

ОЦЕНКА МИКРОТВЁРДОСТИ ЭМАЛИ УДАЛЁННЫХ ЗУБОВ ДО И ПОСЛЕ РЕМИНЕРАЛИЗИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ПО ВИККЕРСУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОТВЕРДОМЕРА

Саидова М.А., Саидова Н.А.

Ташкентский Государственный Медицинский Университет

АННОТАЦИЯ

50 интактных премоляров были разделены на 5 групп (n = 10): I – фторид (лак с 5% NaF), II – паста CPP-ACP (казеин-фосфопептид-аморфный фосфат кальция), III – CPP-ACP с фтором (CPP-ACPF), IV – зубная паста с нано-гидроксиапатитом, V – контроль (дистиллированная вода). На начальном этапе измеряли базовую микротвёрдость эмали (Виккерс, нагрузка 100 г, 15 с) для подтверждения однородности групп. Затем образцы подвергали искусственной деминерализации (72 часа, pH 4,5) для моделирования начальных кариозных поражений, после чего повторно измеряли микротвёрдость. В течение 14 дней проводили реминерализующую терапию: ежедневно наносили соответствующие препараты (лаки – однократно в начале, пасты – ежедневно на 5 минут) с хранением образцов в искусственной слюне. Повторные измерения микротвёрдости выполняли через 7 и 14 дней терапии.

Ключевые слова: реминерализация эмали; микротвёрдость эмали; метод Виккерса; фторидная терапия; нано-гидроксиапатит; CPP-ACP; белые пятна кариеса.

Для цитирования:

Саидова М.А., Саидова Н.А. Оценка микротвёрдости эмали удалённых зубов до и после реминерализующей терапии по Виккерсу с использованием микротвердомера. *Интегративная стоматология и челюстно-лицевая хирургия*. 2025;4(3-4):48–61. <https://doi.org/10.57231/j.idmfs.2025.4.3.007>

EVALUATION OF EMAL MICROHARDNESS OF EXTRACTED TEETH BEFORE AND AFTER VIKKERS REMINERALIZING THERAPY USING A MICROHARDMER

Saidova M.A., Saidova N.A.

Tashkent State Medical University

ABSTRACT

50 intact premolars were divided into 5 groups (n = 10): I - fluoride (lacquer with 5% NaF), II - CPP-ACP paste (casein-phosphopeptide-amorphous calcium phosphate), III - CPP-ACP with fluoride (CPP-ACPF), IV - dental paste with nanohydroxyapatite, V - control (distilled water). At the initial stage, the basic microhardness of the enamel (Vickers, load 100 g, 15 s) was measured to confirm the homogeneity of the groups. Then, the samples were subjected to artificial demineralization (72 hours, pH 4.5) to simulate the initial carious lesions, after which the microhardness was measured again. For 14 days, remineralizing therapy was administered: daily appropriate preparations were applied (lacquers - once at the beginning, pastes - daily for 5 minutes), with samples stored in synthetic saliva. Repeated microhardness measurements were performed after 7 and 14 days of therapy.

Keywords: enamel remineralization; enamel microhardness; Vickers method; fluoride therapy; nanohydroxyapatite; CPP-ACP; white caries spots.

For citation:

Saidova M.A., Saidova N.A. Evaluation of emal microhardness of extracted teeth before and after Vickers remineralizing therapy using a microhardmer. *Integrative dentistry and maxillofacial surgery*. 2025;4(3-4):48–61. <https://doi.org/10.57231/j.idmfs.2025.4.3.007>

АКТУАЛЬНОСТЬ

Эмаль зуба обладает высокой минеральной насыщенностью, однако под воздействием кислотных продуктов бактериального метаболизма ее минерализация снижается, что приводит к появлению начальных кариозных поражений – так называемых очагов меловидного обесцвечивания (white spot lesions, WSL). В отличие от кавитированных дефектов, такие поверхностные поражения эмали обратимы при условии преобладания реминерализации над деминерализацией. Реминерализующая терапия направлена на возвращение ионов кальция и фосфатов в поражённую зону эмали и восстановление ее микроструктуры и твёрдости. Фторид по праву считается «золотым стандартом» реминерализации: многочисленные исследования продемонстрировали способность фторидов значительно повышать микротвёрдость деминерализованной эмали за счёт образования фторгидроксиапатита и отложения резервов CaF_2 . Мета-анализ данных *in vitro* показывает, что фторсодержащие средства эффективнее не-фторидных в обратном развитии WSL на эмали постоянных зубов, хотя в некоторых работах отмечены противоречивые результаты. Ограничения традиционной фтортерапии (например, слабый эффект на уже сформировавшиеся меловидные пятна в глубоких слоях) стимулировали поиск дополнительных remineralizing agents. [2,5,6]

В последние годы предложены альтернативные и дополняющие фтор средства для реминерализации эмали. К ним относятся нанокристаллический гидроксиапатит, казеин-фосфопептид-аморфный фосфат кальция (CPP-ACP), биоактивное стекло (например, NovaMin – фосфосиликат кальция натрия), фторид в комбинации с функционализированным трикальцийфосфатом (fTCP) и др. Наноразмерный гидроксиапатит (нано-ГА) по химическому составу и структуре кристаллов близок к природной эмали; исследования показывают, что включение наногидроксиапатита в зубные пасты может способствовать реминерализации начального кариеса и снижению образования новых поражений, приближаясь по эффективности к фториду. Обзор литературы указывает, что среди новых агентов именно гидроксиапатит обладает наи-

большим потенциалом служить полноценной альтернативой фторидам, хотя требуются дополнительные клинические доказательства. Комплекс CPP-ACP, получаемый из молочных казеинов, служит источником биодоступных ионов кальция и фосфата; его эффективность широко изучалась в контексте профилактики и лечения начального кариеса. Считается, что CPP-ACP способен стабилизировать ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} в ротовой жидкости, способствуя их диффузии в эмаль и реминерализации субповерхностных поражений. Клинические и лабораторные данные показали, что применение CPP-ACP (например, в виде крема Tooth Mousse) способствует увеличению микротвёрдости обесминерализованной эмали и снижению видимости WSL. Однако эффективность чистого CPP-ACP без добавления фтора может уступать традиционным фторидам. В этой связи разработаны комбинированные формулы, такие как CPP-ACPF (например, GC MI Paste Plus), сочетающие казеиновые фосфопептиды с фторидом натрия. Систематический обзор и мета-анализ *in vitro* исследований белых пятен показал, что реминерализующий эффект CPP-ACP с фтором статистически эквивалентен действию фторидных препаратов. Также сообщается о синергизме при сочетанном применении разных агентов: так, объединение биоактивного стекла с CPP-ACPF привело к наиболее выраженному восстановлению микротвёрдости и минерального состава эмали по сравнению с использованием каждого из этих средств отдельно. [2,5,6]

