

ОРГАНОМИНЕРАЛЬНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БИОМИМЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ С ТВЕРДЫМИ ТКАНЯМИ ЗУБА

DOI: 10.17691/stm2020.12.1.05
УДК 616.314–073.584:57.08:535.37
Поступила 25.06.2019 г.

© П.В. Середин, д.ф.-м.н., старший научный сотрудник кафедры физики твердого тела и наноструктур¹;
О.А. Успенская, д.м.н., доцент, зав. кафедрой терапевтической стоматологии²;
Д.Л. Голощачов, к.ф.-м.н., ведущий инженер кафедры физики твердого тела и наноструктур¹;
И.Ю. Ипполитов, к.м.н., ассистент кафедры детской стоматологии с ортодонтией³;
Jitraporn (Pimm) Vongsvivut, Beamline Scientist, IR Microspectroscopy⁴;
Ю.А. Ипполитов, д.м.н., профессор, зав. кафедрой детской стоматологии с ортодонтией³

¹Воронежский государственный университет, Университетская площадь, 1, Воронеж, 394018;

²Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

³Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая, 10, Воронеж, 394036;

⁴Australian Synchrotron (Synchrotron Light Source Australia Pty LTD), 800 Blackburn Rd Clayton, Melburn, VIC 3168, Australia

Цель исследования — оценить интеграцию с нативными твердыми тканями зуба человека нового поколения биомиметических материалов, воспроизводящих минералорганический комплекс эмали и дентина, с использованием для многомерной визуализации и анализа ИК-микроспектроскопии.

Материалы и методы. Определение условий возникновения устойчивой интеграции на границе биомиметический материал–естественная твердая ткань производилось с применением биоконпозиционной буферной системы, включающей нанокристаллический карбонат-замещенный гидроксипатит кальция, соответствующий по совокупному ряду характеристик апатиту эмали и дентина человека, и ряд аминокислот, присутствующих в составе органического матрикса эмали и дентина: L-гистидин, L-лизина гидрохлорид, L-аргинина гидрохлорид и гиалуроновую кислоту. Готовые образцы были изучены методом ИК-микроспектроскопии с привлечением оборудования канала ИК-микроспектроскопии (IRM) (Австралийский синхротрон, Мельбурн, Австралия).

Результаты. На основе ИК-картирования интенсивности конкретной функциональной молекулярной группы с использованием синхротронного излучения выявлены и визуализированы характеристические особенности биомиметического переходного слоя в межфазной области эмаль–стоматологический материал и определено расположение функциональных групп, отвечающих процессам интеграции биомиметического композита.

Ключевые слова: биомиметические материалы; нативная твердая ткань зуба человека; ИК-микроспектроскопия; синхротронное излучение.

Как цитировать: Seredin P.V., Uspenskaya O.A., Goloshchapov D.L., Ippolitov I.Yu., Jitraporn (Pimm) Vongsvivut, Ippolitov Yu.A. Organic-mineral interaction between biomimetic materials and hard dental tissues. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(1): 43–51, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.1.05>

English

Organic-Mineral Interaction between Biomimetic Materials and Hard Dental Tissues

P.V. Seredin, DSc, Senior Researcher, Department of Solid State Physics and Nanostructures¹;

O.A. Uspenskaya, MD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Therapeutic Dentistry²;

D.L. Goloshchapov, PhD, Leading Engineer, Department of Solid State Physics and Nanostructures¹;

I.Yu. Ippolitov, MD, PhD, Tutor, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics³;

Для контактов: Ипполитов Юрий Алексеевич, e-mail: dsvigma@mail.ru

Jitraporn (Pimm) Vongsvivut, Beamline Scientist, IR Microspectroscopy⁴;
Yu.A. Ippolitov, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics³

¹Voronezh State University, 1 University Square, Voronezh, 394018, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

³Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, 10 Studencheskaya St., Voronezh, 394036, Russia;

⁴The Australian Synchrotron (Synchrotron Light Source Australia Pty LTD), 800 Blackburn Rd., Clayton VIC 3168, Melbourne, Australia

The aim of the investigation was to study the integration between native human dental tissue and new-generation biomimetic materials replicating the mineral-organic complex of dentin and enamel using IR microspectroscopy for multidimensional visualization and analysis.

