

УДК 616.314.13:615.31:546.41:612.08

# Експериментальна оцінка ефективності казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію у період вторинної мінералізації емалі постійних зубів

## Experimental Estimation of Casein Phosphopeptide — Amorphous Calcium Phosphate Efficiency in the Period of Secondary Mineralization of Permanent Teeth Enamel

Сороченко Г. В., к.мед.н., ас.  
каф. дитячої терапевтичної  
стоматології та профілактики  
стоматологічних захворювань,  
Національний медичний  
університет ім. О.О. Богомольця  
Sorochenko G. V., Prof. Ass.  
Department of Pediatric and  
Prevention Diseases, O.O. Bogomolets  
National Medical University

Адреса для кореспонденції:  
Сороченко Григорій Валерійович,  
e-mail: sorochenkogw@mail.ru

**Мета:** Вивчення *in vitro* змін хімічного складу та морфологічної структури поверхневого шару емалі постійних зубів, які щойно прорізалися, під впливом протикаріозного мусу із вмістом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію (RECALDENT™, CPP-ACP). **Методи:** За допомогою скануючої електронної мікроскопії та рентгенфотоелектронної спектроскопії вивчили *in vitro* зміни хімічного складу та морфологічної структури поверхневого шару 20 зразків емалі постійних зубів, які щойно прорізалися, під впливом протикаріозного мусу із вмістом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію. **Результати:** Аналіз хімічного складу поверхневого шару незрілої емалі постійних зубів доводить, що під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію у поверхневому шарі відбуваються достовірні зміни вмісту карбону, фтору, сіліцію та кальцію та співвідношення кальцій/фосфор. Підвищення рівня мінералізації емалі постійних зубів, які щойно прорізалися, під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію підтверджують дані скануючої електронної мікроскопії. Після обробки зразків незрілої емалі 10% казеїнфосфопептидом — аморфним фосфатом кальцію перикіматри згладжуються, емаль стає блискучою, проявляються депоненти фосфату кальцію. **Висновки:** Емаль зубів, які щойно прорізалися, недостатньо мінералізована та має недостатній рівень карієсрезистентності. Хімічний склад поверхневого шару емалі цих зубів змінюється під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію. Досягнення оптимального рівня мінералізації під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію відбувається вже через 6 місяців застосування.

**Ключові слова:** емаль, мінералізація, профілактика карієсу, казеїнфосфопептид — аморфний фосфат кальцію.

**Purpose:** To explore *in vitro* changes of chemical composition and morphological structure of superficial layer of enamel in just erupted permanent teeth under the influence of anticariogenic 10% casein phosphopeptide — amorphous calcium phosphate mousse (RECALDENT™, CPP-ACP). **Methods:** *In vitro* changes in chemical composition and morphological structure of the superficial layer of 20 samples of enamel in just erupted permanent teeth under the influence anticariogenic 10% casein phosphopeptide — amorphous calcium phosphate mousse were explored with scanning electron microscopy and X-ray-photoelectric spectroscopy. **Results:** There are reliable changes in the content of carbon, fluorine, silicon and calcium, Ca/P ratio in superficial layer of immature enamel

of permanent teeth under the influence of 10% casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate. Increased mineralization of the enamel of just erupted permanent teeth under the influence of 10% casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate was confirmed by scanning electron microscopy method. After processing of the samples of immature enamel with 10% casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate perikymates became smoothed, enamel became shiny, calcium phosphate accumulates.

**Conclusions:** Enamel of just erupted teeth, is not mineralized and therefore has insufficient resistance to caries. The chemical composition of the superficial layer of enamel in just erupted teeth changes under the influence of 10% casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate. Optimal level of mineralization, achieved under the influence of 10% casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate occurs in the experiment after 6 months of use.

