

Сравнительная оценка временной динамики эффективности трёх реминерализирующих средств на искусственно созданных поражениях эмали: исследование *in vitro* методом СЭМ-ЭДС

Giulia Orilisi ¹, Riccardo Monterubbianesi ¹, Flavia Vitiello ^{1,*}, Vincenzo Tosco ¹, Maria Laura Gatto ², Paolo Mengucci ³, Giovanna Orsini ¹

¹ Кафедра клинических наук и стоматологии (DISCO), Università Politecnica delle Marche, 60126, Анкона, Италия; g.orilisi@staff.univpm.it (G.O.); r.monterubbianesi@staff.univpm.it (R.M.); v.tosco@staff.univpm.it (V.T.); g.orsini@staff.univpm.it (G.O.)

² Кафедра промышленной инженерии и математических наук, Università Politecnica delle Marche, 60131, Анкона, Италия; m.l.gatto@staff.univpm.it

³ Кафедра материаловедения, экологических наук и городского планирования (SIMAU), Università Politecnica delle Marche, 60131, Анкона, Италия; p.mengucci@staff.univpm.it

* Автор, ответственный за переписку: f.vitiello@pm.univpm.it; тел.: +39-3341679663

Академический редактор: Bruno Chrcanovic

Получено: 10 сентября 2025 г. | Пересмотрено: 14 октября 2025 г. | Принято: 16 октября 2025 г. | Опубликовано: 19 октября 2025 г.

Библиографическое описание (Citation): Orilisi, G.; Monterubbianesi, R.; Vitiello, F.; Tosco, V.; Gatto, M.L.; Mengucci, P.; Orsini, G. Time-Effect Comparative Evaluation of Three Remineralizing Agents on Artificial Enamel Lesions: A SEM-EDX In Vitro Study. J. Clin. Med. 2025, 14, 7389. <https://doi.org/10.3390/jcm14207389>

Авторские права: © 2025, авторы. Лицензиат — MDPI, Базель, Швейцария. Статья находится в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Аннотация

Цель: в данном исследовании *in vitro* проводилась количественная сравнительная оценка зависящего от времени реминерализирующего потенциала трёх профессиональных средств на искусственно созданных поражениях эмали с использованием сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и энергодисперсионного рентгеноспектрального анализа (ЭДС).

Методы: шестьдесят удалённых интактных моляров были случайным образом распределены на три группы (n = 20): G_CPP-ACP — с применением казеин фосфопептид-аморфного фосфата кальция (CPP-ACP); G_Zn-НА — с применением цинк-гидроксиапатита (Zn-НА); и G_F-ACP — с применением фторированного аморфного фосфата кальция (F-ACP). Коронка каждого зуба была разделена на три участка: один представлял собой контроль (CTRL, интактная эмаль), второй подвергался деминерализации (DEMIN, деминерализованная эмаль), а третий сначала деминерализовался, а затем обрабатывался реминерализирующим средством, что позволяло проводить внутриобразцовое сравнение. Искусственные поражения создавались путём погружения в 0,1 М раствор молочной кислоты (72 ч). Группы были разделены на подгруппы в зависимости от продолжительности реминерализации (7, 14, 21 и 28 дней). Образцы ежедневно подвергались обработке в рамках протокола pH-циклирования. Морфология поверхности и соотношение Са/Р оценивались методом СЭМ-ЭДС; статистический анализ данных проводился при p < 0,05.

Результаты: все средства обеспечивали прогрессивное увеличение соотношения Са/Р с течением времени, что подтверждает зависящий от времени реминерализирующий эффект. На 7-й день группа G_Zn-НА демонстрировала более высокие значения Са/Р, однако начиная с 14-

го дня группа G_F-ACP показывала статистически значимо больший прирост минерализации по сравнению с остальными группами ($p < 0,05$). К 21-му дню значения Ca/P в группе G_F-ACP приближались к показателям CTRL, тогда как в группах G_CPP-ACP и G_Zn-НА сохранялись более низкие значения, достигнув плато на 21-й и 14-й день соответственно. Данные СЭМ подтвердили эти результаты: в группах G_CPP-ACP и G_Zn-НА наблюдалось частичное восстановление поверхности, тогда как в группе G_F-ACP к 28-му дню формировалась компактная, однородная структура, схожая по строению с эмалью.

Заключение: все исследованные средства продемонстрировали зависящий от времени реминерализирующий эффект, усиливающийся при более длительном применении, что позволяет считать продолжительность применения ключевым фактором клинической эффективности.

Ключевые слова: реминерализирующие средства; стоматологические материалы; минерализация эмали; CPP-ACP; F-ACP

1. Введение

Поражения эмали зубов представляют собой наиболее распространённое хроническое заболевание в мире и создают значительную нагрузку на систему здравоохранения [1]. Твёрдые ткани зуба постоянно подвергаются циклам деминерализации и реминерализации [2]. Прогрессирование или обратное развитие таких поражений зависит от динамического равновесия между деминерализацией и реминерализацией в полости рта, на которое влияют особенности питания, слюноотделение и профилактические мероприятия [3]. Снижение pH в полости рта вызывает деминерализацию, которая при длительном сохранении приводит к избыточной потере минералов из структуры зуба и формированию поражения эмали. Напротив, при повышении pH происходит обратный процесс — отложение минералов, таких как ионы кальция, фосфата и фторида, обратно в структуру зуба, что способствует росту и образованию новых кристаллов [3].

В настоящее время оптимальной стратегией контроля кариеса считается выявление и купирование поражения на начальной стадии с использованием методов, усиливающих процесс реминерализации с помощью реминерализирующих средств.

Процесс минерализации зубов подробно изучался на протяжении многих десятилетий, что привело к разработке технологий, способных как усиливать реминерализацию эмали, так и снижать её деминерализацию, обеспечивая тем самым потенциальную пользу для здоровья полости рта [4]. Традиционные стратегии реминерализации долгое время основывались на фторсодержащих средствах, которые усиливают осаждение фторapatита и повышают устойчивость эмали к кислотному воздействию [5]. Однако в последние десятилетия в качестве дополнительных или альтернативных вариантов появились биомиметические реминерализирующие средства, также сочетающиеся с фтором, целью которых является восстановление структуры эмали за счёт имитации естественных путей минерализации [6–8].

Гидроксиapatит (ГА) — основной минеральный компонент эмали зуба — привлекает значительное внимание как биомиметическое реминерализирующее средство. Синтетический ГА и его модифицированные формы, такие как цинк-замещённый гидроксиapatит (Zn-НА) и нано-гидроксиapatит (n-НА), близко имитируют естественную кристаллическую структуру эмали и облегчают отложение минералов на деминерализованных поверхностях, усиливая реминерализацию и оказывая антибактериальное действие за счёт включения цинка [9–11].

Кроме того, казеин фосфопептид–аморфный фосфат кальция (CPP-ACP) стабилизирует ионы кальция и фосфата в метастабильном состоянии, способствуя их диффузии в подповерхностные поражения эмали [12,13]. В кислой среде АCP отделяется от CPP, что повышает уровень кальция и фосфата в слюне, при этом CPP стабилизирует уровень АCP в слюне, препятствуя осаждению кальция и фосфата [14]. В последнее время были разработаны составы фторированного аморфного фосфата кальция (F-ACP), сочетающие преимущества

АСР с фтором для ускорения формирования кристаллов фторапатита и повышения кислотоустойчивости поверхности эмали [15,16].

Хотя в ряде исследований и систематических обзоров эти средства изучались по отдельности [17–19], сравнительные данные об их зависящем от времени реминерализующем потенциале, в частности с интеграцией морфологического и композиционного анализа, остаются ограниченными.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) в сочетании с энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией (ЭДС) представляет собой надёжный метод для оценки морфологии поверхности и количественного определения минерального состава (соотношение Са/Р), позволяющий получить представление о процессе реминерализации на разных стадиях [20,21].

