

Использование наночастиц гидроксилapatита стронция для профилактики и лечения повышенной стираемости зубов.



Демьяненко С.А. — доктор медицинских наук, профессор. *ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»; *Медицинская академия им. С.И. Георгиевского



Ткаченко И.М. — доктор медицинских наук, профессор Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

На сегодняшний день большое внимание в мире стоматологии уделяется возможности восстановления структуры эмали, которая потеряна за счет функции, а также профилактики ее потери или приостановке патологического процесса, на уровне его обнаружения (3). Наиболее часто для этого применяют различные стоматологические пломбирочные материалы которые обладают повышенной прочностью и адгезией к тканям зуба. Но применение данных материалов требует предварительной подготовки эмали и дентина в виде препарирования, что нарушает целостность зуба и в целях профилактики не является достаточно обоснованным.

В связи с этим становится актуальным вопрос о возможности создания специальных соединений, которые имели бы возможность повысить резистентность эмали к механическим нагрузкам не нарушая целостности эмали на этапах первич-

ной профилактики.

В большинстве случаев изучается возможность в экспериментальных условиях биомиметического роста кристаллов на поверхности зуба при различных способах его обработки (4). Основная трудность заключается в невозможности соединения и проникновения предлагаемых материалов в эмаль с целью ее упрочнения. В качестве материала для лечения повышенной стираемости зубов мы предлагаем использовать наночастицы (3). Уменьшение частиц до нанометровых размеров приводит к проявлению в них так называемых «квантовых размерных эффектов» и новые возможности материала обусловлены как особенностями отдельных частиц, так и коллективными действиями, которые зависят от характера взаимодействия между ними и исследуемого образца.

Оценивая микроэлементы, которые мы имеем возможность применять в стоматологической практике, мы обратили свое

внимание на такой элемент, как стронций. Стронций является активным агентом для повышения плотности зубной эмали. Довольно часто соли стронция используют в качестве компонентов зубных паст и ополаскивателей полости рта (7-10). Установлена прямая связь между возрастом, повышенной стираемостью, обмену стронция в зубах и проникновению его из слюнных желез (1). Эту особенность стронция используют в синтезе новых лекарственных веществ на основе стронция ранелата, который стимулирует образование кости в культуре костной ткани, а также репликацию предшественников остеобластов и синтез коллагена в культуре костных клеток (2,5).

Учитывая, что при получении наночастиц стронция на основе гидроксилapatита мы можем получить структуру с новыми, положительными для нас свойствами, данное направление разработок можно считать актуальным.

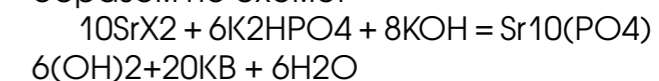
Исходя из вышеперечисленного наночастицы, производные стронция и родственные ионам кальция, по нашему мнению, могут абсорбироваться на поверхности апатита или замещать данным анионом фосфат или гидроксид-ион в решетке гидроксиapatита, встраиваться в эмалевые призмы.

Целью работы было создание производных солей стронция, имеющих различную структуру наночастиц со способностью интеграции в эмалевый слой для изменения свойств эмали зубов.

Методы исследования.

Прототипом получения наночастиц стронция стала работа Ю.Д. Третьякова (2007) по методике химического синтеза наночастиц с гидроксилapatитом кальция (6). В качестве стронций содержащей соли в нашей работе были использованы нитрат, хлорид и ацетат стронция.

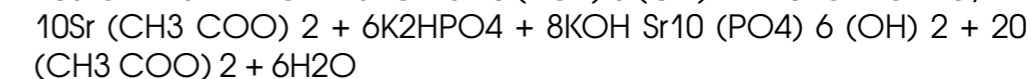
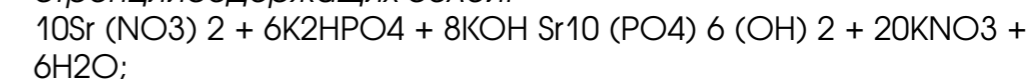
Предложенный способ получения наночастиц гидроксилapatита стронция $Sr_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ для профилактики и лечения повышенной стираемости зубов выполняют следующим образом по схеме:



Полученный осадок растирали в агатовой ступке. Для перевода остатков аморфной фазы гидроксилapatита стронция в кристаллическую, порошок выжигали в муфельной печи при температуре $500^\circ C$ в течение 2 часов. Количество исходных веществ рассчитывали исходя из соотношения $V(Sr) / V(P) = 1,67$.