**Key words:** enamel, mineralization, caries prevention, casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate.

## Вступ

Профілактика карієсу постійних зубів у дітей є актуальною проблемою дитячої стоматології [1, 2]. Це зумовлено значною поширеністю та інтенсивністю цього захворювання [3]. Важливе значення у патогенезі карієсу зубів належить фізіологічним властивостям емалі: розчинності, проникності, ступеню мінералізації. Рівень мінералізації твердих тканин зуба є провідним фактором для прогнозування розвитку карієсу [4]. Найнижчий рівень мінералізації твердих тканин постійних зубів спостерігається у перший рік після їхнього прорізування [5, 6]. Підвищення

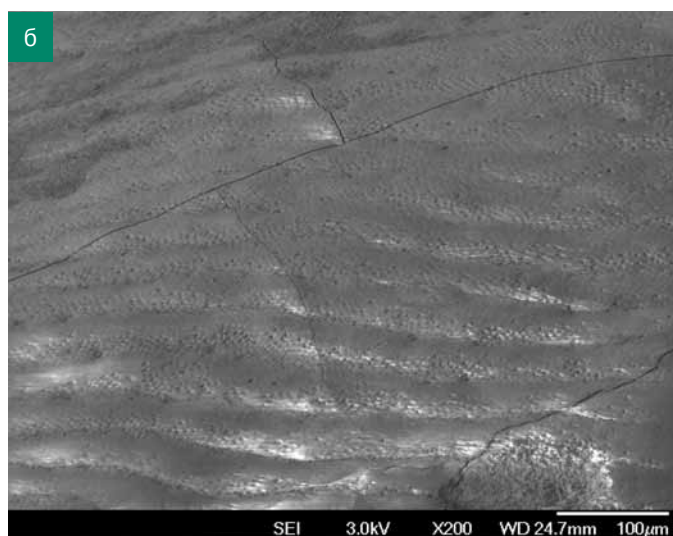
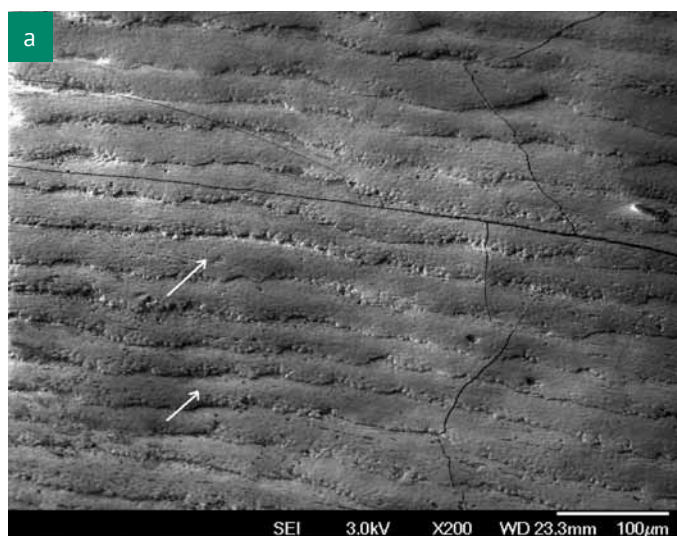
ефективності профілактики в цей період, завдяки застосуванню найкращих засобів екзогенної профілактики карієсу, сприятиме зниженню його інтенсивності. В сучасній світовій стоматологічній літературі значну увагу приділяють проблемі визначення ефективності засобів екзогенної профілактики карієсу. Проведені дослідження показали достовірний ремінералізуючий вплив засобів, що містять казеїнфосфопептид – аморфний фосфат кальцію [7–9]. Дослідження у цьому напрямку продовжуються і досі за допомогою вдосконалених методик вивчення поверхні емалі. Тому актуальним є вивчення впливу сучасних засобів екзо-

генної профілактики карієсу на емаль постійних зубів у період інтенсивної вторинної мінералізації за допомогою новітніх методів дослідження.

