

# Оценка морфоструктурных изменений при повышенной стираемости зубов по данным оптической электронной и атомной силовой микроскопии

Ю. В. Мандра, С. Л. Вотьяков, Д. В. Киселева

ГОУ ВПО УГМА Росздрава; Кафедра пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний, кафедра терапевтической стоматологии, Институт геологии и геохимии им. А. Н. Заварицкого УрО АН РФ, г. Екатеринбург

## Резюме

Проведенное экспериментальное исследование 128 образцов зубов жителей Уральского региона свидетельствует об информативности методов оптической электронной и атомной силовой микроскопии для изучения морфоструктурных изменений дентина при повышенной стираемости зубов. Обнаруженные с применением нанотехнологий отличия строения дентина интактных зубов и зубов с проявлениями повышенной стираемости следующие: облитерированность, гиперминерализация, выпадение нанокристаллов в просвет трубочек, повышение микротвердости. Выявленные особенности наноструктуры свидетельствуют о необходимости дифференцированного подхода к выбору пломбирочных материалов и метода эстетико-функциональной реставрации зубов.

**Ключевые слова:** повышенная стираемость, электронное микрозондирование, атомная силовая микроскопия.

Технология использования современных пломбирочных материалов предусматривает обработку активными химическими веществами твердых тканей зуба. Известно, что микростроение минеральной компоненты твердых тканей зуба влияет как на силу сцепления между пломбирочным материалом и зубом, так и на качество формируемой гибридной зоны. Процессы де- и реминерализации тканей зуба, наблюдающиеся после наложения пломбирочного материала, существенно сказываются на долговечности пломбы, хорошей маргинальной адаптации, соответствии реставрационной работы клиническим и эстетическим оценочным критериям. Количественные и качественные показатели микро- и наноструктуры твердых тканей зубов, а также процессы, происходящие при этом в эмали и дентине при повышенной стираемости, остаются на сегодня

нышний день практически не изученными. Также в доступной литературе не обнаружено работ, обосновывающих выбор пломбирочных материалов при реставрации зубов с учетом морфоструктурных проявлений повышенной стираемости [1, 2, 3].

Можно предположить, что появление наноуполненных адгезивных систем и композиционных материалов (ADPER Single bond 2 — Filtek Supreme XT//3M ESPE, Prime&Bond NT — EstetX Improved//Dentsply), способных взаимодействовать с тканями зуба и встраиваться в их структуру на наноуровне, позволит решить данную проблему. Функциональные мономеры адгезивной системы вступают в реакцию с гидроксиапатитом и формируют наноинтерактивную гибридную зону. Кроме того, наноуполненные материалы, имея достаточную прочность к окклюзионной нагрузке, позволяют сохранить полировочный блеск реставрации в течение длительного времени, воспроизвести анатомические особенности, цветовые нюансы и прозрачность твердых тканей зуба [4, 5, 6].

В этом аспекте нам представляется актуальной интегральная оценка морфологических особенностей строения твердых тканей зубов при повышенной стираемости с применением современных экспериментальных микроскопических методов исследования. Наиболее распространенной для изучения структуры биосистем

Ю. В. Мандра — к. м. н., доцент, зав. кафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

С. Л. Вотьяков — член-корреспондент РАН, профессор, д. г.-м. н., зав. лабораторией физико-химических методов исследования Института геологии и геохимии им. А. Н. Заварицкого Уральского Отделения РАН;

Д. В. Киселева — к. г.-м. н., научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования Института геологии и геохимии им. А. Н. Заварицкого Уральского Отделения РАН.

традиционно считается электронная микроскопия. Просвечивающая электронная микроскопия использует волновые свойства движущихся электронов с целью получить изображения изучаемого объекта с высоким разрешением. С применением данного метода изучены особенности микроструктуры молочных и постоянных зубов различных возрастных групп [7,8]. Сканирующая электронная микроскопия предоставляет возможность изучения биомолекул в суб-нанометровом разрешении, так как поверхность образца исследуется с помощью очень тонкого луча диаметром всего в несколько ангстрем. Процесс формирования гибридной зоны при пломбировании различными композиционными материалами и адгезивными системами изучен благодаря применению данной методики микроскопии [9].

