РАЗРАБОТКА РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩИХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ НАНОГИДРОКСИАПАТИТА

Калмыкова Т.П., Северин А.В., Гопин А.В.

МГУ имени Ломоносова, химический факультет,

Москва, Ленинские Горы, д.1, стр. 3

Email: taisia2906@rambler.ru

Терапия начального кариеса зубов является одним из приоритетных направлений в стоматологии на сегодняшний день. На начальном этапе кариес, в стадии *мелового пятна*, является обратимым процессом, поэтому возможно использование неоперативных методик лечения, в частности, терапии, основанной на аппликационном воздействии реминерализующих препаратов на эмаль зуба. Основным компонентом препаратов, используемых в стоматологии в настоящее время для лечения кариеса на ранних стадиях, является **гидроксиапатит (ГАП)** – основной минерал костного скелета и зубной эмали.

Реминерализация – процесс частичного восстановления плотности эмали, с начальными кариозными поражением, при котором происходит обогащение демирализованной ткани зуба минеральными компонентами. Фазы реминерализации: 1) доставка реминерализирующих препаратов, содержащих ионы, предназначенные для замещения дефектов в кристалле апатита; 2) проникновение ионов с поверхности эмали в гидратный слой кристаллов апатита; 3) проникновение ионов на поверхность кристаллов апатита из гидратного слоя; 4) проникновение ионов в глубину кристалла с поверхности – самая длительная фаза, осуществляемая за счет дефектов кристаллической решетки гидроксиапатита.

Основная проблема практически всех современных препаратов для реминерализии – механическое заполнение всего или только поверхностного слоя пораженного участка зубной эмали. При этом практически не происходит превращение реминерализующего композита в материал зубной ткани, в результате чего возможно вымывание со временем компонентов данного материала и дальнейшего развития кариесного пятна.

В связи с этим, выдвигаются ряд условий, при которых данная проблема может быть решена: 1) композиция должна содержать либо аморфный фосфат кальция, либо его возможный прекурсор с тем, чтобы при контакте с материалом зубной эмали происходила его кристаллизация со встраиванием в структуру зуба; 2) размеры частиц фосфатов кальция, используемые в подобных композициях, должны быть существенно меньше, чем минимальный размер диаметра пор в зубной эмали для наиболее полного заполнения используемым материалом порового пространства; 3) агрегация используемых частиц должна быть минимальна 4) вязкость используемой композиции не должна мешать ее проникновению вглубь порового пространства.

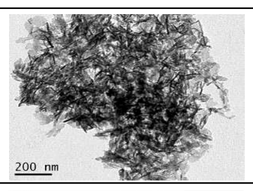
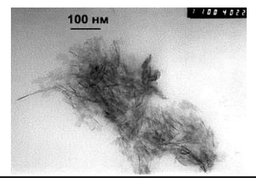
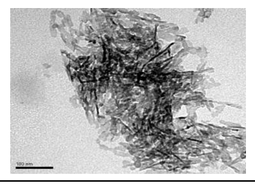
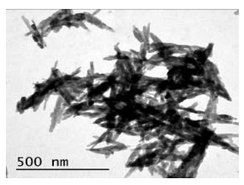
Цель работы – создание новых прекурсоров для реминерализации зубной эмали при лечении кариеса на ранних стадиях, которые могли бы инициировать образование собственной здоровой ткани зуба, а также разработка способов применения этих композиций и методов оценки их реминерализующего действия.

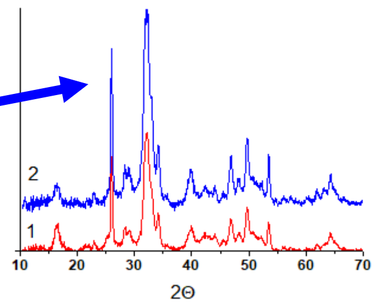
Синтез наночастиц ГАП

Способ 1

$$10CaO + 6H_3PO_4 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 8H_2O$$

В лабораторный реактор с pH-метром и раствором биополимера (гиалуроновая кислота (ГК) / желатин (Ж) / казеин (Каз)), заданной концентрации при непрерывном интенсивном перемешивании вводили навеску CaO. Смесь гомогенизировали в течение 5–10 мин до установления стабильного значения pH (~12). Затем в реакционную смесь подавали стехиометрическое количество ортофосфорной кислоты (Ca/P=1,67). По окончании синтеза - pH = 6,5–7,0.

