 1С, 1D). Поверхня емалі стає блискучою та менш рельєфною за рахунок згладжування перикиматів. На місці виходу емалевих призм на поверхню відмічаються заглиблення, що свідчить про відкладання на поверхні емалі захисного шару мінеральних речовин, зменшення кількості ретенційних пунктів, зниження проникності ема-

лі. Це підтверджує гіпотезу про те, що зуби після обробки мінералізуючими засобами стають клінічно світлішими (ефект відбілювання) [9].

При збільшенні у 5000 разів встановлено більш детальну різницю в місці виходу на поверхню емалевих призм протягом 12 місяців експерименту (рис. 2).

На початку дослідження поверхня незрілої емалі тьмяна, рельєфна за рахунок виходу на поверхню значної кількості кратерів емалевих призм (рис. 2А). Через 12 місяців дослідження поверхня емалі постійних зубів в групі контролю стає більш однорідною, блискучою та гладкою, зменшується кількість як відкритих так і закритих кратерів виходу на поверхню емалевих призм (рис. 2В).

Після обробки зразків незрілої емалі водорозчинним кремем, який містить казеїнфосфопептид-аморфний фосфат кальцію, прямопропорційно до тривалості експерименту зменшується кількість незакритих кратерів та їх площа у порівнянні з початковим рівнем (рис. 1А, 1С, 1D).