Materials and Methods. The conditions for stable integration at the interface between biomimetic material and natural hard tissue were identified using a biocomposite buffer system of nanocrystalline carbonate-substituted calcium hydroxyapatite corresponding in its total characteristics to human dentin-enamel apatite and a number of amino acids present in the organic matrix of dentin and enamel: L-histidine, L-lysine hydrochloride, L-arginine hydrochloride, and hyaluronic acid. The finished samples were studied using IR microspectroscopy on IRM channel equipment (The Australian Synchrotron, Melbourne, Australia).

Results. The characteristic features of the biomimetic buffer layer at the interface between the enamel and dental material were revealed and visualized based on IR mapping of absorption intensity for particular functional molecular groups with the use of synchrotron radiation, location of the functional groups involved in the processes of biomimetic composite integration was identified.

Key words: biomimetic materials; native human hard dental tissue; IR microspectroscopy; synchrotron radiation.

Введение

На современном этапе развития стоматологического материаловедения восстановление анатомической основы зуба человека или его части осуществляется с использованием цементов и пломбирочных материалов, которые имеют низкое сродство с эмалью и дентином зуба [1, 2]. Следствием данного факта является неудовлетворительная адгезия и возникновение вторичного кариеса на границе пломба–эмаль зубов [2], поэтому улучшение интеграции применяемого или разрабатываемого материала с зубным матриксом — актуальная задача стоматологии [1, 3].

Одновременно с этим активно изучается взаимодействие синтетического материала с тканями зуба, а также формирование биомиметического переходного слоя на межфазной границе между естественной твердой тканью зуба и стоматологическим композитом [2–5], который должен выступать связующим звеном между двумя гетерогенными материалами.

Учитывая, что дентин и эмаль являются биологическими структурно-организованными нанокристаллическими композитами с мезо- и нанопористой структурой, обладающими анизотропией механических, оптических и трофических свойств [6], создание стоматологического синтетического материала схожей конфигурации — неординарная и чрезвычайно сложная проблема [7]. Поэтому в настоящее время с целью минимизации сколов, истирания, эрозии и развития кариеса на границе биокомпозит–ткани зуба активно развивается биомиметический подход к реставрации и регенерации утраченных твердых тканей зубов [8–10]. В рамках данного подхода для процессов восстанов-

ления и воссоздания твердой зубной ткани предполагается использование материалов, которые по своему молекулярному составу, химическим и морфологическим характеристикам имеют максимальное родство с естественным апатитом эмали и дентина, а также с их аминокислотным матриксом [8, 10–12]. Современные материалы для стоматологии, учитывающие состав нативных тканей зубов человека, обязательно включают в себя нанокристаллический гидроксипатит кальция с различной дефектной структурой в нем [7, 13, 14]. Кроме того, обязательным условием при создании такого рода материалов является включение в их состав различного типа органической составляющей для улучшения механических, адгезивных и прочностных характеристик [15–17].

Следует отметить наличие многократных попыток использования принципа биомиметики для воспроизведения органоминерального комплекса зубов и достижения эмале- и дентиноподобной структуры у композитов [10, 18–21]. В самых последних из известных работ биокомпозиты были созданы путем синтеза гидроксипатита кальция в присутствии различных полимеров и аминокислотных составляющих, а также поверхностно-активных веществ и высокомолекулярных соединений [15, 22–24]. Эта идея основана на фундаментальных принципах взаимодействия материалов и используется для достижения морфологической однородности и гомогенного распределения нанокристаллов гидроксипатита на поверхности полимерной и органической матрицы. Однако проблема синтеза родственных эмали/дентину биомиметических материалов включает не только фундаментальные вопросы технологии получения биокомпозитов [12,

25, 26], но и задачи установления органоминерального взаимодействия между естественной тканью и созданным по ее подобию биоматериалом [12, 27, 28]. Поэтому необходимы и востребованы тщательные исследования как биогенных образцов эмали и дентина, так и процессов, происходящих в синтетических аналогах нативных материалов, а также изучение взаимодействия на межфазных границах стоматологического материал–биомиметический композит–твердая ткань зуба человека.

