

УДК 616-079.6

Морфоструктура, микрорельеф, качественный и количественный состав поверхности зубов при ранней стадии повышенной стираемости

Мандра Ю. В.¹, Легких А. В.¹, Киселева Д. В.²

¹ ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия

² Институт геологии и геохимии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

Проведена рамановская спектрометрия 30 образцов зубов с исследуемыми патологическими процессами: интактная эмаль (контроль), повышенная стираемость в пределах эмали, кариес в пределах эмали. Выявлено, что для кариозных тканей среднее соотношение минерал/органическая матрица составляет 0.31, а для тканей с повышенной стираемостью – 0.64. При развитии кариеса уменьшается содержание минеральной компоненты (уменьшается линия фосфата) и появляются широкие линии органических составляющих, а также увеличивается люминесцентный фон. Все исследованные образцы состоят преимущественно из карбонат-апатита, замещенного по В-типу, максимальное количество которого характерно для интактной эмали, минимальное – для кариозной ткани; промежуточное положение занимают ткани с повышенной стираемостью. Кариозные ткани характеризуются наибольшим содержанием разупорядоченного фосфата – замещения А-типа (карбонат-ионы замещают гидроксил-ионы) или присутствие аморфного фосфата кальция. Таким образом, сопоставление качественной и количественной оценки состава минеральной составляющей патологии твердых тканей зубов определяет персонализированный подход к лечению и профилактике прогрессирования раннего кариеса и повышенной стираемости зубов.

Ключевые слова: рамановская спектроскопия, повышенная стираемость зубов, оценка минерализации твердых тканей зубов, лечение, профилактика.

Адрес для переписки:

Мандра Юлия Владимировна
ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России
620026, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3
Тел.: +7 (343) 2148679
E-mail: jmandra@mail.ru

Correspondence address:

Mandra Julia Vladimirovna
Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia
620026, Yekaterinburg, Repin Str., 3
Phone: 7 (343) 2148679
E-mail: jmandra@mail.ru

Образец цитирования:

Мандра Ю. В., Легких А. В., Киселева Д. В.
«Морфоструктура, микрорельеф, качественный и количественный состав поверхности зубов при ранней стадии повышенной стираемости».
Проблемы стоматологии, 2016, Т. 12, № 2. С. 30-35.
doi: 10.18481/2077-7566-2016-12-2-30-35
© Мандра Ю. В. и соавт., 2016

For citation:

Mandra J. V., Legkih A. V., Kiseleva D. V.
«Morfology, microstructure, microrelief, qualitative and quantitative composition of the teeth surface with early attrition».
The actual problems in dentistry,
2016, Vol. 12, № 2, pp. 30-35.
DOI: 10.18481/2077-7566-2016-12-2-30-35

Morfology, microstructure, microrelief, qualitative and quantitative composition of the teeth surface with early attrition

Mandra Y. V.¹, Legkih A. V.¹, Kiseleva D. V.²

¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

² Institute of Geology and Geochemistry of the Ural Branch of Russian Academy of Science, Yekaterinburg, Russian Federation

The summary

Research by means of Raman spectrometry 30 teeth samples with pathological elements: early teeth attrition within the enamel, caries within the enamel, the intact enamel (control) was made. For caries average ratio of mineral/organic matrix is 0.31, and for fabrics with high abrasion – 0.64. With the development of caries decreased mineral content of the components (reduced phosphate line) and there are broad line of organic compounds, as well as increased fluorescent background. All the investigated samples consist mainly of carbonate-apatite substituted by B-type, the maximum amount of which is characteristic of the intact enamel, minimum – for carious tissue; intermediate position occupied by the fabric with high abrasion. Carious tissue characterized highest content disordered phosphate – A-type substitution (carbonate ions replace hydroxyl ions) or presence of amorphous calcium phosphate. Comparison of qualitative and quantitative assessment of the composition of the mineral component of the pathology of hard tissues of teeth defines a personalized approach to treatment and prevention of the progression of diseases of hard tissues of the teeth.