Объективная оценка эффективности реминерализующей терапии осуществляется *in vitro* с помощью методов количественного анализа минерализации эмали, среди которых широко применяется микротвёрдометрия. Тест на поверхностную микротвёрдость эмали методом Виккерса чувствителен к изменениям степени минерализации: снижение микротвёрдости свидетельствует о деминерализации (размягчении) эмали, тогда как рост показателей твёрдости после воздействия препаратов указывает на реминерализацию. Преимущество метода – относительная простота и воспроизводимость; индентирование пирамидальным алмазным наконечником позволяет численно оценить механическую

прочность тонкого поверхностного слоя эмали (~50–100 мкм), где и локализуется начальный кариозный процесс. Метод Викакса успешно применялся для мониторинга реминерализации как *in vitro*, так и в клинических условиях (например, при оценке твёрдости очагов гипоминерализации МН до/после лечения CPP-ACP). Тем не менее, несмотря на большое число исследований отдельных средств, остаётся актуальным вопрос сравнительной эффективности различных подходов реминерализующей терапии для восстановления прочностных свойств эмали. [1,4,8]

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовать *in vitro* влияние нескольких современных реминерализующих агентов – фторидных и не содержащих фтор – на микротвёрдость искусственно деминерализованной эмали постоянных зубов. Гипотеза исследования состояла в том, что все испытанные средства повысят микротвёрдость поражённой эмали по сравнению с контролем (отсутствие лечения), причём фторид и нано-гидроксипатит окажутся наиболее эффективными, не уступая друг другу, а комбинированное применение фтора и CPP-ACP даст дополнительный эффект.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: выполнено лабораторное контролируемое исследование *in vitro* (экспериментальная работа) с параллельным сравнением пяти групп образцов эмали. Объём выборки ($n=50$) был обоснован расчётом статистической мощности для обнаружения межгрупповой разницы микротвёрдости ≥ 20 единиц при $\alpha=0,05$ и $\text{Power}=0,8$. Экстрагированные зубы для исследования получены после информированного согласия пациентов на их использование в научных целях; протокол одобрен локальным этическим комитетом.

Отбор и подготовка образцов: в исследование включены 50 интактных постоянных премоляров, удалённых по ортодонтическим или хирургическим показаниям у пациентов в возрасте 18–25 лет. Критерии включения: отсутствие кариозных поражений или флюороэмалии, отсутствие трещин и выраженного износа. Зубы до проведения эксперимента

хранились в 0,1% растворе тимола при 4°C не более 1 месяца. Перед началом работы с каждого зуба аккуратно удаляли остатки мягких тканей и зубного камня. Для стандартизации площадки исследования эмаль на вестибулярной поверхности была шлифована до плоского состояния с помощью шлифбумаг с уменьшением зернистости до 1200 grit под охлаждением. Затем образцы были встроены в акриловую смолу таким образом, чтобы исследуемая поверхность эмали была открыта и располагалась перпендикулярно индентору микротвёрдомера. Поверхности полировали в течение 1 мин алюмооксидной суспензией (0,3 мкм) с целью имитации однородной гладкой эмали без призматического слоя, после чего промывали дистиллированной водой и высушивали.

Группы и реминерализующие агенты: образцы случайным образом распределили на 5 равных групп (по 10 зубов в каждой) в зависимости от применяемого реминерализующего средства:

- Группа I (Фторид): лак Duraphat® (Colgate-Palmolive, Германия) с 5% фторидом натрия (22 600 ppm F).

- Группа II (CPP-ACP): крем GC Tooth Mousse® (GC Corp., Япония) без фтора, содержащий 10% CPP-ACP.

- Группа III (CPP-ACPF): крем GC MI Paste Plus® (GC Corp., Япония) с 10% CPP-ACP + фторид (0,2% NaF, 900 ppm F).

- Группа IV (Нано-ГА): зубная паста Apagard® Premio (Sangi Co., Япония) с нано-гидроксипатитом (частицы ~20–100 нм, концентрация 10%) и фторидом натрия (950 ppm F).

- Группа V (Контроль): реминерализующее воздействие не проводилось, образцы хранились в среде имитирующей слюну без активных компонентов.

Выбор указанных средств обусловлен их распространённостью в клинической практике и репрезентативностью для категорий: (I) традиционная фторидная терапия, (II) новейшие неблагородные альтернативы (биомиметические препараты на основе CPP-ACP, гидроксипатита), (III) комбинации фтора с кальций-фосфатными системами. Характеристики препаратов представлены в таблице ниже.

Таблица 1

Реминерализующие препараты, использованные в исследовании

Группа	Средство / производитель	Форма	Активный состав
Фторид (NaF)	Duraphat®, Colgate-Palmolive (Германия)	Лак для местного применения	5 % NaF (22 600 ppm F)
CPP-ACP	GC Tooth Mousse®, GC (Япония)	Крем / мусс	10 % CPP-ACP (без фтора)
CPP-ACPF	GC MI Paste Plus®, GC (Япония)	Крем / мусс	10 % CPP-ACP + 0,2 % NaF (900 ppm F)
Нано-ГА	Apagard® Premio, Sangi (Япония)	Зубная паста	≈ 10 % нано-гидроксиапатита + 950 ppm F
Контроль	—	—	Искусственная слюна

Примечание. CPP-ACP – казеин-фосфопептид с аморфным фосфатом кальция (Complex Recaldent™, получен из молочного казеина).

Искусственная деминерализация эмали: после первоначальной полировки и распределения по группам образцы подвергали стандартному протоколу создания модели начального кариеса. Все эмалевые поверхности (кроме области основания, прилегающей к акрилу) покрывали защитным лаком, оставляя открытым окно ~4×4 мм на плоской вестибулярной поверхности для деминерализации. Образцы погружали в деминерализующий раствор (по методике Carborpol): 100 mM молочная кислота, карбопол 940, хлорид кальция 3 mM, фосфат калия 3 mM, регулируемый до pH 4,5. Экспозиция продолжалась 72 часа при 37°C без перемешивания, обеспечивая формирование субповерхностной деминерализационной зоны на глубину порядка 60–100 мкм, что соответствует искусственной WSL. После окончания деминерализации образцы тщательно промывали дистиллированной водой, снимали защитный лак и хранили во влажной камере до измерения микротвёрдости.