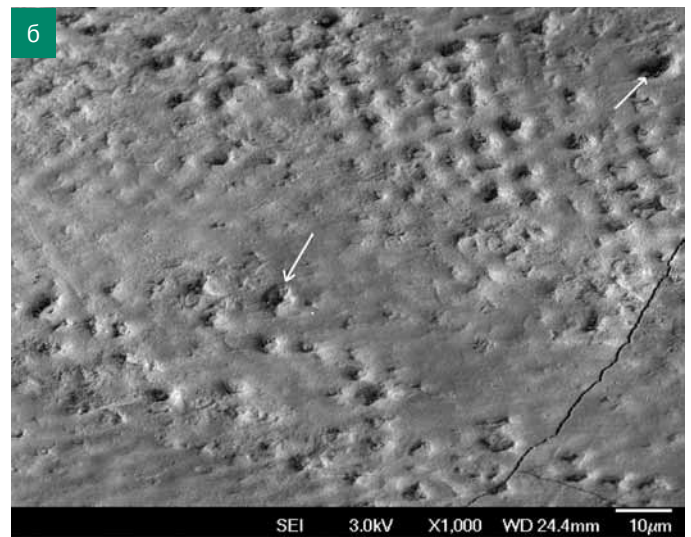
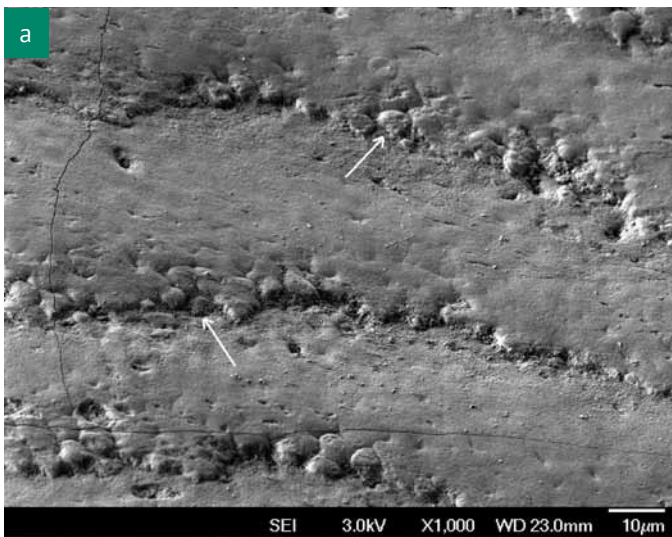
Мета дослідження – вивчення *in vitro* змін хімічного складу та морфологічної структури поверхневого шару емалі постійних зубів, які щойно прорізилися, під впливом протикаріозного мусу із вмістом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію (RECALDENT™, CPP-ACP).

## Матеріал і методи

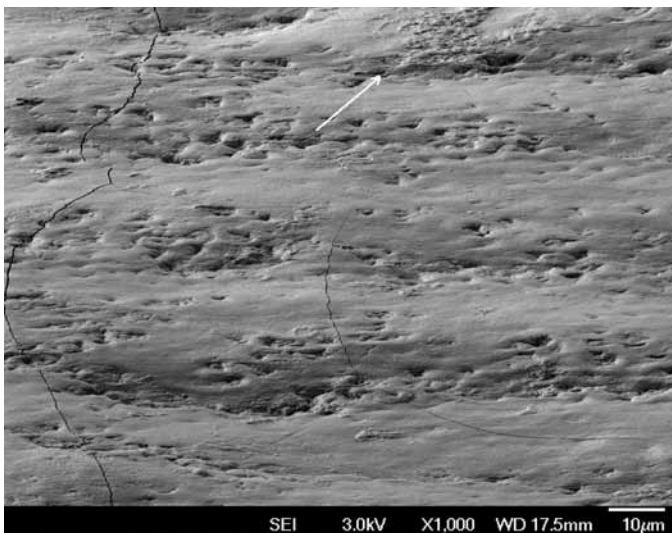
Для дослідження використали 20 зразків емалі постійних зубів, що проріза-



**Мал. 1.** Поверхня незрілої емалі постійних зубів через 6 місяців у групі контролю (а) та під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію (б) (SEM, x200), стрілками відзначено перикімат