Key words: raman spectroscopy, tooth attrition, mineralization degree assessment, treatment, prevention.

Введение

На сегодняшний день повышенная стираемость зубов (ПСЗ) становится одним из самых распространенных стоматологических заболеваний [1]. Наиболее частыми причинами развития ПСЗ являются механическая перегрузка зубов, функциональная недостаточность твердых тканей эмали и дентина, морфологическая их неполноценность, химическое воздействие, профессиональные вредности [2]. Эпидемиологические обследования различных авторов показывают значительную распространенность повышенной стираемости зубов [3], отмечая увеличение распространенности заболевания в развитых странах более 30% [Bartlett D., 2007, Salas M. M., 2015].

Клиническая картина развившихся стадий ПСЗ подробно освещена в современной литературе, в то время как проявления и морфоструктурные изменения твердых тканей зубов на начальных стадиях патологического процесса остаются пока недостаточно изученными, несмотря на обилие

новых высокочувствительных физико-химических методов исследования [3].

В этом аспекте нам представляется актуальной интегральная оценка морфологических особенностей строения и микроэлементного состава твердых тканей зубов при ПСЗ с применением современных экспериментальных физико-химических методов исследования с целью разработки новых методов диагностики и лечения заболевания, обоснования выбора пломбировочных материалов.

Одним из перспективных методов физико-химического исследования твердых тканей зубов является рамановская спектроскопия. В биологических тканях рамановская спектроскопия фиксирует молекулярные и ионные колебания минеральных соединений, определяющих химический состав твердых тканей зубов, таких как фосфат, карбонат и гидрофосфат-ионы, а также многочисленные колебания от органического компонента – белковых включений. На спектрах симметричные колебания молекул или ионов являются самыми интенсивными, в том числе

линия симметричного валентного колебания $\text{PO}_4^{3-} (\nu_1)$ в спектре минерализованной ткани. Ее особенностью является высокая чувствительность к минеральному окружению: частота и форма этой линии зависят от локального окружения и изменяются вследствие ионных замещений и изменения степени кристалличности.

Интерпретация спектров минерализованной ткани проводится с различных позиций. Во многих ранее проведенных методом рамановской спектроскопии исследованиях апатитовых тканей и синтетических апатитов частота линии $\text{PO}_4^{3-} (\nu_1)$ связывалась с составом окружающего минерала [5]. Известны работы с использованием рамановского спектрометра по картированию молекулярных группировок минеральной и органической компоненты зуба человека: распределение органических веществ оценивалось по валентному колебанию связи С-Н в области 2880-2700 см^{-1} , фосфат- и карбонат-ионов – по симметричным валентным колебаниям ν_s (PO) при 961 см^{-1} и ν_s (CO) при 1070 см^{-1} [4].

Цель работы – определение морфологии и микрорельефа твердых тканей зубов человека, качественная оценка изменения минерального состава зубов при ранней стадии кариозного поражения и повышенной стираемости зубов.

Материалы и методы

Объект исследования – 30 зубов (рис. 1), удаленных по медицинским показаниям. В области режущего края зубов определяются фасетки стираемости в пределах эмали, на контактной поверхности отмечается наличие полости в пределах эмали. Поверхность зубов была очищена с использованием циркулярной щетки и пасты Detartrine (Septodont). С использованием прямого наконечника и алмазного диска с водяным охлаждением из каждого зуба было изготовлено по три образца размером 2x1x1 см с сохранением исследуемых



Рис. 1.
Экспериментальный образец – зуб 2.1

патологических элементов: интактная эмаль (контроль), патологическая стираемость в пределах эмали, кариес в пределах эмали.

Измерения проведены на рамановском спектрометре LabRam HR Evolution (ИГГ УрО РАН) с основными характеристиками: спектральный диапазон 200-2000 см^{-1} ; лазер возбуждения 632 нм; используемые объективы 50x и 100x.

