

Е.Ф. Дмитриева¹,
аспирант кафедры ортопедической
стоматологии и ортодонтии

М.Т. Александров²,
д.м.н., профессор кафедры
терапевтической стоматологии

Н.С. Нуриева¹,
д.м.н., профессор, доцент кафедры
ортопедической стоматологии
и ортодонтии

А.Н. Ахмедов²,
аспирант кафедры ортопедической
стоматологии

О.А. Артемьева³,
врач-стоматолог детский

Ю.С. Козлова⁴,
ассистент кафедры пропедевтики
стоматологических заболеваний
медицинского института

Н.М. Разумов⁴,
ассистент кафедры пропедевтики
стоматологических заболеваний
медицинского института

¹ Южно-Уральский государственный
медицинский университет

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

³ ООО «Эстет Дент», г. Долгопрудный

⁴ РУДН

Экспериментальное исследование влияния ионизирующего излучения на минерализацию эмали различных функциональных групп зубов, как возможный этиологический фактор возникновения лучевого кариеса

Резюме. В исследовании проведен качественный и количественный анализ содержания и распределения гидроксилапатита в структурах твердых тканей зубов (эмаль, дентин, цемент) до и после воздействия лучевого фактора. Не выявлено существенных различий минерализации твердых тканей зубов независимо от дозы облучения. Выявлена высокая чувствительность и экспрессность метода, возможность количественной обработки в режиме «онлайн» результатов исследования, что позволяет рекомендовать его для оценки степени минерализации/деминерализации зуба, эффективности реминерализующих препаратов и методов их применения, в том числе для пациентов, получающих лучевую терапию по поводу злокачественных новообразований челюстно-лицевой области.

Ключевые слова: эмаль, минерализация, анатомо-топографическая зона, твердые ткани зуба, Раман-флюоресцентная спектроскопия, лучевое воздействие, лучевая терапия, Рамановская линия гидроксилапатита

Summary. As a result, a qualitative and quantitative analysis of the content and distribution of hydroxylapatite in the structures of hard dental tissues (enamel, dentin, cement) was carried out before and after exposure to radiation factor in a dose of 2–110 Gy. There were no significant differences in the mineralization of hard dental tissues, regardless of the radiation dose. The high sensitivity and rapidity of the method was revealed, the possibility of quantitative processing of the results of the study online, which allows recommending it to assess the degree of mineralization/demineralization of the tooth, the effectiveness of remineralizing drugs and methods for their use, including for patients receiving radiation therapy for malignant tumors of the maxillofacial region.

Key words: enamel, mineralization, anatomical topographic area, hard tooth tissue, Raman-fluorescence spectroscopy, radiation exposure, radiation therapy, Raman line hydroxylapatite

Повреждающее действие ионизирующего излучения, используемое для лечения больных злокачественными новообразованиями, часто приводит к лучевым изменениям здоровых органов и тканей (в том числе и зубов), попадающих в зону облучения. Нейтронно-фотонное облучение челюстно-лицевой области в данном случае является определяющим этиологическим фактором лучевых поражений мягких и твердых тканей. Несмотря на то, что этиология радиоиндуцированных

поражений твердых тканей зуба давно находится в поле зрения ученых, до сих пор не исчезли противоречия в мнениях о их происхождении: концепция прямого воздействия лучевых факторов отчасти нивелируется опосредованным воздействием иных неблагоприятных факторов. Лучевые поражения при повышенных дозах облучения, доказанные патогенезом развития радиоиндуцированной ксеростомии, развивающиеся в ротовой полости после облучения, не подтверждаются

корреляционной зависимостью с поражениями твердых тканей зубов [1, 2].

Под радиоиндуцированным поражением твердых тканей зуба принято понимать комплекс патоморфологических изменений в тканях зуба, наступающих под воздействием ионизирующего излучения на фоне лучевой терапии [3]. При этом патологический процесс во многом напоминает кариес зубов и развивается преимущественно в пришеечной области, что дало основание присвоить ему название «лучевой кариес» [4, 5]. Таким образом, лучевой кариес — это генерализованный кариес зуба, развивающийся как осложнение радиотерапии злокачественных новообразований орофарингеальной области, который протекает с пигментацией и размягчением поверхностных слоев эмали зуба и образованием глубоких пришеечных полостей [6]. При этом считается, что разрушающее воздействие направлено в основном на остеоциты костных структур, что впоследствии ведет к возникновению секвестров, лучевого кариеса, остео-радионекроза челюстей [7, 8].