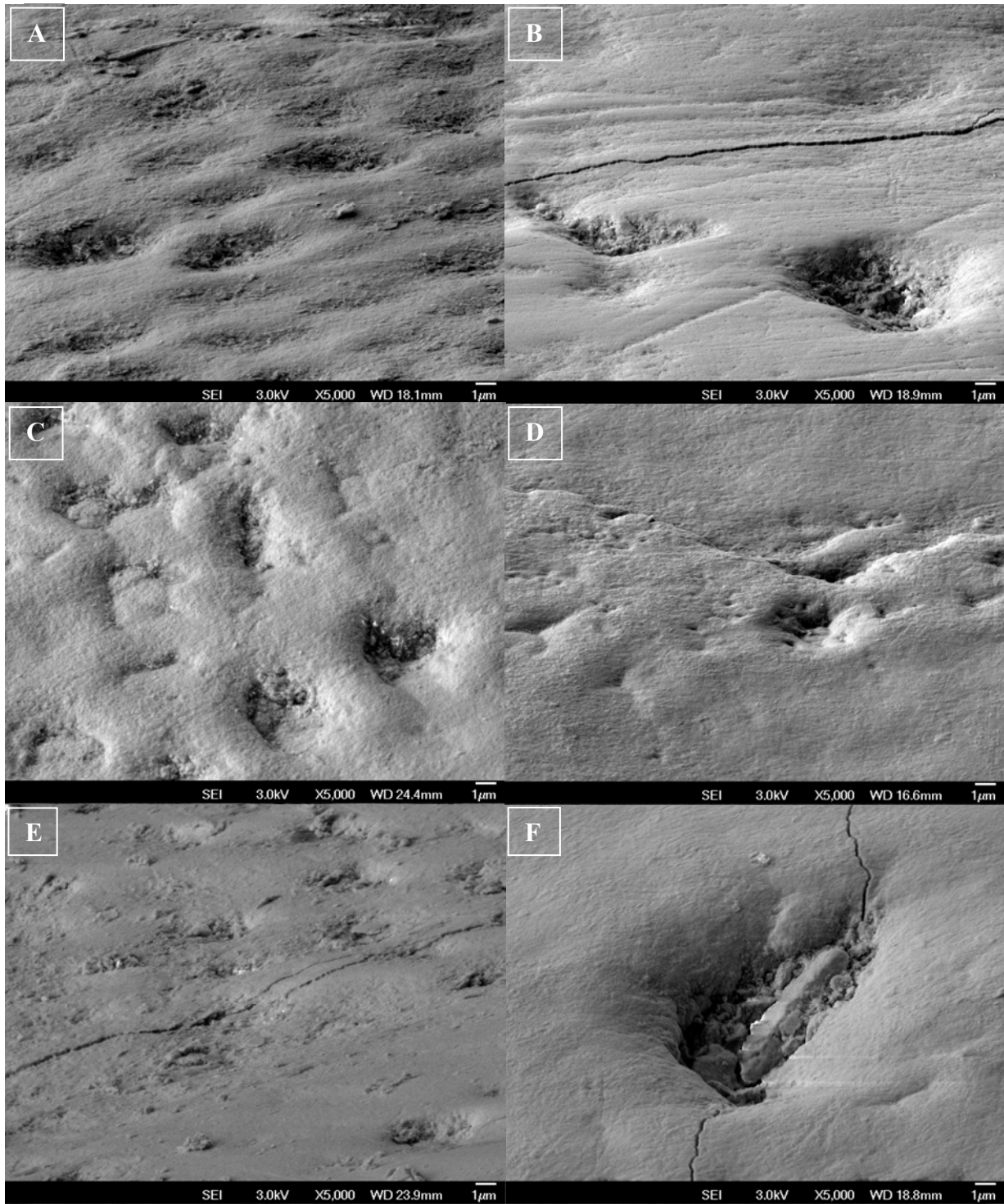


Рис. 2. Поверхня незрілої емалі постійних зубів. А - на початку дослідження, В - через 12 місяців в групі контролю, С - під впливом водорозчинного крему з вмістом казеїнфосфопептиду-аморфного фосфату кальцію через 6 місяців, D - під впливом водорозчинного крему з вмістом казеїнфосфопептиду-аморфного фосфату кальцію через 12 місяців, Е - під впливом ремінералізуючого гелю з вмістом кальцію, фосфору та магнію через 6 місяців, F - під впливом ремінералізуючого гелю з вмістом кальцію, фосфору та магнію через 12 місяців. SEM, ×5000.

Під впливом ремінералізуючого гелю з вмістом гліцерофосфату кальцію, магнію хлориду та ксиліту через 6 місяців спостерігається закриття значної частини кратерів або суттєве зменшення незакритих площин кратерів у порівнянні з початковим рівнем (рис.2А, 2Е). Кратери виходу на

поверхню емалевих призм після 12 місяців дослідження у порівнянні з аналогічною ділянкою в групі контролю (рис. 2В, 2F) є візуально гладшими та глибшими, а сама поверхня виходу емалевої призми вкрита додатковим шаром речовини, ймовірно сполуками кальцію та фосфору.

Отримані морфологічні дані підтверджують гіпотезу про відкладання та тривале збереження на поверхні емалі шару додаткових хімічних сполук, особливо після застосування досліджуваних засобів екзогенної профілактики карієсу з вмістом різних сполук кальцію, навіть після механічного та ультразвукового очищення поверхні при підготовці зразків. Такі зміни на поверхні емалі створюють умови для її повноцінної мінералізації та, відповідно, зростання рівня карієс-резистентності.

Тому в період до 18 місяців після прорізування постійних зубів необхідним є застосування засобів, які сприяють підвищенню мінералізації. Засоби екзогенної профілактики карієсу зубів, що містять казеїнфосфопептид–аморфний фосфат кальцію, та гліцерофосфат кальцію, магнію хлорид та ксиліт можуть бути рекомендовані для клінічного застосування одразу після прорізування постійних зубів на період не менше дванадцяти місяців (2-4 курси на рік по 10 днів, двічі на день по 30 хвилин).

Підсумок

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про те, що поверхня емалі зубів, які щойно прорізулися, має візуальні ознаки недостатньої мінералізації та, відповідно, має недостатній рівень карієс-резистентності. Без застосування засобів профілактики рівень карієс-резистентності емалі залишається недостатнім навіть через 12-18 місяців після прорізування.

Морфологія поверхневого шару емалі зубів,

які щойно прорізулися, змінюється під впливом досліджуваних засобів екзогенної профілактики карієсу, які містять різні сполуки кальцію. Візуальне збільшення ступеня мінералізації поверхневого шару емалі зубів під впливом крему, який містить казеїнфосфопептид–аморфний фосфат кальцію та гелю, який містить гліцерофосфат кальцію, магнію хлорид та ксиліт спостерігається протягом 12 місяців експерименту.

