

UDC 616.314.13:612.126]-053

L.O. Khomenko, G.V. Sorochenko, I.F. Ishutko

Determination of the Chemical Composition of Permanent Teeth Enamel during Secondary Mineralization in ChildrenBohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine
nmu.dts@gmail.com

Abstract. Materials and methods of the research. We used 20 enamel biopsy samples, obtained in vivo from intact vestibular enamel surface of permanent teeth in 6-12 years old children. Biopsy samples were divided into 2 groups with 10 samples each. *Group I* included enamel biopsy samples obtained from intact permanent teeth that erupted less than 6 months before the research, *Group II* enamel biopsy samples obtained from intact permanent teeth that erupted more than 2 years before the research. Chemical composition of biopsy samples was studied by the atomic emission spectrometry method with ICP-spectrometer ICAP 6500 DUO («Thermo Electron Corporation»).

Results of the research. 35 chemical elements were found in acid etch enamel biopsy samples of permanent teeth. Content of calcium, zinc, iron and copper and calcium/phosphorus ratio in enamel biopsy samples of *Group II* were significantly higher than same parameters of *Group I*. Content of magnesium was significantly lower in enamel biopsy samples of *Group II* comparing with the *Group I*. Content of phosphorus, sodium, potassium, aluminum and silicon in enamel biopsy samples of *Group II* was not significantly higher than same parameters of *Group I*.

Conclusions. Intact enamel of permanent teeth immediately after eruption and for more than 2 years after this process has not been mineralized and thus has have an insufficient level of caries resistance. During secondary mineralization in intact enamel of permanent teeth the amount of calcium, zinc, iron and copper and the calcium/phosphorus ratio is significantly increasing. Therefore, for prevention of destruction of hard dental tissues after eruption of permanent teeth and for at least 24 months it is appropriate to use mineralizing preparations containing calcium, zinc, copper and iron, that would increase caries resistance of tooth enamel, for example to carry out deep fluoridation of enamel.

Keywords: caries prevention, permanent teeth, enamel, secondary mineralization, chemical composition.

Problem analysis and recent research. Epidemiological studies conducted in different regions of Ukraine indicate high prevalence, intensity and predominantly acute course of caries in permanent teeth of 12-year-old children. A significant increase of indicators of prevalence and intensity of caries in permanent teeth is matched at the period from 6 to 15 years [3, 6].

During this period low level of mineralization of tooth enamel is supposed to be one of the main pathogenetic factors of caries, especially during two years after eruption. Chemical composition of hard dental tissues considerably changes under the influence of local and general factors during this period. It is known that approximately 50 chemical elements are involved in the process of tooth mineralization. Calcium, phosphorus, fluorine, magnesium and carbon are the most important among them. Information about the role of other elements is controversial and needs further study, especially using the newest research methods [1, 2].

Modern technologies for determination of chemical composition of permanent teeth enamel (secondary ion mass spectrometry, scanning electron microscopy, Auger spectroscopy, atomic absorption spectrometry, etc.) are accurate, informative and available for researchers in our country [4, 5]. The disadvantage of the above methods is traumatic collection of material for research and, consequently, the inability of clinical use.

Carrying out clinical noninvasive collection of material from the surface of the enamel followed by chemical analysis using modern technology is possible with acid etch enamel biopsy technique (V.K. Leontiev, 1972) and its modifications [1, 8, 10].

So the study of the chemical composition of the superficial layer of the permanent teeth enamel during secondary mineralization using combination of modern clinical and

experimental research methods is actual.

The objective of the research is to determine the chemical composition of the superficial layer of permanent teeth intact enamel immediately after their eruption and within 24 months.

Materials and methods of the research

For the study we used 20 biopsy samples of permanent teeth intact enamel in children. Collection of material for the research was conducted after the interview with parents and children and written consent according to the requirements of the Commission on Bioethics.

Enamel biopsy samples were obtained in vivo from intact vestibular enamel surface of permanent teeth from different groups (incisors, canines, premolars, molars) in 6-12 years old children.

