

УДК 531/534: [57+61]

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТВЁРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ТЕХНОЛОГИЙ ОТБЕЛИВАНИЯ

Е.С. Ерофеева¹, Е.А. Ляпунова², В.А. Оборин², О.С. Гилева¹, О.Б. Наймарк²

¹ Кафедра пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний Пермской государственной медицинской академии имени акад. Е.А. Вагнера, Россия, 614990, ул. Куйбышева, 39

² Институт механики сплошных сред УрО РАН, Россия, 614013, Пермь, ул. Академика Королева, 1, e-mail: lyapunova@icmm.ru

Аннотация. Развитие нанотехнологий в последние годы привело к появлению большого количества новых стоматологических материалов и технологий, широко применяемых в клинических условиях. К числу наиболее востребованных с полным основанием следует отнести эстетическое отбеливание зубов [1, 2, 3]. Однако последствия процесса отбеливания в виде изменения структуры эмали в достаточной степени не изучены. Открытыми также остаются вопросы выявления тонких механизмов воздействия и глубины проникновения отбеливающих агентов в эмаль зуба. В работе проведено изучение морфологических свойств поверхностных структур эмали под влиянием внешних факторов – в зависимости от степени химического воздействия при отбеливании. Полученные результаты позволят разработать экспериментальные методики и критерии безопасности применения новых высокотехнологичных материалов и лечебно-профилактических стоматологических технологий. Для исследования изменений поверхности образцов (интактных естественных зубов) при отбеливании использовался интерференционный микроскоп "NewView-5010". Количественная оценка морфологии поверхности проводилась на основе двух подходов: традиционного определения шероховатости и на основе концепции фрактальности (вычисление показателя Херста, связанного с фрактальной размерностью поверхности). Была обнаружена зависимость величины показателя Херста от степени воздействия на эмаль при отбеливании. Определение изменений морфологии рельефа обрабатываемой поверхности может быть использовано для оценки последствий профессионального отбеливания эмали.

Ключевые слова: накопление повреждений, профилометрия, топология поверхности, структура, клиническая стоматология, отбеливание зубов, эмаль зуба.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях бурного развития технологий и появления большого количества новых материалов и методик, применяемых в современной стоматологии, особое значение приобретает обеспечение качества лечения, складывающегося из его

© Ерофеева Е.С., Ляпунова Е.А., Оборин В.А., Гилева О.С., Наймарк О.Б., 2010

Ерофеева Елена Сергеевна, аспирант кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний, Пермь

Ляпунова Елена Аркадьевна, аспирант Лаборатории физических основ прочности, Пермь

Оборин Владимир Александрович, ведущий инженер Лаборатории физических основ прочности, Пермь

Гилева Ольга Сергеевна, д.мед.н., профессор, завкафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний, Пермь

Наймарк Олег Борисович, д.ф.-м.н., профессор, заведующий Лабораторией физических основ прочности, Пермь

эффективности и безопасности. Проблема безопасного влияния различных, даже самых высокотехнологичных, методов стоматологического лечения актуализировалась в последние годы в связи с прогнозируемым потенциалом их токсического действия на органы и ткани полости рта. В частности, к числу подобных методик, обладающих высоким риском развития дефектов твёрдых тканей зубов и заболеваний пародонта, относится отбеливание зубов, предполагающее использование концентрированных растворов перекисных соединений, потенцируемых теплом, светом и давлением. В связи с этим всё большее значение приобретают поиск, разработка и обоснование максимально безопасных и минимально инвазивных методик эстетического лечения с последующим дифференцированным подходом к их применению у лиц с различным состоянием стоматологического статуса.

Экспериментальные оценки повреждающего действия различных технологий отбеливания проводятся на основе методов сканирующей электронной микроскопии для изучения морфологии структуры, получения реплик с поверхности эмали для определения изменений её пористости [9], оценки микротвёрдости эмали [7], количественной светоиндуцирующей флюоресценции, спектроскопического анализа эмали до и после курса отбеливания. Однако при анализе многочисленных, на первый взгляд, зарубежных публикаций обращает на себя внимание значительный разброс получаемых данных (от констатации полного отсутствия повреждающего действия отбеливающих технологий до выявления грубых изменений химической структуры и физико-механических свойств эмали). Подобные вариации, на взгляд авторов, могут быть связаны с отсутствием единых протоколов эксперимента, фрагментарным подходом, предполагающим определение лишь одного из исследуемых параметров. Поэтому очевидной является необходимость разработки более совершенных методик исследования свойств биоматериала, а также определение оптимальных критериев оценки действия лечебных факторов на структурно-функциональные параметры зубов. В этом смысле изучение особенностей рельефа обрабатываемой поверхности является перспективным направлением, так как позволяет проследить закономерности зарождения и развития микроповреждений, обусловленных тем или иным фактором процедуры отбеливания.