Одним из методов, зарекомендовавших себя при исследованиях биологических объектов, является инфракрасная (ИК) Фурье-микроспектроскопия [29–32]. Преимущество данного метода заключается в высокой избирательности и чувствительности: он позволяет получить обширные и разнообразные сведения о молекулярном составе различных тканей зубов человека [30, 33]; исследовать механизмы молекулярных превращений, происходящих в биомиметических материалах; регистрировать новообразованные минеральные фазы [34, 35]. К достоинствам ИК-микроспектроскопии также можно отнести возможность использования ее при анализе многокомпонентных стоматологических материалов [30]. В отличие от ряда других методов при использовании ИК-микроспектроскопии изучаемая система подвергается слабым внешним воздействиям, поэтому полученная информация не претерпевает изменений в результате этих взаимодействий [31]. Включение в измерительную схему микроскопа, а также использование источника синхротронного излучения при исследованиях биологических объектов позволяет собрать большие массивы спектров с микрообласти образца за короткое время. Это дает возможность сформировать ИК-микроспектроскопическое мозаичное изображение образца, одновременно богатое различной информацией о молекулярной химии, составе и структуре исследованных гетерогенных образцов.

Использование синхротронной ИК-микроспектроскопии уже позволило нам достигнуть необходимого спектрального разрешения и достоверно определить изменения, происходящие в молекулярном составе образцов в случае кариеса [32, 36].

Целью данной работы стало исследование молекулярно-химических особенностей формирования интерфейса стоматологического материал–биомиметический композит–твердая ткань зуба с использованием многомерной визуализации данных синхротронной ИК-микроспектроскопии.

Материалы и методы

Изучение буферных слоев биокomпозиционных материалов и определение условий возникновения устойчивых функциональных связей на границе биомиметический материал–естественная твердая ткань производилось на образцах зубов, удаленных у па-

циентов в возрасте 18–45 лет по ортодонтическим показаниям. Образцы зубов с начальным фиссурным кариесом во избежание протекания долговременных процессов обызвествления и кальцификации немедленно препарировались с использованием утвержденных стандартов и в соответствии с диагностированной патологией.

Во всех образцах формирование полости в эмали производили до дентина с использованием водяного охлаждения для исключения перегрева зубного матрикса. На поверхность полученной полости наносили биокomпозиционную буферную систему, включающую разработанный авторами нанокристаллический карбонат-замещенный гидроксипатит кальция (КГАП), соответствующий по совокупному ряду характеристик апатиту эмали и дентина человека [37, 38], и ряд аминокислот, присутствующих в составе органического матрикса эмали и дентина: L-гистидин, L-лизина гидрохлорид, L-аргинина гидрохлорид и гиалуроновую кислоту. Соотношение составляющих было выбрано аналогично их содержанию в составе эмалевого матрикса [39]. При фиксации полученной буферной системы использовали универсальный светоотверждаемый адгезив для биоактивной бондинговой системы, показавший эффективное связывание с разработанными коммерческими материалами [40]. Для заполнения дефектов и улучшения связывания с твердыми тканями зуба в адгезив был внесен КГАП. Адгезив, содержащий КГАП, наносили на поверхность буферного слоя и подвергали предварительной фотополимеризации в течение 20 с. По истечении 1 мин на сформированный биокomпозиционный связующий слой наносили коммерческий композитный реставрационный материал Dyract XP (Dentspey Sirona, США), содержащий компоненты адгезива. После этого подготавливали плоскопараллельные сегменты образцов отреставрированных зубов по методике, описанной в работах [41, 42].

Полученные шлифы были изучены методом ИК-микроспектроскопии с привлечением оборудования оптического канала ИК-микроспектроскопии (Австралийский синхротрон, ASP, Мельбурн, Австралия), имеющего в своем составе ИК-спектрометр Vertex 80v, сопряженный с ИК-микроскопом Hyperion 3000 с детектором, охлаждаемым жидким азотом (Bruker Optik, Германия) [31]. Картирование выделенной области исследуемых биологических объектов на ИК-микроскопе Hyperion 3000 (рис. 1, а) осуществляли с использованием призмы и приставки нарушенного полного внутреннего отражения Hybrid macro ATR-FTIR (рис. 1, б). Размер исследуемой области ограничивался размером призмы и составлял ~250 мкм. Полученные ИК-спектры поглощения были зарегистрированы в области от 3800–700 см⁻¹ при спектральном разрешении 4 см⁻¹.