Несмотря на растущее число исследований, посвящённых отдельным реминерализующим средствам, по-прежнему ощущается нехватка сравнительных данных, оценивающих их эффективность в зависимости от времени в стандартизированных экспериментальных условиях. Большинство существующих исследований сосредоточены на единичных временных точках или ограниченных периодах наблюдения, не рассматривая прогрессивный характер восстановления эмали [4,17]. Настоящее исследование призвано восполнить этот пробел за счёт продольной (лонгитюдной) оценки в четырёх различных временных интервалах (7, 14, 21 и 28 дней), что позволяет получить динамическую картину реминерализации во времени. Кроме того, за счёт сочетания СЭМ с ЭДС в данном исследовании объединяются морфологические и композиционные данные, что обеспечивает комплексную оценку восстановления поверхности эмали и прироста минерализации [22]. Новизна настоящего исследования заключается в его многоточечном (по времени) дизайне СЭМ-ЭДС, позволяющем оценить прогрессию и тенденцию процесса реминерализации во времени и получить динамическое количественное представление о восстановлении эмали.

С этой целью целью настоящего исследования *in vitro* являлась количественная сравнительная оценка реминерализующего потенциала средств, содержащих CPP-АСР, Zn-НА и F-АСР, на искусственно деминерализованных поражениях эмали в нескольких временных интервалах (7, 14, 21 и 28 дней) методом СЭМ-ЭДС, при этом в качестве референсных контролей использовались интактная и деминерализованная эмаль.

2. Материалы и методы

2.1. Сбор образцов

Исследование проводилось на кафедре клинических наук и стоматологии Università Politecnica delle Marche (Анкона, Италия). Зубы были удалены хирургическим путём по терапевтическим показаниям. В соответствии с рекомендациями локального этического комитета и Хельсинкской декларацией (2018) [23] от всех пациентов было получено информированное согласие, подтверждающее, что они полностью осведомлены об использовании твёрдых тканей их зубов в исследовательских целях. Образцы были анонимизированы уже на этапе сбора и полностью не идентифицируемы в лаборатории.

После хирургического удаления образцы очищались в ультразвуковой ванне с дистиллированной водой в течение 2 минут для удаления крови и биологических остатков. Зубы хранились в 0,5% (масс./масс.) растворе хлорамина (NH₂Cl) при комнатной температуре. Все процедуры выполнял один оператор во избежание операторской погрешности.

Было отобрано 60 удалённых интактных третьих моляров, соответствующих следующим критериям включения, установленным для минимизации гетерогенности образцов: (i) целостность вестибулярной и язычной поверхностей; (ii) отсутствие истирания эмали, травматических повреждений, реставраций, а также отсутствие аномалий объёма, формы и

структуры; (iii) возраст пациентов от 20 до 40 лет; (iv) отсутствие в анамнезе фторидной обработки.

2.2. Подготовка образцов и группы исследования

Для каждого образца язычная поверхность покрывалась кислотостойким лаком, что соответствовало недеминерализованной и необработанной эмали (контроль, CTRL). Вестибулярная поверхность подвергалась деминерализации по протоколу формирования кариесоподобного поражения, после чего половина поверхности покрывалась кислотостойким лаком, обозначая деминерализованную и необработанную эмаль (DEMIN). Оставшаяся половина вестибулярной поверхности подвергалась нанесению реминерализующего средства в соответствии с назначенной группой. Схематичное представление дизайна исследования показано на Рисунке 1.

Затем зубы были случайным образом разделены на три группы (n = 20) в зависимости от применяемого реминерализующего средства:

- G_CPP-ACP: обработка муссом, содержащим CPP-ACP (GC Tooth Mousse, Recaldent GC, Милан, Италия);
- G_Zn-НА: обработка гелем, содержащим Zn-НА (Biorepair Desensitizing Enamel-Repair Shock Treatment, Coswell oral care professional Spa, Болонья, Италия);
- G_F-ACP: обработка муссом, содержащим F-ACP (Biosmalto caries, abrasion and erosion-impact action mousse professional, Curasept Spa, Варезе, Италия).

Состав каждого из применяемых средств представлен в Таблице 1.

Далее каждая экспериментальная группа была разделена на четыре подгруппы по 5 образцов в каждой в зависимости от продолжительности применения реминерализующего средства:

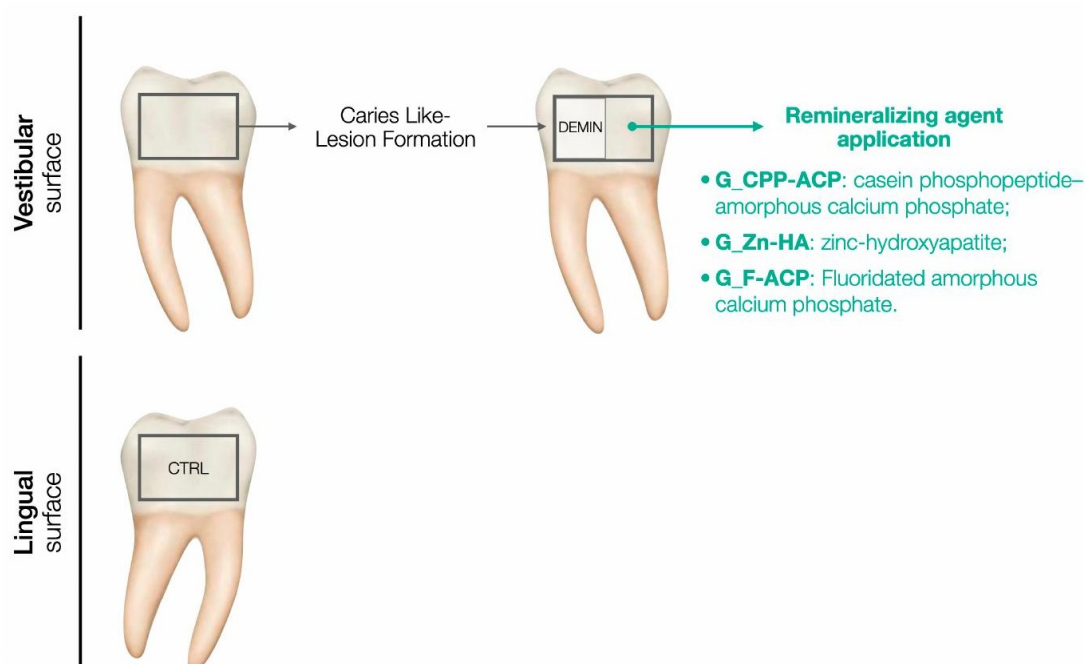
- Подгруппа I — 7 дней;
- Подгруппа II — 14 дней;
- Подгруппа III — 21 день;
- Подгруппа IV — 28 дней.

Таблица 1. Химический состав исследуемых материалов.

Материал	Производитель	Активный ингредиент	Прочие компоненты
GC Tooth Mousse (G_CPP-ACP)	Recaldent Europe	казеин фосфопептид–аморфный фосфат кальция (CPP-ACP)	Чистая вода, глицерин, казеин фосфопептид–аморфный фосфат кальция, D-сорбитол, натрия карбоксиметилцеллюлоза, пропиленгликоль, диоксид кремния, диоксид титана, ксилитол, фосфорная кислота, ароматизатор, оксид цинка, сахаринат натрия, этил-п-гидроксibenзоат, оксид магния, гуаровая камедь, пропил-п-гидроксibenзоат, бутил-п-гидроксibenзоат.
Biorepair Desensitizing Enamel Repairer (G_Zn-НА)	Coswell Spa, Италия	цинк-гидроксиапатит (Zn-НА)	Вода, цинк-гидроксиапатит, гидратированный диоксид кремния, диоксид кремния, натрия миристоилсаркозинат, натрия метилкоилтаурат, натрия бикарбонат, ароматизатор, сахаринат натрия, феноксиэтанол, бензиловый спирт, бензоат натрия, лимонная кислота, ментол.