Для количественного анализа поверхности зубной эмали до и после процедуры отбеливания применялась концепция фрактальности, или самоподобия, позволяющая описывать эффекты самоорганизации и крупномасштабные взаимодействия элементов структуры шероховатых поверхностей. Данный подход, впервые предложенный Мандельбротом [6] и развитый многими исследователями [4, 8], нашел широкое применение в изучении структуры материалов различной природы. Он позволяет описывать шероховатые поверхности с помощью параметра фрактальной размерности и сопряженной с ней величиной показателя шероховатости, отражающей закономерности изменения структуры на различных масштабах наблюдения. Определение характера эволюции данной величины до и после процедуры отбеливания на основе профилометрических исследований представляет теоретическую значимость и практический интерес.

Цель работы – изучение влияния процедуры отбеливания на морфологию эмали в терминах показателя Хёрста и показателя шероховатости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Критерием отбора для профилометрического исследования биопрепаратов удалённых зубов являлась целостность коронки зуба (отсутствие трещин, сколов, отломов, а также дефектов кариозного и некариозного происхождения).

Забор биоматериала (удалённые по показаниям зубы для экспериментальных исследований) проводили в хирургических отделениях стоматологических поликлиник

г. Перми в строгом соответствии с этическими требованиями. Специальную подготовку биопрепаратов зубов для экспериментальной стоматологии осуществляли в соответствии с рацпредложением № 2366 от 09.03.2005.

После отбора подходящих биопрепаратов их подвергали химической стерилизации в растворе «Бианол 20%» при температуре 21°C в течение 10 часов. По окончании времени выдержки удалённые зубы промывали дважды в дистиллированной воде.

В связи с тем что для профилометрического исследования необходима абсолютно сухая поверхность, биопрепараты помещали в стерильный сухой бокс для высушивания в естественных условиях.

Структурные исследования проводились на стерильных, сухих, лишённых микробной флоры полости рта биопрепаратах удалённых зубов с фрагментарно сохранённой пелликулой, поэтому допустимо предположить наличие бактериальных микрофокусов.

Отбеливание биопрепаратов удалённых зубов проводилось следующим образом. Подготовленные образцы жестко закреплялись на твердой подложке с помощью клея, высушивались, поверхность обезжиривалась с помощью специального стоматологического препарата «*Sico Tim*». Затем, непосредственно перед процедурой отбеливания, проводили смешивание перекиси водорода с бустером, который образует вязкую пену. Последняя упрощает технику нанесения раствора на зубы. Отбеливающим гелем «*Opalescent Xtra Boost*» покрывали вестибулярную поверхность зубов равномерным слоем толщиной 2–5 мм. По прошествии 15 минут отработанный гель удалялся марлевым шариком, поверхность зуба высушивалась и обезжиривалась повторно. По окончании отбеливания биопрепаратов отбеливающий гель удалялся марлевым шариком, поверхность биопрепарата промывалась дистиллированной водой. Было проведено пятикратное отбеливание двух образцов со снятием рельефа после третьего и пятого отбеливания и шестикратное отбеливание двух других образцов со сканированием поверхности после каждой процедуры для более детального исследования эволюции рельефа. Во всех случаях проводилось предварительное сканирование поверхности неповрежденной эмали для дальнейшего сравнения.