For obtaining enamel biopsy sample tooth surface was cleaned with end-brush and paste «CleanPolish» (Kerr), washed with distilled water, dried, degreased with 96% ethanol and isolated from saliva with cotton pellets and saliva ejector. The surface of the tooth, where we conducted biopsy was isolated using adhesive tape with a round hole in it (diameter - 2 mm, square - 3.14 mm²). Microsamples of enamel were obtained using 5 µl of 0,1M hydrochloric acid (HCl) and automatic micropipette «Granum PMG-5». Drops of acid were applied using the tip of micropipette placed vertically to the tooth surface, left for 3 seconds and aspirated. Then the adhesive tape was removed, the tooth surface was washed with water and deep fluorination with «Gluftored» («VladMiVa») was conducted. Enamel biopsy samples were stored in Eppendorf tubes at 4°C.

Obtained biopsy samples were divided into 2 groups with 10 samples each. The 1st group included enamel biopsy samples obtained from intact permanent teeth that have erupted less than 6 months before the research, the 2nd group - enamel biopsy samples obtained from intact permanent teeth that have erupted more than 2 years before the research.

Chemical composition of obtained biopsy samples was studied by the atomic emission spectrometry method with ICP-spectrometer ICAP 6500 DUO («Thermo Electron Corporation») in the department of physical and chemical investigations of materials (head of the department - Member of NAS of Ukraine G.M. Grigorenko, performer of the research – scientific worker A.I. Hrytskiv) of The E.O. Paton electric welding institute of the National Academy of Sciences of Ukraine. The results were calculated in mg/l.

Statistical analysis of the results of laboratory and clinical studies were performed using programs MEDSTAT. Arithmetic mean (M) and standard deviation of arithmetic mean (m) were taken into account. Statistical significance of differences of average values was assessed using the Student t-test.

Results of the research and its discussion

35 chemical elements were found in acid etch enamel biopsy samples of permanent teeth: silver, aluminum, arsenic, boron, barium, beryllium, bismuth, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, gallium, hafnium, indium, potassium, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, sodium, niobium, nickel, phosphorus, lead, antimony, silicon, strontium, tantalum, titanium, vanadium, tungsten, zinc and zirconium.

The contents of 10 chemical elements (calcium, zinc, iron, copper, magnesium, phosphorus, sodium, potassium, aluminum, silicon) was higher than 3 mg/l in both experimental groups.

The contents of other 25 chemical elements (silver, arsenic, boron, barium, beryllium, bismuth, cadmium, cobalt, chromium, gallium, hafnium, indium, lithium, manganese, molybdenum, niobium, nickel, lead, antimony, strontium, tantalum, titanium, vanadium, tungsten and zirconium) was lower than 3 mg/l in both experimental groups. Quantitative calculations of this group of elements was not carried out, as the result of evaluation was beyond the sensitivity of ICP-spectrometer.

Table 1. Chemical composition of acid etch biopsy samples of intact enamel of permanent teeth at different stages of the development

Chemical element	1 st group – less than 6 months after eruption (mg/l)	2 nd group – more than 2 years after eruption (mg/l)
	p<0.05	
Calcium (Ca)	2528.0±63.7	2889.0±55.8
Zinc (Zn)	120.0±5.5	158.0±7.3
Magnesium (Mg)	30.0±1.9	21.0±1.7
Iron (Fe)	10.0±0.8	15.0±1.4
Copper (Cu)	5.0±0.5	11.0±1.2
Calcium/phosphorus ratio	1.46±0.05	1.60±0.03
p>0.05		
Phosphorus (P)	1732.0±42.0	1823.0±47.0
Sodium (Na)	82.0±6.8	93.0±7.4
Potassium (K)	31.0±3.5	35.0±4.1
Aluminum (Al)	24.0±3.1	27.0±2.5
Silicon (Si)	30.0±3.7	35.0±3.2

Results of the study of the chemical composition of biopsy samples of permanent teeth enamel at different terms after the eruption by atomic emission spectrometry method are presented in Table 1.

Analysis of the chemical composition of biopsy samples of permanent teeth intact enamel at different stages of the development, which was obtained by atomic emission spectrometry method, showed significant changes in calcium, zinc, iron, copper, magnesium content and calcium/phosphorus ratio in intact enamel of permanent teeth at different stages of the development ($p \leq 0,05$).