Среда (биополимер)	Снимки (ТЭМ)	Характеристики суспензии	
0,2% ГК		45 - 55 нм	Длина
		5 - 7 нм	Ширина
1% Каз		25 - 30 нм	Длина
		3 - 5 нм	Ширина
1% Ж		15 - 20 нм	Длина
		3 - 5 нм	Ширина
H_2O (образец сравнения)		100 - 120 нм	Длина
		32 - 38 нм	Ширина



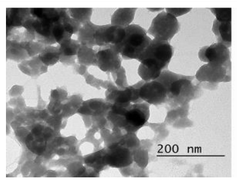
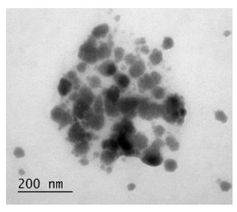
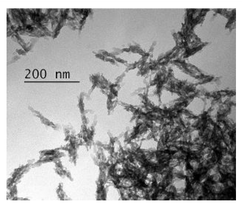
Частичная и неконтролируемая аморфизация, не даст гарантии встраивания наночастиц композиции непосредственно в структуру зубной эмали, также за счет относительно большого содержания твердой фазы в суспензии эти препараты склонны к существенной агрегации, что может затруднить их проникновение в средние и мелкие поры кариесного пятна.

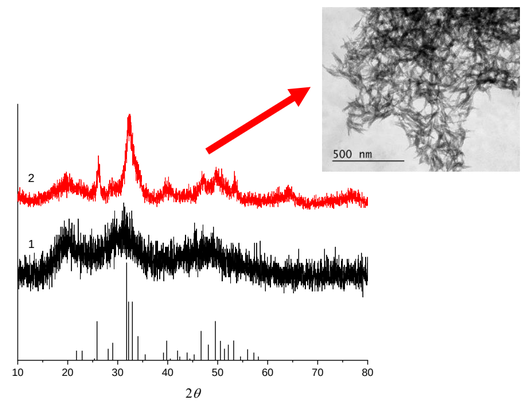
Для устранения данных недостатков, были проведены синтезы **способом 2.**

Способ 2

$$10Ca(OH)_2 + 6H_3PO_4 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 18H_2O$$

Точную навеску биополимера (0,1% ГК/ 0,5% Каз) вносили в емкость для синтеза с насыщенным раствором $Ca(OH)_2$ и перемешивали до полного растворения. При наиболее интенсивном перемешивании в раствор с помощью автоматической пипетки быстро вносили необходимый по выбранной стехиометрии (мольного отношения Ca/P) H_3PO_4. Суспензию перемешивали в течение 1 часа. В ходе синтеза контролировали температуру и pH среды. По окончанию синтеза фиксировали установившееся значение pH раствора.

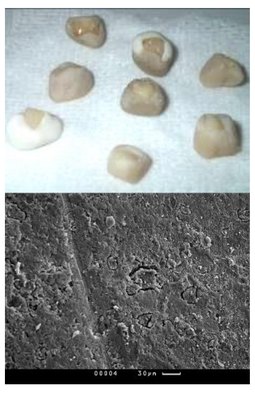
Среда (биополимер)	Снимки (ТЭМ)	Характеристики суспензии
0,1% ГК		10-100 нм
0,5% Каз		10-50 нм
H_2O (образец сравнения)		Длина 50-200 нм Ширина – 20-50 нм



Размер образующихся частиц твердой фазы позволяет им проникать в самые мелкие поры зубной эмали, степень разбавления суспензии позволяет предотвратить быструю агрегацию твердых частиц с образованием крупных агломератов (что неизбежно происходит при синтезе прекурсоров по **способу 1**), образующиеся наночастицы сильно аморфизованы, что позволяет им впоследствии встраиваться в естественную текстуру зубной ткани с последующей кристаллизацией в ГАП.

