УДК: 616.314-001.4-073.7

Коваленко В. В., Ткаченко І. М.

ЗАСТОСУВАННЯ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ СТРУКТУРИ ТВЕРДИХ ТКАНИН ПРИ ПІДВИЩЕНІЙ СТЕРТОСТІ ЗУБІВ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Діагностика та лікування підвищеної стертості зубів представляє певні труднощі. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ) є найбільш точним і ефективним методом визначення деструктивних змін, що з'являються при декальцінації в поверхневих шарах твердих тканин зубів. Під електронним мікроскопом досліджували різні ділянки пошкоджених зубів: центральний осередок ураження, емалево-дентинну межу, пришийкову ділянку зуба, а також межу з'єднання пломбувального матеріалу з твердими тканинами. Використана у дослідженні СЕМ дозволила значною мірою уточнити і суттєво доповнити наявну інформацію про ультраструктуру такого некаріозного ураження зубів як підвищена стертість. Об'ємні зображення об'єктів дозволили більш детально проаналізувати підвищену стертість зубів, виявити обсяг і особливості ультраструктурних порушень.

Ключові слова: електронна мікроскопія, підвищена стертість, пломбувальний матеріал.

Дослідження являється фрагментом НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» «Морфофункціональні особливості тканин ротової порожнини і їх вплив на проведення лікувальних заходів і вибір лікувальних матеріалів», № держреєстрації 0115U001112.

Вступ

Діагностика та лікування підвищеної стертості зубів представляє певні труднощі, механізм її виникнення неясний і дискутується, не визначені конкретні зв'язки підвищеної стертості зубів з внутрішньою патологією, немає чітких рекомендацій щодо удосконалення діагностики та лікувально-профілактичних заходів. Все це свідчить про необхідність проведення подальших досліджень із зазначеної проблеми [1,3,6,8,10,11,12].

Вивчення твердих та м'яких тканин зубів зі збереженням їх прижиттєвої цілісності в даний час є однією з найскладніших морфологічних проблем. Це обумовлено неможливістю обійтись без попередньої процедури декальцинації твердих тканин зуба, при якій відбувається повна втрата емалі через великий вміст в ній (близько 96%) мінеральних речовин [2]. Тому, сучасні уявлення про будову зуба (особливо емалі і її зв'язок з дентином) основані або базуються на узагальненні окремих фрагментарних досліджень. [4,5,7].

Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ) є найбільш точним і ефективним методом визначення деструктивних змін, що з'являються при декальцинації в поверхневих шарах твердих тканин зубів. Проте, відомості щодо вивчення цієї проблеми в літературі висвітлені недостатньо [9,13].

Мета дослідження

На основі експериментальних досліджень твердих тканин зубів визначити оптимальний матеріал для лікування підвищеної стертості.

Матеріали і методи дослідження

Нами було проведено електронно-мікроскопічний і хімічний аналіз зубів у поздовжньому розпилі з фізіологічною та підвищеною стертістю до і після відновлення втрачених тканин різними пломбувальними матеріалами за допомогою скануючого електронного мікроскопу з високою роздільною здатністю 1нм і максимальним збільшенням 1000000 серії (SEM) "Mira 3 LMU», оснащеного електронною гарматою з катодом Шоттке фірми «Tescan» (Чехія). В якості контрольних зразків у роботі досліджено інтактні людські зуби (моляри), видалені за медичними показаннями.

Відразу після екстракції зуба, його промивають у фізіологічному розчині, далі відсікали близько половини довжини коренів з метою оптимального дифундування в пульпу та дентин фіксуючого розчину (4% розчин глютарового альдегіду на фосфатному буфері). Тривалість фіксації не менше 4 діб в холодильнику.

Після полімеризації, яка тривала дещо довше звичайного часу, отриманий блок розрізали сепарувальним диском з таким розрахунком, щоб отримати дві половини зуба. Кожну половину розміщували в товщі прозорої епоксидної смоли. Далі, торцеві поверхні з оголеними тканинами зуба піддавали бережному шліфуванню до отримання рівного шліфа.

Елементний склад локальної ділянки визначали за допомогою енергодисперсійного спектрометра «X-max 80mm2» («Oxford Instruments», Великобританія), який був інтегрований у растровий електронний мікроскоп. Дослідження проводили на базі Інституту ім. Патона, відділення наномедтехнології (м. Київ). Загальний вигляд пристрою, що застосовувався, представлено на рис. 1

Для вирішення поставлених завдань дослідженню підлягали 40 зубів, видалених за терапевтичними і хірургічними показаннями: з фізіологічною (17 зубів), із підвищеною стертістю (23 зубів).

1) матеріалом «Харизма F» з адгезивною системою п'ятого покоління запломбовано 4 зуби з фізіологічною стертістю та 4 – з патологічною.

