

Влияние местного воздействия лекарственных средств на минерализацию дентина корня зуба в условиях эксперимента

*Белорусский государственный медицинский университет,
ГЦ «Белмикрoанализ», НТЦ «Белмикросистемы»*

Резюме: На экспериментальной модели с применением растровой электронной микроскопии и локального рентгеноспектрального микроанализа установлено, что применение препаратов кальция, фосфора, фтора в сочетании с натрия гидрокарбонатом и мирамистином на очаги деминерализации корня зуба приводит к увеличению количества минеральных элементов (кальция, фосфора, фтора) в дентине корня зуба.

Ключевые слова: кариес корня, экспериментальная модель, минерализация.

В экспериментальных и клинических исследованиях доказана способность твердых тканей зуба к реминерализации. Особенность течения кариеса корня зуба состоит в том, что кариозный процесс при кариесе корня преимущественно распространяется по поверхности корня зуба. Это диктует применение лечебных манипуляций, направленных на минимальное сошлифовывание твердых тканей корня зуба в сочетании с местным применением лекарственных средств [7,12]. Однако в настоящее время изучению реминерализации твердых тканей корня зуба уделяется недостаточно внимания. Экспериментальные и клинические данные исследований эффективности различных методик лечения кариозных пятен корня разноречивы и представлены в основном в зарубежной литературе. Известны методики местного лечения кариозных пятен корня зуба с применением фторидов [6,7,12], фторидов в сочетании с антисептиками [7,10-12]. В клинко-гистологическом исследовании показана эффективность глубокого фторирования в лечении начальных стадий кариеса корня зуба [1]. В экспериментальной работе установлено положительное влияние кальциево-фосфатной пасты в сочетании с фторидом натрия на минерализацию тканей корня зуба [9]. В клинко-лабораторном исследовании обосновано применение защитных силантов для открытого дентина (десенситайзеров) в лечении и профилактике кариеса корня зуба [3,4]. Несмотря на использование вышеуказанных лекарственных средств, методические и научные основы их применения остаются малоизученными и недостаточно разработанными. Недостатками большинства известных способов являются: длительность и невысокая эффективность лечения; возможное окрашивание тканей зуба (при использовании хлоргексидина); отсутствие комплексного воздействия на прогрессирование кариозного процесса. Так, многие описанные в литературе методики консервативного лечения кариеса корня не предусматривают длительного контакта лекарственных средств с пораженной кариесом поверхностью корня зуба, не учитывают необходимость проведения мероприятий, замедляющих прогрессирование рецессии десны, не предотвращают возникновение чувствительности дентина. До настоящего времени не оптимизированы частные методики, не разработаны принципы их дозирования. В практическом аспекте представляется обоснованным и перспективным местное комплексное лечение кариозных пятен корня зуба с применением лекарственных средств, способствующих реминерализации твердых тканей корня, предупреждающих стирание шеек зубов, угнетающих жизнедеятельность

патогенных микроорганизмов на корневых поверхностях, устраняющих чувствительность дентина оголенных корней, выделяющих ионы фтора длительное время.

Цель – изучить в условиях эксперимента с применением растровой электронной микроскопии и локального рентгеноспектрального микроанализа влияние местного воздействия лекарственных средств на минерализацию дентина корня зуба.

Задачи: 1. Получить очаги деминерализации поверхности корня на удаленных зубах (экспериментальная модель кариозного пятна корня зуба).

2. Изучить влияние местного воздействия препаратов фтора на минеральный состав кариозных пятен дентина корня зуба.

3. Изучить влияние местного комплексного воздействия гидроксиапатита нанокристаллического, 2,5% водной взвеси кальция глицерофосфата, фторсодержащего силанта для открытого дентина, 0,01% раствора мирамистина, натрия гидрокарбоната на микроструктуру поверхности и минеральный состав кариозных пятен дентина корня зуба.

Материалы и методы В исследовании использовали 10 удаленных по медицинским показаниям интактных премоляров человека и три зуба с кариозным пятном корня без дефекта дентина.

