

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

**Фотообесцвечивание дентина и спектрометрический контроль уровня
пигментации**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ
ПОДГОТОВЛЕННОЙ НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ
(ДИССЕРТАЦИИ)

аспиранта 4 курса

направления 06.06.01 «Биологические науки»

физического факультета

Казадаевой Наталии Игоревны

Научный руководитель

доцент кафедры оптики и биофотоники,

к.х.н., доцент

_____ А.Б. Правдин

Саратов 2019

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы:

Основными проблемами современной эстетической стоматологии являются отбеливание зубов и правильное определение их цвета при отбеливании и реставрации.

Цвет зубов зависит от их внешнего и внутреннего окрашивания. Внешнее окрашивание зубов связано с абсорбцией красящих пигментов, находящихся в употребляемых продуктах, на поверхности эмали. Данный тип окрашивания достаточно удачно удаляется механически или с минимальным использованием химических агентов. Внутреннее окрашивание связано с метаболическими и патологическими процессами, вызывающими проникновение и накопление красящих веществ внутри зуба (глубокие слои эмали, эмалево-дентинное соединение и дентин). Удаление внутреннего окрашивания является основной проблемой при отбеливании зубов. Существуют различные причины появления внутреннего окрашивания: проникновение крови в ткань зуба при внутреннем кровотечении зуба, накопление лекарственных медикаментов в дентине, дефект развития дентина и эмали, воздействие компонентов некоторых материалов для пломбирования корневых каналов, образование вторичного дентина, возрастные изменения структуры твердых тканей зубов, истончение эмали. Естественный желтоватый оттенок дентина связан с образованием межмолекулярных коллагеновых сшивок, образующихся при появлении конечных продуктов реакции Майяра (неферментативное гликозилирование коллагена). Для устранения внутреннего окрашивания применяется отбеливание на основе сильных окислителей, таких как перекись водорода и перекись карбамида. Данные методы отбеливания имеют ряд недостатков, которые связаны с дефектами на поверхности эмали, увеличением чувствительности зубов после проводимого лечения, воздействием на пульпу, взаимодействием с реставрационным материалом, разрушением твердых тканей в области шейки

депульпированных зубов, которые приводят к ограничениям применения этих методов отбеливания. Для активации сильных окислителей применяется свет или тепло, и на такие методики иногда ссылаются как на «методы фотоотбеливания». Истинное же фотоотбеливание (без применения сильных химических окислителей) возможно при реализации методик фотодинамического воздействия на желто-коричневый пигмент дентина, на разрушение которого, собственно, и направлено отбеливание. При фотодинамическом воздействии реакционноспособные формы кислорода (синглетный кислород и/или кислородсодержащие свободные радикалы) генерируются из молекулярного кислорода в основном триплетном состоянии в каскаде фотохимических и фотофизических процессов с участием фотовозбужденных молекул сенсibilизатора. В литературе имеются указания на то, что эндогенным сенсibilизатором может служить сам пигмент, образовавшийся в коллаген-содержащих тканях. В случае пигментации дентина таким фотосенсibilизатором может служить сам желтый хромофор. Установление закономерностей такого фотообесцвечивания дентина определяет цель настоящей работы.

Исследование закономерностей фотообесцвечивания дентина (зуба) требует использования объективных методов фиксации изменения окраски (степени пигментации) дентина при фотовоздействии. Существующие методы для определения цвета зубов подразделяются на визуальные и аппаратные. Ведущими методами являются визуальные за счет их удобства, быстроты и низкой стоимости. Визуальное определение цвета является субъективным методом, требующим наличия профессиональной подготовки, оптимальных условий и зависит от индивидуальных особенностей исследователя, таких как восприятие цвета и острота зрения. Данный метод имеет множество недостатков, таких как изменение цветовосприятия при утомляемости, наличие порога чувствительности зрительного анализатора, влияние различных препаратов, изменяющих цветовое зрение, а также влияние сторонних факторов, а именно освещения, окружающего фона и обстановки.

Аппаратные методы определения цветности зуба (дентина), исключая влияние субъективных факторов, позволяют получить хорошо воспроизводимые объективные значения параметров цветности. В качестве аппаратных методик наибольшее распространение приобрели колориметрия, спектрофотометрия и цифровая фотография. Два последних метода наиболее часто используются в клинической практике. Спектральные методы определения цветности зуба успешно используются в стоматологии для обнаружения кариозных поражений на ранних стадиях развития. Использование цветовой фотосъемки для определения цветовых характеристик зуба наиболее приближено к зрительному цветовосприятию. Однако для определения цветовых характеристик необходимо анализировать изображения, полученные при идеальных оптических условиях; реализация таких условий при проведении лабораторных исследований по изменению цветности дентина является в значительной мере время- и трудозатратной. В связи с этим представляется актуальной разработка методик контроля уровня пигментации дентина (зуба) основанных на спектрофотометрических измерениях.

