

Мандра Ю.В., Котикова А.Ю.

Применение атомно-силовой микроскопии для исследования структурных особенностей твердых тканей зубов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Екатеринбург

Mandra U.V., Kotikova A.U.

Application of atomic force microscopy for the study of structural features of hard tooth tissues

Резюме

Появление новых методов исследования позволяет изучать морфологию твердых тканей зуба на качественно новом уровне. Целью данного исследования было изучение и сравнительный анализ микроструктуры эмали интактного зуба, зуба с очагом деминерализации и повышенной стираемости с применением атомно-силовой микроскопии. Метод АСМ позволил нам получить изображения и оценить форму структурообразующих частиц эмали зуба. В ходе исследования была выявлена неоднородность исследуемых поверхностей.

Ключевые слова: эмаль зуба, атомно-силовая микроскопия, структура зуба

Summary

The emergence of new research techniques allows to study the morphology of dental hard tissues at a qualitatively new level. The aim of this research is to study and to carry out the comparative analysis of the microstructure of the enamel intact tooth, the tooth with a foci of demineralization and increased abrasion using the atomic force microscopy (AFM). The AFM method enabled us to get images and evaluate the form of core particles of the studied of the tooth enamel. The study identified the heterogeneity of the studied surfaces.

Key words: tooth enamel, atomic force microscopy, tooth structure

Введение

Эмаль зуба – это развитый иерархический биокомпозит, представленный минерализованными призмами и органическим межпризменным веществом. Эмаль обладает уникальными физико-механическими свойствами, является упругим и одновременно пластичным прочным биоматериалом [1, 2, 3].

Активное развитие экспериментальной стоматологии обосновывает ведущие направления в диагностике, лечении и профилактике заболеваний твердых тканей зубов на основе междисциплинарных исследований структурно-функциональных характеристик интактной и пораженной эмали. В настоящее время одним из эффективных методов исследования свойств поверхностей эмали и дентина на нано уровне является атомно-силовая микроскопия (АСМ). Это один из методов сканирующий зондовой микроскопии, основанный на силовом взаимодействии атомов. На расстоянии около одного ангстрема между атомами образца и атомом зонда (кантилевера) возникают силы отталкивания, а на больших расстояниях - силы притяжения. Кантилевер, перемещаясь отно-

сительно поверхности и реагируя на силовое взаимодействие, регистрирует ее рельеф [4, 5, 6].

Данный метод дает высокую контрастность изображения с высоким разрешением и является важным инструментом в качестве источника новой структурной информации [2]. Полученные характеристики твердых тканей зуба и их детализация дают возможность дальнейшего усовершенствования стоматологических материалов.

Цель исследования – изучить и сравнить микроструктуру эмали интактных зубов, с очагом деминерализации и с не кариозным поражением на примере повышенной стираемости зубов с применением атомно-силовой микроскопии.

Задачи исследования

1) Провести атомно-силовую микроскопию эмали интактных зубов, с очагом деминерализации и с не кариозным поражением на примере повышенной стираемости зубов.

2) Изучить и сравнить особенности микрорельефа эмали интактных зубов, с очагом деминерализации и с не кариозным поражением на примере повышенной стираемости зубов.