Для повышения эффективности реминерализации кариозных пятен корня зуба использовали специально подобранные препараты. Гидроксиапатит нанокристаллический – содержит кальций и фосфор в мольном соотношении 1,67 (оптимальное соотношение для твердых тканей зуба). Наночастицы способны проникать в дентинные трубочки и заполнять деминерализованные микропространства и мелкие дефекты дентина. Снижает чувствительность дентина, нередко сопутствующую оголению корней и кариесу корня [2]. . Глицерофосфат кальция - соединение кальция и фосфора, обладающее высоким уровнем биодоступности, поскольку является субстратом фосфатаз, ферментов непосредственно участвующих в минерализации тканей зуба. Обеспечивает реминерализацию твердых тканей зуба [5]. Нанесение на поверхность корня зуба в конце курса лечения фторсодержащего фотоотверждаемого силанта для дентина (десенситайзера) обеспечивает длительный контакт лекарственных препаратов с кариозным поражением корня зуба, снижение чувствительности дентина оголенных корней, выделение ионов фтора длительное время [3,4]. Мирамистин - антисептик широкого спектра, воздействует на патогенную микрофлору, усиливает местные защитные реакции, регенеративные процессы (вследствие модуляции клеточного и местного гуморального иммунного ответа), благоприятно влияет на течение болезней периодонта, предшествующих и сопутствующих кариесу корня. В отличие от хлоргексидина, предлагаемого в схемах лечения кариеса корня, не окрашивает зубы и слизистую оболочку Натрия гидрокарбонат - обладает буферными и абразивными свойствами – нормализует pH и мягко очищает поверхность корня.

Методы исследования. Исследование проводили на базе одного из научно – технических центров г. Минска. Применяли метод растровой электронной микроскопии и локального рентгеноспектрального микроанализа. Для изучения влияния местного воздействия лекарственных средств на минерализацию дентина

корня зуба зубов использовали растровый электронный микроскоп типа Stereoscan-360 (увеличение 10 -50 000,х разрешение по поверхности до 5 нм, разрешение по глубине - 0,5–1,5 мкм) с двумя энергетическими спектрометрами AN-10000 и AVALON-800 (чувствительность 0,1 ат.%, погрешность измерений \pm 5%). Для изучения морфологии поверхности и микроструктуры дентина корня зубов использовался растровый электронный микроскоп с полевой эмиссией S-4800F (разрешение - 1 нм; диапазон увеличений 30х -800000х; максимальный диаметр образца 200 мм).

Подготовка образцов. Хранение и очистку зубов проводили по методике Retief DH, Wendt SL, Bradley EL, Denys FR, 1989; Гернхарт Х.Р., Ашенбах К., Бекес К., Шаллер Г.Г., 2006. Затем корни зубов отделяли от коронок, распиливали их пополам вдоль вертикальной оси, удаляли корневую пульпу, орошали корневые каналы 0,9%-ным раствором хлорида натрия. Таким образом, из каждого зуба было получено по два образца для исследований (таб.1). Обозначали на 3 мм, \times 3-вестибулярной поверхности интактных корней зубов участок размером подлежащий обработке лекарственными средствами и исследованию, (пропиливание бороздок с использованием алмазного бора).

Основные этапы подготовки образцов зубов к исследованию методами растровой электронной микроскопии и рентгеноспектрального микроанализа включали: обработку ультразвуком частотой 18 кГц в этиловом спирте в течение 3-5 минут для обезжиривания и очищения зубов от механической пыли; фиксацию на предметном столике токопроводящим клеем. На образцы зубов (№ 11-15), подлежащие изучению фотографированию в растровом электронном микроскопе наносили токопроводящий слой (Au-пленка толщиной \sim 10 нм) на установке катодного напыления. На образцы, подлежащие микроанализу, проводящего покрытия не наносили (для уменьшения влияния статической зарядки на результаты анализа сбор рентгеновских спектров проводили на скорости развертки 0.04 кадр/сек). Интенсивность линий характеристического рентгеновского излучения химических элементов переводили в проценты при помощи стандартной программы количественного анализа ZAF4-FLS на ЭВМ. Концентрацию химических элементов (Wt%) определяли по отношению к минеральной фракции зуба в отмеченных участках. Для всех образцов определение количества минеральных элементов до и после каждой очередной обработки проводили не менее четырех раз.