Для установления фазового состава полученного порошка проводили рентгенографическое исследование на дифрактометре ДРОН - 7М при условиях: $Cu\ K\alpha$, $U = 30kV$, $I = 20\ mA$, $2\theta = 0,004$ град, $D = 3$ сек. По данным рентгенофазового анализа при синтезе гидроксилapatита из разных стронциевых солей во всех случаях получали в качестве основного продукта Sr_7AP .

Следующие уравнения реакций демонстрируют способ получения гидроксилapatита с использованием различных стронцийсодержащих солей:



Рентгенографическое исследование полученных образцов проводили на дифрактометре (ДРОН-7М), при $U = 30\text{kV}$, $I = 20\text{ mA}$, $\Delta 2\theta = 0,004$ град и $\tau = 3$ сек.

В зависимости от методики получения наночастиц и их производной форма их также отличалась.

Для исследования свойств полученных наночастиц было исследовано 14 зубов с повышенным типом истирания твердых тканей, удаленных по ортопедическим и ортодонтическим показаниям у пациентов от 25 до 45 лет. Все исследования проводились после одобрения комиссии по биоэтике. Исследования проводились с помощью растрового электронного микроскопа (SEM) «Mira 3 LMU» («Tescan», Чехия) с максимальным разрешением 1 нм и максимальным увеличением 1000000. Элементный состав локального участка определялся с помощью энергодисперсионного спектрометра X-max 80mm2 (Oxford Instruments, Великобритания), который был интегрирован в растровый электронный микроскоп. Предложенная система исследования позволила определить микроструктуру эмали без традиционной для образцов-диэлектриков процедуры покрытия поверхности тонким слоем проводящего материала. **При исследовании пользовались разработанной методикой:**

1. протравливание поверхности эмали исследуемых зубов 30% ортофосфорной кислотой с целью очистки поверхностного слоя эмали;
2. выбор точек для микроанализа и нанесение разработанных наночастиц на поверхность эмали с рабочим временем 5 мин;
3. промывка и чистка опытных образцов зубной щеткой в течение 2 минут;
4. химический микроанализ с исследованием поверхности эмали в выбранной зоне и изучение морфологии выбранных участков с целью выявления наночастиц стронциевого гидроксилапатита на поверхности эмали.

Результаты обсуждения. Выбор дан-

ных анионов объясняется довольно значительной растворимостью их в воде. Нитратный анион можно отнести к не модифицированным анионам, так как он не имеет возможности встраиваться в структуру гидроксилапатита и не склонен к гидролизу. Вопреки этому, ацетатный ион гидролизует и уменьшает кислотность среды, связывает ионы стронция с образованием ионного ассоциата (ионные пары). Хлорид-ион считается модифицирующим и имеет возможность замещать гидроксильные группы в кристаллах гидроксилапатита с образованием стронциевого хлорапатита.

Для установления фазового состава полученного порошка проводили рентгенографическое исследование на дифрактометре ДРОН - 7М при условиях: $\text{Cu K}\alpha$, $U = 30\text{kV}$, $I = 20\text{ mA}$, $2\theta = 0,004$ град, $D = 3$ сек. На (рис. 1) приведена рентгенограмма образцов гидроксилапатита стронция полученного из нитрата стронция

Исследование микроструктуры полученного порошка проводили на сканирующем электронном микроскопе MIRA 3 Tescan. Анализ образцов показал, что в результате обжига порошка при температурах выше чем 5000C , размер кристаллов увеличивается. По данным рентгенофазового анализа при синтезе гидроксилапатита из разных стронциевых солей во всех случаях получали в качестве основного продукта SrГАП .

Таким образом были синтезированы порошки гидроксилапатита с размерами первичных наночастиц 19,8 - 25 нм и с высокой степенью агрегации (рис. 2,3,4).