Сканирование поверхности биопрепаратов осуществлялось на интерференционном микроскопе «*NewView-5010*» с последующей записью массива данных (трехмерные образы поверхности) и фиксированием места сканирования. Рельеф поверхности получается из набора интерферограмм, соответствующих изменению рельефа поверхности в результате вертикального движения объектива по образцу. Такая техника дает высокое вертикальное разрешение – приблизительно 0,1 нм, горизонтальное разрешение – приблизительно 0,5 мкм. В экспериментальном исследовании поверхности эмали во время процедур отбеливания использовался объектив с увеличением $\times 1300$. Рис. 1 иллюстрирует возможности этого микроскопа, связанного с стоматологическими аспектами. Для исследования морфологии каждой поверхности эмали были получены области размером 141×105 мкм. Постобработка исследования рельефа включает нарезание множества профилей поверхности, нахождение корреляционных характеристик в зависимости от целей исследования.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ

Оценка шероховатости поверхности эмали осуществлялась на основе двух подходов: традиционного определения параметра шероховатости Ra и на основе концепции фрактальности. Параметр Ra – наиболее часто используемая характеристика шероховатости поверхности. Он определяется как усредненное по всем точкам отклонение высот рельефа от средней поверхности:

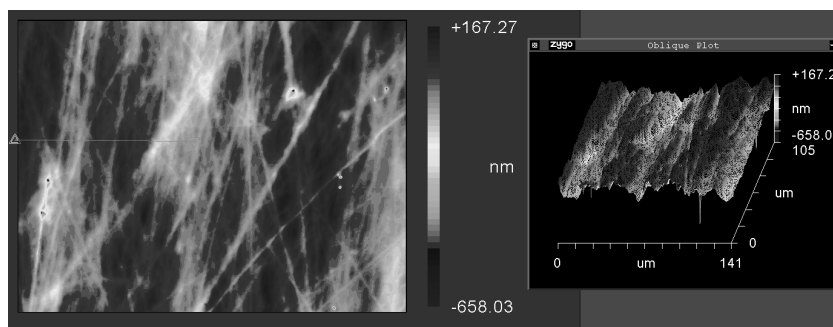


Рис. 1. Карта поверхности и 3D-изображение поверхности зуба до отбеливания

$$Ra = \frac{1}{N} \sum_{x,y} |z(x,y) - z_{mean}(x,y)|,$$

где N – число точек в матрице значений высот.

Концепция фрактальности, или самоподобия, предложенная Мандельбротом в середине 80-х гг. прошлого века, открыла новые возможности в описании морфологии шероховатых поверхностей. Данный подход позволяет описывать эффекты самоорганизации и длиннокорреляционные взаимодействия элементов структуры. Большинство природных объектов обладают свойствами самоафинных фракталов [6]. Для таких поверхностей наблюдается анизотропия скейлинга: увеличенная область будет статистически повторять всю поверхность, если увеличения в направлениях, параллельном и перпендикулярном плоскости поверхности, будут разными (рис. 2). Математически это выражается преобразованием $(x, y, z) \rightarrow (bx, by, b^H z)$, где H – показатель шероховатости (показатель Херста), отражающий закономерности поведения высот при перемасштабировании в вертикальном направлении. При этом наблюдается самоподобие в двух других направлениях (изотропия скейлинга в плоскости).

Концепция фрактальности позволяет описывать степень шероховатости поверхности посредством параметров структурного скейлинга: фрактальной размерности D (или показателя Херста H), показывающей, как меняется рельеф поверхности при перемасштабировании, и амплитудного параметра, отражающего изменение наклона поверхности при переходе от одних масштабов к другим.



Рис. 2. К определению самоподобных (слева) и самоафинных (справа) фракталов [5]

В качестве метода исследования структурного скейлинга был выбран метод переменного интервала (*the variable bandwidth method*) [8], первоначально используемый для анализа одномерных профилей поверхности [8] и примененный в данной работе для анализа трехмерных образов поверхности.

Данный метод позволяет находить величину показателя Херста, связанного с фрактальной размерностью соотношением $D = 3 - H$. При этом значение H находится в интервале $H \in [0; 1]$. Для регулярной поверхности, расположенной под углом к горизонтальной плоскости, $H = 1$. Значение $H \sim 0,5$ отвечает случайному, «антиперсистентному» сигналу. Проведенные исследования показывают, что чем меньше H , тем более шероховата поверхность (тем больше фрактальная размерность) [4].

Метод переменного интервала для анализа трехмерных образов поверхности состоит в следующем. Поверхность разбивается сеткой с размером ячейки R , на каждой из которых определяется функция размаха высоты (разница между максимальным и минимальным значением высоты рельефа). Зависимость данной функции, усредненной по всем ячейкам, от величины размера ячейки R для самоафинных поверхностей носит степенной характер:

$$K(R) = \left\langle \max_{r' \in w_i} (z(r')) - \min_{r' \in w_i} (z(r')) \right\rangle_{w_i} \propto R^H, \quad (1)$$

где $z(r')$ – матрица значений высот в текущей ячейке w_i размера R , усреднение $\langle \dots \rangle_{w_i}$ производится по всем ячейкам.