Отже, засоби екзогенної профілактики карієсу зубів, що містять казеїнфосфопептид – аморфний фосфат кальцію, та засоби, які містять гліцерофосфат кальцію, магнію хлорид та ксиліт, можуть бути рекомендовані для клінічного застосування одразу після прорізування постійних зубів на період не менше дванадцяти місяців (2-4 курси на рік по 10 днів, двічі на день по 30 хвилин).

Перспективи подальших розробок

Наявність споріднених ознак збільшення ступеня мінералізації поверхні емалі у порівнянні з групою контролю та відсутність суттєвих морфологічних відмінностей після застосування крему, який містить казеїнфосфопептид–аморфний фосфат кальцію та гелю, який містить гліцерофосфат кальцію, магнію хлорид та ксиліт, впродовж експерименту створює необхідність подальшого поглибленого вивчення властивостей сучасних засобів екзогенної профілактики карієсу з вмістом різних сполук кальцію (наприклад, вивчення хімічного складу чи нанотвердості емалі).

Літературні джерела References

1. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995;6(2):84-108. PMID: 7548623.
2. Cole AS, Eastoe JE. *Biochemistry and oral biology.* 2nd ed. Boston: J Wright; 1988. 568 p.
3. Borovskiy EV, Leontiev VK. *Biology of the oral cavity.* Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State Medical Academy; 2001. 304 p. Russian.
4. Khomenko LO. [Dental health of children in Ukraine, reality, perspective]. *Naukovyi visnyk Natsionalnoho medychnoho universytetu imeni O.O.Bogomoltsya.* 2007;(3): 11-4. Ukrainian.
5. Khomenko LO, Bidenko NV, Ostapko OI, Golubeva IM, Sorochenko GV, Trachuk YuM. [Control of dental caries: the evolution of the concept]. *Stomatologiya: ot nauki k praktike.* 2013(1):53-65. Ukrainian.
6. Sadovskiy VV. [Clinical technologies of blocking the caries]. Moscow: Medicinskaya kniga; 2005. 72 p. Russian.
7. Gjorgievska E, Nicholson JW. A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on Recaldent™ (CPP-ACP) and Novamin® (calcium-sodium-phosphosilicate). *Acta Odontol Latinoam.* 2010;23(3):234-9. PMID: 21638965.
8. Sarap LR, Podzorova EA, Matelo SK, Kupez TV. [Using the "R.O.C.S. Medical minerals" in dental practice]. *Sovremennaya stomatologiya.* 2007;(1):35-7. Russian.
9. Fedorov YuA, Drojjina VA, Matelo SK, Tumanova SA. [Possibility of clinical using of modern remineralizing compounds in adults]. *Klinicheskaya stomatologiya.* 2008;(3):32-4. Russian.

Хоменко Л.А., Сороченко Г.В. Изучение морфологических изменений поверхности эмали постоянных зубов *in vitro* под воздействием средств экзогенной профилактики кариеса с содержанием разных соединений кальция.

Реферат. Методом сканирующей электронной микроскопии изучены *in vitro* морфологические изменения поверхностного слоя 35 образцов эмали постоянных зубов, которые только что прорезались, под воздействием реминерализирующего геля, который содержит кальция глицерофосфат, магния хлорид, ксилит и водорастворимого крема, который содержит казеинфосфопептид-аморфный фосфат кальция. Установлено, что эмаль зубов, которые только что прорезались, имеет визуальные признаки недостаточной минерализации и, соответственно, имеет недостаточный уровень кариесрезистентности; в течение эксперимента под воздействием исследуемых средств экзогенной профилактики на поверхности эмали наблюдаются морфологические изменения, которые свидетельствуют об увеличении степени минерализации.

Ключевые слова: эмаль, постоянные зубы, минерализация, казеинфосфопептид-аморфный фосфат кальция, кальция глицерофосфат, магния хлорид, профилактика кариеса.