Оцифрованные спектры обработаны в программе PeakFit V. 4.11, произведена коррекция базовой линии, сглаживание спектров, разложение суммарных пиков на элементарные составляющие.

Произведено разложение суммарного пика PO_4^{3-} в области 940-975 см^{-1} на три элементарные составляющие (950, 960 и 967 см^{-1}), описываемые произведением элементарных функций Лоренца и Гаусса были приписаны разупорядоченному фосфату, фосфату В-типа и кристаллическому незамещенному апатиту [4].

Результаты и обсуждение

Линия симметричного валентного колебания $\text{PO}_4^{3-} (\nu_1)$ является самой интенсивной в спектре минерализованной ткани. Ее особенностью является высокая чувствительность к минеральному окружению: частота и форма этой линии зависят от локального окружения и изменяются вследствие ионных замещений и изменения степени кристалличности. Частота линии $\text{PO}_4^{3-} (\nu_1)$ связывалась с составом окружающего минерала. В общем случае, в костной и зубной ткани полоса фосфата ν_1 является суперпозицией всех трех составляющих; обычно она имеет несимметричную форму из-за вклада колебаний разупорядоченного фосфата и незамещенного гидроксиапатита. Принято классифицировать апатитовое окружение с использованием трех широких категорий с различными частотами соответствующих линий. В замещенном карбонат-апатите В-типа (карбонат-ионы замещают фосфат-ионы в решетке апатита) фосфатная линия ν_1 проявляется в диапазоне 955-959 см^{-1} . В кристаллическом незамещенном гидроксиапатите линия ν_1 сдвигается в область 962-964 см^{-1} . И, наконец, линия с частотой 945-950 см^{-1} свидетельствует о наличии разупорядоченной фосфатной решетки апатита [5].

Область 1065-1070 см^{-1} соответствует колебаниям карбонат-иона В-типа. Для оценки

отношения фосфат/карбонат принято использовать отношения интенсивностей соответствующих пиков рамановского спектра: 959 см^{-1} для PO_4^{3-} и 1070 см^{-1} для CO_3^{2-} , причем можно использовать как отношение амплитуд пиков, так и их площадей.

Область $1400\text{--}1800\text{ см}^{-1}$. Колебания органической матрицы в данной области обусловлены в основном двумя разновидностями связей: колебания связей -CO-NH- , формирующих белковую основу, и колебания, связанные с боковыми цепочками аминокислот. На рамановских спектрах наиболее ярко проявляются пики белковых связей амидной группировки -CONH_2 , имеющей 9 колебательных мод: амид I ($1655\text{--}1675\text{ см}^{-1}$), который представляет собой главным образом валентное колебание C=O ; амид II (1560 см^{-1} , деформационное колебание N-H , валентное C-N); амид III ($1240\text{--}1260\text{ см}^{-1}$, валентное C-N , деформационное N-H).

Как видно из визуального сопоставления спектров, интактная эмаль характеризуется низким фоном, явно выраженными линиями неорганической составляющей (фосфат, карбонат-ионов). На спектрах кариозной зубной ткани и ткани с повышенной стираемостью зафиксирован высокий фон от люминесценции деминерализованных участков, появляются широкие линии от органической составляющей, причем для повышенной стираемости наблюдается низкоинтенсивный пик PO_4^{3-} .

Можно проследить изменение рамановских спектров при развитии кариеса: на рисунке 2 видно, что при приближении к кариозной полости уменьшается линия фосфата (минеральной компоненты) и появляются широкие линии органических составляющих, а также увеличивается люминесцентный фон.

Числовые показатели разложенного суммарного пика PO_4^{3-} приведены в таблице 1.