Материал	Производитель	Активный ингредиент	Прочие компоненты
Biosmalto (G_F-ACP)	Curasept Spa, Италия	фторированный аморфный фосфат кальция (F-ACP), 1450 ppm F ⁻	Глицерин, ПЭГ-8 (PEG-8), диоксид кремния, ацетат стронция, кальция фосфат карбонат цитрат фторид, гидроксипропилцеллюлоза, ксилитол, акрилаты/С10-30 алкилакрилатный кроссполимер, ПЭГ-40 гидрогенизированное касторовое масло, гиалуронат натрия, ацесульфам калия, п-анисовая кислота, ароматизатор, гидроксид натрия.

Рисунок 1. Схематичное представление дизайна исследования.



Рандомизация проводилась с использованием сгенерированного компьютером списка рандомизации (функция RAND, Microsoft Excel).

Все реминерализирующие средства наносились на поверхность эмали один раз в день тонким слоем в течение 120 с с помощью микрощётки в соответствии с инструкциями производителя.

2.3. Формирование кариесоподобного поражения

Искусственное кариозное поражение эмали создавалось на всех образцах путём погружения вестибулярных поверхностей в деминерализующий раствор, состоящий из 0,1 М молочной кислоты, доведённой до pH 4,4 с помощью 1 М NaOH, на 72 ч [20]. Для подтверждения формирования поражения каждая вестибулярная поверхность эмали после формирования кариесоподобного поражения наполовину покрывалась тонким слоем лака, оставляя вторую половину открытой для последующей обработки. Такой подход обеспечивал прямое внутриобразцовое сравнение деминерализованного и обработанного участков с помощью СЭМ после каждой временной точки. После деминерализации образцы не подвергались пассивному хранению, а сразу обрабатывались в соответствии с назначенной группой и включались в непрерывный 24-часовой протокол pH-циклирования на протяжении всего периода эксперимента (7, 14, 21 и 28 дней).

2.4. Протокол pH-циклирования

На протяжении всего эксперимента образцы подвергались протоколу pH-циклирования с целью имитации колебаний pH, происходящих в микросреде полости рта [24,25]. В рамках 24-часового цикла образцы индивидуально погружались в реминерализующий раствор (1,5 мМ/л кальция, 0,9 мМ/л фосфата, 150 мМ/л хлорида калия в 0,02 мМ/л какодилатном буфере, 0,02 мкг F/мл, 1 мл/мм²) (pH = 7) на 21 ч, а затем в деминерализующий раствор (2,0 мМ/л кальция и фосфата в 75 мМ/л ацетатном буфере, 0,03 мкг F/мл, 3 мл/мм²) (pH = 4,3) на 3 ч. Обработка образцов проводилась один раз в день в соответствии с назначенной группой. После каждой обработки образцы промывались деионизированной водой в течение 5 с. Растворы обновлялись каждые 24 ч.

2.5. Анализ методом СЭМ-ЭДС

Каждая подгруппа анализировалась в соответствии с назначенной временной точкой (7, 14, 21 и 28 дней). Кислотостойкий лак с поверхности образцов эмали аккуратно удалялся с помощью ацетона как на язычной, так и на вестибулярной поверхностях, после чего проводился анализ методом СЭМ-ЭДС.

Образцы высушивались на воздухе, монтировались на алюминиевые держатели (стабы), покрывались слоем золота толщиной 10 нм для обеспечения электропроводности и исследовались с помощью сканирующего электронного микроскопа TESCAN VEGA 3 LMU (Центр электронной микроскопии — CISMIn, кафедра SIMAU, Università Politecnica delle Marche, Анкона, Италия). СЭМ-изображения получали для изучения морфологии эмали при различных увеличениях: $\times 500$ и $\times 1000$. Рабочие параметры: ускоряющее напряжение 15 кВ, рабочее расстояние 10 мм, детектор вторичных электронов (SE).

Химическая характеристика поверхности проводилась методом ЭДС с использованием системы EDAX Element Microanalysis (AMETEK GmbH, подразделение EDAX, Вайтерштадт, Германия). Каждый образец разделялся на отдельные зоны (интактную, деминерализованную и обработанную). Для каждой зоны получали три спектра ЭДС из случайно выбранных участков. Три полученных значения усредняли для получения единого среднего значения на зуб для каждого условия, которое рассматривалось как экспериментальная единица для статистического анализа. Данные по отдельным участкам не рассматривались как независимые повторности во избежание псевдоповторности. Использовались следующие рабочие параметры: рабочее расстояние 15 мм, ускоряющее напряжение 25 кВ, увеличение $\times 500$. Спектры ЭДС регистрировались с временем накопления (dwell time) 60 с. Количественный анализ проводился с использованием ZAF-коррекции с учётом атомного номера, поглощения и флуоресценции.

Степень реминерализации оценивалась путём измерения содержания (в атомных %) фосфора (P) и кальция (Ca) с расчётом их соотношения (Ca/P) в обработанных образцах. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Оператор, проводивший анализ методом СЭМ-ЭДС, не был осведомлён о принадлежности образцов к группе и временной точке, что минимизировало погрешность измерений. Маркировка данных и коды файлов были обезличены до получения изображений и количественного анализа методом ЭДС.

2.6. Статистический анализ

Все данные анализировались с использованием статистического программного обеспечения Prism8 (GraphPad Software, версия 10.4.1, Калифорния, США). Рассчитывались описательные статистики, представленные в виде среднего значения $\pm$ стандартное отклонение. Для оценки влияния вида реминерализующего средства и продолжительности его применения на соотношение Ca/P в эмали проводился двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с независимыми измерениями. При обнаружении значимых различий выполнялись

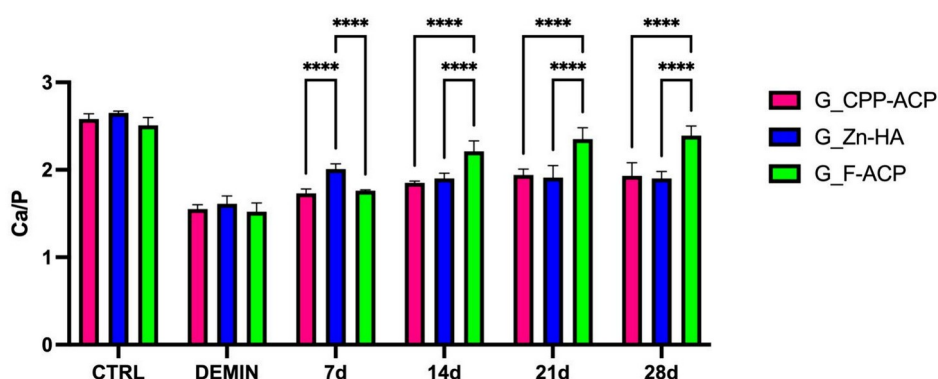
апостериорные множественные сравнения с использованием теста Бонферрони для коррекции на множественность сравнений. Уровень значимости был установлен как $\alpha = 0,05$. Различия между группами считались статистически значимыми, если 95% доверительный интервал (ДИ) разницы средних не включал ноль, а скорректированное р-значение было ниже 0,05. Поправка Бонферрони применялась для коррекции р-значений при всех апостериорных множественных сравнениях.

Расчёт объёма выборки проводился с использованием программы G*Power 3.1 (Franz Faul, Кильский университет, Киль, Германия) для определения минимального размера выборки для двухфакторного дисперсионного анализа с независимыми измерениями (факторы: реминерализирующее средство $\times$ время (7, 14, 21 и 28 дней)), исходя из предположения о большом размере эффекта взаимодействия (f Коэна = 1,32), $\alpha = 0,05$ и мощности $(1 - \beta) = 0,80$, на основании предварительных данных и предыдущих исследований [20,21,26]. Расчёт был ориентирован на эффект взаимодействия (средство $\times$ время), который являлся первичной конечной точкой исследования. Наблюдаемые размеры эффекта по результатам итогового ANOVA подтвердили это предположение (частичный $\eta^2 = 0,635$ для взаимодействия средство $\times$ время, что соответствует $f = 1,32$). При трёх группах лечения и четырёх временных точках требуемый общий объём выборки составил 20 зубов на группу ($n = 5$ на временную точку).