**Мал. 2.** Поверхня зразків незрілої емалі постійних зубів через 6 місяців у групі контролю (а) та під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію (б) (SEM,  $\times 1000$ ), стрілками відзначено місця виходу на поверхню емалевих призм



**Мал. 3.** Депоненти казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію на поверхні зразків емалі постійних зубів через 12 місяців

лися в однаковий термін. Зразки емалі отримували з постійних зубів, яких видалили за ортодонтичними показаннями (премоляри та ікла дітей віком 12–13 років, не пізніше 6 місяців після прорізування) за згодою батьків. Одразу після видалення корені зубів зрізали на рівні емалево-цементного з'єднання та усували залишки м'яких тканин. Коронкові сегменти очищували за допомогою ультразвуку та полірувальної пасти і щітки.

Усі зразки емалі довільно розподілили на дві групи. Їх помістили у два окремі герметичні бокси (по 10 зразків), заповнені штучною слиною (Т. Fusayama, 1975). Надалі зразки емалі першої групи обробляли мусом, що містить 10%

казеїнфосфопептид — аморфний фосфат кальцію (CPP-ACP). Зразки другої групи слугували для контролю, їх нічим не обробляли. Обробку зразків проводили на початку дослідження, через 3, 6 та 12 місяців по 10 днів, двічі на день по 30 хв.

Зразки емалі для подальших досліджень зрізали з вестибулярної та оральної поверхонь коронкової частини зубів за допомогою алмазного диска товщиною 0,2 мм під струменем води, очистили за допомогою ультразвуку, знежирили та вакуумували. Поверхні зразків не напилували для максимальної достовірності результату. Дослідження поверхневого шару емалі проводили через 6 та 12 місяців

у 2 етапи. Спочатку поверхню зразків аналізували за допомогою вторинного електронного методу в скануючому електронному мікроскопі (SEM, INCA PENTA FET $\times 3$ , «Oxford Instruments, Co.», Велика Британія) із збільшенням від 200 до 5000. На другому етапі визначали кількісний хімічний склад поверхневого шару емалі методом рентгенфотоелектронної спектроскопії (X-ray, EDS) за допомогою Оже-мікрозонду JAMP-9500F Field Emission Auger Microprobe апарату JEOL JSM 5310 LV («JEOL», Японія). Для кожного зразка проводили аналіз в 5–7 точках поверхні. Результати обчислювали у вагових відсотках. Дослідження виконали у відділі фізико-хімічних дослі-

**Таблиця 1.** Зміни хімічного складу поверхневого шару незрілої емалі постійних зубів під впливом 10% казеїнфосфопептиду — аморфного фосфату кальцію

Група та час дослідження	Вміст хімічних елементів, % вагові										
	C	O	F	Na	Mg	P	Cl	Ca	Si	N	Ca/P
Група 1 (10% CPP-ACP) 6 місяців	5,77±0,44*	49,23±4,48	0,27±0,04*	0,68±0,06	0,28±0,03	15,53±0,57	0,42±0,07*	26,4±1,11*	0,35±0,017*	1,07±0,12	1,7±0,07*
Група 1 (10% CPP-ACP) 12 місяців	5,23±0,4*	48,5±4,73	0,22±0,04	0,67±0,08	0,25±0,02	15,87±0,48	0,33±0,04	27,46±1,05*	0,25±0,01*	1,22±0,14	1,73±0,08*
Група 2 (контрольна) 6 місяців	8,06±0,57	53,37±4,97	0,11±0,01	0,56±0,05	0,25±0,02	14,98±0,41	0,43±0,05	21,12±0,84	0,02±0,009	1,1±0,15	1,41±0,04
Група 2 (контрольна) 12 місяців	7,23±0,51	53,59±5,12	0,13±0,01	0,54±0,06	0,22±0,01	15,12±0,53	0,45±0,06	21,62±0,71	0,03±0,007	1,07±0,17	1,43±0,05

Примітка: \* – достовірність відмінностей ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками контрольної групи

джен матеріалів Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України (зав. відділу – акад. НАН України Г.М. Григоренко).