Таблица 1

Описание образцов

№ образца	Виды обработки	Исследование
1-4	-деминерализация; -3-кратная обработка фторпрепаратом	локальный рентгеноспектральный микроанализ;
5-10	-деминерализация; -натрия гидрокарбонат; -0,01% р-р мирамистина; -2,5% водная взвесь кальция глицерофосфата; -гель гидроксиапатита нанокристаллического; -фторсодержащий силант для открытого дентина	
11	-деминерализация;	изучение и фотографирование микроструктуры поверхности в растровом электронном микроскопе при различных увеличениях
12	-деминерализация; -натрия гидрокарбонат; -0,01% р-р мирамистина; -2,5% водная взвесь кальция глицерофосфата; -гель гидроксиапатита нанокристаллического; -фторсодержащий силант для открытого дентина	
13	- естественное кариозное пятно корня зуба без обработки	
14	- естественное кариозное пятно корня зуба, обработанное комплексом лекарственных средств (натрия гидрокарбонат, 0,01% р-р мирамистина, 2,5% водная взвесь кальция, глицерофосфата, гель гидроксиапатита нанокристаллического, фторсодержащий силант для открытого дентина)	
15	- интактный корень зуба без обработки	

1. Выполнили указанным методом количественный анализ содержания минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) в отмеченных участках корней зубов (образцы № 1-10) до и после получения деминерализации дентина (модификация метода моделирования начальных кариозных поражений корня Phankosol P, Ettinger RL, Hicks MJ, Wefel JS., 1985 год).
2. Изучили и сфотографировали микроструктуру поверхности в отмеченных участках образцов №11,13,15 в растровом электронном микроскопе при различных увеличениях ($\times 30, 100, 500, 1000, 3000, 10000, 15000$).
3. Разделили образцы с очагами деминерализации на 2 группы наблюдения: группа №1 – контрольная, включала образцы №1-4; группа № 2 – опытная, включала образцы №5-10
4. В образцах № 1-4 (контроль) деминерализованные участки корней обработали 3 раза фторсодержащим препаратом (0,1% фторид-ионов). После каждой обработки провели в образцах № 1- 4 количественный анализ содержания минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) указанным методом.
5. В образцах № 5-10 (опыт) деминерализованные участки корней последовательно обрабатывали смесью натрия гидрокарбоната и воды (1:1), 0,01% раствором мирамистина, 2,5% водной взвесью глицерофосфата кальция, гелем гидроксиапатита, фторсодержащим силантом для дентина в соответствии с разработанным методом. После каждой обработки провели в образцах № 5- 10 количественный анализ содержания минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) указанным методом.
6. Изучили и сфотографировали микроструктуру поверхности в отмеченных участках образцов №12 и №14 в растровом электронном микроскопе при различных увеличениях ($\times 30, 100, 500, 1000, 3000, 10000, 15000$).
7. Образцы № 5-10 отмывали под проточной водой в течение 10 минут с последующим ополаскиванием дистиллированной водой в течение 3 минут

(Модификация метода М.Н. Куваевой, А.И. Воложина и соавт.). Провели количественный анализ содержания минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) указанным методом.

Результаты В образцах №1-10 выявили статистически достоверное снижение количества минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) после проведения деминерализации полиакриловой кислотой. Так, количество кальция снизилось на 21,77% ($p < 0,001$), фосфора – на 9,1% ($p < 0,05$), фтора на 100% ($p < 0,001$). За 100% принимали исходное содержание (табл.2).

Выявили сходство на микроскопическом уровне в микроструктуре поверхности дентина корня в очагах экспериментальной деминерализации и в области естественного кариозного пятна корня зуба (образцы № 11,13). Отмечали образование микропространств, узур и микротрещин на поверхности корня, разрыхление структуры интертубулярного и перитубулярного дентина, изменение формы просветов дентинных канальцев (полигональная, вытянутая), увеличение диаметра и количества дентинных канальцев, по сравнению дентином интактного корня (образец №15) (Рис.1-3).

В деминерализованных участках образцов №5-10 не выявили статистически достоверного снижения количества минеральных элементов в дентине корня зуба (кальция, фосфора, фтора) до и после обработки натрия гидрокарбонатом, 0,01% раствором мирамистина.

В деминерализованных участках образцов №5-10 выявили статистически достоверное увеличение количества минеральных элементов дентина (кальция, фосфора, фтора) после последовательной обработки натрия гидрокарбонатом, 0,01% раствором мирамистина, 2,5% водной взвесью кальция глицерофосфата, гелем гидроксипатита нанокристаллического, фторсодержащим силантом для открытого дентина. Так, количество кальция возросло на 53,29% ($p < 0,001$), фосфора – на 52,93% ($p < 0,001$). За 100% принимали содержание минеральных элементов после деминерализации. Количество фтора возросло на 205,2% ($p < 0,001$) от исходного содержания. (табл.3)

В образцах №1-4 выявили снижение содержания кальция и фосфора в дентине после 3-х кратной обработки фторсодержащим препаратом. Однако, различия статистически недостоверны.