Обращает на себя внимание разница в морфологии кристаллов стронциевого гидроксилапатита, полученного из нитрата стронция и других солей стронция предложенным способом. Она меняется в зависимости от природы исходных анионов стронциевых солей (хлорид, нитрат, ацетат): пластинки, иглы и равноосные частицы можно объяснить различными видами

взаимодействия анионов исходных солей с гидроксилапатитом.

Для дальнейшего изучения свойств полученных наночастиц по экспериментальному протоколу проводили дальнейшие исследования:

1) протравливание поверхности эмали исследуемых зубов 30% ортофосфорной кислотой для очистки поверхностного слоя эмали (рис.5);

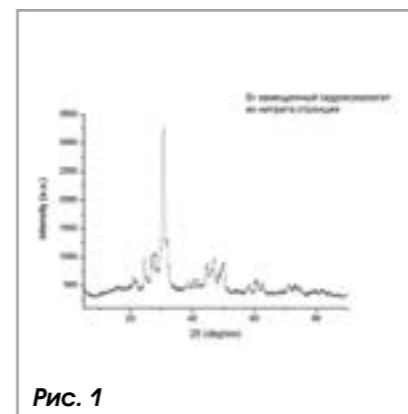


Рис. 1

Рис. 1.

Рентгенограмма образца гидроксилапатита стронция полученного из нитрата стронция.

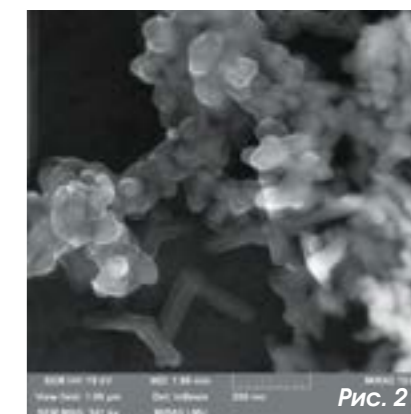


Рис. 2

Рис. 2.

Микрофотография наночастиц кристаллов стронциевого гидроксилапатита полученного методом осаждения из хлорида стронция

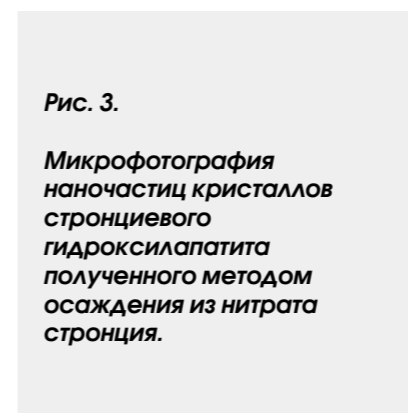


Рис. 3.

Микрофотография наночастиц кристаллов стронциевого гидроксилапатита полученного методом осаждения из нитрата стронция.

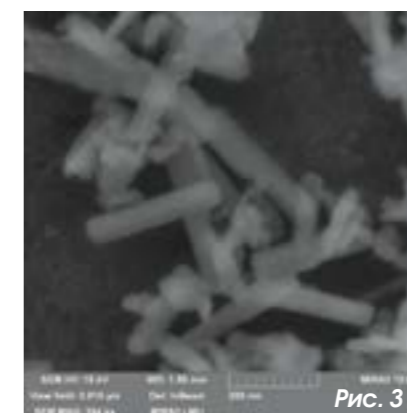


Рис. 3

Рис. 4.

Микрофотография наночастиц кристаллов стронциевого гидроксилапатита полученного из хлорида стронция осажденного оксиэтилиденфосфоновой кислотой (ОЭДФ).

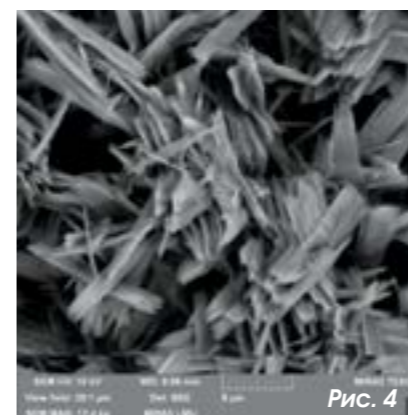


Рис. 4

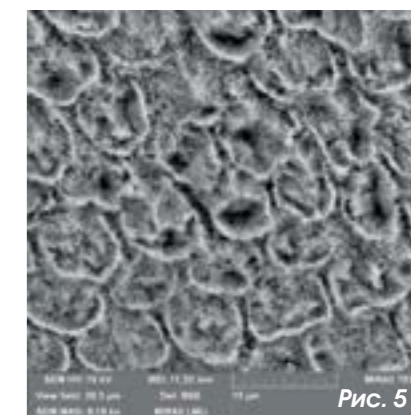


Рис. 5

Рис. 6.

