

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ ЧЕЛОВЕКА ПО ДАННЫМ ИСП МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИЕЙ

Минеральная фаза кальцинированных тканей зубов человека накапливает примеси, которые попадают в нее за время формирования. Зубная эмаль имеет фиксированный состав и не изменяется со временем, а минеральная фаза дентина подвергается перестройке только непосредственно у поверхности пульпы. Зубы развиваются постепенно за определенный промежуток времени таким образом, что временная ось оказывается «встроена» в каждый зуб. Некоторые ионы изменяют структуру минерализации, образуя различные гипо- и гиперминерализованные слои в эмали и дентине. Тяжелые металлы, например, свинец, «травмируют» минерализацию и встраиваются в гидроксипатит.

Повышенная стираемость зубов (ПСЗ) занимает одно из первых мест среди заболеваний зубочелюстной системы по распространенности. Наиболее частыми причинами развития ПСЗ являются функциональная недостаточность твердых тканей зубов, морфологическая их неполноценность, перегрузка зубов, химическое воздействие, профессиональные вредности и другие факторы [2]. ПСЗ характеризуется прогрессирующей убылью твердых тканей зуба, сопровождается целым комплексом морфологических, эстетических и функциональных нарушений – это образование фасеток стирания, изменение анатомической формы зубов, гиперестезия дентина, нарушение эстетических норм и др. [2].

Большинство современных исследований микроэлементного состава твердых веществ базируются на масс-спектрометрических данных с лазерным испарением пробы (лазерной абляцией); масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) занимает лидирующую позицию в элементном и изотопном анализе благо-



Власова М.И.

к.м.н., ассистент
кафедры пропедевтики
и физиотерапии
стоматологических
заболеваний ГБОУ ВПО
УГМУ, г. Екатеринбург,
svet_anel11@mail.ru



Киселева Д.В.

к.г.-м.н., институт
естественных наук, УрФУ,
г. Екатеринбург

Резюме

Проведено изучение особенностей локального распределения микроэлементов по твердым тканям зуба человека (эмали и дентину) в норме и при патологических изменениях (при повышенной стираемости зубов). Полученные данные позволяют подтвердить ключевую роль пульпы в нормальном функционировании зуба.

Ключевые слова: твердые ткани зуба, химические элементы.

ESTIMATION OF ELEMENT COMPOSITION OF DENTAL TISSUES RIGHTS ACCORDING TO SRI MASS SPECTROMETRY WITH LASER ABLATION

Vlasova M.I., Kiseleva D.V.

The summary

We studied especially the local distribution of elements in the hard tissues of the tooth; identified group of trace elements, concentrating in various ways in the intact and affected the process of abrasion of the enamel and dentin. The obtained results confirm the key role in the normal functioning of the pulp of the tooth.

Keywords: hard tissues of the tooth, chemical elements.

даря высокой чувствительности, многокомпонентности, универсальности и скорости анализа.

Метод лазерной абляции минимизирует загрязнение из-за отсутствия стадии разложения (растворения), снижает по сравнению с растворами полиатомные спектральные наложения, дает возможность локальных исследований малых «пятен», включений, дефектов на поверхности, элементного картирования и глубинного профилирования пленок, покрытий и напылений [1].

Добавление лазерной абляции в качестве источника ввода пробы позволяет проводить прямое определение ряда элементов в твердых тканях зубов. Но, несмотря на то, что метод лазерной абляции очень удобен, процедуры градуирования являются достаточно сложными, в первую очередь, из-за ограниченного числа стандартных образцов в виде соответствующей сертифицированной микрогомогенной матрицы [1]. Также для данного способа ввода твердой пробы использование стандартных образцов затруднено из-за возможной неоднородности пробы в точке абляции. Среди возможных причин ошибок при количественном определении называют варьирование выходной мощности лазера, варьирование плотности мощности на поверхности, рассеяние света и изменения в эффективности переноса аэрозоля из ячейки [1]. Лазерный луч оставляет на поверхности кратеры, которые не являются полностью симметричными; на микрофотографиях [4] наблюдается эффект «ореола» или «короны» вокруг каждого кратера, вызванный тем, что некоторая часть пробы не переносится в источник плазмы, а падает обратно на поверхность образца. Анализ обычно производится во временно разрешенном режиме (Time Resolved Analysis, TRA), в котором информация собирается в течение дискретных временных интервалов при непрерывной абляции пробы.