По наклону линейного участка зависимости (1), построенной в логарифмических координатах, можно определить показатель Херста H .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРНОГО СКЕЙЛИНГА ПОВЕРХНОСТИ ЭМАЛИ ЗУБОВ

С целью проверки выполнения условия самоафинности на трехмерных данных поверхности брались одномерные профили в ортогональных направлениях (вдоль оси роста зуба и поперек). По определению, результаты вычисления показателя шероховатости (показателя Херста) для самоафинной поверхности должны совпадать, т.е. должна наблюдаться изотропия скейлинга в плоскости. В этом случае использование метода вычисления показателя Херста для всей поверхности в целом, представленного выше, является обоснованным. Также необходимо исключить общий наклон поверхности для адекватной оценки фрактальных параметров [4].

Как видно из рис. 3, иллюстрирующего проверку данных условий, удаление общего наклона плоскости существенно влияет на результаты вычисления показателя Херста: здесь линиями 1 и 2 представлены графики для $2D$ -профилей поверхности с неудаленным трендом, взятых поперек и вдоль направления роста зуба соответственно, линиями 2 и 3 – аналогичные профили для поверхности с удаленным трендом. Выявленная закономерность близости к единице значений показателя шероховатости профилей с неудаленным трендом (см. рис. 3) согласуется с работами [4, 8]. Наблюдается ограниченность диапазона масштабов, на которых наклон графиков функции $K(R)$, построенных для профилей в двух взаимно перпендикулярных направлениях, одинаков (см. рис. 3), а именно: они лежат в интервале от 0,5 до 6,2 микрона. Иными словами, до процедуры отбеливания поверхность эмали может рассматриваться как самоафинный фрактал на масштабе длины этого интервала. Показатель Херста для профилей с убраным наклоном в двух взаимно перпендикулярных направлениях равен 0,78 и 0,76 соответственно. Здесь нижняя

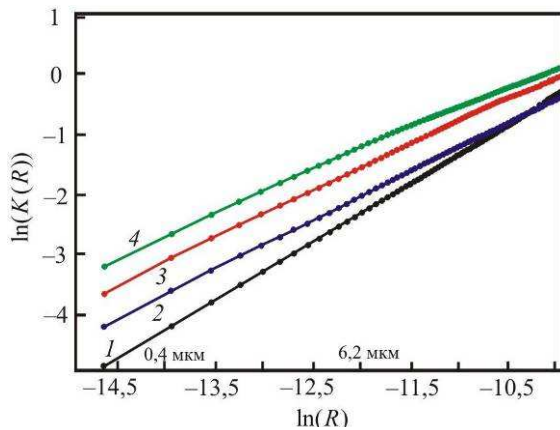


Рис. 3. Вычисление показателя Херста для взаимно перпендикулярных профилей поверхности эмали (пояснения в тексте): линия 1 – $H = 0,97$; линия 2 – $H = 0,82$; линия 3 – $H = 0,76$; линия 4 – $H = 0,78$

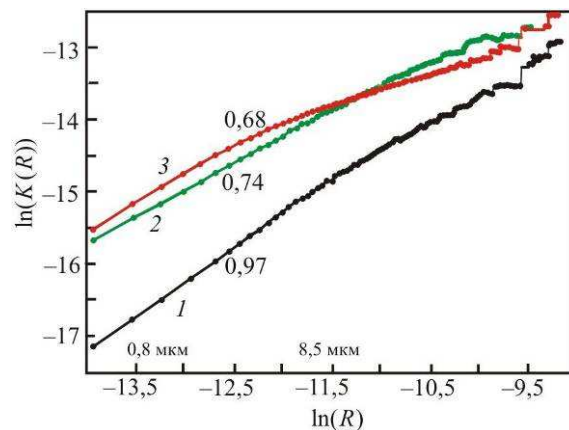


Рис. 4. Вычисление показателя Херста для многократно отбеленной поверхности эмали: линия 1 – до отбеливания, линия 2 – после трех отбеливаний, линия 3 – после пяти отбеливаний

граница масштабов самоафинности определяется разрешающей способностью прибора (расстояние между двумя соседними точками), а верхняя граница обусловлена изменением наклона графика функции $K(R)$.