Вышесказанное определяет **цель работы:** установление закономерностей фотообесцвечивания дентина и разработка методов спектрофотометрического контроля пигментации дентина.

Основными задачами данной работы являются:

1. Разработка и сборка лабораторных установок для фотоотбеливания зубов *ex vivo* с фиолетовой светодиодной матрицей LED405-66-60 и с красной светодиодной матрицей LED625-4x4PC66;
2. Установление влияния оксигенации на эффективность фотоотбеливания дентина
3. Установление зависимости фотообесцвечивания дентина от pH среды

4. Исследование фотообесцвечивания окраски дентина, обусловленной гликированием коллагенового матрикса;

5. Использование методов флуоресцентной и отражательной спектроскопии, метода расчета цветовых координат по спектральным данным и метода анализа цифровой фотографии в цветовом пространстве Lab для оценки изменения окраски дентина при фотообесцвечивании.

Объектом исследования является дентин зубов человека, удаленных по ортодонтическим показаниям.

Предмет исследования:

1 Фотоотбеливание дентина зубов человека *ex vivo* при различных химических условиях

2 Лабораторное сухое термическое гликирование дентина;

3 Спектрофотометрические методики для лабораторной оценки цветности дентина.

Теоретическая и методологическая основы исследований

Для описания исчезновения в спектрах автофлуоресценции дентина эффектов внутреннего фильтра, связанных с уничтожением желто-коричневого пигмента в коллагене применялась методика Синичкина Ю.П. и Утца С.Р., основанная на рассмотрении механизма формирования спектра автофлуоресценции кожи и влияние на него присутствующих хромофоров в ткани. В работе применялись методики расчета координат цвета в цветовом пространстве МКО 1931г по заданному распределению спектральной плотности величины измерения излучения источника, методика расчета цветовых различий по рекомендациям МКО 1950г.

Полученные результаты обрабатывались с помощью программ OriginPro 8, ImageJ, UFRaw (свободно распространяемое ПО).

Обоснованность и достоверность результатов исследований

Достоверность научных выводов работы подтверждается корректностью методов, используемых для теоретического и практического анализа, а также соответствием выводов, полученных в работе, известным научным результатам.

Научная новизна работы

1. Показано, что процесс фотообесцвечивания дентина при $\lambda=405$ нм имеет характер фотоокисления пигмента как естественного, так и полученного при искусственном гликировании.

2. Впервые установлена зависимость фотообесцвечивания дентина при $\lambda=405$ нм от рН сред, уменьшение рН ведет к более эффективному процессу фотообесцвечивания, как естественного, так и искусственного гликированного дентина

3. Впервые использован экзогенный фотосенсибилизатор метиленовый синий и облучение при $\lambda=625$ нм для фотообесцвечивания естественной и вызванной гликированием пигментации дентина

4. Впервые установлено, что образец дентина, обусловленная гликированием пигментация которого была фотообесцвечена, может быть подвергнут повторному гликированию с возникновением пигментации.

Теоретическая и практическая значимость исследования

- Полученные данные по фотоокислительному отбеливанию дентина зуба человека при различных химических условиях, могут послужить основой для возможного будущего использования данной, более щадящей методики по сравнению с современным, в биохимических исследованиях и в эстетической стоматологии.

- Полученные сведения об фотоотбеливании желтого пигмента дентина, образовавшегося из-за неферментативного гликозилирования белков дентина, могут использоваться для разработки диагностической методики

долговременного мониторинга уровня глюкозы в тканевой жидкости с возможностью «обнуления» показаний путем фотообесцвечивания при гипергликемии.

- Анализ значений цветовых характеристик, рассчитанных по зарегистрированным спектрам отражения и флуоресценции, позволяет рекомендовать зондовую методику регистрации спектров отражения (с поправкой на яркость) с использованием широкополосного галогенового источника света для контроля изменения уровня желтой пигментации при молекулярном фотоотбеливании зубов в лабораторных условиях.

Структура работы:

Научно-квалификационная работа состоит из введения, четырех глав, и заключения. Первая глава посвящена обзору литературы по морфологической характеристике и оптическим свойствам твердых тканей зуба человека, различным видам окрашивания зубов и причинам их возникновения, различным методам отбеливания зубов и различным способам регистрации изменения степени окраски зубов. Во второй главе исследуется влияние дополнительной оксигенации и pH среды на фотоотбеливание. В третьей главе исследуется метод сухого термического гликирования дентина и возможности удаления окраски гликированного дентина путем фотоотбеливания. В четвертой главе проводится исследование различных спектрофотометрических методик контроля цветности зуба с целью выбора оптимальной. Полный объем работы составляет 111 страниц, включая 57 рисунков и 1 таблицу. Список использованных источников содержит 90 наименований. После списка использованных источников располагаются 2 приложения.