В ряде работ [3, 5] с целью проведения относительного сравнения между образцами зубов были изучены различные отношения *изучаемый элемент/основной элемент*. Полуколичественные данные были получены отнесением интенсивности интересующего элемента к интенсивности основного элемента, такого как фосфор (масса 31 а.е.м.) или кальций (масса 43 а.е.м.), которые содержатся в большом количестве во всех пробах зубных тканей.

Цель исследования

Изучение особенностей локального распределения микроэлементов по твердым тканям зуба человека (эмали и дентину) в норме и при патологических изменениях (при повышенной стираемости зубов).

Задачи исследования

Отработать методику локального экспрессного микроэлементного анализа твердых тканей зуба человека методом масс-спектрометрии с лазерной абляцией; изучить особенности лазерного испарения биогенного гидроксиапатита на примере эмали и дентина зубов человека; выявить закономерности накопления микроэлементов и их распределения по эмали и дентину интактного зуба и зуба с ПСЗ.

Материалы и методы исследования

Материалом для экспериментального исследования служили два образца зубов – интактный (удаленный по ортопедическим и ортодонтическим показаниям) и зуб с повышенной стираемостью 2-й степени.

Из зубов изготавливались продольные сечения толщиной 1-1,5 мм, подготовленные с использованием стоматологической установки A-DEC, повышающего низкоскоростного наконечника W&H, алмазного сепарационного диска. Скорость вращения в наконечнике варьировалась от 30 000 до 300 000 оборотов в минуту. Препарирование проводилось с перерывами под водяным охлаждением, для шлифовки использовались гибкие абразивные диски. Готовые препараты фиксировались в шайбе с эпоксидной смолой, которая помещалась в камеру приставки для лазерной абляции.

Лазерное испарение образцов проводилось на приставке LSX-500 (лазер на основе алюмо-итриевого граната YAG:Nd, длина волны излучения 266 нм, энергия в импульсе 0,9 мДж, частота повторения импульсов 20 Гц, диаметр пятна абляции 100 мкм), совмещенной с ИСП-масс-спектрометром квадрупольного типа ELAN 9000.

Все измерения проводились в режиме количественного анализа с построением градуировочных кривых. Для градуировки использовался стандартный образец состава фосфата кальция MAPS-4 (microanalytical phosphate standard, USGS, США), полученный лабораторией физических и химических методов исследования минерального вещества (ИГГ УрО РАН) по программе межлабораторных сравнительных испытаний G-Probe [1]. Способ приготовления стандартного образца состоял в добавлении 45 примесных элементов к чистому фосфату кальция, истиранию полученной суспензии до 40 микрон, высушивании при 110°C и последующем прессовании в таблетку. Данный способ приготовления обеспечивает требуемую однородность стандартного образца.

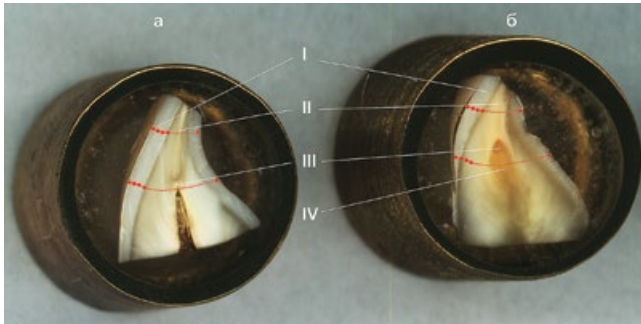
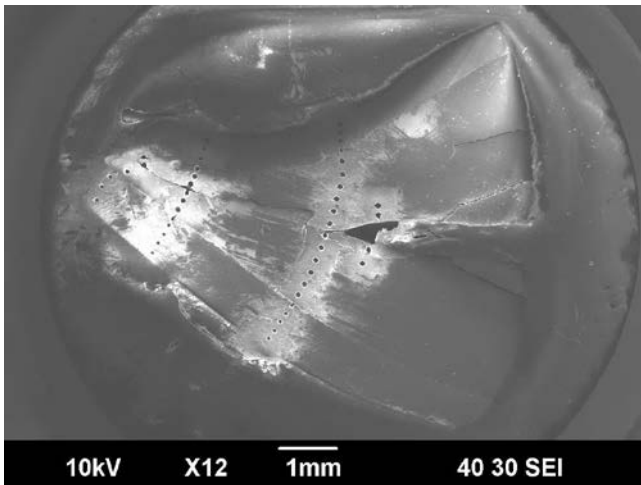
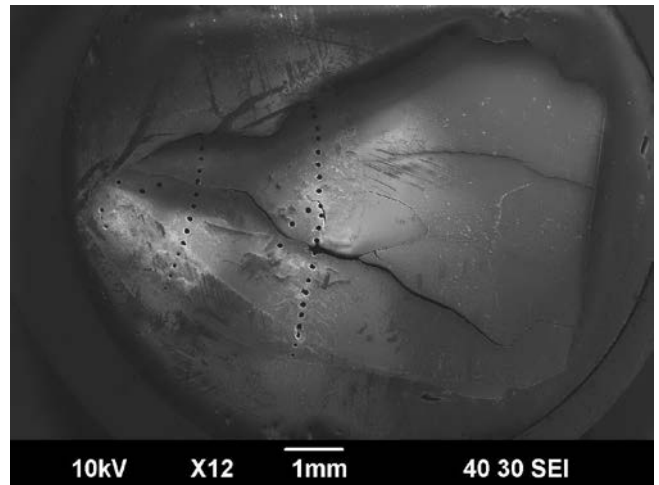