Исходя из данных таблицы, вможно сделать вывод, что во всех исследованных образцах преобладает апатит, в решетке которого карбонат-ионы замещают фосфат-ионы (В-тип). Содержание апатита В-типа уменьшается в ряду повышенная стираемость – кариес до $55,6\%$ и $50,2\%$ соответственно. Для кариеса характерно наибольшее содержание разупорядоченного фосфата, для тканей с повышенной стираемостью – наименьшее.

Для образцов с проявлениями кариеса и повышенной стираемости было рассчитано

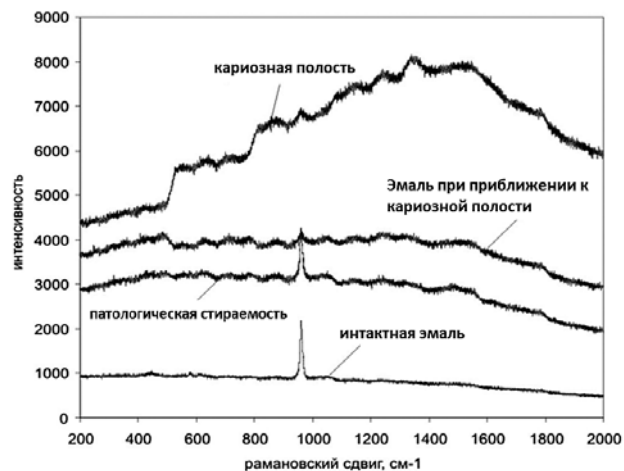


Рис. 2. Изменения на рамановских спектрах, фиксирующиеся при приближении к кариозной полости

Таблица 1

Числовые показатели разложенного суммарного пика PO_4^{3-}

	Доля разупорядоченного фосфата, %	Доля фосфата В-типа, %	Доля кристаллического незамещенного апатита, %
Интактная эмаль	13,6	73,3	13,0
	8,5	75,2	16,3
	18,3	72,0	9,7
	8,3	80,8	10,9
	8,5	82,7	8,8
	18,4	76,1	5,6
	8,0	79,2	12,7
	14,7	75,3	10,0
	21,5	64,3	14,2
среднее	13,3	75,4	11,2
Кариес эмали	29,1	59,3	11,7
	57,8	33,4	8,8
	13,6	57,0	29,4
	7,7	44,6	47,8
	8,0	56,6	35,5
среднее	23,2	50,2	26,6
Повышенная стираемость в пределах эмали	11,3	85,9	2,8
	5,9	25,4	68,7
среднее	8,6	55,6	35,7

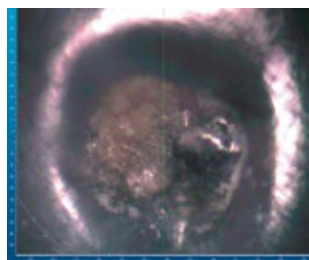


Рис. 3. Фотография экспериментального образца под увеличением $\times 50$. Дефект твердых тканей в пределах эмали размером $90 \times 90 \mu\text{m}$

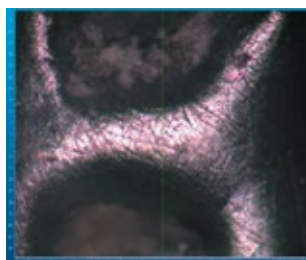


Рис. 4. Дефект твердых тканей зуба при повышенной стираемости «Эмалевый кратер» – $100 \times 90 \mu\text{m}$. Увеличение $\times 50$

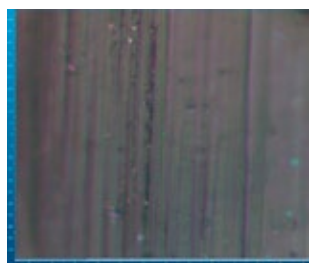


Рис. 5. Поверхность интактной эмали под увеличением $\times 100$

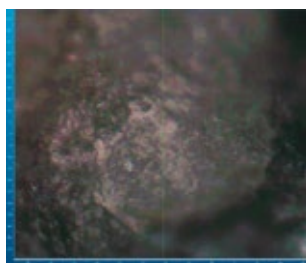


Рис. 6. Кариозная полость в пределах эмали. Увеличение $\times 50$

отношение минерал/органическая матрица; на спектрах интактной эмали пиков от органической составляющей не зафиксировано. Для кариозных тканей среднее соотношение минерал/органическая матрица составило 0.31, а для повышенной стираемости – 0.64.