It was found that the calcium content in biopsy samples of intact enamel of permanent teeth erupted more than 2 years before the research (group 2) was for 14.3% higher than in biopsy samples of intact enamel of permanent teeth erupted less than 6 months before the research (group 1) ($p \leq 0,05$).

Content of zinc, iron and copper in enamel biopsy samples of the 2nd group was significantly higher than same parameters of the 1st group for 31,7%, 50%, 120% respectively ($p \leq 0,05$). This may indicate the involvement of these elements in the process of secondary mineralization and increasing resistance of dental hard tissues to acids.

Magnesium content in biopsy samples of intact enamel of permanent teeth erupted less than 6 months before the research (group 1) was $30 \pm 1,9$, whereas in group 2 result was 30% lower and amounted $21 \pm 1,7$ ($p \leq 0,05$). Reduction of magnesium content during the maturation of enamel may be due to its replacement by calcium, which has a higher absorption affinity for hydroxyapatite crystals [7].

Calcium/phosphorus ratio in biopsy samples of the 1st group amounted $1,46 \pm 0,05$ and was significantly lower (8.8%) than in the 2nd group - $1,60 \pm 0,03$ ($p \leq 0,05$), which may indicate the gradually increasing level of enamel mineralization after the eruption. However, even after completion of secondary mineralization of enamel (more than 2 years after the eruption of the tooth) the calcium/phosphorus ratio did not reach the optimal level (1,66). This may indicate an insufficient level or caries resistance and necessity of carrying out prophylactic measures to prevent development of caries.

Phosphorus content in biopsy samples of intact enamel of permanent teeth erupted less than 6 months before the research (group 1) amounted $1732 \pm 42,0$, whereas in group 2 result - $1823 \pm 47,0$ - was 5,3 % higher, but it was not statistically significant ($p > 0,05$). Possible explanation for the obtained result is that phosphorus is the most stable element in the hydroxyapatite molecule [9].

Content of sodium, potassium, aluminum and silicon in enamel biopsy samples of permanent teeth erupted more than 2

years before the research (group 2) were not significantly higher than same parameters of the 1st group (less than 6 months after eruption) ($p > 0,05$). This may indicate necessity for the further study of the impact of these elements on the processes of secondary mineralization of enamel of permanent teeth.

Taking into account these data, it can be suggested that the addition of zinc, copper and iron to preventive means will increase the level of mineralization of immature enamel.

Conclusions

Thus, the results of the research indicate that intact enamel of permanent teeth immediately after eruption and for more than 2 years after this process is not mineralized and thus has an insufficient level of caries resistance. After the eruption the chemical composition of the intact enamel of permanent teeth significantly changes during two years. During secondary mineralization in intact enamel of permanent teeth significantly increases the amount of calcium, zinc, iron and copper and the calcium/phosphorus ratio. Therefore, for prevention of destruction of hard dental tissues after eruption of permanent teeth and for at least 24 months it is appropriate to use mineralizing preparations containing calcium, zinc, copper and iron, that would increase caries resistance of tooth enamel, for example to carry out deep fluoridation of enamel.

Perspectives for further research in this area

Investigation of impact of chemical elements on process of secondary mineralization of permanent teeth enamel and their application for prevention of caries of permanent teeth in children are the topics for further research.

