

**ФОСФАТЫ, КАЛЬЦИЙ И ФТОР НЕ МОГУТ УБЕРЕЧЬ
ЭМАЛЬ ЗУБА ОТ ДЕМИНЕРАЛИЗАЦИИ ПРИ МАКСИМАЛЬНО
НИЗКОМ ЗНАЧЕНИИ pH ЗУБНОЙ БЛЯШКИ**

ВГУЗУ”Украинская медицинская стоматологическая академия“

Актуальность исследования

В Украине и в других странах мира выполнено большое количество работ, посвященных проблеме профилактики кариеса. С этой целью чаще применялись и применяются разные соединения кальция и фосфора, а также фториды в разных соединениях и комбинациях с другими химическими элементами. Но полностью преодолеть кариес с помощью этих средств так и не удалось. Почему? Мы попытались пролить свет на причину таких неудач и наметить пути поиска их преодоления, что и явилось **целью** настоящего исследования.

Задачи исследования

1. Изучить влияние фосфатных ионов на устойчивость эмали зубов к растворению в деминерализующей ротовой жидкости.
2. Изучить влияние ионов фтора с глюконатом или хлоридом кальция на растворимость эмали в деминерализующей ротовой жидкости.
3. Прокомментировать результаты исследований с позиции концепции о предельно необходимом уровне резистентности эмали.

Материал и методы исследования

Изучение влияния ионов кальция, фосфатных и фтора на устойчивость эмали зубов к растворению при кислом значении pH проводили на дольках эмали без дентина, выпиленных алмазными борами из интактных постоянных зубов, удалённых у практически здоровых детей по медицинским (ортодонтическим) показаниям. Для приготовления

деминерализующей ротовой жидкости была собрана смешанная слюна с зубной бляшкой у 15 детей, у которых имелся кариес постоянных зубов на разных стадиях развития, и смешивалась в одной колбе. В колбу был добавлен 40 % раствор глюкозы из такого расчёта, чтобы её содержание в смешанной слюне составило 1 %. Эту смесь мы назвали "рабочей жидкостью". В ней было исследовано содержание кальция и значение рН. Затем рабочая жидкость была разлита по 30 пробиркам в равных количествах. До исследования пробирки сохраняли в холодильнике, чтобы затормозить метаболическую активность кислотопродуцирующих микроорганизмов. Деминерализующей «рабочая жидкость» становилась вскоре после пребывания в течение заранее запланированного времени в термостате при температуре 37°C, так как значение рН в ней снижалось до 5,0-3,8. Теперь она имитировала полость рта ребёнка и даже зубной бляшки после углеводной нагрузки.

В первой серии исследований в 10 пробирок помещали подготовленные исходные дольки эмали и пробирки ставили в термостат при температуре 37°C. В содержимом пробирок до и после инкубации в термостате в течение 3-х, 24-х и 72-х часов определяли рН и содержание кальция. По разнице содержания кальция в содержимом пробирок без долек эмали и после пребывания в ней долек эмали проводили расчёт количества кальция, вышедшего из эмали за 3, 24 и 72 часа.

Во второй серии исследований дольки эмали, находившиеся на исследовании в первой серии, извлекали из пробирок, промывали в дистиллированной воде, высушивали, помещали в пробирки с водными растворами 5% KH_2PO_4 или 5% Na_3PO_4 и ставили в термостат при 37°C. Через 2 часа пробирки извлекали из термостата, дольки эмали промывали дистиллированной водой, высушивали. Затем эти дольки эмали помещали во вторые 10 пробирок, находившихся в холодильнике с исходной рабочей жидкостью, и ставили в термостат. Через 3, 24 и 72 часа термостатирования в содержимом пробирок определяли содержание кальция и показатель рН.

По разнице содержания кальция в рабочей жидкости без долек эмали и после пребывания в ней долек эмали, обработанных фосфатами, проводили расчёт количества кальция, вышедшего из эмали в деминерализирующую жидкость за 3, 24 и 72 часа.

