

Многоуровневый анализ микроструктуры эмали в обосновании микроинвазивных технологий лечения очаговой деминерализации эмали у пациентов ортодонтического профиля

Гилева О.С.¹, д.м.н. зав. кафедрой терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

Левицкая А.Д.¹, соискатель кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний

Сюткина Е.С.¹, к.м.н. ассистент кафедры детской стоматологии и ортодонтии

Халявина И.Н.², к.м.н., главный врач

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермский Государственный Медицинский Университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь

²«Кировский клинический стоматологический центр», г. Киров

Резюме

Актуальность. Очаговая деминерализация эмали (ОДЭ) - одна из значимых проблем стоматологии, учитывая, что инициальные стадии проявляются деминерализацией, быстро прогрессирующей в отсутствие своевременной адекватной терапии.

Цель исследования – на основе многоуровневого анализа микроструктуры эмали с помощью современных клинических и высокоточных экспериментальных исследований обосновать целесообразность применения микроинвазивного метода лечения ОДЭ у пациентов ортодонтического профиля.

Материал и методы. Искусственный кариес эмали моделировали на вестибулярной поверхности 42 зубов, используя оригинальную методику, а также специальное аппаратурно-инструментальное обеспечение.

Результаты. При анализе данных СЭМ установлен неоднородно-шероховатый микрорельеф эмали с наличием многочисленных углублений, впадин и характерных валиков. СЭМ-аттестация продольного шлифа зуба показала, что при увеличении в 217 раз в участке искусственной ОДЭ определяются зоны деструкции эмали глубиной от 200 до 450 мкм, чаще в форме треугольника, вершиной обращенной к эмалево-дентинной границе.

Выводы. Результаты многоуровневого (макро-, мезо- и микроскопического) анализа структуры и микромеханических свойств эмали в очаге деминерализации позволили оценить валидность разработанных экспериментальных методик искусственного кариеса эмали, получить объемную информацию о развивающихся в ней структурно-функциональных нарушениях, обосновать целесообразность патогенетического применения микроинвазивного инфильтрационного метода лечения.

Ключевые слова: очаговая деминерализация эмали, искусственный кариес эмали, микроструктура эмали, стереомикроскопия, сканирующая электронная микроскопия, компьютерная томография, атомно-силовая микроскопия.

Для цитирования: Гилева О.С., Левицкая А.Д., Сюткина Е.С., Халявина И.Н. Многоуровневый анализ микроструктуры эмали в обосновании микроинвазивных технологий лечения очаговой деминерализации эмали у пациентов ортодонтического профиля. *Эндодонтия today*. 2019; 17(3):17-20. DOI: 10.36377/1683-2981-2019-17-3-17-20.

Основные положения:

1. Результаты экспертной клинической оценки цвето-текстурных характеристик биопрепаратов зубов с созданным *in vitro* кариесом эмали и их увеличенных на стереомикроскопе в 12,5 раз цифровых изображений свидетельствовали о наличии на их вестибулярной поверхности очагов деминерализации, преимущественно квадратной или, реже овальной формы.

2. Показатели максимальной глубины очагов поражения находились в диапазоне от 316,4 до 531,2 мкм и, в целом, соответствовали данным, полученным на основе анализа иных *in vitro* моделей.

Multi-level analysis of the enamel microstructure in the substantiation of microinvasive technologies of treatment of focal demineralization of enamel in patients of orthodontic profile

O.S. Gileva¹, MD, Head of the Department of Therapeutic Dentistry and Propaedeutics of Dental Diseases
A.D. Levitskaya¹, Applicant, Department of Therapeutic Dentistry and Propaedeutics of Dental Diseases
E.S. Syutkina¹, Ph.D. Assistant, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics named after Professor I.N. Khalyavina², Ph.D, chief physician

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner of the Ministry of Health of Russia, Perm

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Kirov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kirov

Abstract

Relevance. Focal enamel demineralization is one of the significant problems of dentistry, given that the initial stages are manifested by demineralization, rapidly progressing in the absence of timely adequate therapy.

Aim. To substantiate the feasibility of using the microinvasive method of treating focal enamel demineralization in orthodontic patients based on multilevel analysis of the enamel microstructure using modern clinical and high-precision experimental studies.

