

УДК 616.314.11.1-002-053.51-084-08

Замураєва А.У.^{1,2}, д.мед.н, проф., Айтуов Б.А.^{3,4}, PhD, наук. Директор,
Аубакірова Д.Ж.², лікар-стоматолог, Єгізбекова Д.Б.², лікар-стоматолог

¹Акціонерне товариство «Медичний університет Астана», Казахстан

²Товариство з обмеженою відповідальністю Центр стоматології «Жайик дент»,
Астана, Казахстан

³InnoDent International LLC, Вілмінгтон, США

⁴Товариство з обмеженою відповідальністю Інститут «BioSmart», Астана, Казахстан

Zamurayeva A.U.^{1,2}, Aituov B.A.^{3,4}, Aubakirova D.Z.², Yegizbekova D.B.²

¹Astana Medical University, Kazakhstan

²Zhayik Dent clinics, Astana, Kazakhstan

³InnoDent International LLC, Wilmington, USA

⁴BioSmart Institute, Astana, Kazakhstan

ІННОВАЦІЙНИЙ МЕТОД ЛІКУВАННЯ ПОЧАТКОВОГО КАРІЄСУ У ДІТЕЙ ПРЕПАРАТОМ INNO DENT™

NOVEL EARLY CARIES TREATMENT METHOD IN CHILDREN WITH INNO DENT™ PREPARATIONSE

Адреса для кореспонденції:

Айтуов Бауржан

e-mail: b.aituov@gmail.com

МЕТА: Оцінити ефективність дії препарату InnoDent™, застосованого для відновлення емалі при лікуванні початкового карієсу в дітей. **МЕТОДИ:** Для вивчення здатності препарату InnoDent™ стимулювати регенерацію карієсу in vivo (пре-клініка) провели експеримент «рН осцилюючої моделі» (симулювання інтраоральних кондицій), у якому інкубували екстраговані зуби в слинній рідині та кислотному розчині після нанесення однієї краплі препарату InnoDent™ та без нанесення. Після цього спектрометричним методом оцінювали демінералізацію та ремінералізацію каріозної ділянки. Застосування препарату у клініці провели у 23 дітей шкільного віку з початковим карієсом на 132-х постійних зубах із несформованими та сформованими кореннями, з них у 5-ти випадках спостерігали карієс на стадії плями на верхніх різцях з відламом кута коронки зуба внаслідок травми. З методів діагностики застосували візуальний огляд, зондування, термометрію, метод вітального забарвлювання. Обробку препаратом InnoDent™ проводили відповідно до інструкції виробника. Огляд дітей відбувався щомісячно протягом перших 3-х місяців. **РЕЗУЛЬТАТИ:** Пре-клінічні дослідження довели, що одноразова обробка пептидом InnoDent™ значно підвищила ступінь біомінералізації каріозної ділянки на 5-й день, порівняно з контрольною ділянкою (без пептиду), яка демінералізувалася. У клінічному досліді отримано позитивний результат. При візуальному огляді на поверхнях зубів у 123-х зубах плями не визначалися, колір зубів однорідний, блиск збережений, немає больових відчуттів. Метод вітального забарвлювання не виявив зміни кольору поверхні зубів у ділянці попередніх дефектів. **ВИСНОВКИ:** Інноваційний атравматичний метод лікування карієсу на ранній стадії біоміметичною регенерацією у дітей дозволив досягти не тільки стабілізації патологічного процесу, а й відновлення емалі, причому в короткі терміни. Пропонований ефективний інноваційний метод можна рекомендувати для широкого застосування в клінічній практиці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карієс у стадії плями, амелогенез, регенерація емалі, імплантація білкового матриксу амелогеніну, InnoDent™.