В третьей серии исследования проводили в такой же последовательности, как в первой и второй сериях. Однако дольки эмали вначале находились в течение 35 минут в 10% растворе хлорида кальция или в 10% растворе глюконата кальция, затем на такое же время их помещали в 1% водный раствор фторида натрия. И только после этого обработанные дольки эмали помещали в оставшиеся 10 исходных пробирок с рабочей жидкостью и ставили в термостат. По разнице содержания кальция в рабочей жидкости без долек эмали и после пребывания в ней долек эмали, обработанных солями кальция и фторида, проводили расчёт количества кальция, вышедшего из эмали в деминерализирующую жидкость за 3, 24 и 72 часа.

На основании данных о разнице содержания кальция в содержимом пробирок до воздействия и после воздействия на эмаль минерализующих средств вычисляли коэффициент и степень защиты эмали от растворения. Коэффициент защиты показывает, во сколько раз уменьшается скорость растворения эмали в деминерализующей ротовой жидкости исследуемыми веществами. Степень защиты характеризует полноту подавления растворения эмали зуба применёнными средствами и даётся в процентах: $Z = (i - i') / i \cdot 100\%$, где i' и i - количество выщелочившегося кальция, т.е. скорость растворения долек эмали с воздействием вещества и без него.

В общей сложности произведено 105 измерений показателя рН и такое же количество анализов на кальций. Содержание кальция в содержимом пробирок определялось на пламенном фотометре «Flaphokol Carl Zeiss» при длине волны 554,0. Показатель рН ротовой жидкости определялся на «Микроаструпе VTS-13», выпущенном в Дании.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием вариационного анализа с определением вероятности различия по таблицам Стьюдента [1, 2].

Результаты исследований и их обсуждение

Показатель рН в ротовой жидкости с глюкозой уже после непродолжительного пребывания пробирок в термостате снижался до 5,0 и в конце опыта достигал значения 4,6-3,8. Такое снижение рН позволило нам назвать смесь ротовой жидкости с глюкозой деминерализующей жидкостью, которая в какой-то степени имитирует полость рта и даже зубной бляшки после углеводной нагрузки. Результаты исследования влияния фосфатов и фтора на степень защиты эмали зуба от растворения в деминерализующей рабочей жидкости представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Степень защиты эмали от растворения (по кальцию) в
деминерализующей ротовой жидкости анионами
фосфатными и фтора (в %)**

Ион	Степень защиты эмали от деминерализации		
	через 3 часа	через 24 часа	через 72 часа
H ₂ PO ₄ ⁻	91,8	0,2	0
PO ₄ ⁻⁻⁻	100,0	6,5	0
F ⁻	100,0	84,0	0

Из таблицы видно, что исследованные одно- и трёхзамещённый фосфатные анионы защищают эмаль зуба от растворения по кальцию, но не в одинаковой степени. Полностью защищает эмаль зуба от деминерализации в течение трёх часов инкубации в термостате трёхвалентный анион PO₄⁻⁻⁻; менее выраженным, но всё же высоким защитным эффектом в течение этого же времени обладает одновалентный анион H₂PO₄⁻. Но через сутки последний теряет эту способность. Трёхвалентный остаток фосфорной кислоты через сутки инкубации в термостате долек эмали ещё сохраняет

незначительную защитную способность, которая полностью сходит на нет к трём суткам.

Из табл. 1 также следует, что степень защиты эмали зуба фтором от растворения в деминерализующей ротовой жидкости с кислым рН (4,6-3,8) через 3 часа была полной, через 24 часа – на 16% слабее, а через 72 часа защита уже не действовала и была нулевой.

Результаты исследований суточной растворимости эмали в ротовой жидкости с рН 4,6-3,8 после последовательного воздействия на эмаль ионов кальция а потом ионов фтора приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Степень защиты эмали зубов от деминерализации в
деминерализующей ротовой жидкости глюконатом или хлоридом
кальция с фторидом натрия (в %)**

№№ п/п	Препарат	Степень защиты эмали от деминерализации (в %)		Р
		М	±m	
1	Фторид натрия (контроль)	84,0	2,3	-
2	Кальция глюконат с фторидом натрия	84,2	3,5	> 0,9
3	Кальция хлорид с фторидом натрия	80,5	1,5	< 0,2

Примечание: Р (вероятность различия) – при сравнении с контролем.