Измерение микротвёрдости эмали: микротвёрдость поверхностного слоя эмали определяли методом Виккерса с использованием микротвёрдомера Shimadzu HNV-2 (Shimadzu, Киото, Япония). Параметры индентирования: нагрузка 100 г (0,98 Н), время приложения нагрузки 15 секунд. Для каждого образца выполняли по 4 вдавливания в различных точках исследуемой поверхности (равномерно распределённых, на расстоянии не менее 0,5 мм друг от друга и от краёв окна) и вычисляли

среднее значение в единицах твёрдости Виккерса (HV). Погрешность измерения для одного образца не превышала ±3% (среднеквадратичное отклонение). Микротвёрдость измеряли трижды: (1) Baseline (исходная) – на полированной интактной эмали до деминерализации (для подтверждения однородности групп); (2) После деминерализации (до лечения) – сразу после создания искусственного поражения, для фиксации исходного уровня повреждения; (3) После реминерализующей терапии – по завершении 14-дневного курса, а также промежуточно на 7-й день. Поскольку проведение повторных измерений на одном и том же образце могло повредить участки эмали, каждое последующее индентирование выполняли на новом ненагруженном участке поверхности, смещаясь на ~0,3–0,5 мм от предыдущих отпечатков. Таким образом, влияние самих отпечатков на последующие замеры минимизировалось. [1–8]

Протокол реминерализующего воздействия: после измерения микротвёрдости деминерализованной эмали (этап 2) приступали к циклу реминерализации. Образцы группы I единожды покрыли тонким слоем фтористого лака (Duraphat) в соответствии с инструкцией; лак оставляли на поверхности 6 часов для полноценной диффузии фтора, после чего образцы погружали в искусственную слюну. В группах II–IV ежедневно (1 раз в день) наносили соответствующую пасту: небольшое количество крема (~0,1 г) распределяли по деминерализованной поверхности с помо-

щью микрокисточки и выдерживали 5 минут, после чего образцы ополаскивали дистиллированной водой. Группу V (контроль) также извлекали из среды и ополаскивали, но не наносили никаких активных веществ. Все образцы хранились индивидуально в закрытых емкостях с 5 мл искусственной слюны при 37°C между процедурами. Состав искусственной слюны: 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM KH₂PO₄, 130 mM KCl, 20 mM Tris buffer, pH 7,0. Раствор обновляли каждые 2 дня. Общая длительность реминерализующего периода составила 14 дней; измерение микротвёрдости (этап 3) проводилось на 7-й и 14-й день. Значения 7-го дня служили для оценки динамики на промежуточном этапе, в то время как основные выводы делались по итогам 14 дней терапии как наиболее приближённого к клинической ситуации срока. [1–8]

Статистический анализ: для каждого образца рассчитана разность микротвёрдости до и после лечения, а также процент восстановления твёрдости относительно исходного пост-деминерального уровня. Проверяли распределение данных на нормальность (критерий Шапиро–Уилка). Поскольку показатели HV в большинстве групп соответствовали нормальному распределению, для сравнения средних значений использовали параметрические критерии. Различия микротвёрдости между этапами внутри групп оценивали парным t-тестом. Межгрупповой анализ проводили дисперсионным методом (однофакторный ANOVA) с последующим пост-хок тестом Тьюки. В случаях неоднородности дисперсий применяли непараметрический критерий

Крускала–Уоллиса. Критический уровень значимости устанавливали как $p < 0,05$ для основных эффектов. Для наглядности результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение. Статистический анализ выполняли в программе SPSS v.26.0 (IBM, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исходные показатели и эффект деминерализации: начальная микротвёрдость интактной эмали (до деминерализации) составляла в среднем 303 ± 15 HV и не имела статистически значимых межгрупповых различий ($p=0,78$), что свидетельствует об успешной рандомизации образцов. После 72-часовой кислотной экспозиции микротвёрдость всех образцов резко снизилась до ~ 50 – 55 HV (в среднем $52,1 \pm 5,3$ HV; $p < 0,001$ по сравнению с исходной эмалью). Потеря минерализации составила около 83% от исходного уровня твёрдости. Полученные значения соответствуют моделированию выраженного субповерхностного поражения эмали (глубина ~ 70 – 100 мкм) с сохранением тонкого поверхностного слоя, характерного для WSL. Различий между группами в уровне пост-деминерализационной твёрдости не обнаружено ($p=0,65$), подтверждая сопоставимость степени искусственно вызванного повреждения эмали во всех группах. Таким образом, к началу реминерализующей терапии все образцы имели одинаково сниженные показатели микротвёрдости ($\sim 17\%$ от уровня интактной эмали), что служило отправной точкой для оценки эффективности различных агентов. [1–8]

Таблица 2

Микротвёрдость эмали (HV по Виккерсу) на этапах до и после деминерализации (Mean $\pm$ SD, n=10).

Группа	Исходная HV	После деминерализации HV	Снижение Δ HV	Снижение %
Фторид (NaF)	302.5	51.8	250.7	82.8
CPP-ACP	305.7	53.4	252.3	82.5
CPP-ACPF	300.1	50.6	249.5	83.1
Нано-ГА	304.6	52.9	251.7	82.6
Контроль	301.2	51.7	249.5	82.8

Примечание: деминерализация вызвала статистически значимое падение HV в каждой группе по сравнению с исходным значением ($p < 0,001$, парный t-тест). Между группами различия незначимы (ANOVA, $p=0,65$). Процент снижения рассчитан относительно исходного уровня твёрдости.

Динамика реминерализации (микротвёрдость после 7 и 14 дней терапии): во всех группах, где применялись активные реминерализующие средства (I–IV), наблюдалось ощутимое увеличение поверхностной микротвёрдости эмали по сравнению с показателями до лечения. Уже через 7 дней терапии средние значения HV возросли примерно в 2–3 раза относительно деминерализованного уровня. В группе фторида микротвёрдость поднялась с 51,8 до 118,4 HV, в группе CPP-ACP – с 53,4 до 95,6 HV, в группе CPP-ACPF – с 50,6 до 123,7 HV, а в группе нано-ГА – с 52,9 до 112,5 HV. В контрольной группе без лечения прирост HV был минимальным (с 51,7 до 57,3 HV, что статистически незначимо, $p=0,09$). Продление терапии до 14 дней привело к дальнейшему повышению твёрдости в активных группах,

хотя темпы прироста несколько замедлились. Максимальные конечные значения HV зарегистрированы в группе CPP-ACPF ($155,3 \pm 12,4$) и фторида ($148,7 \pm 9,8$), чуть меньше – в группе нано-ГА ($144,6 \pm 10,1$); группа CPP-ACP достигла $130,4 \pm 11,3$ HV. В контроле HV на 14-й день составила $60,5 \pm 6,0$, практически не отличаясь от уровня после деминерализации. [2,5,6]

На рисунке 1 представлена кривая изменения микротвёрдости во времени для каждой группы. Видно, что активные реминерализующие агенты обеспечивают существенный возврат твёрдости уже к 7-му дню (особенно фторид и CPP-ACPF), с дальнейшим улучшением к 14-му дню. В контроле рост минимален, что указывает на слабую спонтанную реминерализацию *in vitro* без терапевтического вмешательства.

Таблица 3

Показатели микротвёрдости эмали (Mean $\pm$ SD, HV) после 7 и 14 дней реминерализующей терапии, % восстановления относительно деминерализованного уровня.