PURPOSE: To evaluate the effectiveness of InnoDent™ drug used to restore the enamel in the treatment of primary caries in children. **Methods:** To study the ability of InnoDent™ to stimulate the regeneration of caries in vivo (pre-clinical) we conducted an experiment of pH scillating model (modeling intraoral conditions) where the extracted teeth were incubated in salivary fluid vs. acid solution after single application of a single drop of InnoDent™ preparation and without treatment (control). Efficacy was evaluated via spectrometry to represent sites with further demineralization vs. remineralization of caries site. Clinical trials were subsequently conducted on 23 children of school age, with initial caries in the 132 permanent teeth with unformed and formed roots, of which 5 cases were diagnosed with white spot caries on the upper incisors with a tooth crown angel chip (break off) as a result of injury. Diagnostic methods included visual inspection, sensing, thermometry, as well as vital staining method. The treatment of drug InnoDent™ produced according to the manufacturer's instructions. Inspection of children was carried out on a monthly basis for the first 3 months. **Results:** As a result of pre-clinical trials, a single application of InnoDent™ significantly increased the degree of biomineralization of the carious site during first five days as compared to the control (no peptide), which de-mineralized even further. The clinical trials showed a positive result. Visual inspection on the surfaces of the 123's teeth showed no white spots, the teeth color was uniform, with shine, no pain was reported (loss of sensitivity). Method of vital staining revealed no discoloration of the teeth in the former surface defects. **Conclusions:** Innovative non-invasive treatment of caries at an early stage by InnoDent™ peptide implant regeneration in children allowed to achieve not only the stabilization of the pathological process, but also the restoration of sound enamel structures in short time. This effective innovative method can be recommended for widespread use in clinical practice.

KEY words: white spot caries, amelogenesis, enamel regeneration, amelogenin peptide matrix implantation, InnoDent™.

Вступ

Проблема множинного карієсу зубів у дітей залишається гострою і невирішеною, незважаючи на певні успіхи досліджень у ділянці профілактики і лікування захворювання. Водночас відсутність ефективних методів лікування карієсу зубів на ранній стадії прояву патологічного процесу часто призводить до розвитку ускладнених форм, що надалі позначається на психофізичному стані дитини, вимагає значних зусиль та істотних стоматологічних і матеріальних витрат на функціональне і анатомічне відновлення зуба [1, 2]. У цьому аспекті безсумнівний інтерес викликає інноваційний метод відновлення (регенерації) емалі, патологічно зміненої каріозним процесом, за допомогою неоперативної і безболісної імплантації білкового матриксу. Розвиток емалі в період гістогенезу зубних тканин супроводжується утворенням органічного матриксу, який стимулює кристаліза-

цію гідроксиапатиту. Згодом після активного включення мінералів у дозріваючу емаль, цей матрикс видаляють. З огляду на те, що зубна емаль більше не містить матриксу, який міг би підтримати біомінералізацію, а також не містить живих клітин – амелобластів, які могли б сформувати нову тканину, регенерація емалі дотепер була неможливою [3].

Ученим Інституту BioSmart вдалося імітувати формування органічного матриксу емалі в осередку каріозних уражень, таким чином стимулюючи регенерацію нової емалі природною de novo біомінералізацією [4].

Під впливом змін pH порожнини рота пептиди InnoDent™ мають унікальну здатність до самогрупування у тривимірний біоматрикс (білкова сітка). Як показано на мал. 1, за своїми структурними і функціональними характеристиками утворений 3D біоматрикс аналогічний органічному матриксу емалі (амелогеніну), який деградує в період амелогенезу. Біо-

матрикс InnoDent™ сорбує мінерали кальцію і фосфору зі слини, утворюючи нові кристали гідроксиапатиту (ГАП). При цьому пептиди InnoDent™ побудовані таким чином, що стимулюють de novo кристалізацію ГАП. Після нуклеації ГАП (початок утворення кристалів) ініціюється ріст вторинних кристалів та утворення емалевих призм. У міру утворення «нової» емалі вміст біоматриксу InnoDent™ знижується, що зумовлене його витісненням з міжкристалічних просторів.