Наиболее перспективным методом микроскопии, позволяющим получить изображения в атомном и нанометровом масштабе, на сегодняшний день является атомная силовая или сканирующая зондовая микроскопия (АСМ). Зондовые сканирующие микроскопы генерируют изображения образца с высоким разрешением путем его сканирования с помощью микроскопических механических, электрических, оптических, тепловых и иных зондов. Зонд расположен на свободном конце миниатюрного кантилевера. Он измеряет слабые силы взаимодействия, возникающие между острием и поверхностью образца, определяя изменения в отражении лазерного луча. Изображение рельефа поверхности регистрируется с помощью подвижного пьезоэлектрического предметного столика, который перемещает либо образец над острием, либо острие над поверхностью образца. АСМ является полезным методом изучения структуры белков, ДНК человеческого организма для понимания их структуры и физических свойств, используемым в геной инженерии.

В доступной литературе мы не обнаружили публикаций по применению данного метода для изучения морфологической структуры твердых тканей зуба при патологических процессах [10].

## Материал и методы экспериментального исследования

Материалом для экспериментального исследования служили образцы 16 зубов (128 образцов) пациентов различных возрастных групп, проживающих в Уральском регионе и имеющих проявления повышенной стираемости зубов первой-третьей степени; контрольную группу составили образцы интактных зубов, удаленных по ортопедическим и ортодонтическим показаниям.

**Исследование микроструктуры и свойств поверхности эмали и дентина** проводилось с использованием АС микроскопии на приборе Explorer™ (фирма ThermoMicroscopes); изучались поверхности продольных сечений зубов толщиной 1-1,5 мм, подготовленные с использованием низкоскоростной бормашины и алмазного сепарационного диска; для шлифовки применялись гибкие абразивные диски.

АС микроскопические исследования зубов выполнены на базе специализированной лаборатории на основе нанотехнологий Уральского государственного университета (рук. — профессор, д. ф.-м. н. Шур В. Я., г. Екатеринбург).

**Оптическая, электронная микроскопия** проводилась на электронно-зондовом микроанализаторе SX 100 (фирма Camesa). Для проведения анализа специальные шашки с зафиксированными в эпоксидной смоле пришлифованными продольными сечениями зубов напылялись углеродом; анализ выполнен при ускоряющем напряжении 15 кВ и силе тока 40 нА; в качестве стандартных образцов использовались природные минералы — фтор- и хлорапатит, доломит, альбит и ангидрит. Микрофотографии различных участков зубных тканей получены с использованием режима вторичных электронов с напряжением 20 кВ.

Оптическая электронная микроскопия выполнена на базе Института геологии и геохимии УрО РАН (рук. — член-корреспондент РАН, д.г.-м.н. Вотьяков С. Л., г. Екатеринбург).

## Результаты экспериментального исследования

**Особенности микроструктуры эмали и дентина по данным оптической, электронной и атомно-силовой микроскопии.** В образцах интактных резцов и резцов с повышенной стираемостью исследованы четыре основные зоны (см. цв. вкладку рис. 1), хорошо выделяющиеся визуально и представляющие наибольший интерес в связи с происходящими в них изменениями при развитии процесса склерозирования: I — эмаль, II — поверхностный (плащевой) дентин, III — глубокий (околопульпарный) дентин, IV — новообразованный склерозированный дентин, развивающийся в полости зуба при повышенной стираемости. Детальные изображения перечисленных зон в двух зубах представлены на изображениях в режиме микроскопии вторичных электронов слева и справа на рис. 1 (см. цв. вкладку) (микроанализатор SX 100). Видно, что зуб с повышенной стираемостью характеризуется неоднородной зернистой структурой плащевой дентина (б, участки 3-5); четко выделяется зона зарастания высокоминерализованным склерозированным дентином (б, участки 7-8); видны различия в направле-

нии роста кристаллов интактного околопульпарного дентина в зонах, непосредственно примыкающих к пульпарной камере (а, участки 8-9).

На рис. 2 (см. цв. вкладку) представлены фотографии, демонстрирующие особенности топографии (рельефа) поверхности интактных зубов и зубов, имеющих проявления повышенной стираемости, полученные с использованием АС микроскопии. Дентин построен из основного вещества (коллагеновые фибриллы, минеральные фазы — гидроксиапатиты, фосфаты, карбонаты, фториды кальция, склеивающее вещество — гиалуроновая кислота, гликозаминогликаны) с пронизывающими его трубочками, в которых расположены отростки одонтобластов и окончания нервных волокон, проникающих из пульпы. Межканальцевое вещество наиболее высокоминерализовано, имеет высокую плотность и значительную твердость. Дентинные трубочки начинаются от внутренней поверхности дентина и доходят до эмалево-дентинной границы. В веществе дентина трубочки распределены неравномерно; во всех зубах наибольшее количество трубочек расположено в зоне, прилежащей к пульпе (околопульпарный дентин), а по мере удаления от пульпы их количество уменьшается. Все это достаточно наглядно проявляется на фотографиях, полученных с использованием АС микроскопии (см. цв. вкладку рис. 2-3).