3. Результаты

Значения соотношения Ca/P, полученные методом СЭМ-ЭДС, представлены на Рисунках 2 и 3. Статистически значимых различий между группами CTRL и DEMIN в разные временные точки внутри каждой группы выявлено не было ($p > 0,05$). Поэтому на Рисунке 2 показано среднее значение Ca/P (рассчитанное по 20 образцам) для каждой группы.

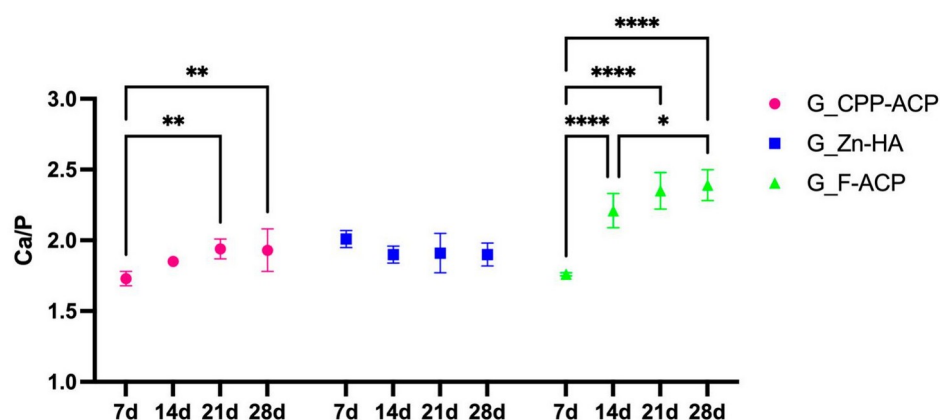
Рисунок 2. Столбчатая диаграмма, отражающая среднее значение соотношения Ca/P ($\pm$ стандартное отклонение) в образцах эмали трёх экспериментальных групп в разные временные точки (7, 14, 21 и 28 дней): G_CPP-ACP (казеин фосфопептид–аморфный фосфат кальция), G_Zn-HA (цинк-гидроксиапатит) и G_F-ACP (фторированный аморфный фосфат кальция). Группа CTRL представляет собой интактную (необработанную) эмаль, тогда как DEMIN обозначает деминерализованную эмаль до реминерализирующей обработки. Звёздочками обозначены статистически значимые различия между группами лечения в каждой временной точке. Апостериорные сравнения с поправкой Бонферрони для каждой временной точки: **** $p < 0,0001$, $n = 5$ на временную точку на каждое средство.



Во всех группах после протокола деминерализации (DEMIN) наблюдалось значимое снижение соотношения Ca/P по сравнению с интактной эмалью (CTRL). Этот результат подтверждает эффективность индукции кариесоподобных поражений.

Рисунок 3. Динамика изменения соотношения Ca/P (средние значения) деминерализованных поверхностей эмали, обработанных тремя различными реминерализирующими средствами: G_CPP-ACP (казеин фосфопептид–аморфный фосфат кальция), G_Zn-HA (цинк-гидроксиапатит) и G_F-ACP (фторированный аморфный фосфат кальция), на протяжении 28 дней. Измерения проводились

методом СЭМ-ЭДС на 7, 14, 21 и 28 день после начала обработки. Звёздочками обозначены статистически значимые внутригрупповые различия между временными точками. Апостериорные сравнения с поправкой Бонферрони для каждой временной точки: * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$, $n = 5$ на временную точку на каждое средство.



После применения реминерализирующих средств во всех группах лечения с течением времени наблюдалось прогрессивное увеличение соотношения Ca/P.

На 7-й день группа G_Zn-HA демонстрировала статистически значимо более высокие значения Ca/P по сравнению как с G_CPP-ACP ($p < 0,05$), так и с G_F-ACP ($p < 0,05$). При этом статистически значимых различий между G_CPP-ACP и G_F-ACP выявлено не было. На 14-й день группа G_F-ACP демонстрировала статистически значимо более выраженный реминерализирующий эффект по сравнению как с G_CPP-ACP, так и с G_Zn-HA ($p < 0,05$). Данная тенденция сохранялась на 21-й и 28-й день, что свидетельствует о более высоком реминерализирующем потенциале средства на основе F-ACP по сравнению с остальными группами.

Сравнение со значениями CTRL и DEMIN показывает, что показатель Ca/P в группе G_F-ACP постепенно приближался к соотношению Ca/P здоровой эмали (CTRL) к 21-му дню, тогда как в группах G_CPP-ACP и G_Zn-HA сохранялись более низкие значения (Рисунок 1).

Зависящая от времени динамика реминерализации также показана на Рисунке 3, где в группе G_F-ACP отмечалось выраженное увеличение реминерализации между 7-м и 14-м днём ($p < 0,05$). За этим следовала фаза плато, в течение которой статистически значимых различий между 14-м и 21-м днём не выявлено ($p > 0,05$). Затем между 21-м и 28-м днём происходила дальнейшая фаза реминерализации ($p < 0,05$). В группе G_CPP-ACP плато достигалось после 21 дня обработки, при этом значение Ca/P статистически значимо отличалось от значения на 7-й день ($p < 0,05$). Напротив, в группе G_Zn-HA статистически значимых различий между разными временными точками выявлено не было ($p > 0,05$).

Сводные данные о среднем значении $\pm$ стандартное отклонение (SD) соотношения Ca/P для каждой группы лечения в разные периоды наблюдения представлены в Таблице 2. Данная таблица облегчает сравнение зависящего от времени прироста минерализации и дополняет графическое представление на Рисунках 2 и 3.

Индивидуальные распределения значений соотношения Ca/P и 95% ДИ для всех групп лечения и временных точек представлены на Рисунке A1 (Приложение А), который иллюстрирует вариабельность между образцами и подтверждает статистические результаты, представленные в основном тексте.

Результаты множественных сравнений с поправкой Бонферрони для каждой временной точки представлены в Таблице A1 (Приложение А), подтверждая, что на 7-й день Zn-HA демонстрировал более высокие значения Ca/P по сравнению с другими средствами, тогда как

начиная с 14-го дня F-АСР демонстрировал статистически значимо более высокие значения Са/Р по сравнению как с CPP-АСР, так и с Zn-НА.

Репрезентативные сканирующие электронные микрофотографии поверхностей эмали при увеличении 50 мкм представлены на Рисунке 4. В образцах группы CTRL (интактная эмаль) призмы эмали выглядят гладкими, компактными и хорошо организованными, с типичной палочковидной структурой и отсутствием разрывов поверхности.

После деминерализации (DEMIN) во всех группах наблюдалось выраженное повреждение поверхности, характеризующееся пористостью, неровной текстурой и утратой призматической архитектуры, что соответствует формированию подповерхностного поражения.

В группе G_CPP-АСР с течением времени наблюдалось прогрессивное восстановление поверхности. На 7-й и 14-й день поверхность эмали оставалась неровной, хотя были видны отдельные гранулярные отложения. К 21-му и 28-му дню отмечалась частичная реорганизация текстуры поверхности, однако эмаль оставалась менее компактной, чем в группе CTRL.

В группе G_Zn-НА признаки покрытия поверхности проявлялись раньше: аморфные отложения были заметны уже на 7-й день. Однако поверхность оставалась гетерогенной, и полная реорганизация призм не была очевидна даже к 28-му дню.