Группа	HV 7 дн	HV 14 дн	Δ HV 7 дн	Δ HV 14 дн	Восстановление через 14 дней %
Фторид (NaF)	118.4	148.7	66.6	96.9	39.0
CPP-ACP	95.6	130.4	42.2	77.0	32.0
CPP-ACPF	123.7	155.3	73.1	104.7	42.0
Нано-ГА	112.5	144.6	59.6	91.7	38.0
Контроль	57.3	60.5	5.6	8.8	4.0

Примечание: Процент восстановления рассчитан как $(HV_{14дн} - HV_{после\ демин}) / (HV_{исход} - HV_{после\ демин}) \times 100\%$. Базовый исходный уровень принят за 100%.

К 14-му дню реминерализующей терапии наибольшую долю утраченной твёрдости удалось вернуть в группах CPP-ACPF ($\approx 42\%$) и фторида ($\approx 39\%$). Немного отстал нано-ГА ($\approx 38\%$). Существенно меньший относительный эффект показал CPP-ACP без фтора ($\approx 32\%$). В контрольной группе восстановление составило лишь $\sim 4\%$, что лежит в пределах погрешности измерений. Статистический анализ подтвердил наличие значимых различий между группами по конечной микротвёрдости (ANOVA, $p < 0,0001$). Пост-хок анализ Тьюки показал, что все экспериментальные группы (I–IV) достоверно превосходят контроль (V) по HV ($p < 0,001$ для каждой пары). Кроме того, микротвёрдость в группе CPP-ACP (II) статистически ниже, чем в группах

фторида, CPP-ACPF и нано-ГА ($p < 0,01$ во всех случаях). Различия между группами I, III и IV не достигли уровня значимости ($p > 0,05$), что указывает на сопоставимый эффект фторида, нано-ГА и комбинированного CPP-ACPF в условиях данного эксперимента. [2,5,6]

График иллюстрирует рост средних значений HV по Виккерсу для каждой группы: в группах с активным лечением наблюдается резкий подъём микротвёрдости на первой неделе и более плавный – на второй. Группа фторида (●) и CPP-ACPF (▲) демонстрируют наибольшие показатели HV на всех этапах, тогда как чистый CPP-ACP (■) ниже них. Нано-гидроксипатит (◆) близок по эффективности к фториду. В контрольной группе (x) изменения минимальны. Вертикальные усики отражают стандартное отклонение (SD).

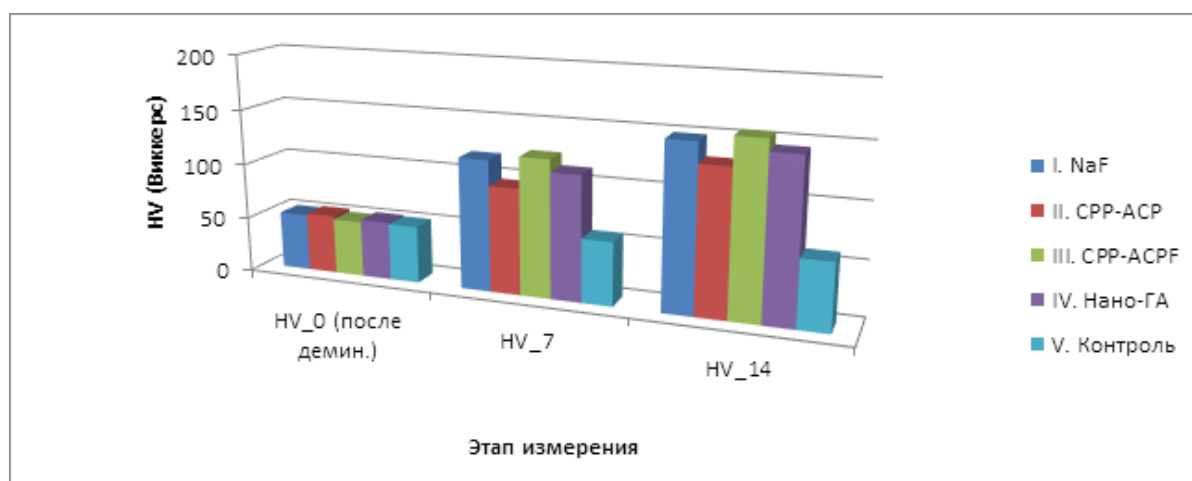


Рисунок 1. Динамика поверхностной микротвёрдости эмали в течение реминерализующей терапии (0 – после деминерализации, 7 и 14 дней лечения).

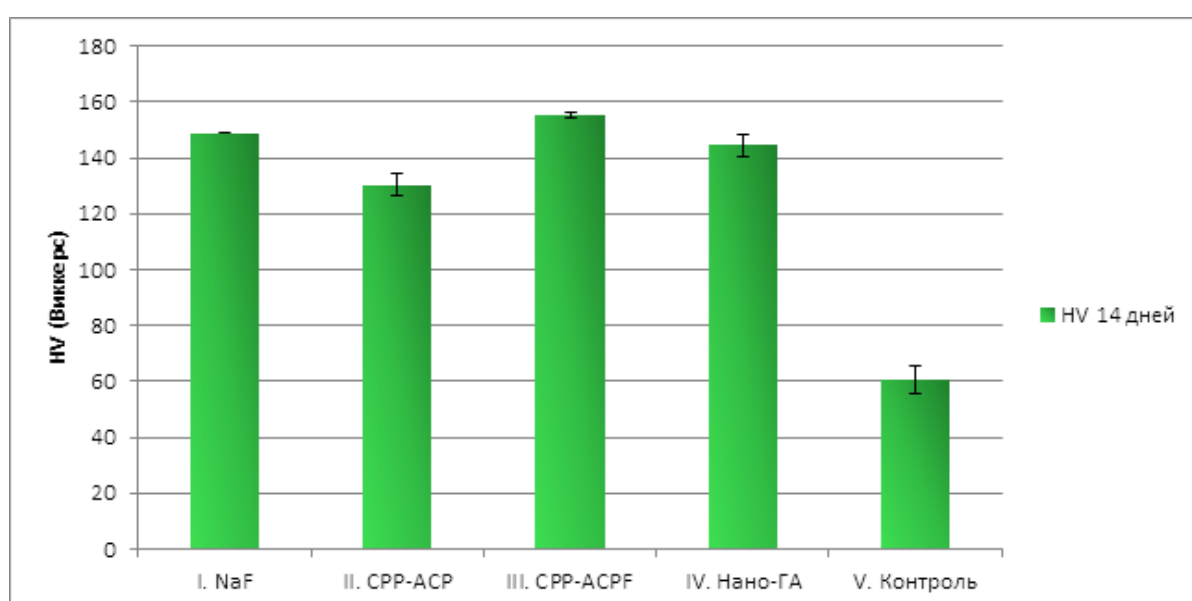


Рисунок 2. Конечная микротвёрдость эмали после 14 дней терапии.