При исследовании патогенеза развития лучевого кариеса ряд авторов предложили несколько теорий его образования и развития. В частности, М.В. Соколовская считает, что под влиянием ионизирующего излучения происходит распад белковых молекул, нарушение обменных процессов, расстройство кровообращения, гипоксия, что в совокупности способствует развитию неблагоприятных условий существования пульпы, а вслед за этим происходит поражение твердых тканей зуба [9].

В то же время К.М. Faria и другие авторы считают, что лучевая терапия не влияет на жизнеспособность пульпы зуба, а только воздействует на твердые ткани зубов, ослабляя дентиноэмалевое соединение, таким образом снижая устойчивость к воздействию кислотных продуктов. При этом характерны кариозные поражения вестибулярных поверхностей в области шеек зубов [10, 11].

Таким образом, в литературе все еще остаются дискуссионными и недостаточно изученными вопросы этиологии и патогенеза, профилактики и этиотропного лечения лучевых поражений зубов у пациентов с онкологическими заболеваниями челюстно-лицевой области. Важное значение придается как самому лучевому фактору, его дозировке, а также изменению местного и общего иммунного фактора, эндокринной системы и нарушению функции слюнных желез. По-видимому, именно комплекс вышеуказанных патогенетических проявлений обуславливает весь диапазон клинической картины, наблюдаемой у пациентов (нарушение минерализации/демнерализации твердых тканей зуба и развитие множественного кариеса). Кроме того, современные методы лучевой диагностики указанных поражений вносят дополнительную лучевую ионизирующую нагрузку, что для пациентов, которые получают лучевую терапию, крайне нежелательно [12]. В связи с этим дальнейшее изучение вопроса этиологии и патогенеза и поиск новых методов их не лучевой диагностики является крайне важным для своевременной диагностики и лечения [13].

В настоящее время методы лазерной Раман-флюоресцентной спектроскопии, их технологическая и аппаратная реализация играют все большую роль в медицине [14, 15]. В стоматологии проводятся как экспериментальные исследования, так и клинические наблюдения по изучению возможностей использования средств квантовой электроники, как источников лазерного излучения для диагностики, профилактики и лечения заболеваний твердых тканей зубов [14, 16, 17]. При этом на первый план выходят задачи идентификации и характеристики органических и неорганических молекул, включая мониторинг их структурных изменений, измерение концентраций веществ, входящих в состав пробы. В частности, в исследовании S. Yang и других авторов отмечено, что на основе использования Рамановской спектроскопии можно оценить минерализацию твердых тканей зуба [13, 17]. С.Б. Алиева и соавт. в своей работе зуб с кариесом эмали сравнивали с интактными его участками при волновых числах 960 и 880 см⁻¹, соответствующих PO₄³⁻ и CO₃²⁻ соответственно [13]. Выявлено, что разница между интактным участком зуба и зоной кариеса одного и того же зуба имеет четко выраженные количественные (по интенсивности) спектральные различия на указанных длинах волн, что позволило авторам с высокой степенью чувствительности дифференцировать указанную патологию с интактной тканью.

I. Ionita, используя Рамановскую технологию, показал, что минерализация эмали меняется с возрастом [16]. Кроме того, автором выявлено, что нарушение гигиенического состояния твердых тканей зуба приводит к нарушению степени его минерализации.

Следует отметить, что в отечественной научной литературе не представлены Раман-флюоресцентные экспресс-технологии, позволяющие в реальном масштабе времени, одномоментно оценивать влияние ионизирующего излучения на твердые ткани зуба и его минерализацию в различных анатомо-топографических зонах зуба — режущий край, жевательная поверхность, экватор, шейка зуба. Это позволило бы более объективно, «по месту» практически в режиме «онлайн» оценить влияние лучевого фактора на возникновение и развитие лучевого кариеса у пациентов с злокачественными новообразованиями челюстно-лицевой области на этапах лучевой терапии и в последующем разработать методы его профилактики.