Дальнейшие вычисления показателя Херста производились для 3D-поверхностей с удаленным средним плоскостным наклоном, полученные значения показателя Херста и масштабов, на которых они наблюдаются, соответствуют поверхности в целом.

На рис. 4 представлены результаты вычисления функции $K(R)$ (1) для 3D-поверхности эмали зуба на различных стадиях отбеливания. Наблюдается линейный участок, отвечающий самоафинному рельефу, на масштабах от 1 до 8 мкм. После третьего отбеливания было выявлено некоторое уменьшение масштабов самоафинности поверхности эмали. При увеличении количества отбеливаний было обнаружено уменьшение показателя Херста (наклон линейного участка графика) от величины, близкой к 1 до отбеливания, до 0,74 после трехкратной процедуры и 0,48 после пятикратного отбеливания. Приближение величины показателя Херста к значению 0,5 (белый шум), отвечающему «антикоррелированной» поверхности, свидетельствует о потере поверхностью зуба исходной структуры. Для проверки выявленной тенденции были проведены дополнительные исследования, в ходе которых производилось многократное отбеливание эмали зубов со сканированием поверхности после каждой процедуры. Было проведено шесть процедур отбеливания со сканированием рельефа в трех местах на фронтальной поверхности каждого из двух образцов: у основания зуба, в центре и у режущей кромки при увеличении $\times 1300$. Были получены трехмерные изображения поверхности, состоящие из 640×480 точек.

Исследование шероховатости поверхности эмали после каждой процедуры отбеливания показало, что наблюдаются две стадии, на которых структура эмали меняется кардинальным образом: после первого отбеливания, когда происходит потеря изначальной поверхностной структуры в виде минеральных и прочих налетов, и после третьего и четвертого отбеливания (рис. 5, а). Это связано с воздействием активного вещества отбеливателя на структурные составляющие эмали. Наличие нескольких пиков на кривой шероховатости в процессе отбеливания наблюдалось не на всех образцах: так, в другом случае структура поверхности эмали после значительного увеличения шероховатости после первого отбеливания практически не изменялась при дальнейшем воздействии отбеливающих реагентов (рис. 5, б). Анализ вычисления поведения второго образца представлен ниже.

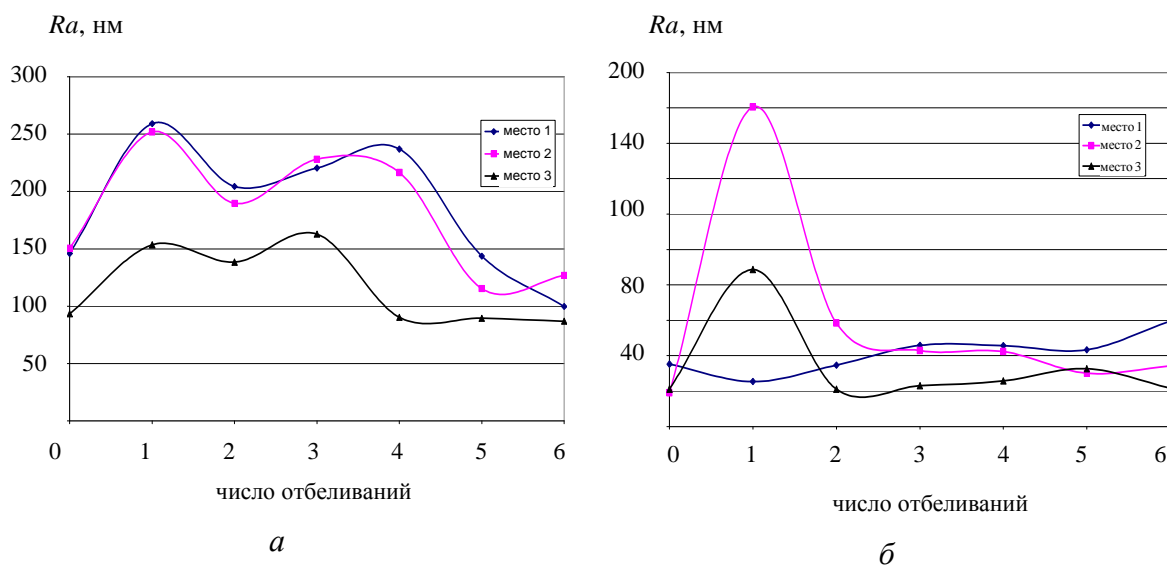


Рис. 5. Величина шероховатости Ra эмали на различных этапах многократного отбеливания для трех областей на фронтальной поверхности: *а* – зуб № 1, *б* – зуб № 2; обработка данных *NewView*, полученных при увеличении $\times 1300$