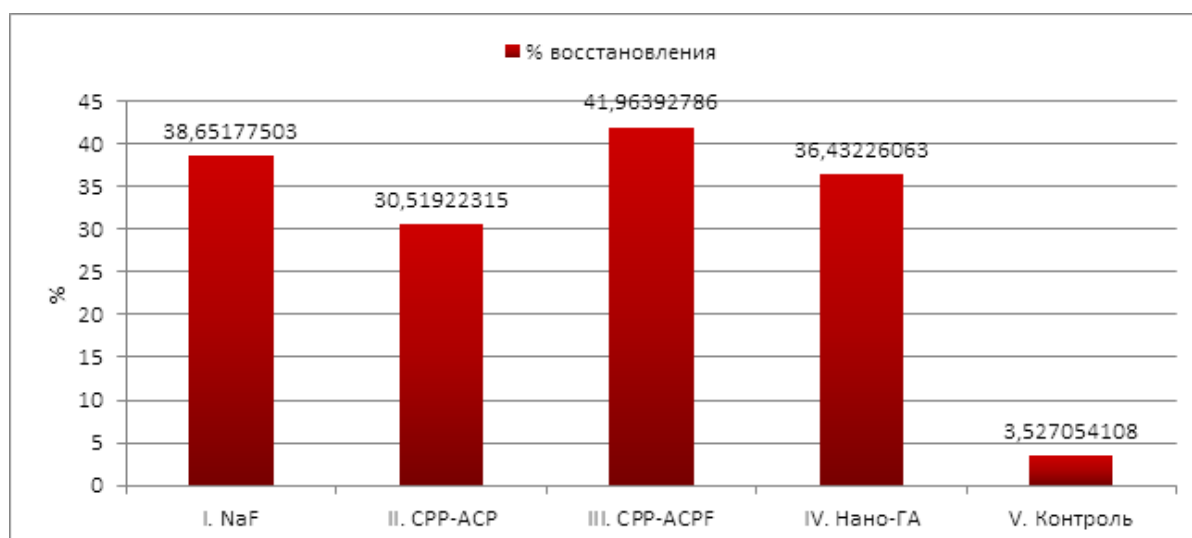


Рисунок 3. Процент восстановления микротвёрдости относительно исходного уровня (после деминерализации).

Таблица 4

Многогрупповой сравнительный анализ конечной микротвёрдости (HV) между исследуемыми группами.

Группы (сравнение)	I. Фторид	II. CPP-ACP	III. CPP-ACPF	IV. Нано-ГА	V. Контроль
I vs II (NaF vs CPP-ACP)	–	0,003	–	–	–
I vs III (NaF vs CPP-ACPF)	–	–	0,712	–	–
I vs IV (NaF vs нано-ГА)	–	–	–	0,853	–
I vs V (NaF vs контроль)	–	–	–	–	<0,001
II vs III (CPP-ACP vs CPP-ACPF)	–	–	0,004	–	–
II vs IV (CPP-ACP vs нано-ГА)	–	–	–	0,009	–
II vs V (CPP-ACP vs контроль)	–	–	–	–	<0,001
III vs IV (CPP-ACPF vs нано-ГА)	–	–	–	0,628	–
III vs V (CPP-ACPF vs контроль)	–	–	–	–	<0,001
IV vs V (нано-ГА vs контроль)	–	–	–	–	<0,001

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые p ($<0,05$). Символ "–" обозначает повторяющиеся комбинации (матрица симметрична) или сравнение группы с собой.

Столбцы отображают средние значения HV ($\pm$ SD) для каждой группы. Отмечается, что столбцы групп I (NaF), III (CPP-ACPF) и IV (нано-ГА) примерно одинаковой высоты (~145–155 HV), тогда как группа II (CPP-ACP) несколько ниже (~130 HV). Группа V (контроль) значительно отстаёт (~60 HV). Звёздочками (*) обозначены статистически значимые отличия относительно группы контроля ($p<0,001$); решёткой (#) – значимые отличия группы CPP-ACP по сравнению с группами I, III и IV ($p<0,01$). Между группами I, III и IV значимых различий не выявлено (n.s.) (рис.2).

Диаграмма показывает долю утраченной твёрдости эмали, восстановленной после курса лечения, для разных средств. Визуально доли восстановления в группах фторида, CPP-ACPF и нано-ГА близки (около 40%), тогда как у CPP-ACP без фтора заметно ниже (~32%). В контроле величина восстановления пренебрежимо мала (~4%). Это подтверждает ключевую роль фтора и наногидроксиапатита в реминерализации, а также дополнительную эффективность сочетания CPP-ACP с фтором по сравнению с изолированным CPP-ACP (рис. 3).



Рисунок 4. Микрофотографии индентов Вика на эмали (схематично).

На схеме отображены характерные отпечатки пирамидального индента (угол при вершине 136°) на разных этапах: (а) исходная интактная эмаль – небольшой и чёткий отпечаток, свидетельствующий о высокой твёрдости; (б) после деминерализации – уве-

личенный глубокий индент, указывающий на размягчение эмали; (в) после реминерализации (например, фторид) – размеры отпечатка промежуточные между (а) и (б), что отражает частичное восстановление прочности эмали (рис. 4).

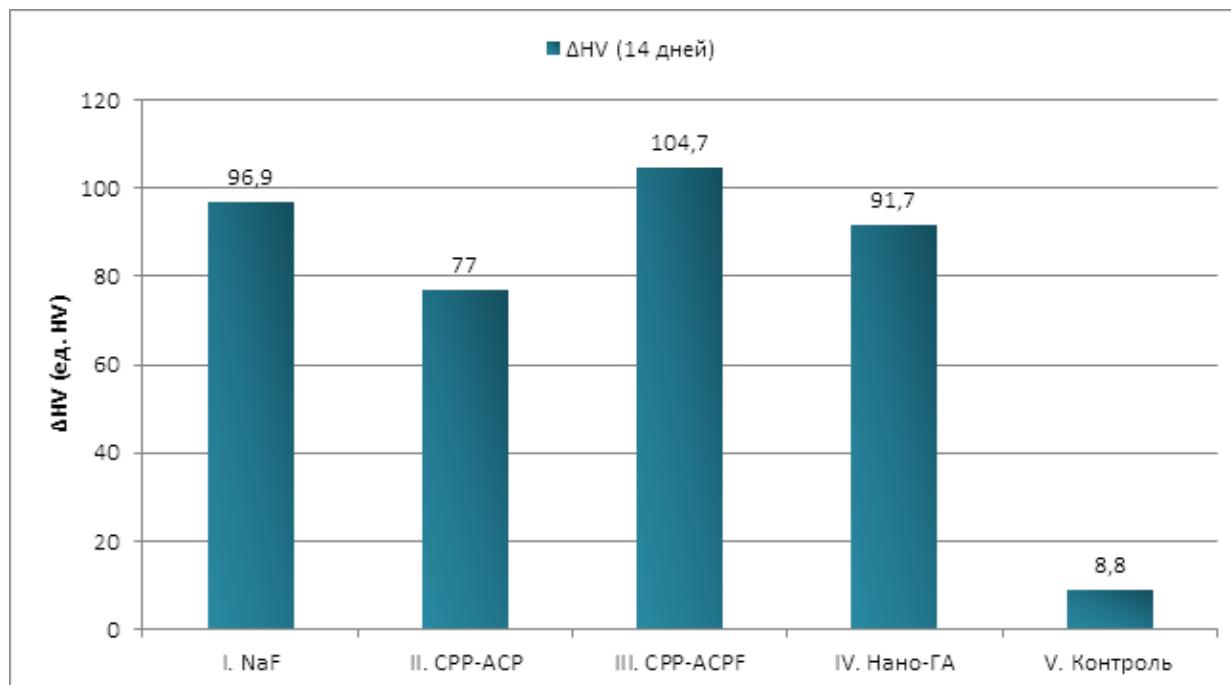


Рисунок 5. Сравнительная эффективность реминерализующих агентов.