С использованием приставки macro ATR-FTIR на Австралийском источнике синхротронного излучения были исследованы участки межфазной границы

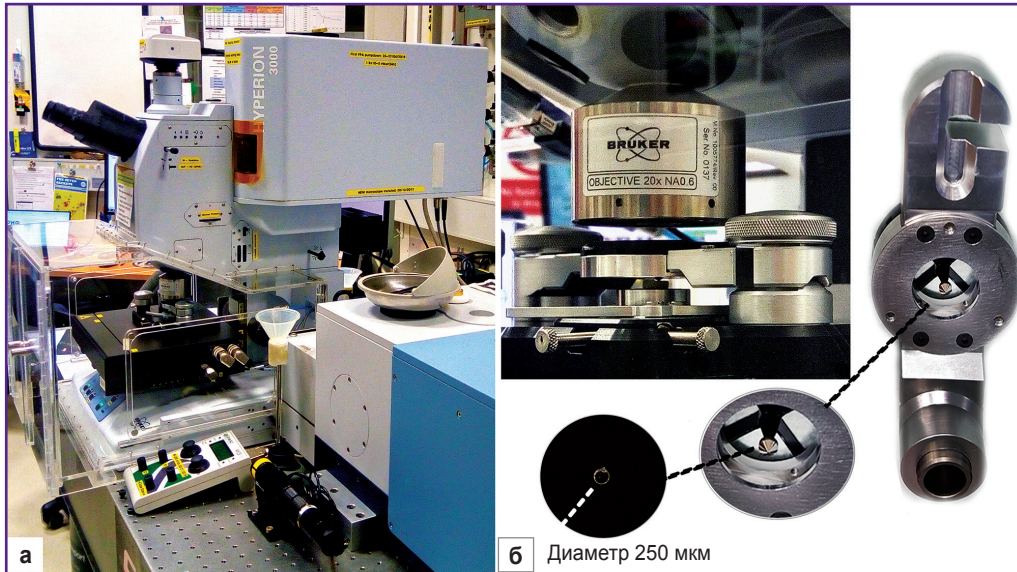


Рис. 1. ИК-микроскоп Hyperion 3000 (а) и призма нарушенного полного внутреннего отражения для макроисследований (Hybrid macro ATR-FTIR) (б)