Статистичну обробку результатів лабораторних та клінічних досліджень проводили з використанням програм МЕДСТАТ. Ураховували середню арифметичну (M) та стандартну похибку середньої арифметичної (m). Достовірність відмінностей середніх величин оцінювали з використанням t критерію Стьюдента.

### Результати та їх обговорення

Результати дослідження хімічного складу поверхневого шару незрілої емалі постійних зубів методом рентгенфотоелектронної спектроскопії подані в табл. 1, де найбільш представленими хімічними елементами емалі є кисень, кальцій, фосфор та карбон. Також виявили 6 елементів, кількість яких перевищувала 0,01% вагових: нітроген, натрій, магній, фтор, хлор та силіцій (табл. 1).

Аналіз хімічного складу поверхневого шару незрілої емалі постійних

зубів доводить, що під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію у поверхневому шарі відбуваються достовірні зміни вмісту карбону, фтору, силіцію та кальцію та співвідношення кальцій/фосфор. Достовірних змін кількості хімічних елементів у зразках емалі 1 та 2 груп не встановлено на різних етапах експериментального дослідження. Статистично достовірні зміни кількості кальцію у зразках емалі постійних зубів отримали в групі 1 (10% CPP-ACP) через 6 та 12 місяців експерименту. Вміст кальцію у досліджуваних зразках зріс відповідно до 26,4±1,11 (25%) та 27,46±1,05 (27,1%) ( $p < 0,05$ ). Вміст кальцію у поверхневому шарі емалі в 2 групі (контроль) майже не змінився і становив 21,12±0,84 через 6 місяців та відповідно 21,62±0,71 через 12. Також встановили достовірне зниження вмісту карбону у зразках емалі 1 групи (10% CPP-ACP). Кількість карбону в емалі зразків цієї групи через 6 місяців експерименту становила 5,77±0,44, через 12 – 5,23±0,4, і була достовірно нижчою за аналогічні показники гру-

пи контролю – 8,06±0,57 (28,4%) та відповідно 7,23±0,51 (27,7%) ( $p < 0,05$ ). Достовірне збільшення кількості фтору в емалі постійних зубів зафіксували в 1 групі (10% CPP-ACP) через 6 місяців. За цей період вміст фтору в зразках емалі 1 групи збільшився у 2,45 раза та становив 0,27±0,04, порівняно з 2 групою 0,11±0,01 (контрольною) ( $p < 0,05$ ). Кількість силіцію у зразках емалі 1 групи (10% CPP-ACP) через 6 (0,35±0,017) та 12 місяців експерименту (0,25±0,01) була достовірно вищою за відповідні показники 2 групи (контрольної) – 0,02±0,009 та 0,03±0,007 ( $p < 0,05$ ).

Значення коефіцієнта кальцій/фосфор упродовж експерименту в 2 групі (контрольній) становило 1,41–1,43, через недостатній рівень мінералізації емалі постійних зубів, які щойно прорізалися. Під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію рівень мінералізації зразків емалі в 1 групі зріс через 6 місяців на 20,6% (1,7±0,07) та через 12 – на 20,8% (1,73±0,08) ( $p < 0,05$ ).

Отже, під час дослідження поверхневого шару незрілої емалі методом рентгенфотоелектронної спектро-

скопії встановили достовірні зміни хімічного складу під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію. Завдяки цьому емаль постійних зубів, які щойно прорізилися, може досягти оптимального рівня мінералізації (>1,67) вже через 6 місяців застосування. Підвищення рівня мінералізації емалі постійних зубів, які щойно прорізилися, під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію підтверджували дані скануючої електронної мікроскопії (мал. 1–3). На електронних мікрознімках під різним збільшенням спостерігали зміни ультраструктури поверхні емалі в 1 групі (10% CPP-ACP) вже через 6 місяців експерименту порівняно, з 2 групою (контрольною). На поверхні емалі зразків контрольної групи через 6 місяців експерименту чітко просте-

жуються перикіматри (лінії Ретціуса) (мал. 1 а), на межі яких відзначили вихід емалевих призм аркадоподібної форми (мал. 2 а), поверхня емалі тьмяна.