Material and methods. Enamel artificial caries was modeled on the vestibular surface of 42 teeth using an original technique, as well as special hardware and instrumentation.

Results. When analyzing the SEM data, an inhomogeneous rough enamel microrelief with the presence of numerous depressions, depressions, and characteristic ridges was established. SEM certification of the longitudinal section of the tooth showed that with an increase of 217 times in the section of artificial caries, enamel destruction zones are determined from 200 to 450 μm deep, most often in the shape of a triangle, with the apex facing the enamel-dentine border.

Conclusion. The results of a multilevel (macro-, meso- and microscopic) analysis of the structure and micromechanical properties of enamel in the focus of demineralization made it possible to assess the validity of the developed experimental methods for artificial caries of enamel, to obtain voluminous information about the structural and functional disorders developing in it, to justify the expediency of the pathogenetic use of the microinvasive infiltration treatment method.

Keywords: focal enamel demineralization, artificial enamel caries, enamel microstructure, stereo microscopy, scanning electron microscopy, computed tomography, atomic force microscopy.

For citation: O.S. Gileva, A.D. Levitskaya, E.S. Syutkina, I.N. Khalyavina. Multi-level analysis of the enamel microstructure in the substantiation of microinvasive technologies of treatment of focal demineralization of enamel in patients of orthodontic profile. *Endodontics today*. 2019;17(3):17-20. DOI: 10.36377/1683-2981-2019-17-3-17-20.

Highlights:

1. The results of an expert clinical evaluation of the color-textural characteristics of tooth biologics with in vitro enamel caries and their digital images magnified by a stereo microscope 12.5 times showed the presence of foci of demineralization on their vestibular surface, mainly square or, more rarely, oval.

2. Indicators of the maximum depth of lesions were in the range from 316.4 to 531.2 μm and, in general, corresponded to the data obtained on the basis of analysis of other in vitro models.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Очаговая деминерализация эмали (ОДЭ) - одна из значимых проблем стоматологии, учитывая, что инициальные стадии проявляются деминерализацией, быстро прогрессирующей в отсутствие своевременной адекватной терапии [8]. Клинически проблема ОДЭ дополнительно актуализирована частотой возникновения особого клинико-патогенетического варианта кариеса эмали у пациентов ортодонтического профиля. Понимание механизмов развития раннего кариеса и его регресса под действием различных лечебно-профилактических технологий возможно на основе всестороннего многоуровневого изучения топологии микроструктуры и микромеханических свойств эмали в норме и в условиях искусственно моделируемого кариеса. Объективно очаг деминерализации выявляется методами витального окрашивания и транс-

иллюминации. Совместное применение методов визуально-инструментальной диагностики и высокоточных экспериментальных методик [9] позволяют получить панорамную информацию о структуре кариозного дефекта на ранней стадии, а последующий анализ данных и их экстраполяция в практику - улучшить качество лечения. Междисциплинарные исследования механизмов возникновения и прогрессирования кариеса зубов с акцентом на диагностику его ранних стадий (ОДЭ), соответствуют основным мировым трендам фундаментальной и практической стоматологии [10]. Для оценки структуры эмали в норме, при различных заболеваниях или повреждениях зубов, а также в динамике различных лечебно-профилактических воздействий с успехом применяется целый спектр высокоточных традиционных, специальных и дополнительных in vitro методов оптической, сканирующей

электронной (СЭМ), а также атомно-силовой микроскопии (АСМ) и др. [1,2,7]. Многомасштабные подходы к анализу структурно-функциональных свойств деминерализованной эмали для оценки эффективности микроинвазивных методов лечения кариеса эмали актуализированы в работах [6,7], требуют развития.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе многоуровневого анализа микроструктуры эмали с помощью современных клинических и высокоточных экспериментальных исследований обосновать целесообразность применения микроинвазивного метода лечения ОДЭ у пациентов ортодонтического профиля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Искусственный кариес эмали моделировали на вестибулярной поверхности 42 зубов, используя оригинальную методику (патент на изобретение №2503067 от 27.12.13), а также специальное аппаратно-инструментальное обеспечение (патенты на полезную модель №172561 и №171409 от 16.12.16), а также деминерализующий гель оригинального состава (РП №2757 от 17.05.2018).