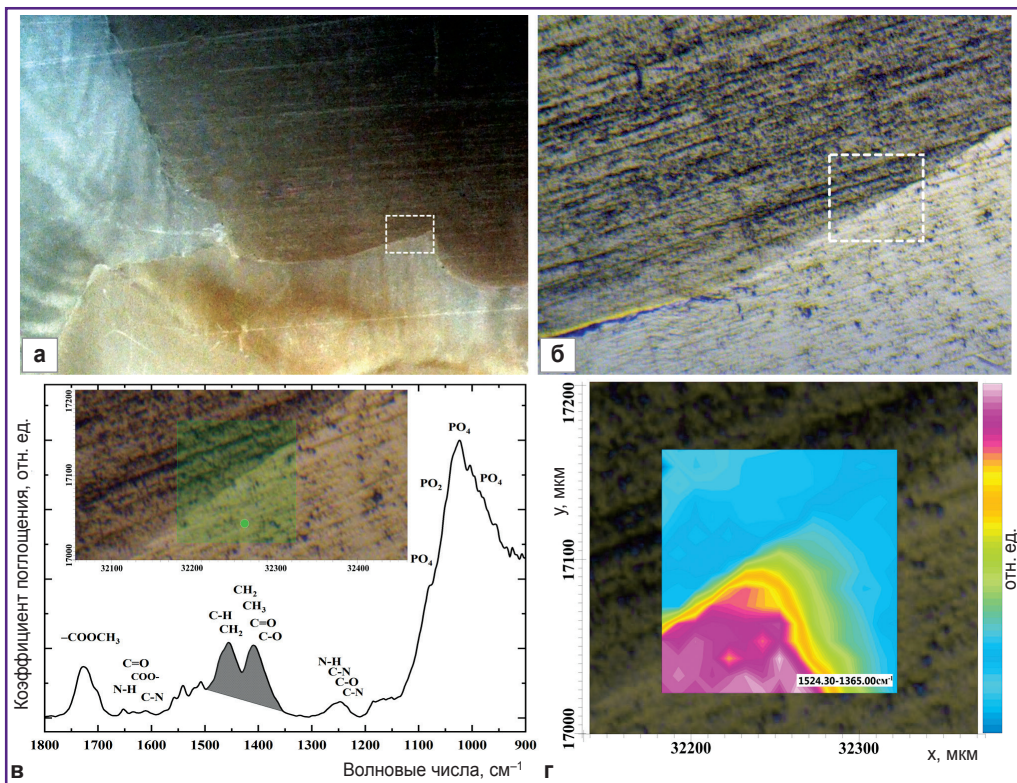


Рис. 2. Изображение образца зуба человека, $\times 5$ (а) на участке межфазной границы стоматологический материал–биомиметический композит–эмаль (б); в — типичный ИК-спектр поглощения из области межфазной границы; д — ИК-карта общего поглощения

стоматологический материал–биомиметический композит–эмаль и составлены ИК-карты интенсивности свечения конкретной функциональной молекулярной группы для участка интеграции стоматологического материала и эмали зубов по алгоритмам, представленным в работе [31].

На рис. 2 приведено оптическое изображение плоскопараллельного сегмента исследуемого образца, участок эмали которого был восстановлен с использованием биомиметического композита. Прямоугольной областью обозначена зона межфазной границы стоматологический материал–биомиметический компо-

зит-эмаль. Видимая часть рассматриваемого участка границы определялась размером окна призмы Hybrid masco ATR-FTIR и составляла 250 мкм, при этом размер анализируемой области был 100×100 мкм (рис. 2, б).

В ходе исследования участка межфазной границы светоотверждаемый стоматологический материал-биомиметический композит-эмаль был определен набор основных колебательных мод в ИК-спектре, которые могут выступать в роли спектроскопических сигнатур молекулярных групп, отвечающих материалам, присутствующим в области интеграции. Характеристический ИК-спектр поглощения, полученный из обозначенной области на поверхности образца, приведен на рис. 2, в. Основные полосы, наблюдаемые в спектре, относятся к группе эфира ($-\text{COOCH}_3$), присутствующего в составе стоматологического материала на основе Бис-ГМА (1725 см^{-1}) [30], молекулярным группам CH_2-CH_3 (1457 см^{-1}) и амидным полосам — 1650 см^{-1} (Amid I), 1550 см^{-1} (Amid II) и 1240 см^{-1} (Amid III), входящим в состав как биомиметического композита, так и нативной ткани, а также к неорганической составляющей апатита эмали и биокомпозита (группа PO_4 в области $1100-900 \text{ см}^{-1}$).

На представленной ИК-карте полного поглощения образца в области интерфейса стоматологический материал-биомиметический композит-эмаль нет морфологической/молекулярной информации. Данная ИК-карта отображает лишь цветовое кодирование интенсивностей основных полос в спектрах поглощения из различных точек поверхности образца, где присутствуют те или иные химические компоненты.

Результаты и обсуждение

Полученные с использованием синхротронной ИК-микроспектроскопии характерные ИК-спектры от каждой из исследуемых зон в области границы стоматологический материал-биомиметический композит-эмаль (рис. 3–5) содержат спектроскопические сигнатуры молекулярных групп материалов, присутствующих в области интеграции.

Приведенные одномерные изображения (ИК-карты), составленные на основе цветового кодирования интенсивностей трех основных спектральных полос (1725 , $1650-1240$ и $1100-900 \text{ см}^{-1}$), несут информацию о пространственном распределении стоматологического материала, органической и минеральной (апатит) составляющих на исследованном участке образца в области границы трех сред. Синим цветом закодирована самая низкая интенсивность поглощения конкретной молекулярной группы, в то время как красным показана самая высокая.