Графическое обобщение: фторидный лак, нано-ГА и CPP-ACP+F показали сопоставимое значительное повышение микротвёрдости (≈ 90 – 105 единиц HV прироста), тогда как CPP-ACP без фтора – умеренное (≈ 77 HV прирост). Отсутствие лечения привело лишь к минимальному повышению (~ 9 HV). Таким образом, все активные агенты существенно превосходят спонтанную реминерализацию, при этом наличие фторида либо наночастиц апатита является критичным для максимального эффекта.

Статистический анализ: парный сравнительный анализ подтвердил значимость увеличения HV после 14 дней терапии во всех экспериментальных группах (I–IV) относительно исходного пост-деминерализационного уровня ($p < 0,0001$; для контроля изменение незначимо, $p = 0,12$). Результаты дисперсионного анализа и попарных сравнений между группами суммированы в таблице 4.

Многогрупповой сравнительный анализ конечной микротвёрдости (HV) между исследуемыми группами.

(а) Однофакторный ANOVA ($df=4$, $F=198,6$) выявил значимое различие средних HV на 14-й день, $p < 0,0001$.

(б) Пост-хок анализ (критерий Тьюки, $\alpha=0,05$) – p -значения для пар групп:

Из таблицы видно, что все активные агенты (I–IV) достоверно превосходят контроль (V) по итоговой микротвёрдости ($p < 0,001$). Группа CPP-ACP (II) уступает группам I, III и IV ($p < 0,01$ во всех случаях). Между фторидом, CPP-ACPF и нано-ГА статистически значимых различий не обнаружено ($p > 0,05$), подтверждая их эквивалентность в восстановлении прочности эмали в данной модели. Кроме того, не выявлено значимого отличия между комбинированным CPP-ACPF (III) и чистым фторидом (I), что согласуется с данными литературы о сходной эффективности этих подходов. [2,5,6]

Таким образом, статистический анализ подтверждает выдвинутую гипотезу о том, что все испытанные реминерализующие средства значительно улучшают микротвёрдость деминерализованной эмали *in vitro*. В то же время, обнаружены различия в степени этого

улучшения: добавление фторида (в виде лака либо в сочетании с CPP-ACP) или применение наногидрок시아патита обеспечивают максимально возможный эффект, тогда как одна лишь кальций-фосфатная система без фтора (CPP-ACP) менее эффективна. [2,5,6]

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе продемонстрировано, что реминерализирующая терапия с использованием как традиционных фторидов, так и новейших средств (нано-ГА, CPP-ACP) способна частично вернуть утраченные прочностные свойства эмали после кислотного повреждения. Полученные *in vitro* данные согласуются с ранее опубликованными исследованиями в этой области. В частности, мы подтвердили ключевую роль фторид-ионов в процессе реминерализации: однократное применение 5% фтористого лака вызвало существенное увеличение микротвёрдости ($\approx +97$ HV), что соответствует около 39% восстановления первоначальной прочности эмали. Этот результат сопоставим с сообщениями других авторов о значимом росте микротвёрдости уже через 7 дней после фторлака. Принято считать, что механизмы действия фторидов включают образование на поверхности эмали кристаллов фторгидрок시아патита, более устойчивого к кислотам, а также отложение глобул CaF_2 в микропорах, служащих депо ионов кальция и фтора для последующей кристаллизации. Кроме того, фторид ингибирует деминерализацию подповерхностных слоёв и способствует реминерализации, особенно в присутствии достаточных концентраций кальция и фосфата в среде. В нашем эксперименте все образцы хранились в искусственной слюне, содержащей Ca^{2+} и PO_4^{3-} ; фторидный лак, растворяясь, вероятно, создавал на поверхности высокую концентрацию ионов F^- , что облегчало встраивание кальция/фосфата из раствора в кристаллическую решётку эмали. Таким образом, условия способствовали оптимальной реализации потенциала фторида. Это отражено в наших данных: группа I (NaF) достигла практически того же уровня микротвёрдости, что и группа III (CPP-ACPF), где помимо фтора дополнительно присутствует запас кальций-фосфатных соединений. [2,5,6]

Интересным находкой стало то, что наногидрок시아патит показал эффективность, сравнимую с фторидом. За 14 дней микротвёрдость в группе нано-ГА выросла до ~ 145 HV (восстановление 38%), статистически не отличаясь от фторида (~ 149 HV, 39%). Это согласуется с результатами клинических исследований, в которых зубные пасты с микрокристаллическим гидроксияпатитом не уступали фторидным пастам по профилактике кариеса у пациентов с высоким риском. Механизм действия нано-ГА принципиально иной: наночастицы апатита способны адсорбироваться на эмали, заполнять микропоры и кристаллизоваться, интегрируясь в структуру эмали как «заполнитель» утраченного минерального вещества. Благодаря малому размеру (20–100 нм) такие частицы проникают вглубь повреждённых участков эмали и служат кристаллитами для роста нового апатита. В наших условиях паста Aragard Premio содержит помимо наночастиц также фтор (950 ppm), что теоретически может давать дополнительный эффект (образование фторзамещённого апатита). Таким образом, суммарное действие этого средства весьма эффективно, обеспечивая восстановление твёрдости на уровне ~ 90 HV прироста – практически равном фториду. Наши данные подтверждают высказанное в литературе мнение, что гидроксияпатит является одним из самых перспективных нетоксичных и биосовместимых заменителей фтора для профилактики и лечения начального кариеса. В условиях, когда длительное применение фторидов ограничено из-за риска флюороза или токсических эффектов, нано-ГА может стать ценным альтернативным или адъювантным средством *remin*-терапии. [2,5,6]