Після обробки зразків незрілої емалі 10% казеїнфосфопептидом – аморфним фосфатом кальцію перикіматри згладжуються, емаль стає блискучою (мал. 1 б). Це підтверджує гіпотезу, що зуби після обробки препаратами казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію стають клінічно світлішими (ефект відбілювання) [10]. При збільшенні у 1000 разів на поверхні емалі виявили лише заглиблення, що свідчить про місце виходу емалевих призм на поверхню (мал. 2 б), а також депоненти фосфату кальцію (мал. 3), навіть після механічного та ультразвукового очищення поверхні при підготовці зразків.

## Висновки

Результати дослідження свідчать, що емаль зубів, які щойно прорізилися, недостатньо мінералізована та має недостатній рівень карієсрезистентності. Хімічний склад поверхневого шару емалі зубів, які щойно прорізилися, змінюється під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію. Досягнення оптимального рівня мінералізації під впливом 10% казеїнфосфопептиду – аморфного фосфату кальцію відбувається в умовах експерименту вже через 6 місяців застосування. Засоби екзогенної профілактики карієсу зубів, що містять 10% казеїнфосфопептид – аморфний фосфат кальцію, можна рекомендувати для клінічного застосування одразу після прорізування постійних зубів не менше як на 6 місяців.

*Автор висловлює подяку відповідальному науковому співробітнику відділу фізико-хімічних досліджень матеріалів Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України Л.М. Капітанчуку.*

## Список використаної літератури

1. Хоменко Л.О. Контроль над карієсом зуба: еволюція концепції / Л.О. Хоменко, Н.В. Біденко, О.І. Остапко, І.М. Голубєва, Г.В. Сороченко, Ю.М. Трачук // *Стоматологія: от науки к практике*. – 2013. — № 1. — С. 53—65.
2. Леонтьев В.К. Профилактика стоматологических заболеваний / В.К. Леонтьев, Г.Н. Пахомов — М., 2007. — 430 с.
3. Хоменко Л.О. Стоматологічне здоров'я дітей України, реальність, перспектива // *Науковий вісник Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця*. — 2007. — № 4. — С. 11—14.
4. Трачук Ю.М. Прогнозування карієсу постійних зубів та його індивідуальна профілактика: Дис. к.мед.н. — Київ, 2008. — 157 с.
5. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. — Н. Новгород: Издательство НГМА, 2001. — 304 с.
6. Woltgens J.H., Bervoets T.J., Witjes F., Driessens F.C. Changes in the composition of the enamel of human premolar teeth shortly after eruption // *Arch. Oral Biol.* — 1981. — Т. 26. — P. 717—719.
7. Gjorgjevska E., Nicholson J.W. A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on RECALDENT™ (CPP-ACP) and NOVAMIN® (calcium-sodium-phosphosilicate) // *Acta Odontol. Latinoam.* — 2010. — Vol.23. — № 3. — P. 234—239.
8. Preethee T., Kandaswamy D., Rosaline H., Arathi G. Comparing the Remineralising Potential of Novamin and Casein phosphopeptide – Amorphous Calcium Phosphate using Quantitative Light induced Fluorescence // *Amrita Journal of medicine* — 2011. — Vol.7. — № 2. — P. 28—32.
9. Oshiro M., Yamaguchi K., Takamizawa K. et al. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study // *Journal of Oral Science.* — 2007. — Vol. 49:2. — P. 115—120.
10. Федоров Ю.А. Клинические возможности применения современных реминерализующих составов у взрослых // Ю.А. Федоров, В.А. Дрожжина, С.К. Матело, С.А. Туманова / *Клиническая стоматология*. — № 3 (47). — 2008. — С. 32 — 34.

*Стаття надійшла в редакцію 28 березня 2014 року*