На рис. 3, а представлен ИК-спектр, полученный из области эмали образца (нижняя правая часть участка интеграции биомиметического композита с эмалью зубов на рис. 2, б). Выделенный в спектре диапазон частот $1104-988 \text{ см}^{-1}$ относится к группе колебаний

PO_4 , присутствующей в составе апатита эмали зубов [30, 35, 36]. Полученное одномерное ИК-изображение (распределение группы PO_4 на участке образца) позволило визуально обнаружить межфазную границу между эмалью и стоматологическим материалом. Анализ информации показывает, что в области стоматологического материала не содержится фосфатных групп. Вся граничащая с эмалью область, где наблюдается ненулевая интенсивность активных колебаний спектра в диапазоне $1104-988 \text{ см}^{-1}$, имеет размеры $\sim 14 \text{ мкм}$ и показана на рис. 3, б пунктирной линией.

Весьма интересным на ИК-изображении распределения фосфатной группы (см. рис 3, б) представляется участок, имеющий интенсивность поглощения группы колебаний PO_4 от 1,5 до 6,5 отн. ед. Эта зона представляет собой биомиметический переходный слой, в состав которого был включен синтезированный по разработанной нами методике КГАП. ИК-спектры этого материала изучались в работе [43]. Благодаря включению КГАП в биомиметический переходный слой на ИК-карте хорошо заметна межфазная граница стоматологический материал-эмаль, где резкая градиация по цвету определяется интенсивностью моды колебаний группы PO_4 гидроксиапатита.

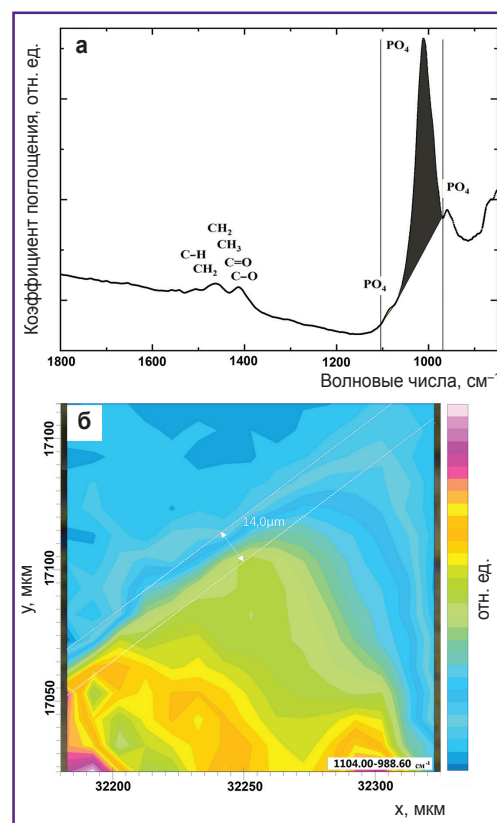


Рис. 3. ИК-спектр поглощения из области эмали образца, содержащего характерную фосфатную моду в области $1104-988 \text{ см}^{-1}$, относимую к апатиту эмали (а); характерное ИК-изображение, полученное на основе цветового кодирования интенсивности полосы данного спектра (б)

Необходимо отметить, что анализ ИК-изображения, отображающего распределение только фосфатной составляющей (см. рис. 3, б), не является достаточным для исследования процессов интеграции стоматологического материала с эмалью зуба при использовании биомиметического буферного слоя. Во-первых, потому, что на этапе подготовки образцов выполнялась как механическая, так и химическая подготовка зубной ткани для закрепления буферного слоя и материала (см. «Материалы и методы»). Кроме того, в области $1100\text{--}900\text{ см}^{-1}$ может происходить перекрытие ИК-полос поглощения фосфатных групп неосновными колебаниями от стоматологического материала, что делает анализ межфазной границы неоднозначным. Поэтому для получения дополнительной информации об участке, содержащем межфазную границу, построено ИК-изображение, представленное на рис. 4, б. Эта ИК-карта показывает распределение интенсивности полос поглощения (группы $\text{CH}_2\text{--CH}_3$ и амидного компонента), соотносимых с молекулярными группами, характерными для органической составляющей эмали и входящими в состав биомиметического буферного слоя (рис. 4, а).

Важно подчеркнуть, что полосу поглощения в области от $1524\text{--}1365\text{ см}^{-1}$ можно было бы отнести к

характеристическим колебаниям от КГАП В-типа [38]. Однако, как показали результаты нашей работы [43], колебательные моды органической составляющей эмали имеют иной характеристический профиль и существенно большую интенсивность. Кроме того, полученный ИК-спектр эмали зубов в работе [43] полностью совпадает с экспериментальным ИК-спектром эмали в данной работе. Это однозначно характеризует органическую составляющую эмали в ИК-спектре. Следует отметить, что построенное ИК-изображение по группе полос $1524\text{--}1365\text{ см}^{-1}$ (см. рис. 4, б) позволяет совместно с оптическим изображением анализируемого участка образца (см. рис. 2, а) выделить область нативной эмали зуба.