Цель нашего исследования — методом Рамановской спектроскопии изучить влияние ионизирующего излучения в релевантных дозах на минерализацию различных анатомо-топографических зон эмали зубов различных функциональных групп и выявить степень прямого воздействия ионизирующего излучения на эмаль зубов, как одного из этиологических факторов возникновения лучевого кариеса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящем доклиническом исследовании *in vitro* на 40 модельных тест-объектах зубов, удаленных

по клиническим показаниям (резцы, премоляры, моляры), облученных с помощью рентгеновской установки

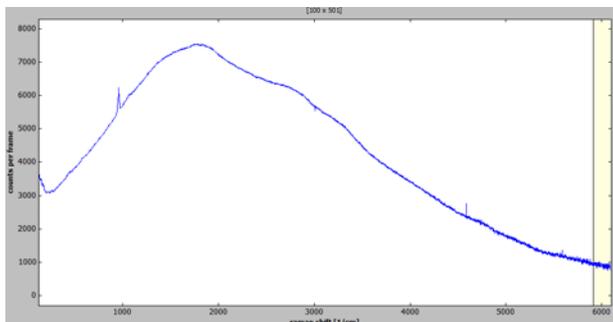


Рис. 1. Нахождение Рамановских линий гидроксилapatитов, кальцийapatитов и фторapatитов в эмали (соответствует пику 963 см⁻¹ на рисунке спектра)

Спектральные характеристики твердых тканей зубов (премоляры) до и после облучения

Локализация	Доза, Гр	Верхний пик (интенсивность сигнала в максимуме/длина волны в максимуме)	Нижний уровень (интенсивность сигнала в минимуме/длина волны в максимуме)	Интенсивность Рамана, отн. ед. (М ср.)	Интенсивность флюоресценции в максимуме, отн. ед.
Окклюзионная поверхность	0	11227±593	10916±608	311±15	15517±1154
	2	9672±1916	9290±1971	382±96	15802±4498
	0	7199±1265	6898±1051	301±214	8549±1616
	20	7202±2067	6890±1918	312±149	8493±2228
	0	4356±738	4258±756	98±18	5550±937
	70	3573±860	3422±779	151±81	4419±957
Экватор	0	9979±1902	9819±1829	160±73	14667±3671
	2	9862±1760	9540±1637	322±122	12927±2526
	0	5696±1265	5514±1203	243±181	6658±1377
	20	9033±2746	8831±3869	201±31	11199±1520
	0	4205±1104	4093 ±1062	112±42	5331±1451
	70	3322±316	3174 ±274	148±43	4135±299
Пришеечная область вестибулярной поверхности	0	22738±575	22568±668	170±93	26145±235
	2	12898±5318	12519±5390	378±221	16238±7152
	0	8090±1397	8016±1384	74±12	9995±1906
	20	8552±1378	8425±1345	127±34	9779±1481
	0	8071±285	7944±234	127±51	10097±35
	70	8435±463	8311±457	124±36	9774±75

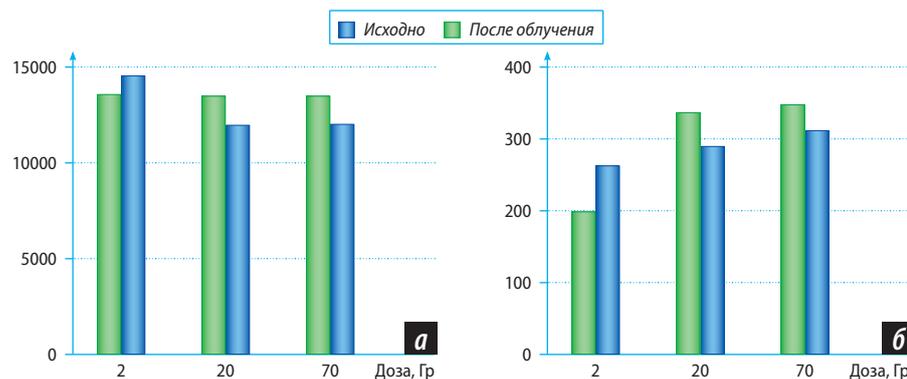


Рис. 2. Раман-флюоресцентные характеристики эмали зубов на фоне воздействия ионизирующего излучения: а) интенсивность флюоресценции в максимуме (отн. ед.); б) интенсивность Рамана (отн. ед., М ср.)