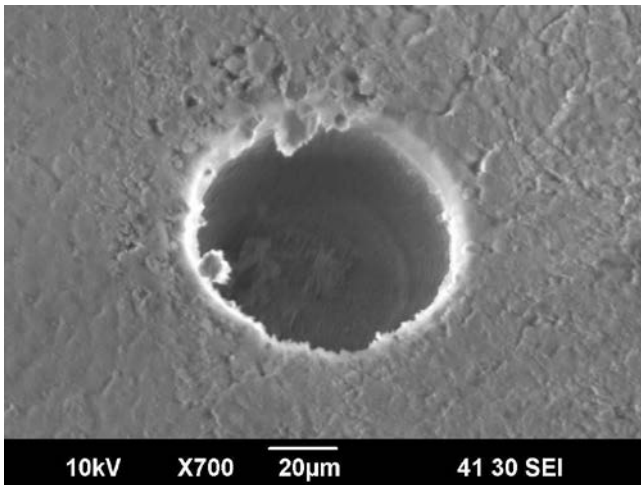
Рис. 1. Точки опробования твердых тканей intactного зуба (а) и зуба с проявлениями стираемости второй степени (б):
 I – эмаль, II – поверхностный (плащевой) дентин,
 III – глубокий (околопульпарный) дентин,
 IV – склерозированный дентин



а



б



в

Рис. 2. СЭМ – изображения лазерного профилирования intactного зуба (а) и зуба с проявлениями стираемости второй степени (б), а также изображение кратера в эмали зуба с ПСЗ (в).

Сканирующий электронный микроскоп JEOL JSM-6390LV

Для повышения правильности и точности анализа в расчетах концентраций использовались относительные интенсивности элемент/ ^{43}Ca .

Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 приведены изображения исследованных образцов зубов. Лазерное профилирование осуществлялось в двух частях каждого зуба (зоны I-II и III-IV), в направлении от буккальной эмали к лингвальной через дентин.

На рис. 2 приведены СЭМ-изображения лазерного профилирования исследованных зубов и микрофотография кратера в эмали зуба с ПСЗ.

Из рис. 2в видно, что при выбранных опера-

ционных параметрах кратеры от взаимодействия с лазерным пучком имеют правильную форму, при этом не наблюдается эффекта «ореола», что позволяет предположить, что практически вся масса испаренного вещества была перенесена в плазму.

На рис. 3 приведены распределения ряда микроэлементов по эмали и дентину исследованных образцов. Анализ полученных данных позволяет выявить некоторые закономерности по вариациям содержания микроэлементов: для эмали и дентина зуба с ПСЗ отмечено пониженное содержание бария, олова, ртути, марганца, и повышенное – стронция, цинка, хрома, по сравнению с твердыми тканями intactного зуба. Для ряда микроэлементов в intactном зубе (цинк, хром, барий, ртуть, олово, марганец) характерно «колоколообразное» распределение по дентину с максимумом в околопульпарной области, при этом на распределениях хрома, цинка и ртути по дентину зуба с повышенной стираемостью в околопульпарной

области, заполненной склерозированным дентином, наблюдаются провалы.

Такие микроэлементы, как хром, цинк, марганец, олово являются эссенциальными для организма человека, они входят в состав жизненно важных ферментов и протеинов [6]. Можно предположить, что твердые ткани интактного зуба обогащены эссенциальными микроэлементами, поступающими через пульпу, а при развитии повышенной стираемости в пульпарном канале откладывается заместительный (склерозированный дентин) [2], что приводит к дефициту жизненно важных элементов в твердых тканях пораженного зуба.