В интактных зубах диаметр трубочек варьирует от 0,5-1 до 2-2,5 мкм, ширина межканальцевой зоны — от 4 до 8 мкм. Максимальный диаметр и количество трубочек — в околопульпарном дентине, минимальные значения — в поверхностных слоях дентина. В промежуточном слое плащевого дентина диаметр трубочек шире, чем в поверхностной зоне, но их количество меньше, чем в глубоком дентине. Поверхность дентина имеет неровные очертания вследствие выпуклостей и кратерообразных впадин; устья трубочек расположены, как правило, в центре этих впадин; стенки дентинных трубочек — неровные, что обусловлено выступанием отдельных нанокристаллов минералов в их просвет, а также микропорами в стенках, служащими для обмена между трубочкой и межканальцевой зоной. По ходу трубочки имеют ответвления меньшего диаметра (см. цв. вкладку рис. 2 в, г, д).

В зубах с проявлениями повышенной стираемости диаметр трубочек и их количество меньше как в поверхностном (в 3,8 раза), так и в среднем слое (в 2,2 раза); нечетко выражена ориентация трубочек, поверхность имеет уплощенный сглаженный рельеф. Однородность структуры дентина связана, вероятнее всего, с включениями инородных веществ, пигментов из полости рта через обнаженную поверхность

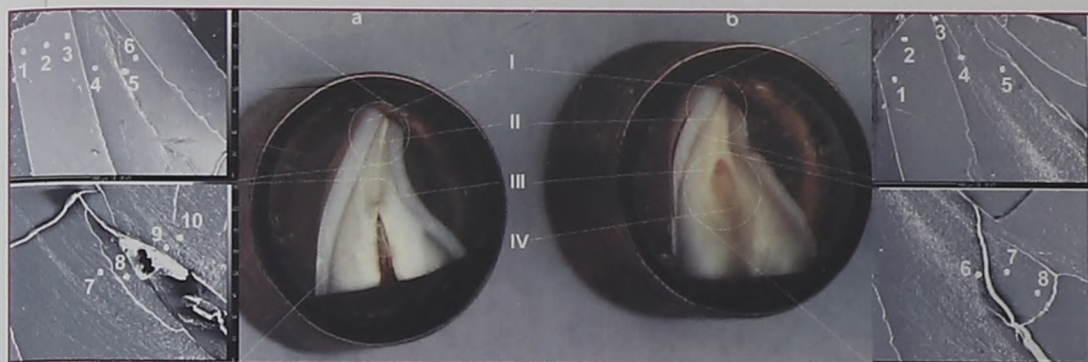
дентина в фасетке стирания, а также защитной функцией пульпы и активизацией синтеза заместительного (иррегулярного) дентин. Просвет поверхностных канальцев при этом уменьшается или даже полностью облитерируется. Расширяются зоны гиперминерализации вокруг дентинных трубочек, связанные с плотным расположением минеральных кристаллов и глобул, увеличивается микротвердость поверхностного слоя. В более глубоких слоях патологические изменения менее выражены. Строение дентина напоминает 2 и 3 слои здорового дентина, однако, просвет дентинные трубочек все же несколько меньше (до 0,5 мкм) (см. цв. вкладку рис. 2 е, ж, з).

Таким образом, экспериментально выявленные морфоструктурные изменения твердых тканей зубов свидетельствуют о необходимости дифференцированного подхода к эстетико-функциональной реставрации при повышенной стираемости и требуют обоснованного выбора реставрационных материалов.

Работа выполнена в рамках программы Президиума Российской академии наук «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУКИ — МЕДИЦИНЕ», а также в рамках программы № 18 фундаментальных исследований Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы» и при финансовой поддержке РФФИ (грант 07-05-00097), гранта Президента РФ «Поддержка ведущих научных школ» НШ-4210.2006.5 и гранта Минобрнауки РНП.2.1.1.1840.