Під впливом препарату InnoDent™ емаль, патологічно змінена внаслідок розвитку каріозного процесу, відновлюється за 1 місяць, набуваючи всіх морфологічних властивостей природної емалі людини. З огляду на те, що ця технологія імітує природний амелогенез вона також називається біоміметичною регенерацією [4]. Препарат InnoDent™, пропонується для регенерації емалі, є амінокислотним аналогом людського білка амелогеніну і отриманий



Мал. 1. Механізм дії препарату InnoDent™ (написи на мал. зліва-направо)

внаслідок твердофазного хімічного синтезу в корпорації «Vachem» (Бунддорф, Швейцарія). Випускається двох форм InnoDent™ Junior і InnoDent™ Repair. Пептиди InnoDent™ виробляються за унікальною формулою Інституту BioSmart в провідному біотехнологічному концерні Vachem AG [5]. Препарат InnoDent™ зареєстрований у країнах Митного союзу (Росія, Казахстан, Білорусь) та Україні, відповідає вимогам Технічного регламенту Митного союзу №009/2011. Декларація про відповідність Митного союзу № KZ.5110317.24.01.40603 від 26.09.2014 р.; Сертифікат СЕС України №05.03.02-03/7858 від 14.03.2016 р. Показаннями до застосування InnoDent™, згідно з Інструкцією виробника, є:

- карієс у стадії плями
- тріщини, відколи емалі травматичного походження
- поверхневий карієс (E1, E2)
- фісурний початковий карієс
- карієс, спричинений встановленням брекет-системи
- чутливість при початковому пришийковій карієсі.

Мета клінічного дослідження — оцінка ефективності дії препарату InnoDent™, застосовуваного для відновлення емалі при лікуванні початкового карієсу у дітей.

Матеріал і методи

Доклінічні дослідження

Пептиди InnoDent™ отримані внаслідок стандартного Fmoc-твердофазного пептидного синтезу [6] і очищені методом зворотно-фазної хроматографії HPLC. Застосовували градієнт води: ацетонітрил у присутності 0,1% трихлороцтової кислоти. За даними мас-спектрометрії визначали наявність пептиду в чистій формі (99,9%).

Для вивчення здатності препарату InnoDent™ стимулювати регенерацію карієсу *in vivo* провели експерименти «рН осцилюючої моделі» (імітування інтраоральних кондицій) [7]. Очищені екстраговані постійні зуби інкубували 14 днів у кислому желатиновому гелі за протоколом Silverstone та співавт. [8], після 14 днів інкубації коронки промили. В результаті на поверхні емалі утворилися отвори глибиною 100 мкм. Ці «карієсоподібні ураження» обробили пептидом InnoDent™, розведеним у dH₂O і тільки dH₂O (контроль). Краплі проникали в коронки зубів протягом 30 хв. при кімнатній температурі. Протягом наступних 5 днів коронки інкубували у рН-циклічній моделі порожнини рота (35 °C), що перед-

бачало інкубування 3 рази по 20 хв. у кислотному середовищі (1.5 mM Ca (NO₃)₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 50 mM оцтова кислота, рН 4.8) з чергуванням у нейтральному середовищі (1.5 mM Ca (NO₃)₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 130 mM KCl, 60 mM Tris, рН 7.4). Через 5 днів спектрометричним методом підраховували втрати/насичення мінералів в інкубаційному розчині і оцінювали демінералізацію і ремінералізацію каріозної ділянки.

Клінічні випробування

У центрі стоматології «Жайик дент» (м. Астана) проведено лікування початкового карієсу у дітей з використанням препарату InnoDent™ Junior і InnoDent™ Repair. Під спостереженням знаходилися 23 дитини шкільного віку, початковий карієс діагностували у 132-х постійних зубах із несформованими й сформованими кореннями, з них у 5-ти випадках спостерігали карієс на стадії плями у верхніх різцях із відламом кута коронки зуба внаслідок травми. За груповою приналежністю досліджували зуби належали до фронтальних і жувальних зубів. З методів діагностики використовували візуальний огляд, зондування, термометрію, вітальне забарвлення.