При анализе ИК-изображения на рис. 4, б в приграничной области стоматологический материал–биомиметический композит–эмаль зуба хорошо видно, что существующая градация цветового кодирования интенсивности колебательных полос, относимых к органическому матриксу, аналогична той, которую можно наблюдать на ИК-карте распределения фосфатной составляющей (см. рис. 3, б). Однако следует отметить более гомогенное распределение органической составляющей в буферном слое (см. рис. 4, б) по сравнению с распределением фосфатных групп. Это подтверждает тот факт, что в составе созданного нами на этапе пробоподготовки биомиметического переходного слоя доля гидроксиапатита меньше, чем доля органического компонента.

К сожалению, выбранная нами для создания ИК-изображения область колебаний $1524\text{--}1365\text{ см}^{-1}$ (см. рис. 4, б) в ИК-спектре содержит целый ряд перекрывающихся полос, что, как и в случае ИК-карты распределения неорганического компонента, не позволяет однозначно делать выводы о формировании границы интеграции между эмалью и стоматологическим светоотверждаемым цементом.

Для более полной оценки межфазной границы было проведено исследование ИК-спектров коммерческого композитного реставрационного материала Dyract XR. При анализе спектра, приведенного на рис. 5, а, обращает на себя внимание тот факт, что он содержит широкую и высокоинтенсивную моду колебаний в области $1100\text{--}1000\text{ см}^{-1}$. Эта колебательная полоса может принадлежать молекулярной группе силикатов алюминия или оксида кремния, используемых в качестве наполнителей светоотверждаемых цементов, и не связана с фосфатными компонентами биомиметического материала. В то же время группа колебаний в области $1600\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ присутствует в спектре, полученном из области стоматологического материала, ввиду наличия в его составе синтетических добавок, используемых для фотополимеризации и связывания стоматологических цементов типа Бис-ГМА.

Однако в ИК-спектре из области стоматологического материала можно заметить еще одну полосу поглощения, расположенную в области 1725 см^{-1}

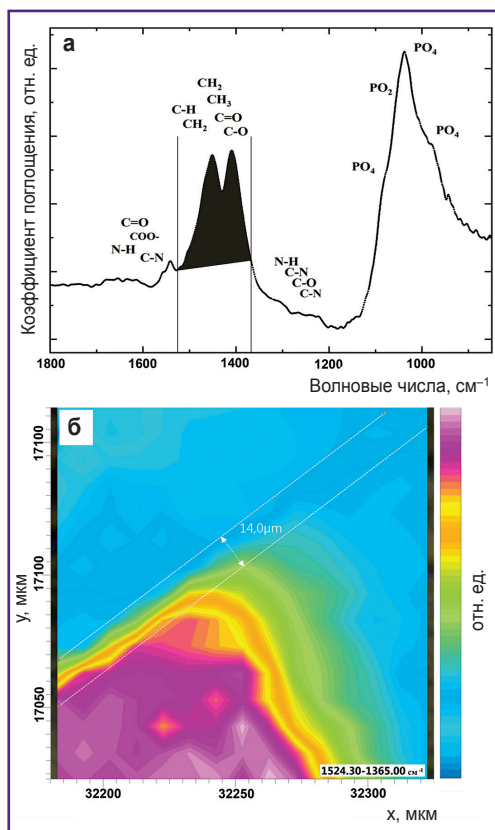


Рис. 4. ИК-спектр поглощения образца с колебательными модами органической составляющей в области $1524\text{--}1365\text{ см}^{-1}$ (а); характерное ИК-изображение, полученное на основе цветового кодирования интенсивности полосы данного спектра (б)