Что касается CPP-ACP, наши результаты демонстрируют, что этот агент в одиночку (без фтора) хоть и способствует реминерализации, но менее выражено: прирост микротвёрдости ~ 77 HV (восстановление 32%) против ~ 97 HV у фтора. Статистически разница между группами II (CPP-ACP) и I/IV/III (фтор, нано-ГА, CPP-ACPF) значима, то есть чистый CPP-ACP уступает другим активным средствам. Это согласуется с результатами мета-анализа *in vitro*, где было отмечено отсутствие значимого превосходства CPP-ACP над контролем в реминерализации WSL, в то время как добавле-

ние фтора (CPP-ACFP) существенно повышает эффективность. Биологический смысл этого факта может заключаться в том, что хотя казеин-фосфопептиды и удерживают ионы Ca/PO_4 на поверхности зуба, для их кристаллизации требуется достаточный градиент диффузии и, вероятно, присутствие фтора как катализатора образования стабильного фторапатита. *In vivo* CPP-ACP также зависит от условий полости рта: белок CPP может связываться с биоплёнкой, высвобождая ионы постепенно. В стеклянной модельной системе, применённой нами, возможно, часть преимуществ CPP-ACP реализуется не полностью из-за отсутствия биоразнообразия условий. Тем не менее, мы зафиксировали статистически значимое повышение HV по сравнению с нелеченым контролем, что подтверждает реминерализующий потенциал CPP-ACP. Наши данные дополняют клинические исследования, где применение CPP-ACP-содержащих кремов приводило к уменьшению размеров и окраски белых пятен на эмали после ортодонтического лечения. Следовательно, несмотря на более скромный эффект, CPP-ACP может рассматриваться как полезное средство, особенно в сочетании с фторидами или в случаях, когда фтор противопоказан. [2,5,6]

Особый интерес представляет комбинация CPP-ACP + фтор (группа III, CPP-ACPF). В нашем исследовании она дала самый высокий абсолютный HV (~155), хотя статистически не отличается от одного фторида. Тем не менее, тенденция к лучшему восстановлению (42% против 39% у фтора) прослеживается. Возможно, при увеличении числа образцов или времени терапии разница стала бы значимой. Сочетание CPP-ACP с фтором теоретически объединяет оба механизма: ионный резервуар Ca/PO_4 + усиленное фтором отложение апатита. В литературе имеются сведения, что CPP-ACPF превосходит чистый фтор в реминерализации более глубоких поражений за счёт проникновения ионов в глубину пор. Наши результаты в целом согласуются с мета-анализом Nadar et al. (2022), где эффективность CPP-ACPF-препаратов признаётся эквивалентной фториду. Интересно отметить и другой пример синергизма из недавнего исследования: объединение биоактивного стекла с CPP-ACP+F привело к лучшему восстановлению микротвёрдости и

Ca/P в эмали, чем отдельно оба компонента. В клинической практике комбинация подходов также набирает популярность: например, чередование аппликаций фторлака и CPP-ACP-крема, либо применение многофункциональных паст (сразу с наногидроксиапатитом, фтором и кальций-фосфатами). Наши данные подтверждают рациональность таких комплексных подходов. [2,5,6]

Контрольная группа без активного лечения показала лишь минимальное самопроизвольное повышение микротвёрдости (~+8 HV за 2 недели). Это ожидаемо, так как *in vitro* отсутствуют многие факторы естественной реминерализации, присутствующие *in vivo*: поток свежей слюны, протеины пеликулы, буферные системы, периодическое питание и др. Даже несмотря на нахождение в искусственной слюне, одного этого оказалось недостаточно для значимого восстановления твёрдости без дополнительного источника минералов или катализаторов роста кристаллов. Таким образом, можно заключить, что активное вмешательство необходимо для реминерализации выраженных поражений эмали, тогда как в клинике небольшой эффект может быть и от естественных процессов при поддержании гигиены и диеты. [1–8]

Клинические импликации: хотя наше исследование проведено *in vitro*, полученные результаты имеют практическую значимость. Они подтверждают, что применение фторсодержащих средств остаётся наиболее эффективной стратегией укрепления эмали и обратного развития начального кариеса. Вместе с тем, препараты на основе наногидроксиапатита могут рассматриваться как эффективная альтернатива или дополнение, особенно для пациентов, которые не могут или не хотят использовать фтор (например, маленькие дети, лица с флюорозом, противники фтора). Продукты с комбинацией CPP-ACP и фтора (MI Paste Plus и аналоги) также заслуживают внимания как средство пост-ортодонтической реабилитации эмали и лечения белых пятен, что подтверждено как нашей работой, так и клиническими испытаниями. Следует отметить, что для действительно глубокой реминерализации подповерхностных поражений стандартных средств может быть недостаточно. Согласно современным обзорам, такие ин-

новации, как инфильтрация смолой (Icon) или пептидные материалы (P11-4), способны более эффективно уменьшать проявления WSL, хотя их механизм скорее маскирующий или структурообразующий, нежели собственно реминерализация. В контексте профилактики кариеса наши данные добавляют аргументов в пользу концепции многофакторного подхода: наряду с традиционным использованием фторидной зубной пасты (1500 ppm) целесообразно включать наногидроксипатитсодержащие пасты или ополаскиватели, а также периодические курсы реминерализирующих кремов (CPP-ACP) после профессиональной гигиены. Такой подход может обеспечить ионами как поверхностные, так и глубже лежащие слои эмали, создавая оптимальные условия для восстановления структуры. [2,5,6]

Ограничения и перспектива: к ограничениям данной работы относится её *in vitro* характер – результаты в лаборатории не полностью отражают сложную биохимию полости рта. Отсутствие динамической смены ротовой жидкости, бактериального фактора, механического износа и т.д. может как преувеличивать, так и недооценивать эффект агентов. Кроме того, мы оценивали лишь один параметр – микротвёрдость. Хотя это надёжный прокси-показатель минерального состояния эмали, он не даёт прямой информации о глубине реминерализации или косметическом эффекте (исчезновении пятна). В будущем полезно дополнить методику другими анализами: кросс-секционной микротвёрдостью или микро-СТ для профиля минерализации вглубь, электронным микроскопом для визуализации отложений, цветиметрией или QLF для оценки эстетики. Ещё одно ограничение – сравнительно короткий период наблюдения (2 недели); неизвестно, достигнуты ли плато реминерализации или при более длительном воздействии разница между средствами возросла бы. Также мы не моделировали повторных циклов демин-ремин, характерных для реальных условий, что могло бы повлиять на эффективность агентов (например, фтор может сильнее противостоять новым эпизодам деминерализации). Наконец, размер выборки ($n=10$ на группу) достаточен для основных выводов, но может быть маловат для обнаружения тонких различий между схожими по