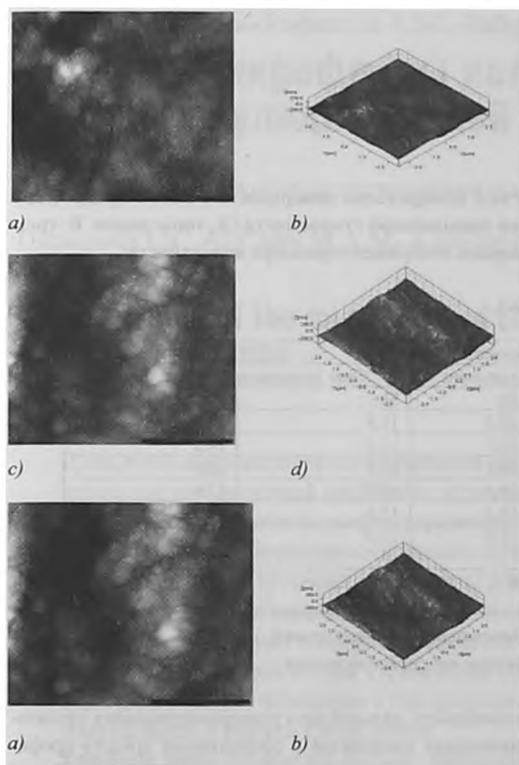


Рис.1 Изображение вестибулярной (А. топография, В. трехмерное отображение рельефа поверхности) и оральной (С. топография, D. трехмерное отображение рельефа поверхности) поверхности эмали интактного зуба.

Рис.2 Изображение поверхности эмали с очагом деминерализации (А. топография, В. трехмерное отображение рельефа поверхности).

Материалы и методы

Материалом исследования явились продольные шлифы интактных прямоляров верхней челюсти, удаленных по ортодонтическим показаниям у пациентов в возрасте от 18 до 30 лет. После удаления зубы промывались проточной водой, освобождались от мягких тканей и хранились в 0,9% изотоническом растворе хлорида натрия. Шлифы были получены путем распила коронки зуба алмазным инструментом с водяным охлаждением. Окончательную обработку поверхности проводили полировочными дисками убывающей абразивности. Размеры полученных образцов эмали составили 2x2 мм, толщина – 1,5 мм. Для сравнения были выбраны различные поверхности коронковой части зуба: вестибулярная и апроксимальная.

Измерение рельефа поверхности зубной эмали проводилось методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии (пк-АСМ) с помощью сканирующего микроскопа Asylum MFP3D (Asylum Research, США). Данный метод позволяет получать трехмерные изображения поверхности с субнанометровым разрешением по высоте. Полуконтактный режим характеризуется дополнительным условием сканирования, которое позволяет осуществить более щадящее и более тонкое исследование поверхности. Методом пак-АСМ было проведено пять измерений рельефа поверхности эмали на площади 5x5 мкм.

Для управления сканирующим зондовым микроскопом Asylum MFP3D и получения изображений топографии поверхности образцов была использована программа IgorPro (Asylum Research, США).

Для цифровой обработки и анализа полученных изображений использовалась программа SPIP (SPIP, Дания).

Результаты и обсуждение

Метод пак-АСМ позволил нам получить изображения и оценить форму структурообразующих частиц вестибулярной и апроксимальной поверхностей интактного зуба.

При визуальном анализе изображений установлено, что эмаль интактного зуба имеет единую структуру. Ее поверхность гладкая, но микрорельеф неоднороден: определяются впадины и крупные наросты, которые занимают значительную площадь изображения и являются кристаллами гидроксипатита (рис.1 А, С).

Сравнение полученных результатов показало, что апроксимальная поверхность отличается от вестибулярной размерами неоднородностей (Рис.1 В, D). Плотность упаковки кристаллов гидроксипатита на вестибулярной поверхности выше, чем на апроксимальной.

При топографическом анализе микроструктуры эмали интактных и пораженных зубов выявлены значительные различия. На зубах с очагом деминерализации имеется изменение микрорельефа: увеличение пористости поверхности за счет расширения и разрушения межпризмных пространств, деструкции и утраты четкости «рисунка» расположения эмалевых призм (рис.2 А, В).

При ранних проявлениях повышенной стираемости определяется микропористое строение эмали с неглубокими каналами, нечеткость кристаллической структуры, размытость контуров эмалевых призм и межпризмных пространств, сглаженность рельефа поверхности (рис.3 А, В).