Применение

Здоровые зубы



Создание кариесного пятна

Обработка деминерализующим раствором

Погружение в раствор на **4 суток**

Деминерализующий раствор

№	Ингредиент	Итоговая концентрация
1	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (сухое вещество)	**2,2 мМ Ca^{2+}**
2	NaH_2PO_4 (сухое вещество)	**2,2 мМ PO_4^{3-}**
3	NH_4F (раствор с C = 10^{-4} М/л)	**0,015 ppm F^-**
4	CH_3COOH (99,8%-ный раствор)	**50 мМ**
5	KOH (20% раствор)	**до pH 4,4**
6	Дистиллированная вода	**-**

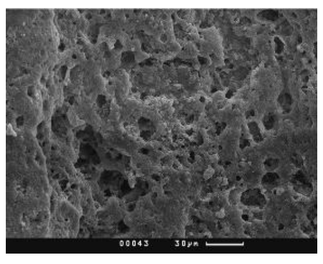
1) Промывка дистиллированной водой

2) Погружение в раствор «Искусственная слюна» **на 6 суток**

«Искусственная слюна»

№	Ингредиент	Итоговая концентрация
1	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (сухое вещество)	**1 мМ Ca^{2+}**
2	NaH_2PO_4 (сухое вещество)	**3 мМ PO_4^{3-}**
3	$NaHCO_3$ (сухое вещество)	**20 мМ**
4	**Дистиллированная вода**	**-**

Модель кариесного пятна



Применение реминерализующей композиции и оценка реминерализующего действия

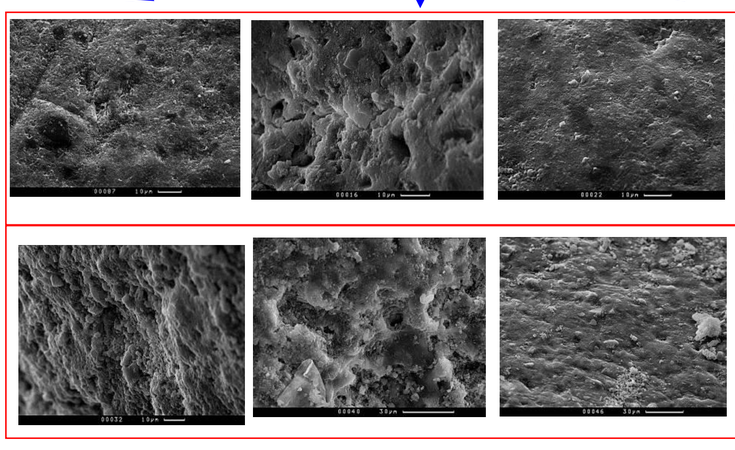
1) Обработка зуба H_3PO_4 с концентрацией 37% в течение 25 с для удаления кристаллизационных пробок
2) Обработка зуба реминерализующей композицией

полоскание ротовой полости водной суспензией препаратов

втирание пасты препаратов в область кариесного пятна

полоскание + втирание пасты

СЭМ



Синтез по способу 2 в 0,1% ГК

Синтез по способу 2 в 0,5% Каз

Оба препарата эффективно покрывают поверхность зубной эмали и проникают в поры.

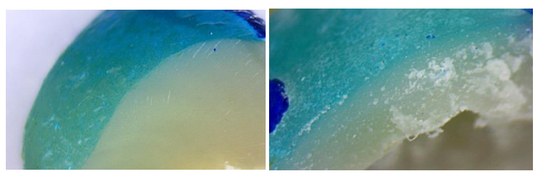
Тест эмалевой резистентности (ТЭР)

Синтез по способу 2 в 0,5% Каз (полоскание+чистка)

Синтез по способу 2 в 0,1% ГК (полоскание+чистка)

Без обработки (образец сравнения)

Оптическая микроскопия



Синтез по способу 2 в 0,1% ГК (полоскание+чистка)

Синтез по способу 2 в 0,5% Каз (полоскание+чистка)

Наибольшую глубину проникновения демонстрирует образец на основе АКаз

ВЫВОДЫ

1) **Отработана методика создания модельного пятна с пониженной минерализацией и предложен подход к оценке изменения фазового состава зубной эмали, морфологии ее поверхности, а также изменению ее текстуры.**
2) **Выявлены особенности строения и морфологии поверхности каналов доставки реминерализующей композиции, образующиеся как в процессе обработки модельными растворами, так и при кислотном вскрытии поровой текстуры кариесного пятна.**
3) **Разработаны составы прототипов реконструктивного материала с эффектом реминерализации, выявлена динамика изменения степени кристалличности и морфологии образующихся наночастиц.**
4) **Разработаны формы прототипов реконструктивного материала с эффектом реминерализации и технология их применения.**
5) **Разработан метод оценки эффективности реминерализующего действия экспериментальных композиций.**