Многоуровневый анализ зон искусственной ОДЭ проводили визуально (ISDAS-кодирование), а также на различных масштабных уровнях: на макроскопическом уровне - аттестация морфологии эмали зубов методом стереомикроскопии (масштаб десятки мкм); на мезоскопическом уровне - изучение микроструктуры, наличие трещин, пор, шероховатости, дефектов, углублений (масштаб - сотни-тысячи нм) проводили на СЭМ и компьютерном томографе (КТ); на микроскопическом уровне - это структурное состояние поверхности исследуемых образцов (масштаб - межатомные расстояния - единицы нм). Данное исследование проводили с помощью АСМ.

Визуальная оценка зубов с искусственной ОДЭ, созданной *in vitro* проведена с использованием стандартных стоматологических инструментов, включала оценку цвето-текстурных, геометрических и топографических характеристик (цвет пятен и наличие цветового диссонанса; текстуры (гладкая/шероховатая) поверхности пятна; блеск/потеря блеска/помутнение эмали; топография, размеры и форма) очага деминерализации, а также его кодирование соответственно критериям International Caries Detection and Assessment System (ICDAS). Обзорные фотографические изображения поверхности зуба с очагами искусственного кариеса эмали получали при увеличениях 7, 12,5 и 20 крат на стереомикроскопе Olympus SZX-16 с камерой высокого разрешения Olympus DP-73, быстро, бесконтактным способом получая объемную информацию эмали об особенностях топологии поверхности, структуры и рельефа, от шероховатости до царапин и трещин.

Микроструктуры поврежденной эмали на мезоскопическом уровне аттестовали методом СЭМ на аппарате TESCAN модели MIRA3 XMN с приставкой для микрорентгеноспектрального анализа X-MAX 80 с целью эффективной высокоточной оценки динамики химического элементного состава эмали до и после различных моделируемых воздействий. Разрешающая способность микроскопа - в режиме высокого вакуума (SE): 1.2 нм при 30кВ; 2.5 нм при 3 кВ и в режиме переменного вакуума (BSE): 2.0 нм при 30 кВ, позволяла анализировать геометрические характеристики очага деминерализации, глубину его проникновения относительно эмалево-дентинной границы, изучать мор-

фологию отдельных кристаллов гидроксиапатитов и их ассоциаций - эмалевых призм, анализировать микropopу эмали, изучать дефекты межпризменных пространств, химический состав эмали в заданных точках.

Микроуровневые исследования поверхности и структуры деминерализованной эмали дополнены методом рентгеновской компьютерной томографии (Nikon Metrology XT H 225), позволяющей выявлять дефекты по рентгеновским снимкам объекта, строить трехмерную модель ОДЭ, выделять для анализа сечения, формировать требуемые проекции для просмотра и анализа исследуемых зон.

Наноразрешительный АСМ-анализ рельефа поверхности ОДЭ *in vitro* (комплекс высокого разрешения «Интегра Прима - НаноЛаборатория», NT-MDT) осуществлен контактным методом постоянной силы на воздухе с помощью кремниевых кантилеверов серии NSG01. Проблемы практического использования АСМ в экспериментальной стоматологии зачастую связаны с нестандартной формой зуба как объекта исследования, имеющего определенную кривизну вестибулярной поверхности зуба, сложную топографию жевательной поверхности и т.д. Для адаптации высокоточной аппаратуры к анализу свойств малогабаритных образцов использована оригинальная силиконовая «подложка» из слепочного материала «Express STD» (3M ESPE) для плотной, строго параллельной фиксации и иммобилизации биопрепарата (РП № 2662 от 25.11.2014).

Статистическую оценку данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 13.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты экспертной клинической оценки цвето-текстурных характеристик биопрепаратов зубов с созданным *in vitro* кариесом эмали и их увеличенных на стереомикроскопе Olympus SZX-16 в 12,5 раз цифровых изображений свидетельствовали о наличии на их вестибулярной поверхности очагов деминерализации, преимущественно (75,0%) квадратной или, реже (25,0%), овальной формы. Чаще очаги искусственного кариеса были лишены присущего эмали блеска и опалесценции, имели белый (от мутновато-опакового до ярко-белого) цвет и четко контурируемые границы. С учетом цвета эмали в очаге перифокальных зон эмали в 91,7% случаев выявляли цветовой диссонанс коронок исследуемых зубов. При зондировании текстуры поверхности 83,3% кариозных очагов определялась как неровно-шероховатая.