При последовательном воздействии на эмаль зуба глюконата кальция, а потом фторида натрия степень защиты эмали от растворения в деминерализующей ротовой жидкости оставалась такой же, как и степень защиты одним фторидом натрия. Разница эта была очень далека от достоверной (Р >0,9).

При последовательном воздействии на эмаль зуба хлоридом кальция, а потом фторидом натрия степень защиты эмали от растворения в деминерализующей ротовой жидкости оказалась даже на 3,5% ниже, а коэффициент защиты - в 1,043 раза слабее, чем в случае применения одного фторида натрия. Однако эта разница была статистически недостоверной ($P < 0,2$).

Чтобы исключить объяснение полученных результатов тем, что в содержимое пробирок выщелачивался из эмали только тот кальций, который поступил в неё из препаратов кальция и не вступил в химическую реакцию со фтором из-за истощения растворов фтором, либо по другой причине, были проведены дополнительные исследования.

В раствор фторида натрия, из которого через 35 минут были извлечены находившиеся в нём кусочки эмали, добавляли каплю хлорида кальция. Сразу же образовывалась белая взвесь, свидетельствующая о том, что в растворе ещё имеется фтор, способный связывать кальций, т.е. что раствор ещё не истощился фтором.

Другим доказательством правильности интерпретации полученных результатов служит следующий опыт. Если кусочки эмали (но со значительно большей поверхностью, чем в предыдущем опыте), обработанные 1-2% раствором фторида натрия или вначале препаратами кальция, а затем фтора, выдерживать в ротовой жидкости в термостате не 23 часа, а только 3 часа, то количество кальция в ротовой жидкости за этот срок не только не увеличивается, но даже уменьшается в 1,2 раза. Этот кажущийся парадокс можно объяснить тем, что кальций слюны вступил в химическую реакцию с адсорбированными на поверхности эмали ионами фтора, для которых не хватило ранее адсорбированных ионов кальция. В итоге смешанная слюна обеднилась кальцием, так как послужила его источником для эмали зуба. Эти данные являются также подтверждением не только наличия процессов деминерализации, но и процессов реминерализации эмали зуба в естественных условиях полости рта.

Таким образом, в условиях выраженной кариесогенной ситуации в полости рта, когда рН зубной бляшки снизится до 5,0 - 4,0 и будет держаться на этом уровне длительное время, фосфаты не смогут защитить эмаль зуба от растворения. Они лишь замедлят на некоторое время разрушение структуры гидроксиапатита.

Обработка молодой эмали фторидом натрия приводит к снижению её растворимости при рН около 4,0 в большей степени, чем фосфат и кальций, но всё же не в полной мере. Эта защита существенно снижается через сутки и полностью исчезает через трое суток.

Последовательная обработка эмали зубов вначале препаратами кальция, а затем фтора не уменьшала растворимости эмали в деминерализующей ротовой жидкости по сравнению с эмалью, обработанной только фторидом натрия.

Почему же всё-таки ни фосфаты, ни фторид натрия или сочетание фосфатов с фторидом натрия не защищают растворение эмали при максимально низком значении рН зубной бляшки? Причина таких неудач кроется в следующем [3]. Согласно микробно-кислотной концепции кариеса основным механизмом повреждения эмали является деминерализация ее минерального компонента кислотами. Они образуются в зубной бляшке в результате жизнедеятельности ее микроорганизмов, снижая рН зубной бляшки после углеводной нагрузки до максимального значения 4,0 и даже несколько ниже. Минерал гидроксиапатит, карбонатапатит, фторапатит, фторид кальция, из которых в основном состоит незрелая и зрелая эмаль зуба, её поверхностный гиперминерализованный слой, растворяются при рН 5,0 [4, 5], а тем более при значении рН 4,0. Вот почему как бы ни насыщалась эмаль зуба кальцием, фосфатами и фтором, она всё равно будет постепенно растворяться при значении рН ниже 5,0.

Нужны другие химические элементы, которые при экзогенном применении превратят гидроксиапатит, карбонатапатит, фторапатит, фторид кальция в такие соединения, которые не будут растворяться при значении

pH 4,0–3,5, т.е. при предельно необходимом уровне резистентности эмали [3]. Считаем эту цель достижимой потому, что минерализованность эмали генетически недетерминирована [6].