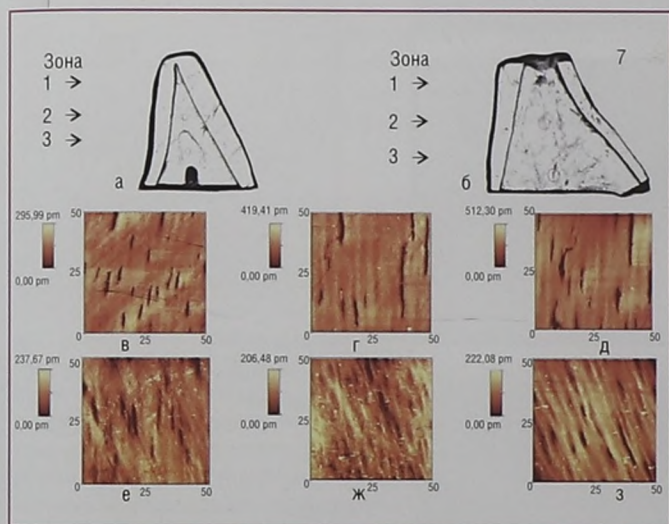
## Литература

1. Каламбаров Х. А. Ортопедическое лечение патологической стираемости твердых тканей зубов. М. Медицинское информационное агентство. 2004; 176 с.
2. Макеева И. М., Шелеметьева Г. И., Туркина А. Ю. Отдаленные результаты восстановления фронтальных зубов композитными материалами светового отверждения. - *Стоматология*. 2002; 5: 41-44.
3. Радлинский С. В. Восстановление длины передних зубов. *Дент Арт*. 2003; 1: 27-38.
4. Дубова М. А., Салова А. В., Хиора Ж. П. Расширение возможностей эстетической реставрации зубов. Нанокompозиты. Санкт-Петербург, 2005; 144 с.
5. Ломишвили Л. М., Аюпова Л. Г., Махорин С. В. Художественная реставрация — это наука или искусство? *Маэстро стоматологии*. 2002; 5: 84-90.
6. Николаев А. И., Цепов Л. М., Адамов П. Г. Физико-механические свойства современных пломбирочных материалов. «Сухой блеск» и прочность композитов-Маэстро стоматологии. 2003; 3: 28-32.
7. Цимбалистов А. В., Пихур О. Л., Франк-Каменецкая О. В., Голубцов В. В., Плоткина Ю. В. Результаты исследования морфологического строения, химического состава и параметров кристаллической решетки апатитов твердых тканей зубов. *Институт стоматологии*. 2004; 2: 60-63.
8. Elliott J. C. Calcium phosphate biominerals. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. Phosphates. Editors Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. 2002; 48: 427-453.
9. Ogi K., Uno S., Inoue T., Noda M., Hashimoto M. Новое слово в адгезивных технологиях. Эффективность G-Bond и наноинтерактивной зоны (NIZ). *Проблемы стоматологии*, 2006; 3: 69-72.
10. Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем. М., Техносфера, 2005; 256 с.



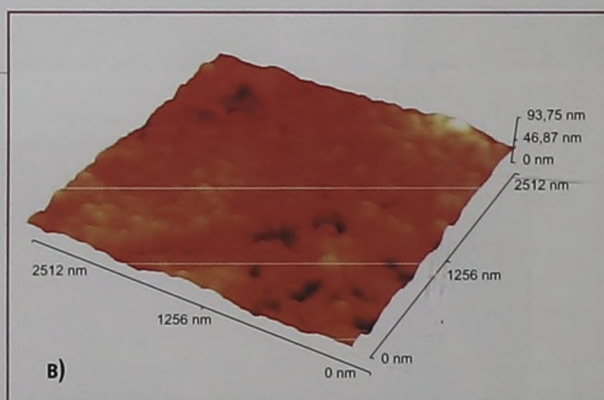
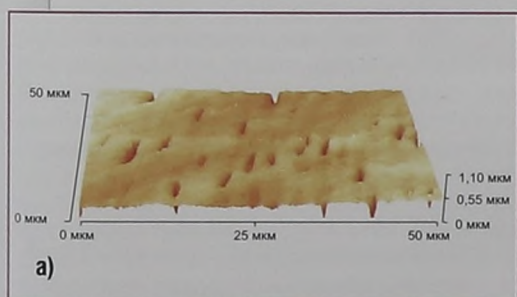
**Рисунок 1.**

Точки опробования твердых тканей интактного зуба (а) и зуба с проявлениями стираемости первой степени (б) на изображении в центре и микрофотографии отдельных зон зубов, полученные в режиме микроскопии вторичных электронов на микроанализаторе SX 100. I — эмаль, II — поверхностный (плащевой) дентин, III — глубокий (околопульпарный) дентин, IV — склерозированный дентин



**Рисунок 2.**

Топография поверхности, полученная на оптическом (а, б) и АС микроскопе (в-з) для интактного резца (а, в-д, зоны 1-3, соответственно) и резца с проявлениями повышенной стираемости первой степени (б, е-з, зоны 1-3, соответственно)



**Рисунок 3.**

Объемное изображение поверхности, полученное на АС микроскопе для интактного резца (а, б, зона 3) и резца с проявлениями повышенной стираемости первой степени (в, зона 3)