Для лікування обрали сучасну технологію регенерації емалі за допомо-



Очищення зуба

Хлоргексидин/H₂O₂ (20 с)

Протравлювальний гель (10 с)

Розчинити в 0,05 мл dH₂O

1 крапля InnoDent™ (5 хв.)



1 крапля наноГАП (5 хв.)

Мал. 2. Методика застосування препарату InnoDent™ у клініці (написи на рис. зліва-направо)



Мал. 3. Нанесення препарату InnoDent™ на вогнище ураження в клініці «Жайк Дент»



Мал. 4. а – початковий карієс зуба 2.2 до лікування, б – початковий карієс зуба 2.2 після лікування

гою нового активного препарату InnoDent™. Перед початком нанесення препарату InnoDent™ його необхідно розчинити у 0,05 мл дистильованої води згідно з інструкцією виробника. Методика застосування препарату InnoDent™ у рамках цього дослідження схематично представлена на мал. 2 та включає такі кроки:

1. Очищення поверхні зубів пастою Depural
2. Іригація 0,05% розчином хлоргексидину або 3% розчином перекису водню
3. Накладання кофердаму, Optra Dam Plus (size regular) висушування
4. Обробка протравлювальним гелем протягом 10 с
5. Промивання, висушування
6. Нанесення 1 краплі InnoDent™ на 5 хв.

7. Нанесення 1 краплі наноГАП на 5 хв. Після виконання п. 7 не змивати і не полоскати. При обробці важкодоступних ділянок зручно використовувати вигнуті канюлі, з канюлі також краще регулювати обсяг і витрату крапель. Повторно наносити краплю InnoDent™ не потрібно, оскільки зайвий пептид не зв'яжеться з тканинами і змиється.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Доклінічні випробування

Одноразова обробка пептидом InnoDent™ каріозної поверхні значно збільшила ступінь біомінералізації цієї ділянки на 5-й день, порівняно з контролем (без пептиду), де спостерігалася демінералізація [4]. Дія пептиду InnoDent™ у цьому випадку:

стимулювання ремінералізації та інгібування демінералізації. Отже, в цьому експерименті було показано, що обробка каріозних ділянок препаратом InnoDent™ під впливом флуктуацій рН та іонної сили середовища стимулює регенерацію каріозної емалі внаслідок ремінералізації іонів гідроксиапатиту [4].

Клінічні випробування

Одна з основних ознак початкового карієсу – це вогнище ураження на поверхні зуба у вигляді білої плями. При первинному огляді важко виявити пляму на вологій поверхні зуба. Це зумовлене тим, що емаль при демінералізації стає пористою і вода, проникаючи крізь пори на поверхню зуба, зволожує її. Тому при візуальному дослідженні оцінювали стан

зубів тільки після ретельного висушування поверхні. Виявлені білуваті плями різної форми і розміру локалізувалися на вестибулярній поверхні верхніх різців і щічної поверхні перших премолярів і молярів. При інструментальному дослідженні зубів поверхні плям гладкі, щільні, безболісні. Емаль у ділянці травматичного дефекту різців злегка жовтуватого відтінку, при зондуванні тканина щільна і безболісна. Реакція на термічні подразники відсутня (мал. 4 а). Для диференціальної діагностики некаріозного ураження проводили вітальне забарвлювання 2% розчином метиленового синього. В усіх досліджуваних дітей плями на поверхні зубів забарвилися в блакитно-синій колір різної інтенсивності. Безперечно, важливим моментом є недопущення руйнування глибших шарів тканин зуба і своєчасне ліку-