В образцах №1-4 выявили статистически достоверное увеличение фтора в дентине корня зуба после 3-х кратной обработки очага деминерализации фторсодержащим препаратом: количество фтора увеличилось на 388% от исходного ($p < 0,001$). (табл.4)

Выявили сходство на микроскопическом уровне в микроструктуре поверхности дентина корня в очагах экспериментальной деминерализации и в области естественного кариозного пятна корня зуба после обработки лекарственными средствами: кристаллы и конгломераты кристаллов гидроксипатита на поверхности очагов поражения, в просвете дентинных трубочек, в микропространствах дентина; поверхность дентина покрыта слоем силанта, запечатывающего просветы трубочек, микропространства и микротрещины дентина (образцы № 12,14) (Рис.4).

В образцах №5-10, обработанных указанными выше лекарственными средствами, не выявили статистически достоверного снижения количества минеральных элементов в дентине корня зуба (кальция, фосфора, фтора) после 10-ти минутного

промывания проточной водой с последующим ополаскиванием дистиллированной водой в течение 3 минут.

Известно, что кариес корня прогрессирует медленнее при стимуляции перфузии в толще дентина, по сравнению с образцами при отсутствии стимуляции. Возможно, это связано с более высокой интенсивностью процессов реминерализации в живом зубе [Shellis RP, 1994]. Следовательно, если в удаленных зубах при отсутствии циркуляции дентинной жидкости возможно увеличение минерализации деминерализованного дентина путем воздействия лекарственных веществ, то в живом зубе данные вещества также могут снизить скорость прогрессирования кариозного процесса.

Заключение: Разработана экспериментальная модель кариозного пятна корня зуба, которая дает возможность оценивать эффективность реминерализующей терапии кариозного пятна корня

Использование препаратов фтора на очаги деминерализации экспериментального кариеса корня зуба увеличивает содержание фтора без изменения показателей кальция и фосфора в дентине корня зуба.

Использование 0,01% раствора мирамистина и натрия гидрокарбоната на очаги деминерализации экспериментального кариеса корня зуба не влияет на минеральный состав дентина корня зуба.

Использование комплекса лекарственных препаратов (гель гидроксиапатита, 2,5% водная взвесь кальция глицерофосфата, фторсодержащий силант для открытого дентина, 0,01% раствор мирамистина, натрия гидрокарбонат) на очаги деминерализации экспериментального кариеса корня зуба ведет к достоверному увеличению количества минеральных элементов (кальция, фосфора, фтора) дентина корня зуба.

Таблица 2

Изменение содержания минеральных элементов в деминерализованном дентине после экспериментальной деминерализации % (за 100% принимали содержание микроэлементов до деминерализации)

кальций	фосфор	фтор
-21,77 ($p < 0,0010$)	-9,1 ($p < 0,1$)	-100 ($p < 0,0010$)

Таблица 3

Изменение содержания минеральных элементов в деминерализованном дентине после обработки лекарственными препаратами в основной группе, % (за 100% принимали содержание микроэлементов в очаге деминерализации)

Обработка	кальций	фосфор	фтор (% от исходного содержания)
сода	+ 27,3 ($p < 0,010$)	+25,7 ($p < 0,010$)	-
мирамистин	+ 9 ($p > 0,05$)	+41,27 ($p < 0,001$)	-
кальция глицерофосфат	+43 ($p < 0,0010$)	+28,5 ($p < 0,0010$)	-
гидроксиапатит	+59,35 ($p < 0,0010$)	+20 ($p < 0,010$)	-
десенситайзер фтором	+53,29 ($p < 0,0010$)	+52,93 ($p < 0,0010$)	+205,2 ($p < 0,0010$)

Таблица 4

Изменение содержания минеральных элементов в деминерализованном дентине после обработки фторпрепаратами в контрольной группе, % (за 100% принимали содержание микроэлементов в очаге деминерализации)

Обработка фторидом	кальций	фосфор	фтор (% от исходного содержания)
1-я	+13,5*	+2,4*	-66,67 ($p<0,01$)
2-ая	+1,14*	-4,03*	+71,1 ($p<0,01$)
3-я	-9,7*	-11*	+388 ($p<0,001$)

* - различия недостоверны

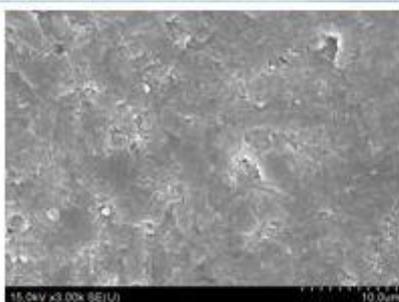


Рис 1 Поверхность интактного Корня зуба (образец № 15)