2) матеріалом «Харизма F» з адгезивною системою сьомого покоління запломбовано 4 зуби з фізіологічною стертістю та 8 зуби з патологічною.

3) матеріалом «Вітремер» (СІЦ) запломбовано 2 зуб з фізіологічною стертістю та 4 зуби з патологічною.

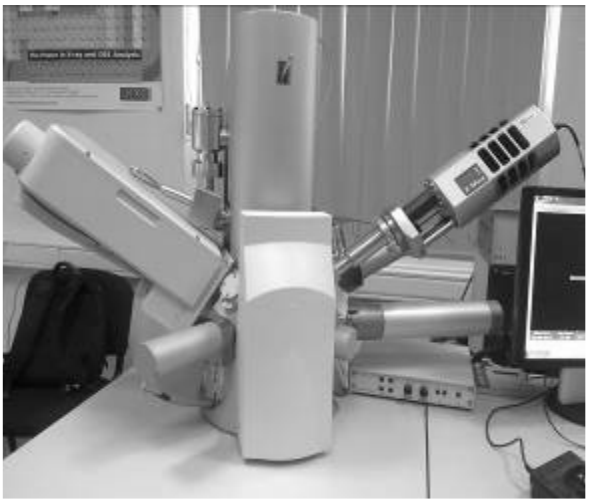

Рис. 1. Загальний вигляд растрового електронного мікроскопа (SEM) "Mira 3 LMU» («Tescan», Чехія) з інтегрованим енергодисперсійним спектрометром «X-max 80mm2» («Oxford Instruments», Великобританія)

Після пломбування виконували поздовжній розпил досліджуваних зубів.

Контрольну групу склали 14 молярів – 7 з фізіологічною стертістю, 7 – з патологічною.

Для аналізу і порівняння структури, складу та характеристик зразків був розроблений алгоритм їх оцінки за такою методикою:

1. Вибір досліджуваної ділянки і дослідження структури емалевих призм та розмірів міжпризмового простору.

2. Вибір досліджуваної ділянки і позначення ділянок мікроаналізу.

3. Елементний аналіз у обраних ділянках.

Результати досліджень та їх обговорення

При дослідженні емалі зубів на мікроелементний склад за наведеним вище алгоритмом отримали серію цифрових знімків емалі з різними ступенями збільшення. Оскільки емалеві призми мають S-подібний хід і при отриманні сколу емалі ми не завжди мали можливість контролювати кут сколу, то на цифрових знімках ми не мали перспективи досить точно оцінити діаметр призм і проміжок між ними в числовому варіанті. Тому для достовірності результатів ми роздруковували на паперовому носії кілька знімків емалі зуба, що вивчається, отриманих із різних позицій. За масштабною міткою, за розробленою методикою, на кожному знімку підраховували кількість емалевих призм і переводили їх кількість на 100 мкм. Потім обчислювали середнє значення емалевих призм на 100 мкм для кожного досліджуваного зразка емалі та вносили ці дані для аналізу у зведену таблицю. Кількість призм на одиницю площі характеризувала щільність емалі.

В ході електронно-мікроскопічного дослідження встановлено, що поверхня емалі здорового зуба незважаючи на наявність органічної оболонки, практично згладжує її контури і маскує структури, що прилягають, не є ідеально рівною. Крім механічних пошкоджень у вигляді подряпин, на окремих ділянках емалі були виявлені нерівності, під якими розташовувалися нечітко виражені закінчення емалевих призм.

Поверхня зуба при горизонтальній формі стертості в області ріжучого краю зуба характеризувалася, насамперед, втратою емалі і дезорієнтацією фрагментів її шарів [1].

Цілком ймовірно, що при вертикальній стертості емалеподібний шар на коронці зуба в дійсності являє собою відполірований дентин, оскільки візуальне дослідження свідчило про досить сильне пошкодження зуба і потоншення його вестибулярної поверхні на кілька міліметрів. Необхідно зазначити, що зони зуба, що межують з основним осередком стирання емалі, значною мірою також втратили свою структурну цілісність і піддалися деструктивним змінам. Однак, в окремих випадках на достатньо великих ділянках цілісність емалевого шару збереглася без особливих змін.

Електронно-мікроскопічне дослідження ділянки зубів з горизонтальною стертістю виявило множинні дефекти в зоні нашарування емалі коронки на цемент кореня, що виражалося в першу чергу, у відсутності рівного (як у інтактних зубів) краю межі їх переходу, а також в наявності дрібних дефектів на поверхні емалевого шару, аж до оголення верхніх частин емалевих призм. При вертикальній стертості в області шийки також видно деструктивні зміни на поверхні кореня.