Основные выводы по данной работе заключаются в следующем:

1. Было исследовано влияние химических условий на эффективность отбеливания дентина *ex vivo*. По зарегистрированным

спектрам флуоресценции и значениям хроматических составляющих цвета дентина можно сделать вывод, что оксигенация и кислотная среда имеют положительное влияние на фотоотбеливание при $\lambda=405$ нм.

2. По зарегистрированным значениям хроматических составляющих цвета дентина можно прийти к заключению, что возможно использование водных растворов метиленового синего в качестве сенсбилизатора для фотоотбеливания при $\lambda= 625$ нм.

3. Была предложена и апробирована методика сухого термического гликирования дентина на зубах человека *ex vivo*. Неферментативное гликозилирование дентина белков дентина (которое может протекать при гипергликемии) приводит к усилению желтой окраски дентина, однако эта окраска дентина достаточно легко удаляется фотообесцвечиванием, при этом возможно повторное гликозилирование, что указывает на возможность использования этого эффекта для разработки диагностической методики долговременного мониторинга уровня глюкозы в тканевой жидкости с возможностью «обнуления» показаний путем фотообесцвечивания.

4. С целью выбора оптимальной методики контроля цветности зуба, в процессе молекулярного фотоотбеливания, проведены измерения цветности образцов дентина различными методами с использованием методики оценки цвета по цифровой фотографии в качестве эталона. Анализ значений цветовых характеристик, рассчитанных по зарегистрированным спектрам отражения и флуоресценции, позволяет рекомендовать зондовую методику регистрации спектров отражения (с поправкой на яркость) с использованием широкополосного галогенового источника света для контроля изменения уровня желтой пигментации при молекулярном фотоотбеливании зубов в лабораторных условиях.

Апробация работы: результаты работы были представлены на 9 международных и Российских конференциях:

1. SPIE Photonics West BIOS (San Francisco, California, USA, 2015)
2. Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами (Саратов, Россия 2015)
3. SPIE Photonics West BIOS (San Francisco, California, USA, 2016)
4. Международная школа для студентов и молодых ученых по оптике, лазерной физике и биофизике Saratov Fall Meeting (Саратов, Россия 2016)
5. Всероссийская научная школа-семинар, Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине (Саратов, Россия 2016)
6. Международная школа для студентов и молодых ученых по оптике, лазерной физике и биофизике Saratov Fall Meeting (Саратов, Россия 2017)
7. Всероссийская научная школа-семинар, Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине (Саратов, Россия 2017)
8. SPIE Photonics West BIOS (San Francisco, California, USA, 2018)
9. Международная школа для студентов и молодых ученых по оптике, лазерной физике и биофизике Saratov Fall Meeting (Саратов, Россия 2018)

Основные публикации по теме диссертации:

1. Н.И. Казадаева, А.Б. Правдин, Л.Е. Долотов, В.В. Тучин. ФОТООТБЕЛИВАНИЕ ДЕНТИНА В СРЕДАХ С РАЗЛИЧНЫМ pH / Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: материалы Всерос. научной школы-

семинара / Под ред. проф. Д. А. Усанова. – Саратов: изд-во Саратовский источник, 2015

2. Казадаева Н.И., Водолагин М.Ю., Долотов Л.Е., Правдин А.Б. Методы определения степени окраски дентина / МЕТОДЫ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ – 2016: материалы Всероссийской школы-семинара / Под редакцией профессора Д. А. Усанова. – Саратов: изд-во Саратовский источник, 2016

3. Казадаева Н.И., Долотов Л.Е., Правдин А.Б. Использование спектрофотометрических методик при лабораторной оценке цветности дентина / «Проблемы оптической физики и биофотоники» SFM – 2017: материалы 5го Международного симпозиума и 21й Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2017. Посвящается 100-летию физико-математического образования в Саратовском государственном университете / Под редакцией Г. В. Симоненко, В. В. Тучина – Саратов, НОВЫЙ ВЕТЕР, 2017

4. Казадаева Н.И., Долотов Л.Е., Правдин А.Б. Определение цветовых координат по спектральным характеристикам дентина / МЕТОДЫ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ – 2017 Материалы Всероссийской школы-семинара / Под редакцией профессора Д.А. Усанова – Саратов, Издательство «Саратовский источник», 2017

5. Казадаева Н.И., Кашина Т.А., Долотов Л.Е., Правдин А.Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦВЕТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПО СПЕКТРАЛЬНЫМ ДАННЫМ ПРИ ФОТООТБЕЛИВАНИИ ГЛИКИРОВАННОГО ДЕНТИНА / «Проблемы оптической физики и биофотоники» SFM – 2018: материалы 6го Международного симпозиума и 22й Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2018. / Под редакцией Г. В. Симоненко, В. В. Тучина – Саратов, НОВЫЙ ВЕТЕР, 2018