References

1. Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. – Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2001. – 304 с.
2. Кодола Н.А. Микроэлементы в профилактике кариеса зубов / Н.А. Кодола – К.: Здоров'я, 1979. – 160 с.
3. Остапко О. І. Ураженість карієсом постійних зубів у дітей різних регіонів України та екологічний вплив довкілля / Остапко О. І. // Профілактична та дитяча стоматологія. – 2010. – № 1 (2). – С. 43–46.
4. Ткаченко І.М. Аналіз взаємозв'язків морфологічної будови і мікроелементного складу емалі зубів при надмірній і фізіологічній стертості / І.М. Ткаченко // Український стоматологічний альманах. – №4. - 2013. – С. 17 – 20.
5. Хоменко Л. О. Лабораторна оцінка ефективності проти-каріозних лікувально-профілактичних зубних паст / Л.О. Хоменко, Г.М. Григоренко, Л.М. Капітанчук, Г.В. Сороченко // Современная стоматология. – 2009. – №1. – С. 75–78.
6. Хоменко Л. О. Стоматологічне здоров'я дітей України, реальність, перспектива / Л. О. Хоменко // Науковий вісник Національного медичного Університету імені О.О. Богомольця. – 2007. - №4. – С.11-14.
7. Aoba T. Labile or surface pool of magnesium, sodium and potassium in developing porcine enamel mineral / T. Aoba, S. Shimoda, E.C. Moreno // J. Dent. Res. – 1992. – Vol. 71. – P.1826-1831.
8. Grocholewicz K. Mineral content of enamel, depth of biopsy, and dentition status in postmenopausal women / K. Grocholewicz, E. Weyna, I. Gutowska, I.Nocen // Annals of the Pomeranian Medical University – 2006. – Vol. 52. – P.31-36.
9. Siew C. Procedure for the study of acidic calcium phosphate precursor phases in enamel mineral formation / C. Siew // Calcif. Tissue. Int. – 1992. – Vol. 50. – P.144-148.
10. Waszkiel D. Fluoride and magnesium content in superficial enamel layers of teeth with erosions / D. Waszkiel, K. Opalko, R. Lagocka, D. Chlubek // Fluoride – 2004. – Vol. 37. – P.271-277.

Хоменко Л.О., Сороченко Г.В., Ішутко І.Ф.

Вивчення змін хімічного складу емалі постійних зубів у дітей в період вторинної мінералізації

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця м. Київ, Україна

Резюме. Матеріали і методи дослідження: Для проведення дослідження було використано 20 біоптатів інтактної емалі, отриманих в умовах in vivo з вестибулярної поверхні емалі ін-

тактних постійних зубів у дітей віком 6-12 років. Отримані біоптати було розподілено на 2 групи по 10 зразків у кожній. До 1-ої групи входили біоптати емалі, отримані з інтактних постійних зубів, які прорізалися терміном до 6 місяців, до 2-ої групи - біоптати емалі, отримані з інтактних постійних зубів, які прорізалися терміном після 2 років. Вивчення хімічного складу отриманих біоптатів проводилося методом атомно-емісійної спектроскопії ІСР-спектрометром ICAP 6500 DUO («Thermo Electron Corporation»).

Результати дослідження: У кислотних біоптатах емалі постійних зубів було виявлено 35 хімічних елементів. Вміст кальцію, цинку, феруму і купруму та співвідношення кальцій/фосфор в біоптатах емалі групи 2 були достовірно вищими за аналогічні показники групи 1. Вміст магнію в біоптатах емалі групи 2 був достовірно нижчим, порівняно з групою 1. Показники кількості фосфору, натрію, калію, алюмінію та сіліцію в біоптатах емалі постійних зубів групи 2 виявилися недостовірно вищими за відповідні показники групи 1.

Висновки: інтактна емаль постійних зубів від прорізування та більше 2 років після прорізування є недостатньо мінералізованою та, відповідно, має недостатній рівень карієсрезистентності. У період вторинної мінералізації в інтактній емалі постійних зубів достовірно зростає кількість кальцію, цинку, феруму і купруму та співвідношення кальцій/фосфор. Тому, з метою запобігання ураження твердих тканин зуба, після прорізування постійних зубів та впродовж мінімум 24 місяців доцільним є призначення мінералізуючих засобів, які підвищуватимуть карієсрезистентність емалі зуба, та містять кальцій, цинк, купрум та ферум. Також варто проводити глибоке фторування емалі.

Ключові слова: профілактика карієсу, постійні зуби, емаль, вторинна мінералізація, хімічний склад.

Хоменко Л.А., Сороченко Г.В., Ишутко И.Ф.

Изучение измененной химического состава эмали постоянных зубов у детей в период вторичной минерализации

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Резюме. Материалы и методы исследования: Для прове-

дения исследования было использовано 20 биоптатов интактной эмали, полученных в условиях *in vivo* с вестибулярной поверхности эмали интактных постоянных зубов у детей 6-12 лет. Полученные биоптаты были разделены на 2 группы по 10 образцов в каждой. В первую группу вошли биоптаты эмали, полученные из интактных постоянных зубов, которые прорезались в срок до 6 месяцев, во вторую группу - биоптаты эмали, полученные из интактных постоянных зубов, которые прорезались в срок после 2 лет. Изучение химического состава полученных биоптатов проводилось методом атомно-эмиссионной спектроскопии ІСР-спектрометром ICAP 6500 DUO («Thermo Electron Corporation»).