ЛНК-268 (РАП-100-10): напряжение 70 кВ, ток пучка 8 мА, мощность дозы 22,7 Гр/мин в дозах 2, 20, 70 и 110 Гр, проводили Раман-флюоресцентную спектроскопию. Для исследований использовали лазерный аппаратно-программный комплекс ИнСпектр М с длиной волны зондирующего излучения 532 нм. Предварительно свежееудаленные зубы промывали проточной водой, очищали от остатков мягких тканей, помещали в деионизированную воду и хранили при температуре 5–7°C.

На АПК ИнСпектр М измеряли минерализацию эмали зуба по показателю интенсивности Рамановской линии гидроксилapatита (963 см⁻¹) в относительных единицах (рис. 1). Измерения проводили перпендикулярно поверхности зуба в контактно-стабильном положении зуба к источнику излучения.

Для количественной оценки интенсивности Рамановского излучения (в отн. ед.) измеряли показатели в максимуме и минимуме мощности его Рамановской линии и показатели интенсивности флюоресценции (М ср. в отн. ед.) как тест-оценки гигиенического состояния поверхности зуба (по М.Т. Александрову, 2008). Полученную разницу по Рамановской линии гидроксилapatита (отн. ед.) принимали за интенсивность Рамана для эмали, дентина и цемента исследуемых зубов (М ср.).

Каждое спектральное измерение соответствовало М ср. из 500 измерений, при длительности одного измерения 100 мкс (на основании отработанного в эксперименте времени накопления сигнала, необходимого для его визуализации и измерения). Общее время одного измерения соответствовало 2,5–3 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Раман-флюоресцентные характеристики эмали твердых тканей зуба в различных анатомо-топографических зонах до и после облучения тест-объектов зубов ионизирующим излучением в различных дозах (на примере премоляров) представлены в таблице. Из таблицы следует, что до и после облучения, независимо от дозы облучения, интенсивность Рамановской линии во всех случаях практически не изменилась. То есть непосредственное воздействие лучевого фактора в указанной дозе существенно не изменяет минерализацию эмали зубов.

Итоговые систематизированные результаты воздействия ионизирующего излучения на все функциональные группы зубов (резцы, премоляры, моляры) представлены на рис. 2. Из рис. 2 следует, что под воздействием ионизирующего излучения в различных дозах на различные функциональные группы зубов не выявлено достоверных различий минерализации твердых тканей зубов независимо от дозы облучения. Воздействие на гигиенические показатели выявлены (тенденция), но они все находятся в пределах ошибки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные согласуются с исследованиями ряда авторов о влиянии ионизирующего излучения на твердые ткани зубов. Так, Е.В. Бузова и соавт. установили, что прочностные свойства коронкового дентина, облученного в режимах 70 Гр *in vivo*, и корневого дентина, облученного в дозе 70 Гр *in vitro*, не отличаются от свойств дентина группы сравнения [18]. Полученные нами данные объективно, конкретно и экспрессно, непосредственно «по месту» показывают практическое отсутствие воздействия ионизирующей радиации в указанных дозах (которые у пациентов со злокачественными новообразованиями челюстно-лицевой области применяются на этапах курса лучевой терапии).

Проведенное с помощью нового метода исследование подтвердило практическое отсутствие изменения степени минерализации различных анатомо-топографических зон различных функциональных групп зубов под

воздействием различных доз ионизирующего излучения и показало, что прямое воздействие лучевой терапии само по себе (в указанных дозах), по-видимому, не является этиологическим фактором развития множественного генерализованного (лучевого) кариеса у пациентов с онкологическими заболеваниями челюстно-лицевой области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перспективным направлением применения представленной медицинской технологии является обоснованная в эксперименте возможность ее применения для оценки степени минерализации (деминерализации) и эффективности реминерализующей терапии твердых тканей зубов и препаратов для ее реализации, в том числе при воздействии лучевых факторов на ткани и органы полости рта.