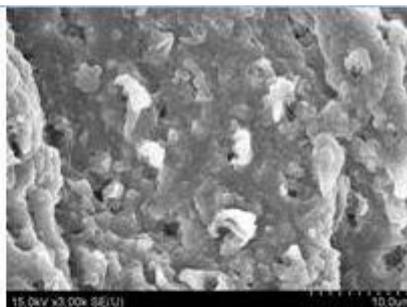


Рис 2 Участок экспериментальной деминерализации (образец № 11)

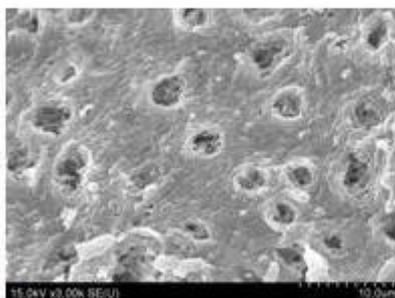


Рис 3. Кариозное пятно корня (образец № 13)

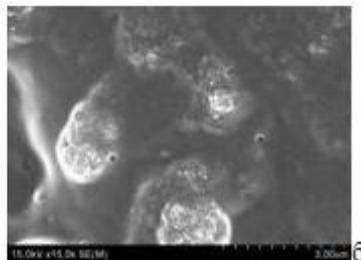
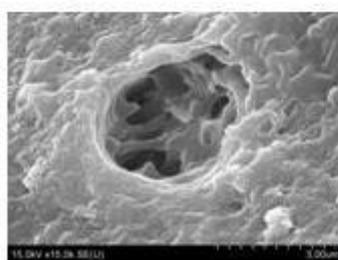


Рис 4. Кариозное пятно корня зуба до (а) и после (б) обработки лекарственными средствами (образец №14)

Литература

1. Безмен, С. А. Сравнительная клиничко-гистологическая характеристика лечения кариеса корня зуба: автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. мед. наук / С. А. Безмен. 2006. 22 с.
2. Гаража, И. С. Лечение патологической стираемости зубов с использованием гидроксиапатит- и фторсодержащих препаратов. автореф. дис. на соиск. уч. канд. мед. наук / И. С. Гаража. 2004. 22 с.
3. Гернхарт, Х. Р. Влияние различных десенситайзеров на начальную деминерализацию корневого дентина / Х. Р. Гернхарт [и др.] // Qi Русское издание. 2006. № 1. С. 19–26.

4. Грютцнер, А. Сил энд Протект – защитный силант для открытого дентина / А. Грютцнер // ДентАрт. 1999. № 4. С. 41–53.
5. Федоров, Ю. А. Роль кальция в эффективной профилактике / Ю. А. Федоров // Профилактика сегодня. 2005. Сентябрь. С. 8–13.
6. Buyukyilmaz, T. The caries-preventive effect of titanium tetrafluoride on root surfaces in situ as evaluated by microradiography and confocal laser scanning microscopy / T. Buyukyilmaz, B. Orgaard // Adv Dent. Res. 1997Nov;11(4):448–52.
7. Fejerskov, O. Textbook of clinical cariology / O. Fejerskov, A. Thylstrup. Munksguard, Copenhagen 1994.
8. Hicks, M. J. Root caries in vitro after low fluence argon laser and fluoride treatment / M. J. Hicks [et al.] //Compend Contin Educ Dent. 1997 Jun;18(6):543–8, 550, 552;quiz 554.
9. Hicks, J. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Paste: Root Surface Caries Formation. Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA, and C. FLAITZ, University of Texas - Houston / Health Science.
10. Huizinga, E. D. Effect of an antimicrobial-containing varnish on root demineralisation in situ / E. D. Huizinga, J. Ruben, J. Arends //Caries Res 24, 130–142 (1990).
11. Janover, L. Effect of daily 0,2% chlorhexidine rinse on the oral health of an institutionalized elderly population / L. Janover, D. Banting, R. Graiger // J. Canad Death Ass. 1988. 54, № 8. P. 595–598.
12. Laurisch, L. Диагностика и лечение кариеса корня / L. Laurisch // Квинтэссенция. 2004. № 2. С. 37–50.
13. L. Steier, G., Steie, H., Domingo, E. Lynch. Ozone and Sealant Treatment of Root Caries after 6-Months L. The Preliminary Program for 2005 Annual Scientific Meeting of the Irish Division of IADR (January 28–29, 2005).