На рисунках 3, 4 можно увидеть поверхность эмали в области фасеток стирания экспериментального образца под увеличением $\times 50$. Определяются дефекты округлой формы в пределах эмали, морфологически сходные с формой воронки. Размер дефекта – $90 \times 90 \mu\text{m}$. Эмалевый гребень на протяжении всего периметра воронки сохранен. Уровень минерализации тканей в области гребня эмали и дна «воронки» значительно отличается.

При увеличении $\times 100$ возможна более детальная визуализация микрорельефа поверхности. Интактная эмаль (рис. 5) выглядит как поверхность однородная, гомогенная, без нарушения целостности структуры с четким рисунком поверхности эмалевых призм. При начальном кариозном процессе (рис. 6) поверхность эмали неоднородная, структура эмали нарушена. В центре фотографии определяется участок повышенной

минерализации – часть сохраненной эмали, по периферии участка затемнения – зоны деминерализации эмали.

Детальное описание морфологии микрорельефа поверхности твердых тканей зубов при патологической стираемости и кариозном процессе параллельно с оценкой уровня минерализации каждой исследуемой точки проведено при увеличении $\times 50$ (табл. 1). Оценивая уровень изменения минерализации твердых тканей зуба при кариесе, можно говорить о явлении деминерализации: высокая доля разупорядоченного фосфата, резкое уменьшение фосфата В-типа и соотношения минерал/органической матрицы.

При оценке изменения уровня минерализации твердых тканей зуба при начальной стадии патологической стираемости отмечена дисминерализация: повышение доли кристаллически-замещенного апатита, незначительное снижение фосфата В-типа и уменьшение концентрации фторида более чем на 50%. Ранние проявления повышенной стираемости зубов, описанные в настоящем исследовании, коррелируют с химико-механической теорией механизма возникновения заболевания и ранее установленными признаками: увеличением адсорбционной воды эмали в 2,5 раза, уменьшением органической составляющей дентина на 15,8%, снижением фторидов (на 52,9%), искажением симметрии тетраэдра PO_4^{3-} , изменением кристалличности структуры с изоморфными и изоионными замещениями решетки гидроксиапатитов [3].

Заключение

Таким образом, все исследованные образцы зубов состоят преимущественно из карбонат-апатита, замещенного по В-типу, максимальное количество которого характерно для интактной эмали, минимальное – для кариозной ткани; промежуточное положение занимают ткани с повышенной стираемостью. Кариозные ткани характеризуются наибольшим содержанием разупорядоченного фосфата – замещения А-типа (карбонат-ионы замещают гидроксил-ионы) или присутствие аморфного фосфата кальция. Для кариозных тканей среднее соотношение минерал/органическая матрица составляет 0.31, а для тканей с повышенной стираемостью – 0.64. При развитии кариеса уменьшается содержание минеральной компоненты (уменьшается линия фосфата) и появляются широкие линии

органических составляющих, а также увеличивается люминесцентный фон.

Процесс необратимого изменения твердых тканей зубов, их «деградации» при повышенной стираемости зубов развивается в организме пациента достаточно индивидуально и зависит от возраста, экологических и профессиональных факторов, сопутствующих соматических заболеваний и др., что подтверждается данными рамановской спектроскопии и микропримесного анализа. Интегральная

оценка морфологических особенностей строения и микроэлементного состава твердых тканей зубов с применением современных экспериментальных физико-химических методов исследования дает возможности разработки новых методов диагностики и лечения, обоснования выбора пломбировочных материалов, прогнозирования развития и персонифицированного подхода к профилактике и лечению ранних стадий заболеваний твердых тканей зубов человека.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации НШ-9723.2016.5.