Висновки

Використана у дослідженні СЕМ дозволила значною мірою уточнити і суттєво доповнити наявну інформацію про ультраструктуру такого некаріозного ураження зубів, як підвищена стертість. Об'ємні зображення об'єктів дозволили більш детально проаналізувати патологічну стертість зубів, виявити обсяг і особливості ультраструктурних порушень.

Отримані результати проведеного дослідження на даний час піддаються статистичній обробці. Її дані будуть опубліковані в наступних публікаціях.

Література

1. Боровский Е.В. Некариозные поражения зубов: клиника и лечение. / Боровский Е.В., Леус П.А., Лебедева Г.К. - М., 1978. - 16 с.
2. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека: Учебное пособие.- 2-е изд., испр. / Быков В.Л. – СПб. Спец. Лит, 1998. - 247с.
3. Бушан М.Г. Патологическая стираемость зубов и ее осложнения. / Бушан М.Г. –Кишинев : Штиинца, 1979. - 183с.
4. Доценко В.И. Сравнительная оценка микротвердости твердых тканей зуба в норме и при патологических состояниях / В.И. Доценко, М.Д. Король, Л.С. Шундрик // Медицинская наука – 2010: материалы всеукраинской научно-практической конференции. – Полтава, 2010. – С. 9–10.
5. Киселева Д. В. Особенности микроэлементного состава зубных тканей человека по данным ИСП масс-спектрометрии с лазерной абляцией / Д. В. Киселева, Н. Н. Адамович, С. Л. Вотяков, Ю.В. Мандра // Ежегодник-2012, Тр. ИГГ УрО РАН. – 2013. - Вып. 160. - С. 334–337.
6. Купец Т.В. Современные технологии, нестандартные идеи в профилактической стоматологи / Т.В. Купец, А.В. Гроссер, А.П. Карпов // Клиническая стоматология. - 2005. - №1. - С. 60-64.

7. Мандра Ю.В. Современные диагностические подходы в изучении микроэлементного состава твердых тканей зубов при повышенной стираемости / Ю.В. Мандра, С.Л. Вотяков, Д.В. Киселева // Уральский медицинский журнал. – 2008. - №10(50).- С. 85-89.
8. Мандра Ю.В. Повышенная стираемость зубов: ранние клинические проявления, морфоструктурные изменения, лечебно-профилактические методы коррекции : дис. ... док. мед. наук : 14.01.14 / Ю.В.Мандра- Екатеринбург, 2011. - 200 с.
9. Ткаченко І.М. Структурні особливості емалі при підвищеній і фізіологічній стертості зубів / І.М. Ткаченко, М.М. Скорик // Український стоматологічний альманах. – 2011. – №6. – С. 15-21.
10. Федоров Ю.А. Особенности диагностики и новые принципы лечения некариозных поражений зубов / Ю.А. Федоров, В.А. Дрожжина, П.М. Чернобыльская, Н.В. Рубежова // Новое в стоматологии. -1996. - №3(44). - С.10-12.
11. Федоров Ю.А. Особенности диагностики и лечения некариозных поражений зубов, возникших после их прорезывания / Ю.А. Федоров, Н.В. Рубежова // Профилактика и лечение основных стоматологических заболеваний. - 1995.-Часть 1.-С.53-55.
12. Цимбалистов А. В. Морфологические предпосылки особенностей лечения твердых тканей зубов при основных стоматологических заболеваниях / А. В. Цимбалистов, К. Г. Селезнев; А.И. Кударь, М.А. Кударь ; К. Г. Селезнев; А.И. Кударь, М.А. Кударь. // Стоматолог, - 2002. - № 12 - С.7-10.
13. Пат.№ 77728. Спосіб дослідження щільності емалі зубів при фізіологічній та підвищеній стертості зубів /Ткаченко І.М.; опубл. 25.02. 13, Бюл. № 4.