Сочетанное одномоментное применение Рамановского и флюоресцентного излучений для оценки как органической, так и неорганической составляющей твердых тканей зуба и его отложений могут служить основой для разработки методов гигиенической обработки твердых тканей, оценки их эффективности, а также разработки новых объективных методов оценки гигиенического состояния полости рта, в том числе применительно к пациентом со злокачественными новообразованиями орофарингеальной зоны, в частности в условиях лучевой терапии, когда резкое уменьшение саливации полости рта и ухудшение ее гигиенического состояния являются в совокупности факторами риска развития кариеса (пришеечного, лучевого) у этой группы пациентов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Buglione M., Cavagnini R., Di Rosario F. et al. Oral toxicity management in head and neck cancer patients treated with chemotherapy and radiation: Xerostomia and trismus (Part 2). Literature review and consensus statement. — *Crit Rev Oncol Hematol*. — 2016; 102: 47—54.
2. Tezal M., Scannapieco F.A., Wactawski-Wende J. et al. Dental caries and head and neck cancers. — *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. — 2013; 139 (10): 1054—60.
3. Розацкин Д.В. Конусно-лучевая компьютерная томография. Основы визуализации. — Львов: ГалДент, 2010. — С. 127—148.
4. Gupta N. et al. Radiation-induced dental caries, prevention and treatment — A systematic review. — *Natl J Maxillofac Surg*. — 2015; 6 (2): 160—6.
5. Соколовська М.В. Ефективність радіосенсибілізації пухлини малими дозами іонізуючого випромінювання при променевому лікуванні раку слизової оболонки ротової порожнини II-III стадій. — *Український радіологічний журнал*. — 2015; 2: 151—3.
6. Дмитриева Е.Ф., Нуриева Н.С. Лучевой кариес: клиническая картина, вопросы лечения. — *Проблемы стоматологии*. — 2014; 2: 9—12.
7. Жукова Н.А., Дробышев А.Ю., Волков А.Г. Профилактика развития остеонекрозов челюстей при проведении хирургических стоматологических вмешательств у пациентов со злокачественными новообразованиями в анамнезе. — *Голова и шея*. — 2015; 4: 61—2.
8. Faria K.M., Brandão T.B., Ribeiro A.C. et al. Micromorphology of the dental pulp is highly preserved in cancer patients who underwent head and neck radiotherapy. — *J Endod*. — 2014; 40 (10): 1553—9.
9. Silva A.R., Alves F.A. et al. Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. — *Caries Res*. — 2009; 43 (1): 43—9.
10. Кочурова Е.В., Муханов А.А. Местные осложнения при лучевом и химиотерапевтическом лечении пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта. — *Вопросы онкологии*. — 2018; 2: 166—70.

11. Galvão-Moreira L.V., Santana T., da Cruz M.C. A closer look at strategies for preserving salivary gland function after radiotherapy in the head and neck region. — *Oral Oncol*. — 2016; 60: 137—41.
12. Нуриева Н.С. Изменения твердых тканей зубов при лучевой терапии опухолей головы и шеи. — *Вестник Российской военно-медицинской академии*. — 2011; 3 (35): 133—6.
13. Альбиева С.Б. и др. Интенсивность и эффективность химиолучевой терапии местнораспространенного плоскоклеточного рака глотки и полости рта. — *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. — 2013; 2 (92): 27—32.
14. Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г. Раман-флюоресцентная диагностика состояния тканей человека в норме и при патологии и ее аппаратно-программное решение. — *Российский стоматологический журнал*. — 2017; 5: 228—32.
15. Альбиева С.Б. и др. Оценка изменения клинико-биохимических показателей ротовой жидкости при кариесе по данным мониторинга. — *Саратовский научно-медицинский журнал*. — 2013; 3: 361—3.
16. Александров М.Т., Маргарян Э.Г. Обоснование применения эффекта гигантского Рамановского рассеяния для идентификации основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области. — *Стоматология*. — 2018; 1: 27—32.
17. Александров М.Т., Зубов С.В., Березинская А.С. и др. Экспериментально-теоретическое обоснование принципов и особенностей применения метода лазерно-конверсионной диагностики для оценки состояния твердых тканей зуба в норме и при патологии (кариес). — *Российский стоматологический журнал*. — 2013; 4; 17: 6—10.
18. Бузова Е.В., Ронь Г.И. и др. Роль ротовой жидкости в процессах де- и реминерализации твердых тканей зуба у пациентов с лучевой терапией челюстно-лицевой области в анамнезе. — *Вестник Уральской медицинской академической науки*. — 2011; 3 (36): 41—3.