Литература

1. Власова М. И., Мандра Ю. В., Зайцев Д. В., Панфилов П. Е. Изучение влияния озона на формирование гибридной зоны в кариозных полостях пришеечной локализации // Проблемы стоматологии. – 2012. – № 2. – С. 4-7.
2. Ивашов А. С., Мандра Ю. В., Зайцев Д. В., Панфилов П. Е. Прочностные особенности адгезивного соединения при одноосном сжатии // Проблемы стоматологии. – 2013. – № 2. – С. 30-33.
3. Мандра Ю. В., Вотяков С. Л., Ронь Г. И., Киселева Д. В. Современные представления о механизме развития ранней стадии повышенной стираемости зубов // Проблемы стоматологии. – 2011. – № 2. – С. 11-15.
4. Ager J. W., Nalla R. K., Balooch G., Kim G., Pugach M., Habelitz S., Marshall G. W., Kinney J. H., O'Ritchie R. On the Increasing Fragility of Human Teeth With Age: A Deep-UV Resonance Raman Study // Journal of Bone and Mineral Research. – 2006. – V. 21. – № 12. – P. 1879-1887.
5. Tarnowski C. P., Ignelzi M. A., Morris M. D. Mineralization of Developing Mouse Calvaria as Revealed by Raman Microspectroscopy // Journal of Bone and Mineral Research. – 2002. – V. 17. – № 6. – P. 1118-1126.

References

1. Vlasova M. I., Mandra J. V., Zaytsev D., Panfilov P. Research of influence of ozone on hybrid zone formation in cervical carious cavities // The actual problems in dentistry. – 2012. – № 2. – P. 4-7.
2. Ivashov A. S., Mandra J. V., Zaytsev D., Panfilov P. Strength features of adhesive connection at monoaxial compression // The actual problems in dentistry. – 2013. – № 2. – P. 30-33.
3. Mandra J. V., Votyakov S. L., Ron G. I., Kiseleva D. V. Modern view on development of early stages of teeth attrition // The actual problems in dentistry. – 2011. – № 2. – P. 11-15.
4. Ager J. W., Nalla R. K., Balooch G., Kim G., Pugach M., Habelitz S., Marshall G. W., Kinney J. H., O'Ritchie R. On the Increasing Fragility of Human Teeth With Age: A Deep-UV Resonance Raman Study // Journal of Bone and Mineral Research. – 2006. – V. 21. – № 12. – P. 1879-1887.
5. Tarnowski C. P., Ignelzi M. A., Morris M. D. Mineralization of Developing Mouse Calvaria as Revealed by Raman Microspectroscopy // Journal of Bone and Mineral Research. – 2002. – V. 17. – № 6. – P. 1118-1126.

Авторы:

Мандра Ю. В., д. м. н., профессор, проректор по научной работе и инновациям, заведующая кафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Екатеринбург)

Легких А. В., аспирант кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Екатеринбург)

Киселева Д. В., к. г.-м. н., с. н. с. лаборатории физико-химических методов исследования Института геологии и геохимии УрО РАН (г. Екатеринбург)

Authors:

Mandra J. V., PhD, DMS, Professor, Vice-rector of Science and Innovations, Head of the Preclinical dentistry and Physiotherapeutic Department of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Yekaterinburg)

Legkih A. V., graduate student of the Preclinical dentistry and Physiotherapeutic Department of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Yekaterinburg)

Kiseleva D. V., PhD, senior researcher of the physico-chemical research laboratory of the Institute of Geology and Geomineralogy of the Ural Branch of Russian Academy of Science (Yekaterinburg)

Поступила 16.06.16

Принята к печати 23.06.16

Received 16.06.16

Accepted 23.06.16