вання карієсу на стадії плями. Огляд дітей проводили щомісяця протягом перших 3 місяців. При візуальному огляді на поверхнях зубів у 123-х зубах плями не визначалися, колір зубів однорідний, блиск збережений, больові відчуття відсутні. Зонд плавно ковзає по рівній гладкій поверхні зуба (мал. 4 б). Метод вітального забарвлювання не виявив зміни кольору поверхні зубів у ділянці попередніх дефектів. У зубах з травматичним дефектом визначалися злегка помітні жовтуваті плями, які забарвилися метиленовим синім у блакитний колір слабкої інтенсивності. Прийняли рішення про проведення повторної обробки препаратом InnoDent™. Через наступні три місяці на поверхні емалі в усіх випадках плями відсутні, при зондуванні емаль гладка, рівна. Після реставрації емалі можливим було про-

ведення реставрації зубів. Дітям з негативним результатом лікування буде продовжено.

Висновки

Застосування препарату InnoDent™ сприяє відновленню ураженої емалі на поверхнях зубів із початковим карієсом, пептиди InnoDent™ стимулюють природну регенерацію патологічно зміненої емалі. Інноваційний атравматичний метод лікування карієсу на ранній стадії розвитку дозволив досягти не тільки стабілізації патологічного процесу у дітей, а й відновлення емалі, причому в короткі терміни. Це повідомлення є попереднім, але отримані позитивні результати дають підстави рекомендувати цей інноваційний метод для застосування в клінічній практиці.

Список використаної літератури

1. Детская стоматология / Под ред. проф. Ричарда Р. Вебери, Монти С. Даггала и Мари-Терез Хози. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2013. — 455 с.
2. Корчагина В.П. Лечение кариеса у детей раннего возраста. М. — 2008. — 167 с.
3. Терапевтическая стоматология детского возраста / Под ред. проф. Л.А. Хоменко. К.: Книга плюс. — 2007. — 815 с.
4. Инновационный патент РК на изобретение №30310, 2015 г. «Способ неинвазивного лечения кариеса».
5. Инструкция по применению Препарата InnoDent™ [электронный ресурс] <http://innodent.net/ru/faq/>
6. Chang C.D., Meienhofer J. Solid-phase peptide synthesis using mild base cleavage of N alpha-fluorenylmethyloxycarbonylamino acids, exemplified by a synthesis of dihydrosomatostatin. *International Journal of Peptide and Protein Research*. 1978, 11(3):246-9.
7. Robinson C. et al. A flexible and rapid pH cycling procedure for investigations into the remineralization and demineralization behavior of human enamel. *Caries Research*. 1992, 26 (1):14-7.
8. Silverstone L.M. The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. *British Dental Journal*. 1966, 120 (10):461-71.

REFERENCES

1. Veberi, R.R., Daggala, M.S., Hosi, M.-T. (2013). *Detskaja stomatologija*. Moskva: GjeOTAR-Media (in Russian).
2. Korchagina, V.P. (2008). *Lechenie kariesa u detej rannego vozrasta* (in Russian).
3. Homenko, L.A. (2007). *Terapevticheskaja stomatologija detskogo vozrasta*. Kiev: Kniga pljus, 815 (in Russian).
4. Innovacionnyj patent RK (2015). na izobretenie №30310 «Sposob neinvazivnogo lechenija kariesa» (in Russian).
5. *Instrukcija po primeneniju Preparata InnoDent™*. <http://innodent.net/ru/faq/> (in Russian).
6. Chang, C.D, Meienhofer, J. (1978). Solid-phase peptide synthesis using mild base cleavage of N alpfluorenylmethyloxycarbonylamino acids, exemplified by a synthesis of dihydrosomatostatin. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 11(3):246-9 (in English).
7. Robinson, C. & et al. (1992). A flexible and rapid pH cycling procedure for investigations into the remineralization and demineralization behavior of human enamel. *Caries Research*, 26(1):14-7 (in English).
8. Silverstone, L.M. (1966). The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. *British Dental Journal*, 120 (10):461-71 (in English).