References

1. Borovskij E.V. Nekarioznye porazhenija zubov: klinika i lechenie. / Borovskij E.V., Leus P.A., Lebedeva G.K. - M., 1978. - 16 s.
2. Bykov V.L. Gistologija i jembriologija organov polosti rta cheloveka: Uchebnoe posobie.- 2-e izd., ispr. / Bykov V.L. – SPb. Spec. Lit, 1998. - 247s.
3. Bushan M.G. Patologicheskaja stiraemost' zubov i ee oslozhnenija. / Bushan M.G. –Kishinev : Shtiinca, 1979. - 183s.
4. Docenko V.I. Sravnitel'naja ocenka mikrotverdosti tverdyh tkanej zuba v norme i pri patologicheskih sostojanijah / V.I. Docenko, M.D. Korol', L.S. Shundrik // Medicinskaja nauka – 2010: materialy vseukrainskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. – Poltava, 2010. – S. 9–10.
5. Kiseleva D. V. Osobennosti mikrojelementnogo sostava zubnyh tkanej cheloveka po dannym ISP mass-spektrometrii s lazernoj abljaciej / D. V. Kiseleva, N. N. Adamovich, S. L. Votjakov, Ju.V. Mandra // Ezhegodnik-2012, Tr. IGG UrO RAN. – 2013. - Vyp. 160. - S. 334–337.
6. Kupec T.V. Sovremennye tehnologii, nestandartnye idei v profilakticheskoj stomatologi / T.V. Kupec, A.V. Grosser, A.P. Karpov // Klinicheskaja stomatologija. - 2005. - №1. - S. 60-64.
7. Mandra Ju.V. Sovremennye diagnosticheskie podhody v izuchenii mikrojelementnogo sostava tverdyh tkanej zubov pri povyshennoj stiraemosti / Ju.V. Mandra, S.L. Votjakov, D.V. Kiseleva // Ural'skij medicinskij zhurnal. – 2008. - №10(50).- S. 85-89.
8. Mandra Ju.V. Povyshennaja stiraemost' zubov: rannie klinicheskie projavlenija, morfostrukturnye izmenenija, lechebno-profilakticheskie metody korrekcii : dis. ... dok. med. nauk : 14.01.14 / Ju.V.Mandra- Ekaterinburg, 2011. - 200 s.
9. Tkachenko I.M. Strukturni osoblivosti emali pri pidvishhenij i fiziologichnij stertosti zubiv / I.M. Tkachenko, M.M. Skorik // Ukraïns'kij stomatologichnij al'manah. – 2011. – №6. – S. 15-21.
10. Fedorov Ju.A. Osobennosti diagnostiki i novye principy lechenija nekarioznyh porazhenij zubov / Ju.A. Fedorov, V.A. Drozhzhina, P.M. Chernobyl'skaja, N.V. Rubezhova // Novoe v stomatologii. - 1996. - №3(44). - S.10-12.
11. Fedorov Ju.A. Osobennosti diagnostiki i lechenija nekarioznyh porazhenij zubov, voznikshih posle ih prorezyvanija / Ju.A. Fedorov, N.V. Rubezhova // Profilaktika i lechenie osnovnyh stomatologicheskih zabolevanij. - 1995.-Chast' 1.-S.53-55.
12. Cimbalistov A. V. Morfologicheskie predposylki osobennostej lechenija tverdyh tkanej zubov pri osnovnyh stomatologicheskih zabolevanijah / A. V. Cimbalistov, K. G. Seleznev; A.I. Kudar', M.A. Kudar' ; K. G. Seleznev; A.I. Kudar', M.A. Kudar'. // Stomatolog, - 2002. - № 12 - S.7-10.
13. Pat.№ 77728. Sposib doslidzhennja shhil'nosti emali zubiv pri fiziologichnij ta pidvishhenij stertosti zubiv /Tkachenko I.M.; opubl. 25.02. 13, Bjul. № 4.

Реферат

ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ПОВЫШЕННОЙ СТИРАЕМОСТИ ЗУБОВ.

Коваленко В. В, Ткаченко И. М.

Ключевые слова: электронная микроскопия, повышенная стираемость, пломбировочный материал.

Диагностика и лечение повышенная стираемости зубов представляет определенные трудности. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) является наиболее точным и эффективным методом определения деструктивных изменений, которые появляются при декальцинации в поверхностных слоях твердых тканей зубов. Под электронным микроскопом исследовали различные участки поврежденных зубов: центральный очаг поражения, эмалево-дентинную границу, пришеечную область зуба, а также границу соединения пломбировочного материала с твердыми тканями. Использованная в исследовании СЭМ позволила в значительной степени уточнить и существенно дополнить имеющуюся информацию об ультраструктуре такого некариозного поражения зубов как повышенная стираемость. Объемные изображения объектов позволили более детально проанализировать повышенную стираемость зубов, выявить объем и особенности ультраструктурных нарушений.

Summary

ELECTRON MICROSCOPY IN STUDYING HARD DENTAL TISSUES STRUCTURE IN CASES OF EXCESSIVE ATTRITION

Kovalenko V. V., Tkachenko I. M.

Key words: electron microscopy, increased dental attrition, filling materials.

Diagnosis and treatment of increased dental attrition is known as difficult process. Scanning electron microscopy (SEM) is the most accurate and effective method to determine the destructive changes resulting from calcium loss in superficial layers of the hard dental tissues. We used electron microscopy to investigate various areas of damaged teeth: central lesion focus, enamel-dentine junction, cervical region of teeth, and the area of contact between filling material and hard tissues. SEM enabled to clarify and considerable complement data available on the ultrastructure of non-carious tooth lesion as dental attrition. Three-dimensional images of objects allowed us to carry out more detailed analysis of excessive denta attrision and abrasion, to identify the scope and features of ultrastructural abnormalities.