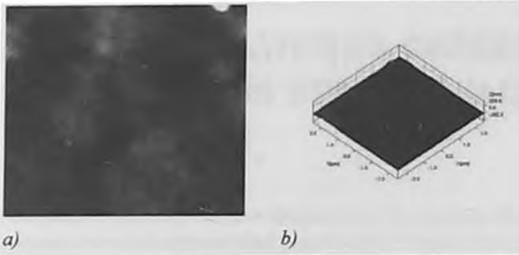


Рис.3 Изображение поверхности эмали с проявлениями повышенной стираемости (А. топография, В. трехмерное отображение рельефа поверхности).

Таблица 1.

№ Измерения	Шероховатость эмали, нм					
	Интактный зуб		Очаг деминерализации		Очаг повышенной стираемости	
	Sa	Sq	Sa	Sq	Sa	Sq
1	10,3	13,7	19,1	24,3	11,8	14,5
2	11,5	14,4	18	23,1	11,4	14,2
3	12,4	16,8	21	26,1	12,5	16,8
4	13,1	15,2	18,9	19,4	13,7	17,6
5	12,8	16,4	17,1	18,8	15,6	19,2
Среднее значение, нм	11,8	15,5	17,0	21,7	13,0	16,4
Δ, нм	1,0	1,6	3,4	4	1,7	2,0

Sa - среднеарифметическое отклонение от среднего уровня.

Sq - среднеквадратичное отклонение от среднего уровня.

Визуальная оценка полученных данных является субъективной. Для количественной оценки параметров из изображений топографии были рассчитаны значения шероховатости, приведенные в таблице 1.

Закдлючение

При помощи метода атомно-силовой сканирующей микроскопии была детально изучена микроструктура эмали зуба. При топографическом и профилометрическом анализе выявлены значительные различия микро рельефа эмали интактных зубов, с очагом деминерализации и с очагом повышенной стираемости. Полученные характеристики твердых тканей зуба и их детализация дают

возможность дальнейшего усовершенствования стоматологических материалов и эффективных средств профилактики комплексной патологии твердых тканей зубов.■

Мандра Юлия Владимировна, профессор, д.м.н., проректор по научной работе и инновациям, заведующая кафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний, ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России, г. Екатеринбург; Котикова Анастасия Юрьевна, врач стоматолог стоматологической поликлиники ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России, г. Екатеринбург, Автор, ответственный за переписку - Котикова Анастасия Юрьевна, тел. 8(982)7003912. E-mail: nastya.kotikova@mail.ru.

Литература:

1. Зайцев Д.В., Бузова Е.В., Панфилов П.Е. Прочностные свойства дентина и эмали. /Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2010. Т. 15. № 3-2. С. 1198-1202.
2. Laura Emma Rodriguez-Vilchis, Rosalía Contreras-Bulnes, Oscar Fernando Olea-Mejía, Ignacio Sánchez-Flores, and Claudia Centeno-Pedraza. Morphological and Structural Changes on Human Dental Enamel After Er:YAG Laser Irradiation: AFM, SEM, and EDS Evaluation. Photomedicine and Laser Surgery. July 2011. 29(7): 493-500.
3. Lawn, B.R. Teeth: Among Nature's Most Durable Biocomposites/ B.R. Lawn, J.W. Lee, H. Chai// Annu Rev. Mater.Res.-2010.-№40.-P.55-75.
4. Marco Salerno and Alberto Diaspro. Dentistry on the bridge to nanoscience and nanotechnology. Front. Mater., 18 March 2015.
5. Uroš Maver, Tomaž Velnar, Miran Gaberšček, Odon Planinšek, Matjaž Finšgar. Recent progressive use of atomic force microscopy in biomedical applications. Trends in Analytical Chemistry 80 (2016) 96–111.
6. J. Seifert, J. Rheinlaender, P. Novak, Y.E. Korchev, T.E. Schaffer. Comparison of atomic force microscopy and scanning ion conductance microscopy for live cell imaging, Langmuir 31 (2015) 6807–6813.