Научная новизна исследования. Поставлена под сомнение необходимость последовательного применения аппликаций фосфатов или кальция и фтора для усиления устойчивости эмали к деминерализации при минимально низком значении pH зубной бляшки, так как она не превышает устойчивости эмали, обработанной только фторидом натрия. Разъяснена причина деминерализации даже зрелой эмали при максимально низких значениях pH зубной бляшки.

Практическая значимость исследования. Экономия рабочего времени врача и удешевление стоимости курса профилактики кариеса.

Перспективы дальнейших исследований состоят в поиске других средств для экзогенной профилактики кариеса зубов, которые в большей степени, чем препараты кальция, фосфатов и фтора, приблизят резистентность эмали до необходимого предельного уровня.

Выводы

1. Одно- и трёхзамещённые остатки фосфорной кислоты *in vitro* не защищают эмаль зуба от растворения при критическом значении pH деминерализующей ротовой жидкости.

2. Комбинация глюконата или хлорида кальция с фторидом натрия *in vitro* не защищает эмаль зуба от растворения при критическом значении pH деминерализующей ротовой жидкости значительно, чем один фторид натрия.

3. Причина деминерализации эмали при критическом значении pH кроется в том, что её резистентность далека от предельно необходимого уровня, который находится на pH 4,0-3,5.

Литература

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

2. Сепетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д. Сепетлиев. – М.: Медицина», 1968. – С. 419.

3. Падалка И.А. О предельном уровне резистентности эмали постоянных зубов к деминерализации под агрессивной зубной бляшкой / И.А. Падалка, А.И. Падалка // Актуальные вопросы и перспективы развития стоматологии: конф. с междунар. участием, посвящ. юбилею зав. каф. хирургической стоматологии и ЧЛХ ХНМУ, д.мед.наук, проф. Рузина Г.П., 11 мая 2011 г. : материалы докл. -Харьков, 2011. – С. 159-160.

4. Fuerstenau – цит.: А. Адамсон. Физическая химия поверхностей. – М.: Мир, 1979. – 568 с.

5. Садовский В.В. Клинические технологии блокирования кариеса / В.В. Садовский. – М., 2005. – 78 с.

6. Аврамова О.Г. Профилактика кариеса фиссур путём регуляции созревания эмали фторидсодержащими зубными пастами / О.Г. Аврамова, В.К. Леонтьев, Т.Н. Жорова // В.К. Леонтьев. Школа. - М.: Медицинская книга, 2009. - С. 193-201.

Стаття надійшла

31.01.2012 р.

Резюме

Исследованиями *in vitro* установлено, что одно- и трёхзамещённые остатки ортофосфорной кислоты непродолжительное время защищают эмаль зуба от деминерализации при критическом значении рН. Глюконат и хлорид кальция в комбинации с фторидом натрия не повышают устойчивость эмали зуба к деминерализации при критическом значении рН значительно, чем один фторид натрия. Разъясняется причина этого явления.

Ключевые слова: зубы, деминерализация эмали, критическое значение рН, фосфаты, кальций, фторид натрия.

Резюме

Дослідженнями *in vitro* встановлено, що одно- і тризаміщені залишки ортофосфорної кислоти нетривалий час захищають емаль зуба від демінералізації при критичному значенні рН. Глюконат і хлорид кальцію в комбінації з фторидом натрію не підвищують стійкість емалі зуба до демінералізації при критичному значенні рН значніше, ніж один фторид натрію. Пояснюється причина цього явища.

Ключові слова: зуби, демінералізація емалі, критичне значення рН, фосфати, кальцій, фторид натрію.

Summary

The studies *in vitro* shows that the one- and three-substituted residua of orthophosphoric acid may for short period only prevent the demineralization of dental enamel under critical pH value. Calcium gluconate and calcium chloride combined with sodium fluoride seem to enhance the enamel resistance to demineralization under critical pH value more than sodium fluoride by itself. This research paper explains this phenomenon.

Key words: teeth, enamel demineralization, critical pH value, phosphates, calcium, sodium fluoride.