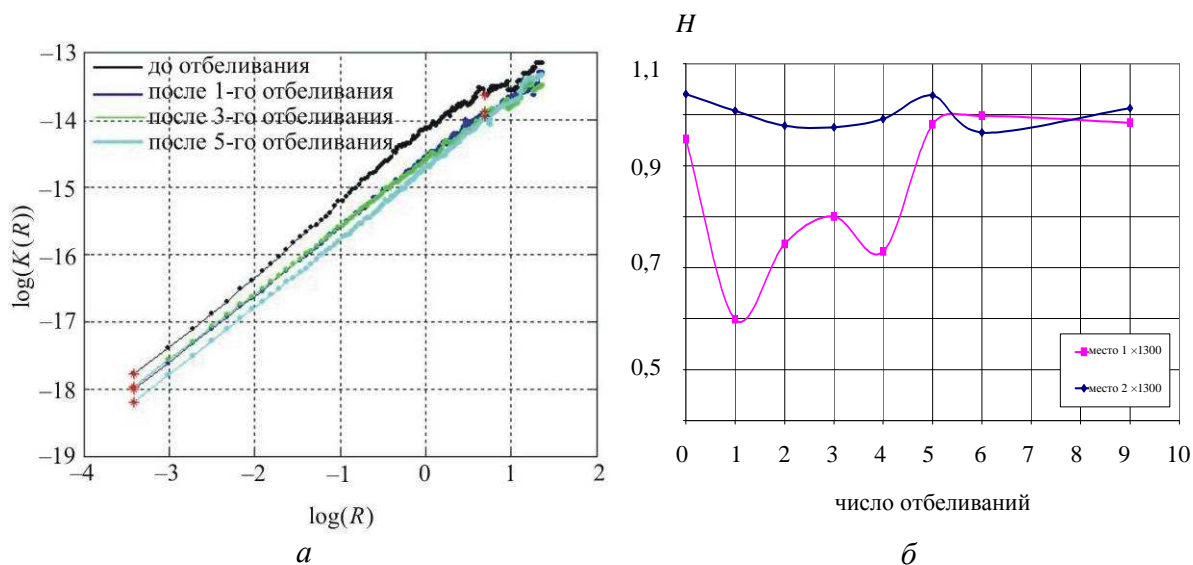


Рис. 6. Вычисление показателя Херста поверхности многократно отбеленной эмали: *а* – графики функции $K(R)$ для различных стадий отбеливания для места № 1 (центральная часть зуба); *б* – изменение величины наклона линейного участка графиков $K(R)$ (показатель Херста) в процессе многократного отбеливания для места № 1, центральная часть зуба, для места № 2, вблизи режущей кромки

Корреляционный анализ структуры эмали зуба № 2 места № 1 центральной части в результате многократного отбеливания представлен на рис. 6, *а*. Изменение вида функции $K(R)$ в процессе отбеливания меняется таким образом, что длинно-масштабные структуры, сильно выраженные на неотбеленной поверхности, практически исчезают после первого же отбеливания, в дальнейшем поверхность меняется незначительно. Здесь масштабы показателя Херста лежат в пределах от 0,5 до 33 микрон.

Неоднородность структуры эмали в различных участках зуба оказывает влияние на характер ее изменений при отбеливании: скачок шероховатости после первого отбеливания образцов сильнее выражен вблизи режущей кромки зуба № 1 (рис. 5, а) и центральной части (зуб № 2 рис. 5, б); нумерация сканированных областей – от режущего края зуба к основанию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

При многократном отбеливании происходит существенное изменение морфологии поверхности эмали, заключающееся в уменьшении степени ее шероховатости и потере длинномасштабных корреляций.

Изменение поверхности было исследовано в терминах обычно используемого параметра Ra – параметра шероховатости и на основе фрактального анализа. На основе фрактальных представлений были найдены масштабы самоаффинности структуры эмали на различных этапах процесса многократного отбеливания и соответствующая им величина показателя Херста.