При анализе данных СЭМ установлен неоднородно-шероховатый микрорельеф эмали с наличием многочисленных углублений, впадин и характерных валиков. СЭМ-аттестация продольного шлифа зуба показала, что при увеличении в 217 раз в участке искусственной ОДЭ определяются зоны деструкции эмали глубиной от 200 до 450 мкм, чаще в форме треугольника, вершиной обращенной к эмалево-дентинной границе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические признаки кариозного поражения эмали, выявленные на поверхности абсолютного большинства тестируемых образцов, соответствовали коду 2 по критериям ICDAS, что обосновывало высокую чувствительность оригинальной экспериментальной модели ОДЭ, а также показания к использованию (с последующей оценкой эффективности) в лечебных целях микроинвазивных технологий, основанных на

инфильтрации очагов деминерализации жидкотекучим композитом.

Нередко 2-3 треугольных зоны ОДЭ имели общее основание и разную глубину поражения, не превышающую 450 мкм. При увеличении в 500 раз, в очаге определялись грубые изменения поверхности и микроструктуры эмали: расширение или разрушение межпризменных пространств, деструкция и утрата четкости «рисунка» расположения эмалевых призм и др. Выявленные микроструктурные изменения эмали в зоне ОДЭ соответствовали описанию классической ультраструктуры начальной стадии кариеса, развивающегося *in vivo* под действием кариесогенных факторов. Полученные по данным микрорентгеноспектрального анализа результаты определили следующий микроэлементный состав очага поражения, соответствующий закономерностям развития деминерализации: О [условная концентрация (УК) - 13.96; весовой процент (ВП) - 46.95]; F (УК - 4.01; ВП - 15.11); Na (УК - 0.48; ВП - 2.00); Al (УК - 1.96; ВП - 8.97); Si (УК - 2.55; ВП - 12.11); P (УК - 0.63; ВП-2.40); Ca (УК - 0.30; ВП - 1.38); Sr (УК - 1.92; ВП -10.78)].

Обзорный анализ созданных с помощью компьютерной томографии 3D-моделей зубов с искусственным кариесом эмали имели классическую треугольную форму, с вершиной угла, обращенной к эмалево-дентинной границе. Средние показатели толщины эмали варьировались в диапазоне $1,09 \pm 0,11$ мм что соответствовало нормативным значениям микроанатомии эмали зубов данной группы [4,5]. Показатели максимальной глубины очагов поражения находились в диапазоне от 316,4 до 531,2 мкм и, в целом, соот-

ветствовали данным, полученным на основе анализа иных *in vitro* моделей ОДЭ [1,3]. По данным КТ, очаги искусственного кариеса характеризовались как рентгенопрозрачные темные зоны с неравномерной оптической плотностью, представлялись структурно-неоднородными, что отражалось в различных цветовых оттенках их КТ-образцов.

При анализе АСМ установлено, что микрорельеф поверхности зон ОДЭ представлялся как умеренно неоднородный, местами сильно шероховатый, с размытыми, извилистыми границами структур. Разрушенный поверхностный слой эмали представлен дефектами различной глубины, максимальная достигала 400 нм; основную площадь поверхности ОДЭ составляли «впадины» (от -400нм и более) и «углубления» (от -200нм до -400нм), уменьшалось количество «возвышенностей» (+200нм до +400нм) и «равнин» (от 0 до +200нм).