Электронное изображение исследуемой зоны эмали (образец № 12), с явлениями повышенной стираемости с выделенными зонами микроанализа, увеличение 59х, масштабная метка - 1мм. (Стрелками показаны зоны нанесения и последующего изучения наноструктур)

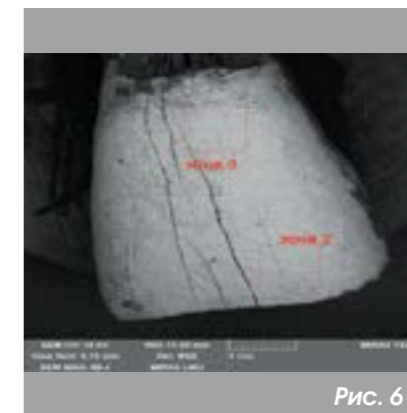


Рис. 6

Рис. 5.

Электронное изображение исследуемой зоны эмали после протравливания 30% ортофосфорной кислотой (образец №7), увеличение 7390х, масштабная метка - 10мкм.



1) Выбор точек для микроанализа и нанесение разработанных наночастиц на поверхность эмали с рабочим временем 5 мин (рис. 6).

1) образцы после промывки и чистки зубной щеткой в течение 2 минут (рис. 7, 8).

Кроме этого проводился микроэлементный анализ в указанных зонах с целью выяснения содержания наночастиц стронция на поверхности эмали (рис. 10).

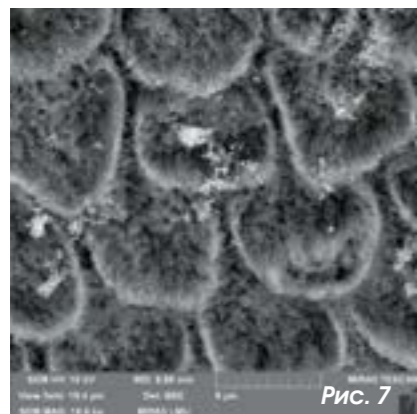


Рис. 7.

Электронное изображение исследуемой зоны эмали (образец № 12, зона 2) с явлениями повышенной стираемости после протравливания с фиксированными наночастицами стронциевого гидроксиапатита осажденного из азотистых солей, увеличение 1860х, масштабная метка - 5мкм (стрелками показаны наночастицы стронциевого гидроксиапатита осажденного из азотистых солей)

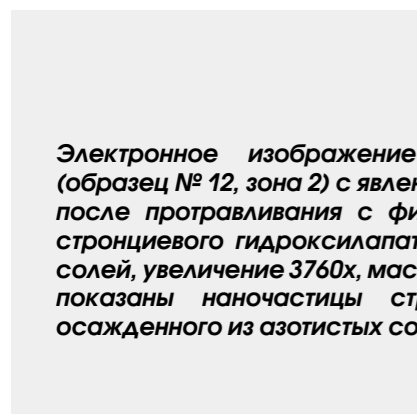


Рис. 8.

Электронное изображение исследуемой зоны эмали (образец № 12, зона 2) с явлениями повышенной стираемости после протравливания с фиксированными наночастицами стронциевого гидроксиапатита осажденного из азотистых солей, увеличение 3760х, масштабная метка - 5мкм (стрелкой показаны наночастицы стронциевого гидроксиапатита осажденного из азотистых солей).