Напротив, в группе G_F-АСР начиная с 14-го дня формировался более равномерный и плотный минеральный слой, который к 28-му дню прогрессивно утолщался и сглаживался. В финальной временной точке группа G_F-АСР демонстрировала наиболее однородную поверхность, наиболее близко напоминающую исходную микроструктуру эмали CTRL.

Рисунок 4. Репрезентативные сканирующие электронные микрофотографии поверхностей эмали (интактной, деминерализованной и после обработки CPP-АСР, Zn-НА, F-АСР) в разные временные точки — 7, 14, 21 и 28 дней (n = 5 на точку). Все изображения получены при увеличении 50 мкм. Деминерализованные поверхности (DEMIN) характеризуются повышенной пористостью и утратой структуры эмали, тогда как с течением времени отмечается прогрессивное восстановление поверхности. Группа G_F-АСР демонстрирует наиболее однородную и организованную поверхность на 28-й день, напоминающую микроструктуру интактной эмали.

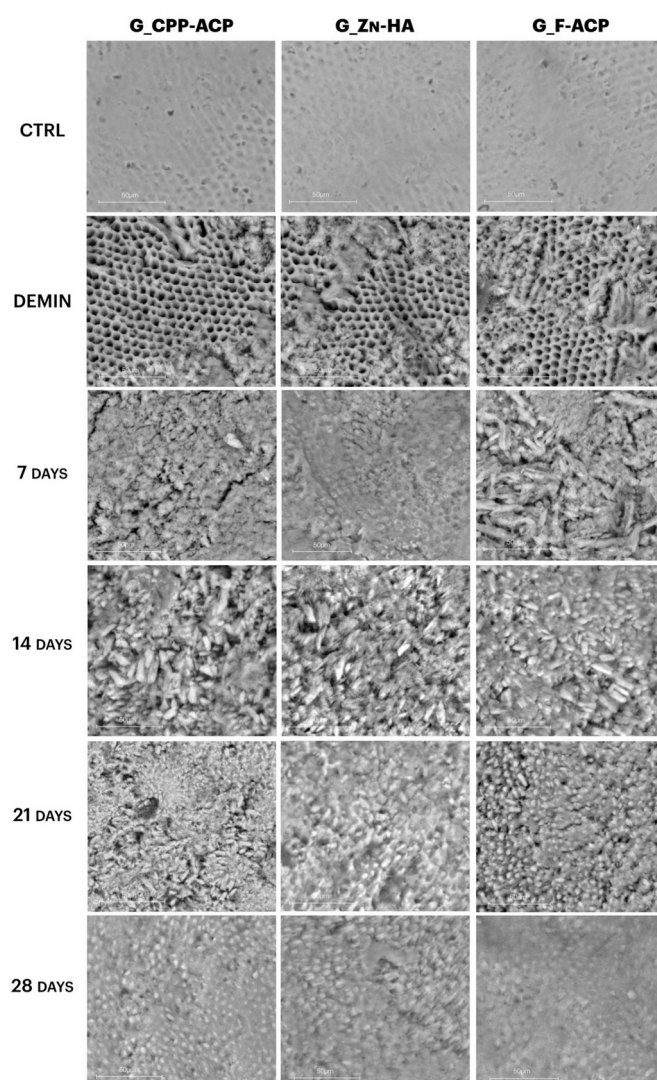


Таблица 2. Соотношение Ca/P (в атомных %) для каждого реминерализирующего средства (CPP-ACP, Zn-HA, F-ACP) в разные временные точки (7, 14, 21 и 28 дней). Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (SD), рассчитанных по пяти зубам на группу и временную точку; каждое значение представляет собой среднее из трёх спектров ЭДС, полученных на случайно выбранных участках в пределах каждой зоны.

	G_CPP-ACP		G_Zn-HA		G_F-ACP	
	Среднее	SD	Среднее	SD	Среднее	SD
CTRL	2,59	0,08	2,65	0,02	2,51	0,08
DEMIN	1,55	0,05	1,62	0,09	1,52	0,10
7 дней	1,75	0,06	2,03	0,07	1,76	0,01
14 дней	1,85	0,02	1,90	0,06	2,21	0,11
21 день	1,94	0,06	1,91	0,17	2,35	0,14
28 дней	1,93	0,15	1,90	0,10	2,37	0,13

4. Обсуждение

Настоящее исследование было посвящено оценке реминерализующей эффективности трёх профессиональных средств (CPP-ACP, Zn-НА и F-ACP) на искусственно созданных поражениях эмали с использованием методов СЭМ и ЭДС в четырёх временных точках (7, 14, 21 и 28 дней).

Ключевым результатом стал зависящий от времени характер реминерализации эмали. Все три средства продемонстрировали постепенное усиление реминерализации с течением времени, что было отражено как в данных СЭМ, так и ЭДС. Выраженные улучшения последовательно наблюдались на 7-й и 14-й день, тогда как на 21-й и 28-й день изменения соотношения Ca/P были умеренными. Это подчёркивает важность длительного применения для максимизации реминерализующего эффекта, особенно для биомиметических средств, таких как F-ACP. Полученные результаты согласуются с данными научной литературы, поддерживающими длительное или повторное местное применение для повышения клинической эффективности [21,27].

Степень выраженности и характер реминерализации существенно различались между тремя составами, что, вероятно, связано со структурными и химическими особенностями материалов. В частности, средство на основе F-ACP оказалось наиболее эффективным в данном исследовании, демонстрируя наивысшие значения Ca/P начиная с 14-го дня и постепенно приближаясь к показателям интактной эмали (CTRL) к 21-му дню. Его двойной механизм действия — усиление кислотоустойчивости за счёт фтора и наличие резервуара аморфного фосфата кальция — обеспечивает более глубокое проникновение и выраженное восстановление минерального состава, что согласуется с данными предыдущих авторов [28,29]. По данным ряда исследований, F-ACP превосходит как CPP-ACP, так и Zn-НА по способности восстанавливать оптические свойства и снижать пористость поражения [29,30]. Более того, включение фтора в состав ACP усиливает созревание и стабильность кристаллов, обеспечивая долгосрочный защитный эффект [28].

G_CPP-ACP действует как резервуар ионов кальция и фосфата, стабилизируя их в аморфной форме и высвобождая на поверхности зуба, что способствует нуклеации гидроксиапатита [14,31]. Данное средство продемонстрировало умеренный, но стабильный реминерализующий потенциал с течением времени. Это согласуется с предыдущими исследованиями, подчёркивающими его способность откладывать кальций и фосфат в ранних кариозных поражениях и усиливать восстановление поверхности эмали [31,32]. Однако его эффект имеет тенденцию выходить на плато между 14-м и 21-м днём, а согласно недавнему систематическому обзору, применение CPP-ACP эффективно только на ранних стадиях поражения эмали из-за ограниченной способности к проникновению [33,34].

G_Zn-НА имитирует структуру эмали и обеспечивает ионный обмен и образование новых кристаллов ГА [35], демонстрируя наименее выраженную тенденцию к реминерализации по сравнению с остальными группами во всех временных точках, с выходом на плато после 7 дней обработки. Восстановление морфологии поверхности при применении данного средства достигало пика на 7-й день, вероятно, за счёт его биомиметической кристаллической структуры, обеспечивающей отложение синтетического ГА в микропорах деминерализованной эмали, что снижает глубину поражения и усиливает прирост минерализации [20]. Наблюдаемый во всех группах эффект плато свидетельствует о том, что эффективность реминерализации может стабилизироваться со временем в зависимости от свойств средства и механизма его доставки.

Данные СЭМ подтвердили количественные результаты ЭДС: хотя все виды обработки приводили к частичному восстановлению поверхности, G_F-ACP формировал наиболее однородный и компактный минеральный слой с чётко выраженной призматической структурой к 21-му дню. В группе G_CPP-ACP отмечались гранулярные отложения и постепенная реорганизация поверхности, тогда как в группе G_Zn-НА наблюдалось гетерогенное минеральное покрытие без полного восстановления структуры. Эти морфологические различия

согласуются с разными механизмами действия: F-АСР способствует быстрому формированию фторапатита за счёт сочетания фтора и кальций-фосфатного компонента [15], тогда как CPP-АСР основан на устойчивом высвобождении ионов, опосредованном казеиновыми фосфопептидами [13], а Zn-НА способствует восстановлению эмали преимущественно за счёт биомиметического отложения минералов [10].