Выводы

Таким образом, при помощи метода ЛА-ИСП-МС были изучены особенности локального распределения элементов по твердым тканям зуба; выявлены группы микроэлементов, концентрирующихся различным образом в интактных и затронутых процессом стираемости эмали и дентине. Полученные данные позволяют подтвердить ключевую роль пульпы в нормальном функционировании зуба.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №12-05-31225 мол_а, а также УрО РАН, проекты №13-05-022-УМА и 13-5-ИП-430.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамович Н.Н., Киселева Д.В. Межлабораторный контроль качества ЛА-ИСП-МС микроанализа в рамках международной программы тестирования геоаналитических лабораторий G-probe. Ежегодник-2011. – Тр. ИГГ УрО РАН, вып. 159, 2012. – С. 222-223.
2. Мандра Ю.В. Повышенная стираемость зубов: ранние клинические проявления, морфоструктурные изменения, лечебно-профилактические методы коррекции: дис. ... док. мед. наук. – Екатеринбург, 2010. – 200 с.
3. Trace element profiling of dental tissues using laser ablation - inductively coupled plasma - mass spectrometry/ A.Cox, F.Keenan, M.Cooke, J.Appleton // Fresenius J Anal Chem. – 1996. – №354. – P. 254-258.
4. Development of a method for the determination of heavy metals in calcified tissues by inductively coupled plasma-mass spectrometry // K.M.Lee, Appleton J., Cooke M., Sawicka-

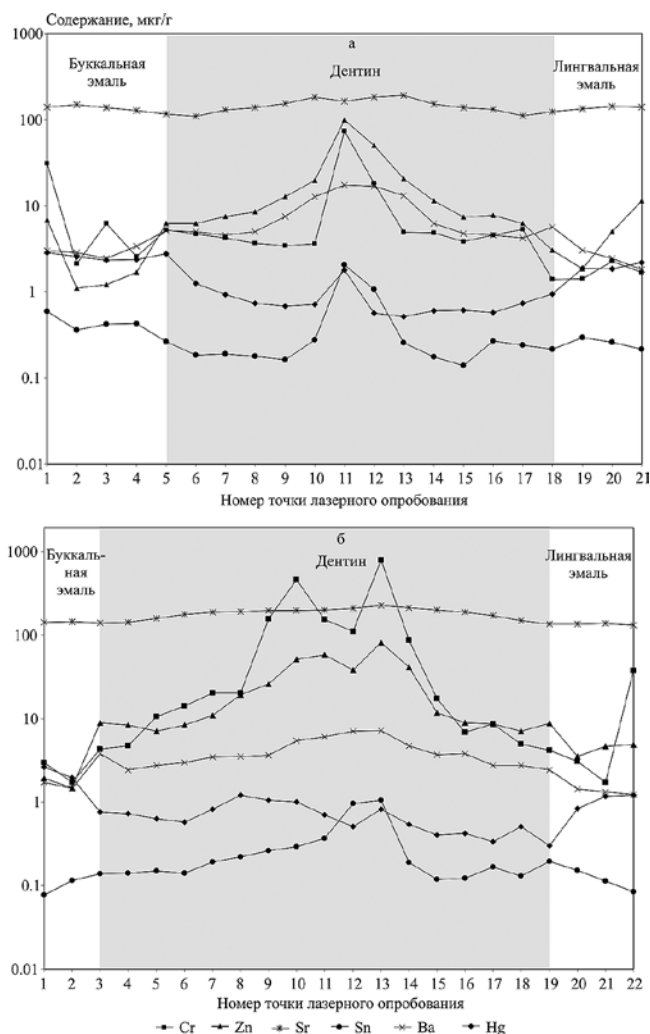


Рис. 3. Распределения ряда микроэлементов по эмали и дентину интактного зуба (а) и зуба с проявлениями стираемости второй степени (б) в областях III-IV

- Kapusta K., Damek M. // Fresenius J Anal Chem, 1999. – №364. – P.245-248.
5. Lochner F., Appleton J., Keenan F., Cooke M. / Multi-element profiling of human deciduous teeth by laser ablation – inductively coupled plasma – mass spectrometry // Analytica Chimica Acta. – 1999. – №401. – P. 299-306.
6. Reeder R., Schoonen M., Lanzirrotti A. Metal speciation and its role in bioaccessibility and bioavailability. In Reviews in Mineralogy and Geochemistry, V.64. – Medical Mineralogy and geochemistry, 2006. – P. 59-110.