Вывод. Результаты многоуровневого (макро-, мезо- и микроскопического) анализа структуры и микромеханических свойств эмали в очаге деминерализации позволили оценить валидность разработанных экспериментальных методик искусственного кариеса эмали, получить объемную информацию о развивающихся в ней структурно-функциональных нарушениях, обосновать целесообразность патогенетического применения микроинвазивного инфильтрационного метода лечения ОДЭ, потенцируемого эффектами биоактивных многофункциональных покрытий пролонгированного действия, при эстетической реставрации зубов и в комплексе лечебно-профилактических мероприятий у пациентов, проходящих ортодонтическое лечение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беляев А.Ю., Гилева О.С., Муравьева М.А., Свистков А.Л., Скачков А.П. Исследование механических свойств здоровой и поврежденной кариесом зубной эмали с помощью микроиндентирования // Российский журнал биомеханики. - 2012. - Т.16, №3, - С.57-64.
2. Belyaev A.Yu., Gileva O.S., Muravyova M.A., Svistkov A.L., Skachkov A.P. The study of the mechanical properties of healthy and decayed tooth enamel using microindentation // Russian Journal of Biomechanics. - 2012. - Т. 16, No. 3, - P. 57-64.
3. Гилева О.С., Муравьева М.А., Свистков А.Л., Изюмов Р.И., Левицкая А.Д. Экспериментальное исследование поверхности эмали зуба при различных лечебно-профилактических воздействиях // Вестник Пермского научного центра УрО РАН. - 2017. №3. - С.15-21.
4. Gileva O.S., Muravyova M.A., Svistkov A.L., Izyumov R.I., Levitskaya A.D. An experimental study of the tooth enamel surface under various therapeutic and preventive influences // Bulletin of the Perm Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. - 2017. No. 3. - S.15-21.
5. Морозов И.А., Беляев А.Ю., Изюмов Р.И., Ерофеева Е.С., Гилева О.С. Влияние отбеливания на микроструктуру поверхности эмали человеческих зубов // Материаловедение. - 2012. - Т.91, №2, - С.26-28.
6. Morozov I.A., Belyaev A.Yu., Izyumov R.I., Erofeeva E.S., Gileva O.S. The effect of bleaching on the microstructure of the enamel surface of human teeth // Materials Science. - 2012. - Т.91, No. 2, - S.26-28.
7. Зайцев Д.В., Григорьев С.С., Антонова О.В., Панфилов П.Е. Деформация и разрушение зубной эмали человека // Деформация и разрушение материалов. - 2011. №6. - С.37-44.
8. Zaitsev D.V., Grigoriev S.S., Antonova O.V., Panfilov P.E. Deformation and destruction of human tooth enamel // Deformation and destruction of materials. - 2011. No. 6. - S. 37-44.
9. Сарычева И.Н., Янушевич О.О., Минаков Д.А., Шульгин В.А. Влияние толщины эмали на характер флуоресценции интактных зубов *in vivo* // Российский стоматологический журнал. - 2014. №1. - С. 32-37.
10. Sarycheva I.N., Yanushevich O.O., Minakov D.A., Shulgin V.A. The influence of enamel thickness on the nature of fluorescence of intact teeth *in vivo* // Russian Dental Journal. - 2014. No. 1. - S. 32-37.
11. Meyer-Lueckel H., Paris S., Kielbassa A. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in

preparation for resin infiltration // Caries Res. - 2007. 41 (3). - P.223-230.

Meyer-Lueckel H., Paris S., Kielbassa A. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration // Caries Res. - 2007.41 (3). - P.223-230.

7. Skucha-Nowak M., Machorowska-Pieniązek A., Tanasiewicz M. Assessing the Penetrating Abilities of Experimental Preparation with Dental Infiltrant Features Using Optical Microscope: Preliminary Study // Advances in Clinical and Experimental Medicine. 2016. 25(5). - P.961-969. DOI:10.17219/acem/63007

8. Иорданишвили А.К. Теории происхождения кариеса: первая отечественная. Эндодонтия 2018; (4):73-76

Iordaniashvili A.K. Theories of the origin of caries: the first domestic. Endodontija 2018; (4): 73-76

9. Мхитарян А.К., Нечаева Н.К., Долгалев А.А., Бражникова А.Н. Применение конусно-лучевой компьютерной томографии в процессе диагностики и планирования лечения кариеса и его осложнений. Эндодонтия 2018; (3): 4-7.

Mkhitarjan A.K., Nechaeva N.K., Dolgalev A.A., Brazhnikova A.N. The use of cone beam computed tomography in the process of diagnosis and treatment planning of caries and its complications. Endodontics 2018; (3): 4-7.

• Полный список литературы находится в редакции

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие

конфликта интересов /

Conflict of interests:

The Authors declare no conflict of interests.

Поступила / Article received 11.08.2019

Координаты для связи с авторами /

Coordinates for communication with authors:

Халявина И.Н. / I.N. Khalyavina

E-mail: kstp@e-kirov.ru