С клинической точки зрения CPP-АСР, Zn-НА и F-АСР показаны для неинвазивного лечения ранних поражений эмали, гиперчувствительности и постортodontических меловидных пятен. Если CPP-АСР и Zn-НА действуют преимущественно за счёт высвобождения ионов кальция и фосфата и поверхностной адсорбции, то F-АСР дополнительно обеспечивает опосредованную фтором нуклеацию и стабилизацию апатитовых фаз.

Полученные результаты позволяют предположить, что в контролируемых условиях *in vitro* F-АСР способен обеспечивать более быструю и полную реминерализацию поверхности — с приближением к соотношению Са/Р интактной эмали в течение 21 дня — по сравнению с CPP-АСР и Zn-НА, которые достигали частичного восстановления раньше, но затем выходили на плато. Однако данный эффект отражает только поверхностное восстановление химического состава, а не полную подповерхностную реминерализацию или механическое восстановление. CPP-АСР и Zn-НА, хотя и оказались менее эффективными в данном исследовании, тем не менее продемонстрировали заметный реминерализующий потенциал и могут представлять ценность в качестве вспомогательных средств профилактической стоматологии, особенно для пациентов с противопоказаниями к применению фтора или предпочитающих биомиметические безфторидные альтернативы.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном взаимодействии между видом обработки и временем. С клинической точки зрения эти данные позволяют предположить, что для достижения оптимального реминерализующего эффекта, как это наблюдалось для F-АСР, может потребоваться минимум около 21 дня ежедневного применения. Однако комплаентность пациента и индивидуальные особенности слюноотделения являются критическими факторами клинической эффективности и должны учитываться при разработке практических протоколов.

Несмотря на многообещающие результаты, настоящее исследование имеет ряд ограничений: это модель *in vitro*, которая не воспроизводит такие факторы, как слюноотделение, активность биоплёнки и комплаентность пациента, а также общую биологическую сложность среды полости рта, влияющую на динамику реминерализации *in vivo*. Отсутствие слюны, формирования пелликулы, активности биоплёнки и жевательной нагрузки может изменять диффузию ионов и отложение минералов, влияя на кинетику реминерализации. Ещё одним ограничением данного исследования является использование исключительно метода СЭМ-ЭДС для оценки поверхности и состава. Дополнительные методы анализа, такие как определение микротвёрдости, наноиндентирование и микро-КТ, могли бы дать дополнительную информацию о механическом укреплении и глубине реминерализации. В связи с этим необходимы дальнейшие клинические исследования для подтверждения полученных результатов и оценки долгосрочной эффективности данных средств в динамических условиях полости рта.

Полученные результаты, основанные на поверхностных значениях соотношения Са/Р и морфологии по данным СЭМ, свидетельствуют о явном восстановлении химического состава поверхности эмали, хотя анализ методом ЭДС ограничен количественной оценкой элементного состава поверхности и не даёт информации о глубине подповерхностной минерализации или механических свойствах. Дополнительные методы анализа, такие как определение микротвёрдости и микро-КТ, могли бы дать представление о механическом укреплении и глубине реминерализации. Такой комплексный аналитический подход позволил бы более полно охарактеризовать восстановление эмали как на микроструктурном, так и на функциональном уровне.

Тем не менее данное исследование создаёт прочную основу для выбора и применения реминерализирующих средств в профилактической и восстановительной стоматологии, указывая на то, что продолжительность применения представляет собой ключевой фактор клинической эффективности.

5. Заключение

Настоящее исследование *in vitro* продемонстрировало, что все три профессиональных средства (CPP-ACP, Zn-НА и F-ACP) обладают зависящим от времени реминерализирующим эффектом в отношении искусственно деминерализованной эмали. Среди изученных средств F-ACP продемонстрировал наиболее выраженную реминерализирующую эффективность после 21 дня, что подтверждается значениями соотношения Ca/P и наблюдаемым усилением морфологической целостности поверхности по данным СЭМ-ЭДС. Zn-НА и CPP-ACP также оказались высокоэффективными средствами, демонстрируя многообещающую динамику реминерализации с умеренной, но стабильной активностью с течением времени. Однако данные результаты отражают лишь изменения химического состава поверхности и должны интерпретироваться с осторожностью до их подтверждения в клинических условиях. Полученные данные подтверждают потенциал биомиметических реминерализирующих средств в качестве вспомогательных мер ежедневной профилактики, что стимулирует дальнейшие трансляционные исследования. Таким образом, для подтверждения полной степени реминерализации необходимы дальнейшие исследования с использованием механических и поперечных (кросс-секционных) методов оценки.

Полученные результаты подчёркивают центральную роль времени в достижении эффективной реминерализации. Показано, что длительное и непрерывное воздействие данных средств приводит к более существенному приросту минерализации, что подтверждает целесообразность долгосрочных стратегий лечения некавитированных кариозных поражений. Эти результаты имеют клиническое значение в области профилактической и минимально инвазивной стоматологии, особенно для пациентов с ранними поражениями эмали или нуждающихся в альтернативах фторидсодержащей терапии.

Помимо конкретной эффективности исследованных средств, данная работа вносит значимый вклад в более широкую область исследований стоматологических биоматериалов. Поиск новых реминерализирующих средств, сочетающих биоактивность, биосовместимость, простоту клинического применения и наличие чётких клинических протоколов, остаётся одним из ключевых приоритетов на сегодняшний день.

Хотя полученные результаты подчёркивают более высокий реминерализирующий потенциал F-ACP, их следует интерпретировать с учётом ограничений модели *in vitro*. Для подтверждения этих результатов в реальных условиях полости рта необходимы дальнейшие исследования *in vivo* и клинические исследования.

Вклад авторов: концепция исследования — F.V. и G.O. (Giulia Orilisi); методология — F.V., V.T., R.M. и G.O. (Giulia Orilisi); программное обеспечение — M.L.G. и R.M.; валидация — P.M. и G.O. (Giovanna Orsini); формальный анализ — G.O. (Giulia Orilisi) и G.O. (Giovanna Orsini); исследование — F.V. и V.T.; ресурсы — P.M. и G.O. (Giovanna Orsini); курирование данных — G.O. (Giulia Orilisi) и F.V.; написание чернового варианта рукописи — G.O. (Giulia Orilisi) и F.V.; рецензирование и редактирование текста — F.V., V.T., R.M., G.O. (Giulia Orilisi), M.L.G., P.M. и G.O. (Giovanna Orsini); визуализация — F.V., V.T., R.M. и G.O. (Giulia Orilisi); научное руководство — P.M. и G.O. (Giovanna Orsini); администрирование проекта — G.O. (Giovanna Orsini); привлечение финансирования — G.O. (Giovanna Orsini). Все авторы ознакомились с рукописью и согласны с опубликованной версией.

Финансирование: данное исследование не получало внешнего финансирования.

Заявление Комитета по этике: этическая экспертиза не требовалась, поскольку в исследовании использовались удалённые зубы человека, собранные в качестве биологических отходов терапевтических процедур. От всех доноров было получено информированное согласие на использование удалённых зубов в исследовательских целях. Образцы были полностью анонимизированы, и результаты исследования *in vitro* не сопоставлялись с конкретными пациентами, от которых были получены зубы.

Заявление об информированном согласии: информированное согласие было получено от всех участников исследования.

Заявление о доступности данных: данные, представленные в этом исследовании, могут быть предоставлены по запросу автором, ответственным за переписку.