действию средствами (как между фтором и нано-ГА). Поэтому результаты следует интерпретировать с учётом указанных ограничений. [1–8]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках моделирования начального кариозного поражения *in vitro* мы количественно оценили влияние четырёх реминерализующих подходов – фторида, CPP-ACP, CPP-ACP с фтором и наногидроксипатита – на микротвёрдость эмали. Все испытываемые агенты, за исключением контроля, достоверно повышали микротвёрдость деминерализованной эмали, подтверждая свою реминерализующую эффективность. Наибольшее восстановление прочности обеспечили 5% фторид натрия (лак) и комбинация CPP-ACP с фтором, а также паста с наногидроксипатитом – их действие оказалось статистически эквивалентным и привело примерно к 40% возврату утраченной твёрдости. Применение одного CPP-ACP без фтора дало меньший эффект (~32% восстановления), хотя и этот результат значительно превышал спонтанную реминерализацию. Полученные данные согласуются с современными представлениями о ведущей роли фторидов в реминерализации эмали и демонстрируют высокую эффективность наногидроксипатита как альтернативного или дополнительного средства. С практической точки зрения, результаты *in vitro* позволяют рекомендовать комбинированное использование средств реминерализующей терапии – например, одновременное насыщение среды и фтором, и наночастицами гидроксиапатита – для достижения максимального восстановления эмали при начальном кариесе. Тем не менее окончательная проверка полученных выводов требует *in vivo* исследований на клинических моделях белых пятен с долгосрочным наблюдением, а также изучения влияния факторов оральной среды.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование проведено *in vitro*, что накладывает ограничения на экстраполяцию результатов в клинику. Отсутствие динамики физиологических процессов полости рта (слюноотделение, обмен жидкости, микрофлора) может влиять на скорость и сте-

пень реминерализации. Мы оценивали только поверхностную микротвёрдость; глубокие слои эмали и эстетический аспект (исчезновение белого пятна) не анализировались. Кроме того, применённая модель деминерализации создаёт относительно однородные поражения; реальные WSL у пациентов могут иметь большую вариабельность. Образцы зубов были здоровыми удалёнными премолярами; не изучалась гипоминерализованная эмаль (MIH) или эмаль молочных зубов, что может ограничивать обобщение результатов на эти случаи. Период наблюдения (14 дней) сравнительно короткий; не ясно, как соотносятся эффекты агентов при более длительном использовании. Наконец, возможны систематические погрешности, связанные с *in vitro* измерениями (например, воздействие предыдущих индентов на структуру эмали, хотя мы и минимизировали это). В дальнейшем следуют провести клинические рандомизированные исследования, а также расширить лабораторный протокол (например, включить циклические колебания pH, слюноподобные условия, оценку визуальных и структурных параметров).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ И МАТЕРИАЛОВ

Все данные, полученные или проанализированные в ходе этого исследования, включены в настоящую опубликованную статью.

ВКЛАД ОТДЕЛЬНЫХ АВТОРОВ

Все авторы внесли свой вклад в подготовку исследования и толкование его результатов, а также в подготовку последующих редакций. Все авторы прочитали и одобрили итоговый вариант рукописи.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ И СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией 2013 г. и одобре-

но локальным этическим комитетом. Экстрагированные зубы получены после письменного информированного согласия пациентов на использование биоматериала в научных целях. Персональные данные пациентов при этом не разглашались. Дизайн *in vitro* исследования не предусматривал вмешательств, могущих причинить вред людям или животным..

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ

Не применимо.

ПРИМЕЧАНИЕ ИЗДАТЕЛЯ

Журнал "Интегративная стоматология и челюстно-лицевая хирургия" сохраняет нейтралитет в отношении юрисдикционных претензий по опубликованным картам и указаниям институциональной принадлежности.

RESEARCH LIMITATIONS

This study was conducted *in vitro*, which imposes limitations on extrapolating the results to clinical settings. The absence of dynamic physiological processes in the oral cavity (salivation, fluid exchange, microflora) may affect the rate and degree of remineralization. We assessed only surface microhardness; deeper enamel layers and aesthetic aspects (disappearance of white spots) were not analyzed. Furthermore, the applied demineralization model creates relatively uniform lesions; real white spot lesions (WSL) in patients may have greater variability. The tooth samples were healthy extracted premolars; hypomineralized enamel (MIH) or primary tooth enamel were not studied, which may limit the generalization of results to these cases. The observation period (14 days) is relatively short; it is unclear how the effects of the agents compare with longer-term use. Finally, systematic errors related to *in vitro* measurements are possible (for example, the impact of previous indentations on enamel structure, although we minimized this). In the future, clinical randomized trials should be conducted, and the laboratory protocol should be expanded (e.g., to include cyclic pH fluctuations, saliva-like conditions, and assessment of visual and structural parameters).

ETHICAL STATEMENT AND CONSENT TO PARTICIPATION

The study was conducted in accordance with the 2013 Helsinki Declaration and approved by the local ethics committee. The extracted teeth were obtained after patients provided written informed consent for the use of the biomaterial for scientific purposes. The personal data of the patients were not disclosed. The in vitro research design did not involve any interventions that could harm humans or animals.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCES OF FUNDING

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

All data generated or analysed during this study are included in this published article.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

All authors contributed to the design and interpretation of the study and to further drafts. All authors read and approved the final manuscript.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

All applicable international, national and/or institutional ethical guidelines have been followed.

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

PUBLISHER'S NOTE

Journal of *"Integrative dentistry and maxillofacial surgery"* remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cardoso-Martins I, Arantes-Oliveira S, Coelho A, Pessanha S, Marques PF. Evaluation of the Efficacy of CPP-ACP Remineralizing Mousse in MIH White and Yellow Opacities—In Vitro Vickers Microhardness Analysis. *Dent J (Basel)*. 2022;10(10):186.
2. Monjarás-Ávila AJ, Hardan L, Cuevas-Suárez CE, et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Remineralizing Agents: Outcomes on White Spot Lesions. *Bioengineering*. 2025;12(1):93.
3. Gudkina J, Amaechi BT, Abrams SH, Brinkmane A. Can New Remineralizing Agents Serve as Fluoride Alternatives in Caries Prevention? A Scoping Review. *Oral*. 2025;5(3):47.
4. Nadar BG, Yavagal PC, Velangi CS, Yavagal CM, Basavaraj SP. Efficacy of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate varnish in remineralizing white spot lesions: a systematic review and meta-analysis. *Dent Res J (Isfahan)*. 2022;19:48.
5. Rahman RG, Diab BS. Efficacy of different remineralization agents on microhardness and chemical composition of enamel white spot lesion. *F1000Res*. 2024;13:505.
6. Schlagenhauf U, Kunzelmann K-H, Hannig C, et al. Impact of a non-fluoridated microcrystalline hydroxyapatite dentifrice on enamel caries progression in highly caries-susceptible orthodontic patients: a randomized controlled trial. *J Investig Clin Dent*. 2019;10(2):e12399.
7. Xie Z, Yu L, Li Y, et al. Comparison of therapies of white spot lesions: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2023;23(1):346.
8. Mendes FM, et al. Use of casein amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on white-spot lesions: Randomised clinical trial. *Oral Health Prev Dent*. 2018;16(1):27–31.