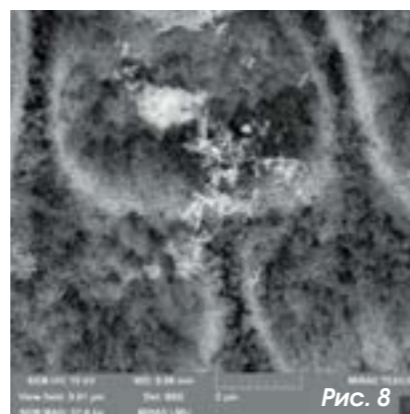


Рис. 8

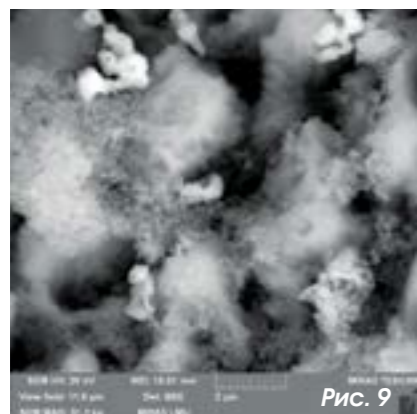


Рис. 9.

Электронное изображение исследуемой зоны эмали (образец № 12, зона 3) с явлениями повышенной стираемости после протравливания с фиксированными наночастицами стронциевого гидроксиапатита осажденного из хлорида стронция, увеличение 3120х, масштабная метка - 2мкм (стрелками показаны наночастицы стронциевого гидроксиапатита осажденного из хлорида стронция).

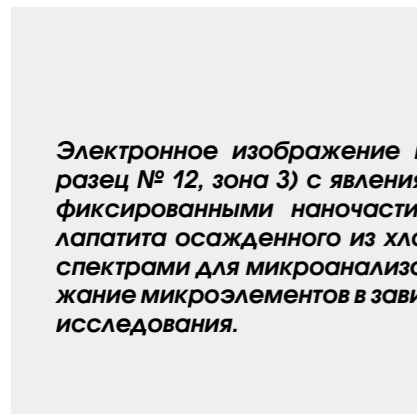


Рис. 10

Электронное изображение исследуемой зоны эмали (образец № 12, зона 3) с явлениями повышенной стираемости с фиксированными наночастицами стронциевого гидроксиапатита осажденного из хлорида стронция с нанесенными спектрами для микроанализа. В таблице 1 приведено содержание микроэлементов в зависимости от выбранного спектра исследования.

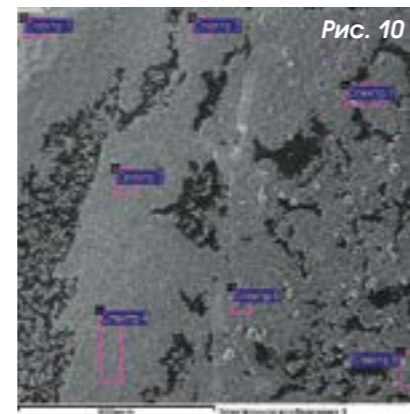


Рис. 10



Таблица 1

Содержание микроэлементов на поверхности исследуемой зоны эмали (образец №12, зона 3) с явлениями повышенной стираемости с фиксированными наночастицами стронциевого гидроксиапатита осажденного из хлорида по спектрам исследования.

Спектр	C	O	Mg	Al	P	Cl	K	Sr	Итого
Спектр 1	8.37	23.19		0.37	12.52	0.54	0.84	54.16	100.00
Спектр 2	7.84	21.63	0.57	12.33	10.80	0.53	1.24	45.07	100.00
Спектр 3	8.41	21.60	0.55	10.17	11.27	0.39	0.57	47.04	100.00
Спектр 4	9.15	20.36	0.90	18.05	9.66	0.49	0.47	40.92	100.00
Спектр 5	8.02	20.95	0.49	10.58	11.03	0.38	0.53	48.01	100.00
Спектр 6	8.90	21.51		5.00	11.62	0.52	0.77	51.68	100.00
Спектр 7	7.63	20.69	0.61	11.29	10.39	0.46		48.93	100.00
Макс.	9.15	23.19	0.90	18.05	12.52	0.54	1.24	54.16	
Мин.	7.63	20.36	0.49	0.37	9.66	0.38	0.47	40.92	

Таким образом в результате исследования получены наночастицы различной химической структуры (нитратный, ацетатный и хлорид-ион) с различной формой, размерами и возможностью вступать во взаимосвязи с эмалью зубов. В эксперименте, после протравливания поверхности эмали и нанесения на ее поверхность разновидностей стронциевого апатита доказано проникновение наночастиц внутрь эмалевых призм, что подтверждается данными точечного микроэлементного анализа.