Благодарности: авторы выражают благодарность Adriano Di Cristoforo за техническую и ценную помощь в проведении анализа методом СЭМ-ЭДС. Авторы также благодарят Фонд SISOPD (Società Italiana Stomatologia, Odontoiatria e Protesi Dentaria — Итальянское общество стоматологии, одонтологии и протезирования зубов).

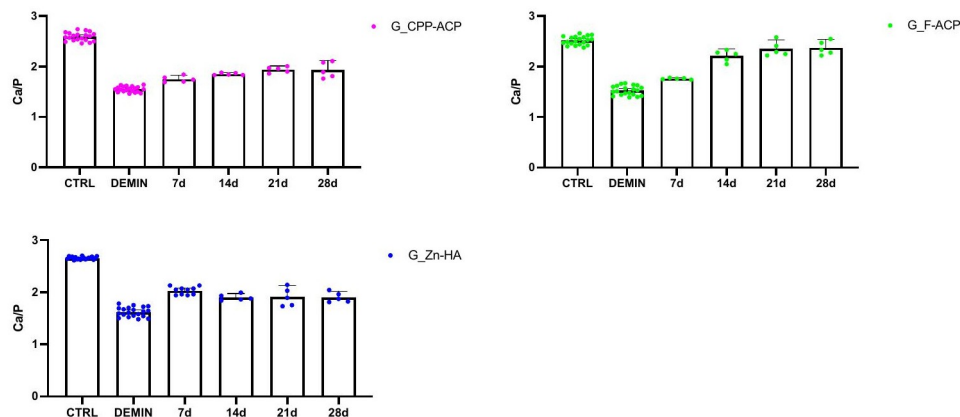
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Приложение А

Таблица А1. Апостериорные сравнения соотношения Ca/P между реминерализующими средствами (CPP-ACP, Zn-HA и F-ACP) в каждой временной точке наблюдения, с поправкой Бонферрони. Звёздочками обозначены статистически значимые различия: **** = $p < 0,0001$; ns = статистически незначимо.

Множественные сравнения (тест Бонферрони)	Разница средних (Predicted LS Mean Diff)	95% ДИ разницы	Итог	Скорр. р- значение
7 дней				
G_CPP-ACP vs. G_Zn-HA	-0,2800	от -0,3935 до -0,1665	****	<0,0001
G_CPP-ACP vs. G_F-ACP	-0,01000	от -0,1410 до 0,1210	ns	>0,9999
G_Zn-HA vs. G_F-ACP	0,2700	от 0,1565 до 0,3835	****	<0,0001
14 дней				
G_CPP-ACP vs. G_Zn-HA	-0,05000	от -0,1810 до 0,08104	ns	>0,9999
G_CPP-ACP vs. G_F-ACP	-0,3600	от -0,4910 до -0,2290	****	<0,0001
G_Zn-HA vs. G_F-ACP	-0,3100	от -0,4410 до -0,1790	****	<0,0001
21 день				
G_CPP-ACP vs. G_Zn-HA	0,03200	от -0,09904 до 0,1630	ns	>0,9999
G_CPP-ACP vs. G_F-ACP	-0,4100	от -0,5410 до -0,2790	****	<0,0001
G_Zn-HA vs. G_F-ACP	-0,4420	от -0,5730 до -0,3110	****	<0,0001
28 дней				
G_CPP-ACP vs. G_Zn-HA	0,03000	от -0,1010 до 0,1610	ns	>0,9999
G_CPP-ACP vs. G_F-ACP	-0,4400	от -0,5710 до -0,3090	****	<0,0001
G_Zn-HA vs. G_F-ACP	-0,4700	от -0,6010 до -0,3390	****	<0,0001

Рисунок A1. Распределение значений соотношения Ca/P для каждого реминерализующего средства (CPP-ACP, Zn-HA и F-ACP) во всех временных точках наблюдения (7, 14, 21 и 28 дней). Каждая точка соответствует среднему значению Ca/P на один зуб, рассчитанному как среднее из трёх спектров ЭДС, полученных на случайно выбранных участках в пределах каждой зоны (интактной, деминерализованной и обработанной). Столбцы отражают среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD), а планки погрешностей — 95% доверительные интервалы среднего. Зоны интактной (CTRL) и деминерализованной (DEMIN) эмали показаны в качестве внутриобразцовых референсных значений. Данный рисунок иллюстрирует внутригрупповую вариабельность и дополняет Рисунки 2 и 3 в основном тексте, обеспечивая прозрачность распределения данных и доверительных интервалов.



Список литературы

1. Wang, S.; Jiang, J.; Li, J.; Mou, J.; Liu, N.; Yuan, J.; Huang, G.; Liu, J. The Global, Regional, and National Burden of Oral Disorders in 204 Countries and Territories, 1990–2021, and Projections to 2050: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Regeneration Repair Rehabil.* 2025, 1, 56–63.
2. Alhamed, M.; Almalki, F.; Alselami, A.; Alotaibi, T.; Elkwatehy, W. Effect of Different Remineralizing Agents on the Initial Carious Lesions—A Comparative Study. *Saudi Dent. J.* 2020, 32, 390–395.
3. Enrich-Essvein, T.; Benavides-Reyes, C.; Álvarez-Lloret, P.; Bolaños-Carmona, M.V.; Rodríguez-Navarro, A.B.; González-López, S. Influence of De-Remineralization Process on Chemical, Microstructural, and Mechanical Properties of Human and Bovine Dentin. *Clin. Oral Investig.* 2021, 25, 841–849.
4. Arifa, M.K.; Ephraim, R.; Rajamani, T. Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* 2019, 12, 139–144.
5. Behl, M.; Taneja, S.; Bhalla, V.K. Comparative Evaluation of Remineralization Potential of Novel Bioactive Agents on Eroded Enamel Lesions: A Single-Blinded in Vitro Study. *J. Conserv. Dent. Endod.* 2024, 27, 545–551.
6. Rajendran, R.; Nair, K.R.; Sandhya, R.; Krishnan, A.V.; Anilkumar, A.; Rakhi, P.V. Development of Strontium-Doped Nano Hydroxyapatite Dentifrice and Compare Its Remineralising Potential with a Topical Cream Containing Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate—An In Vitro Study. *Indian J. Dent. Res.* 2021, 32, 92–97.
7. Yadav, R.K.; Bharti, D.; Tikku, A.P.; Verma, P.; Shakya, V.K.; Pandey, P. Comparative Evaluation of Remineralizing Effect of Fluoride and Nonfluoride Agents on Artificially Induced Caries Using Different Advanced Imaging Techniques. *J. Conserv. Dent.* 2022, 25, 26–31.
8. Montaser, M.M.; Youssef, H.; Mahmoud, G.M. Comparison of the Remineralization Effectiveness of Three Remineralizing Agents on Artificial Enamel Lesions: An in Vitro Study. *BDJ Open* 2025, 11, 44.
9. Yan, J.; Yang, H.; Luo, T.; Hua, F.; He, H. Application of Amorphous Calcium Phosphate Agents in the Prevention and Treatment of Enamel Demineralization. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022, 10, 853436.
10. Butera, A.; Maiorani, C.; Gallo, S.; Pascadopoli, M.; Quintini, M.; Lelli, M.; Tarterini, F.; Foltran, I.; Scribante, A. Biomimetic Action of Zinc Hydroxyapatite on Remineralization of Enamel and Dentin: A Review. *Biomimetics* 2023, 8, 71.