В большинстве просмотренных мест была обнаружена тенденция к уменьшению значения показателя Херста, но были некоторые образцы, для которых был найден противоположный характер изменения. Этот вопрос требует более детального исследования.

Различия в изменении этих двух параметров связаны с различными свойствами, которые описываются ими. А именно, параметр шероховатости дает лишь отклонение высоты от среднего значения, тогда как параметр шероховатости Херста описывает корреляционные свойства поверхности на основе самоаффинности фракталов. Самоаффинный характер поверхности эмали наблюдался на ограниченном масштабе, меньше чем 30 микрон. Уменьшение показателя Херста при многократном отбеливании поверхности эмали к значениям, близким к 0,5, связано с потерей оригинальной морфологии поверхности и становлением более статистически гомогенной структуры.

Повышение статистической гомогенности структуры эмали во время процедур отбеливания предпочтительно, так как имеет меньше последствий для вредного развития бактерий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-Урал № 09-08-99102-р_офи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ерофеева Е.С., Гилева О.С., Ракинцева Н.А. Субъективная оценка осветления зубов при различной степени их дисколорита // *Стоматология Большого Урала. Профилактика стоматологических заболеваний: материалы всерос. конгресса.* – Пермь, 2009. – С. 65–67.
2. Ерофеева Е.С., Гилева О.С. Стоматологический композиционный материал как способ фиксации биопрепаратов для профилометрического исследования // *Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины: материалы межрегион. науч. сессии молодых учёных.* – Пермь, 2009. – С. 202–205.
3. Ерофеева Е.С., Гилева О.С. Влияние процедуры отбеливания зубов на возникновение гиперчувствительности зубов // *Актуальные вопросы стоматологии: материалы всерос. науч.-практ. конф.* – Уфа, 2009. – С. 83–84.
4. Bouchaud E. Scaling properties of cracks // *J. Phys.: Condens. Matter.* –1997. – Vol. 9.– P. 4319–4344.
5. Fardin N. The effect of scale on the morphology, mechanics and transmissivity of single rock fractures. Stockholm 2003, doctoral thesis.

6. Mandelbrot B.B. The fractal of nature. – New York: W.H. Freeman. – 468 p.
7. Schmittbuhl J., Vilotte J.-P., Roux S. Reliability of self-affine measurements // Phys. Rev. E – Vol. 51, No. 1. – P. 131–147.
8. Pinto C.F., Oliveira R., Cavalli V., Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology // Pesquisa Odontologica Brasileira. – 2004. – No. 18. – P. 306–311.
9. Worschech C.C., Robdrigues J.A. Martins L.R., Ambrosano G.M. Brushing effect of abrasive dentifrices during at-home bleaching with 10% carbamide peroxide on enamel surface roughness // Journal of Contemporary Dental Practice. – 2006. – No. 10. – P. 23–28.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF HARD TOOTH TISSUES IN THE ESTIMATION OF QUALITY OF BLEACHING PROCEDURE

E.S. Erofeeva, E.A. Lyapunova, V.A. Oborin, O.S. Gileva, O.B. Naimark (Perm, Russia)

Progress in nanotechnology in recent years has led to appearance of big variety of new stomatologic materials and techniques, widely used in clinical practice. One of the most actual directions of this kind of research is, surely, esthetic teeth bleaching [1, 2, 3]. However, the consequences of such a process in the form of structural changing of the enamel are not well-studied yet. Tiny mechanisms of bleaching process and penetration of bleaching components into the teeth enamel are also questions for discussion. It current work, the study of evolution of surface properties of the enamel structure during multi-bleaching procedures is represented. The obtained results allow us to elaborate experimental techniques and criteria of safety for utilization of new high-performance materials and clinicalo-prophylactic stomatologic technologies. Optical microscopy of high resolution (NewView 5010) was used to get 3-dimensional data about the surface morphology. Quantitative analysis of obtained data was performed on the basis of both traditional determination of roughness and the fractal concept (the value of Hurst exponent connected with fractal dimension of the surface). From experiments, the evolution of the surface morphology was examined and it was found that the visible changing in the enamel surface color takes place with sufficient changing of its roughness. The determination of change of morphology relief of treated surface can be used for estimate of consequences of professional enamel bleaching.

Key words: damage accumulation, profilometry, surface topology, structure, clinical stomatology, tooth bleaching, tooth enamel.

Получено 11 февраля 2010