Выводы. Впервые синтезированы наночастицы на основе кальциевого гидроксиапатита для профилактики и лечения повышенной стираемости твердых тканей зубов (Способ одержання наночастинок гідроксил апатиту стронцію для профілактики і лікування стертості зубів / Заявка в Укрдержпатент України № U 201211213 від 27.09.12). Включение в структуру кальциевого гидроксиапатита, которым представлена эмаль зуба, наночастиц из стронция позволит повысить плотность эмали и изменить ее химические характеристики за счет увеличения количества стронция в эмали как на этапах профилактики повышенной стираемости так и на этапах лечебных мероприятий, которые в состоянии, по нашему мнению, повысить резистентность эмали к повышенным функциональным нагрузкам.

Литература

1. Альперович Г.Л. Стронций в зубах, костях, слюне в условиях физиологии и патологии: Автореф. дис. на соискание научн. степени канд. мед. наук: спец. 14.771 «Стоматология» / Г.Л. Альперович - Пермь, 1971. - 16 с.
2. Вербовая, А.Ф. Показатели фосфоро-кальциевого обмена и плотность костной ткани в работающих на производстве фосфора / hthh : / osteoporosis-rus.webzone.ru/pagenew3.htm.
3. Гусев А. И. Наннокристаллические материалы / А.И. Гусев, А.А. Ремпель. - М.: Физматлит, 2000. - 224 с.
4. Николаенко С.А. Исследование биомиметического формирования апатита на поверхности дентина / С.А. Николаенко, В. Лобауэр, М. Ципперле // Стоматология. - № 6. - 2007. - С. 20-25.
5. Торопцова Н. В. стронция ранелат в лечении остеопороза: доказательства эффективности / В. Торопцова, Т. А. Короткова // Научно-практическая Ревматология. 2010. - № 1. - С. 19-24.
6. Третьяков Ю.Д. Влияние анионов NO3, CH3COO, Cl на морфологию кристаллов гидроксиапатита кальция / Ю.Д. Третьяков, А.А. Степук, А.Г. Вересов // доклады академии наук. - Т.412. - № 2. - 2007. - С. 211-215.
7. Gleiter H. Nanostruct. Mater. / H. Gleiter - 1992. - V. 1. - P. 1. Siegel R.W. Nanostruct. Mater. / R.W. Siegel - 1993. - V. 3. - № 1-6. - P. 1.
8. Liu H., Hu D. Efficacy of a commercial dentifrice containing 2% strontium chloride and 5% potassium nitrate for dentin hypersensitivity: a 3-day clinical study in adults in China. - Clin Ther. 2012 Mar; 34 (3) :614-22. Epub 2012 Mar 3. PMID: 22385928 (PubMed - in process).
9. Parkinson CR. A comparative in vitro study investigating the occlusion and mineralization properties of commercial toothpastes in a four-day dentin disc model. / Parkinson CR., Willson RJ. // J. Clin Dent. 2011; 22 (3) :74-81. PMID: 21905401 (PubMed - indexed for MEDLINE)
10. Schiff T. Clinical efficacy in reducing dentin hypersensitivity of a dentifrice containing 8,0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride compared to a dentifrice containing 8% strontium acetate and 1040 ppm fluoride under consumer usage conditions before and after switch-over. / Schiff T, Mateo LR., Delgado E, Cummins D, Zhang YP, DeVizio W. // J Clin Dent. 2011; 22 (4) :128-38. PMID: 22403989 (PubMed - indexed for MEDLINE)
11. Пат. RU 2409392, МПК А61L27/00, В82В3/00. Способ создания наночастиц в биоцементе - гидроксиапатите / Государственное учебно-научное учреждение Научно-исследовательский институт механики Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (RU), Третьяков Ю.Д., Кузнецов В.И., Коршунов А.Б., Путляев В.И., Голубцов И.В., Иванов А.Н., Ковальков В.К. (RU).-№ 2009111398/15; заявл. 30.03.2009; опубл.20.01.2011