11. Limeback, H.; Enax, J.; Meyer, F. Biomimetic Hydroxyapatite and Caries Prevention: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Can. J. Dent. Hyg.* 2021, 55, 148–159.
12. Akbeyaz Şivet, E.; Kargül, B. Remineralization of Artificial Caries Lesions Using Casein Phosphopeptide–Amorphous Calcium Phosphate Containing Probiotic Lozenge: An in Vitro Study. *BMC Oral Health* 2025, 25, 1086.
13. Rahmath Meeral, P.; Doraikannan, S.; Indiran, M.A. Efficiency of Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate versus Topical Fluorides on Remineralizing Early Enamel Carious Lesions—A Systematic Review and Meta Analysis. *Saudi Dent. J.* 2024, 36, 521–527.
14. de Oliveira, P.R.A.; Barboza, C.M.; Barreto, L.S.d.C.; Tostes, M.A. Effect of CPP-ACP on Remineralization of Artificial Caries-like Lesion: An in Situ Study. *Braz. Oral Res.* 2020, 34, e061.
15. Ciribè, M.; Cirillo, E.; Mammone, M.; Vallogini, G.; Festa, P.; Piga, S.; Ferrazzano, G.F.; Galeotti, A. Efficacy of F-ACP-Containing Dental Mousse in the Remineralization of White Spot Lesions after Fixed Orthodontic Therapy: A Randomized Clinical Trial. *Biomedicines* 2024, 12, 1202.
16. Xavier, G.D.; Thomas, G.; Jose, S.; Vivek, V.J.; Selvam, K.; Ramakrishnan, A. Comparative Evaluation of Remineralization Potential of Four Different Remineralization Agents on Human Enamel: An in Vitro Study. *J. Conserv. Dent. Endod.* 2024, 27, 29–35.
17. Monjarás-Ávila, A.J.; Hardan, L.; Cuevas-Suárez, C.E.; Alonso, N.V.Z.; Fernández-Barrera, M.Á.; Moussa, C.; Jabr, J.; Bourgi, R.; Haikel, Y. Systematic Review and Meta-Analysis of Remineralizing Agents: Outcomes on White Spot Lesions. *Bioengineering* 2025, 12, 93.
18. Reguzzoni, M.; Carganico, A.; Lo Presti, D.; Zecca, P.A.; Scurati, E.I.; Caccia, M.; Levrini, L. Assessment of the Effects of Enamel Remineralization After Treatment with Hydroxylapatite Active Substance: SEM Study. *Appl. Sci.* 2025, 15, 3.
19. Enax, J.; Amaechi, B.T.; Farah, R.; Liu, J.A.; Schulze Zur Wiesche, E.; Meyer, F. Remineralization Strategies for Teeth with Molar Incisor Hypomineralization (MIH): A Literature Review. *Dent. J.* 2023, 11, 80.
20. Vitiello, F.; Tosco, V.; Monterubbianesi, R.; Orilisi, G.; Gatto, M.L.; Sparabombe, S.; Memé, L.; Mengucci, P.; Putignano, A.; Orsini, G. Remineralization Efficacy of Four Remineralizing Agents on Artificial Enamel Lesions: SEM-EDS Investigation. *Materials* 2022, 15, 4398.
21. Tosco, V.; Vitiello, F.; Monterubbianesi, R.; Gatto, M.L.; Orilisi, G.; Mengucci, P.; Putignano, A.; Orsini, G. Assessment of the Remineralizing Potential of Biomimetic Materials on Early Artificial Caries Lesions after 28 Days: An In Vitro Study. *Bioengineering* 2023, 10, 462.
22. Vitiello, F.; Orilisi, G.; Notarstefano, V.; Furlani, M.; Riberti, N.; Bellezze, T.; Carrouel, F.; Putignano, A.; Orsini, G. A Modern Multidisciplinary Method to Characterize Natural White Spot Lesions with 2D and 3D Assessments: A Preliminary Study. *J. Pers. Med.* 2024, 14, 542.
23. WMA—The World Medical Association. WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Participants; WMA: Ferney-Voltaire, France, 2024.
24. Fernandes, N.L.S.; Juliellen, L.d.C.; Andressa, F.B.d.O.; D'Alpino, H.P.P.; Sampaio, C.F. Resistance against Erosive Challenge of Dental Enamel Treated with 1,450-PPM Fluoride Toothpastes Containing Different Biomimetic Compounds. *Eur. J. Dent.* 2021, 15, 433–439.
25. Orilisi, G.; Vitiello, F.; Notarstefano, V.; Furlani, M.; Riberti, N.; Monterubbianesi, R.; Bellezze, T.; Campus, G.; Carrouel, F.; Orsini, G.; et al. Multidisciplinary Evaluation of the Remineralization Potential of Three Fluoride-Based Toothpastes on Natural White Spot Lesions. *Clin. Oral Investig.* 2023, 27, 7451–7462.
26. Manoharan, V.; Kumar, R.K.; Sivanraj, A.K.; Arumugam, S.B. Comparative Evaluation of Remineralization Potential of Casein Phosphopeptide- Amorphous Calcium Fluoride Phosphate and Novamin on Artificially Demineralized Human Enamel: An In Vitro Study. *Contemp. Clin. Dent.* 2018, 9, S58–S63.
27. Patil, N.; Choudhari, S.; Kulkarni, S.; Joshi, S.R. Comparative Evaluation of Remineralizing Potential of Three Agents on Artificially Demineralized Human Enamel: An in Vitro Study. *J. Conserv. Dent.* 2013, 16, 116–120.
28. Zhao, J.; Liu, Y.; Sun, W.; Zhang, H. Amorphous Calcium Phosphate and Its Application in Dentistry. *Chem. Cent. J.* 2011, 5, 40.
29. İlisulu, S.C.; Gürcan, A.T.; Şişmanoğlu, S. Remineralization Efficiency of Three Different Agents on Artificially Produced Enamel Lesions: A Micro-CT Study. *J. Esthet. Restor. Dent.* 2024, 36, 1536–1546.
30. Thierens, L.A.M.; Moerman, S.; van Elst, C.; Vercruysse, C.; Maes, P.; Temmerman, L.; de Roo, N.M.C.; Verbeeck, R.M.H.; de Pauw, G.A.M. The in Vitro Remineralizing Effect of CPP-ACP and CPP-ACPF after 6 and 12 Weeks on Initial Caries Lesion. *J. Appl. Oral Sci.* 2019, 27, e20180589.

31. Moslehitabar, Z.; Bagheri, H.; Rangrazi, A.; Faramarzi Garmroodi, A.; Hodjatpanah Montazeri, A. Efficacy of an Experimental CPP-ACP and Fluoride Toothpaste in Prevention of Enamel Demineralization: An In Vitro Study on Bovine Enamel. *Int. J. Dent.* 2025, 2025, 5598592.
32. Thimmaiah, C.; Shetty, P.; Shetty, S.B.; Natarajan, S.; Thomas, N.-A. Comparative Analysis of the Remineralization Potential of CPP-ACP with Fluoride, Tri-Calcium Phosphate and Nano Hydroxyapatite Using SEM/EDX—An in Vitro Study. *J. Clin. Exp. Dent.* 2019, 11, e1120–e1126.
33. Abdullah, Z.; John, J. Minimally Invasive Treatment of White Spot Lesions--A Systematic Review. *Oral Health Prev. Dent.* 2016, 14, 197–205.
34. Puleio, F.; Fiorillo, L.; Gorassini, F.; Iandolo, A.; Meto, A.; D'Amico, C.; Cervino, G.; Pinizzotto, M.; Bruno, G.; Portelli, M.; et al. Systematic Review on White Spot Lesions Treatments. *Eur. J. Dent.* 2022, 16, 41–48.
35. Lelli, M.; Putignano, A.; Marchetti, M.; Foltran, I.; Mangani, F.; Procaccini, M.; Roveri, N.; Orsini, G. Remineralization and Repair of Enamel Surface by Biomimetic Zn-Carbonate Hydroxyapatite Containing Toothpaste: A Comparative in Vivo Study. *Front. Physiol.* 2014, 5, 333.

Отказ от ответственности / примечание издателя: утверждения, мнения и данные, содержащиеся во всех публикациях, отражают позицию исключительно отдельных авторов и соавторов и не отражают позицию MDPI и/или редакторов. MDPI и/или редакторы не несут ответственности за какой-либо вред здоровью людей или имуществу, возникший в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в содержании.