Результаты исследования: В кислотных биоптатах эмали постоянных зубов было обнаружено 35 химических элементов. Содержание кальция, цинка, железа и меди и соотношение кальций/фосфор в биоптатах эмали группы 2 были достоверно выше аналогичных показателей группы 1. Содержание магния в биоптатах эмали группы 2 было достоверно ниже, по сравнению с группой 1. Показатели количества фосфора, натрия, калия, алюминия и силиция в биоптатах эмали постоянных зубов группы 2 оказались недостовірно выше соответствующих показателей группы 1.

Выводы: интактная эмаль постоянных зубов от прорезывания и более 2 лет после прорезывания недостаточно минерализована и, соответственно, имеет недостаточный уровень карієсрезистентности. В период вторичной минерализации в интактной эмали постоянных зубов достоверно возрастает количество кальция, цинка, железа и меди и соотношение кальций/фосфор. Поэтому, с целью предотвращения поражения твердых тканей зуба, после прорезывания постоянных зубов и в течение минимум 24 месяцев целесообразно применять минерализующие средства, повышающие карієсрезистентность эмали зуба и содержащие кальций, цинк, медь и железо. Также следует проводить глибокое фторирование эмали.

Ключевые слова: профилактика кариеса, постоянные зубы, эмаль, вторичная минерализация, химический состав.

Received 27.04.2015.

УДК:616.441-008.64-06:616.12-009.72-08

Швед М.І., Припхан І.Б.

Диференційовані підходи до лікування хворих на стабільну стенокардію, що протікає на фоні субклінічного гіпотиреозу

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

Резюме. У статті визначено особливості диференційованого лікування хворих на субклінічний гіпотиреоз та стабільну стенокардію залежно від її тривалості.

Мета дослідження. Підвищити ефективність лікування хворих на стабільну стенокардію та субклінічний гіпотиреоз шляхом диференційованої корекції дисгормональних та нейрометаболічних порушень.

Матеріали і методи. Комплексне клінічне, а також лабораторно-інструментальне обстеження із виконанням йодурії, оцінки рівня тиреоїдних гормонів, процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту та ХолтерЕКГ із вивченням варіабельності ритму серця (ВРС) у хворих із стабільною стенокардією та субклінічним гіпотиреозом.

Результати та обговорення. У пацієнтів із субклінічним гіпотиреозом та стабільною стенокардією використання антигішемічної терапії та йодомарину суттєво не впливало на клінічні та лабораторно-інструментальні прояви коморбідної патології. Комбінація стандартного антигішемічного лікування та L-тироксину позитивно впливала на покращення загального клінічного стану хворих та показників ПОЛ і ВРС лише в обстежених із субклінічним гіпотиреозом та тривалістю стабільної стенокардії до 5 років. У пацієнтів із тривалістю хвороби понад 5 років для нормалізації клінічного стану і досягнення цільових рівнів основних показників

процесів вільнорадикального окислення та антиоксидантного захисту, а також нормалізації вегетативної регуляції серцевої діяльності доцільно застосовувати комплексну терапію із використанням стандартного антигішемічного лікування, L-тироксину та L-карнітину.

Висновки: Отримані результати дозволяють рекомендувати використання диференційованої комплексної терапії у хворих із стабільною стенокардією та субклінічним гіпотиреозом з метою адекватного відновлення клінічного стану та попередження метаболічних порушень у даній категорії хворих.

Ключові слова: стабільна стенокардія, субклінічний гіпотиреоз, антигішемічне лікування, L-тироксин, L-карнітин.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Протягом останніх десятиліть вітчизняними науковцями відзначено суттєве зростання патології щитоподібної залози (ЩЗ) на усій території України, особливо в областях Західної України, що в майбутньому є вагомим фактором ризику розвитку йододефіцитних захворювань, зокрема субклінічного гіпотиреозу [1,2,3]. На сьогодні у світі питання субклінічного гіпотиреозу, як досить поширеного патологічного стану, активно обговорюється в численних публікаціях і виступах