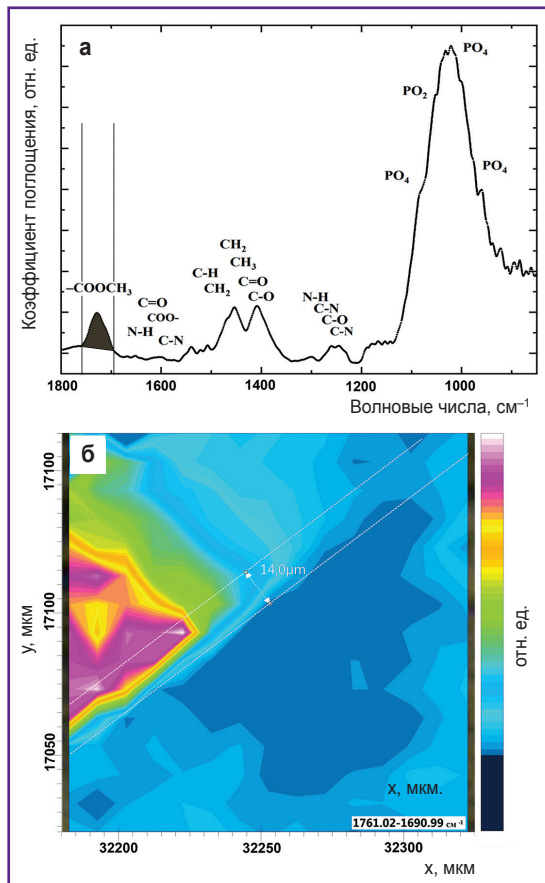


Рис. 5. ИК-спектр поглощения с особенностью в области 1761–1690 см⁻¹, относимой к молекулярной группе эфира (–COOCH₃) стоматологического материала (а); характерное ИК-изображение, полученное на основе цветового кодирования интенсивности полосы данного спектра (б)

(см. рис. 5, а). В работе [30] было показано, что эта полоса является характерной особенностью ИК-спектров стоматологических цемента на основе БИС-ГМА и полиметилметакрилата и принадлежит молекулярной группе эфира (–COOCH₃). Важно подчеркнуть, что это колебание не перекрывается другими полосами, а следовательно, делает одномерный анализ ИК-поглощения на основе этого параметра более достоверным, дающим информацию о пространственном распределении стоматологического материала в анализируемой области.

На рис. 5, б видно, что максимальное распределение интенсивности колебательной моды группы эфира (–COOCH₃) совпадает с наблюдаемым на оптическом снимке расположением материала (см. рис. 2, б). Особое внимание привлекает область интеграции стоматологического материала с эмалью, где перепад интенсивности данной колебательной моды — от максимального до минимального — наблюдается в пространственном интервале ~14 мкм и накладывается на зону, в которой в большей степени преобладает органическая составляющая эмали (см. рис. 4, б).

Необходимо подчеркнуть, что одновременный анализ нескольких ИК-карт, построенных на основе анализа выделенных, в том числе единичных, полос не всегда позволяет визуализировать изменения в гетерофазной границе между близкими по структуре материалами. Это связано с ограничениями одномерного подхода к выявлению спектральных изменений. Перечисленные проблемы могут быть решены с использованием многомерных методов кластеризации, позволяющих эффективно классифицировать большое количество компонентных спектров. Используя этот подход, нам удалось проанализировать особенности сложного интерфейса стоматологический материал–биомиметический композит–эмаль зуба. Одновременный анализ, выполненный с учетом всех особенностей спектральных областей 1760–1690 и 1520–1360 см⁻¹, обнаруживал, что взаимодействие между стоматологическим материалом и эмалью происходит посредством буферного слоя. Схематично на рис. 6 показаны результаты кластеризации с выделением области биомиметического композита.

В ограниченной пунктиром области на рис. 6 схематично показано, что буферный переходный слой между эмалью и материалом Dyract XR образуется за счет связывания эмали с частично деминерализованным эмалевым матриксом, что может указывать на возникновение органоминерального взаимодействия в анализируемой области. Исходя из имеющихся данных можно предположить, что реальный размер буферного (интегрирующего) слоя составляет от 3 до 4 мкм. Таким образом, полученные на основе анализа всех ИК-изображений данные (см. рис. 3–6) доподлинно свидетельствуют о химической дифференциации функциональных групп всех материалов в области границы биомиметическая система–естественная твердая ткань зуба и подтверждают эффективность выбранного подхода для анализа

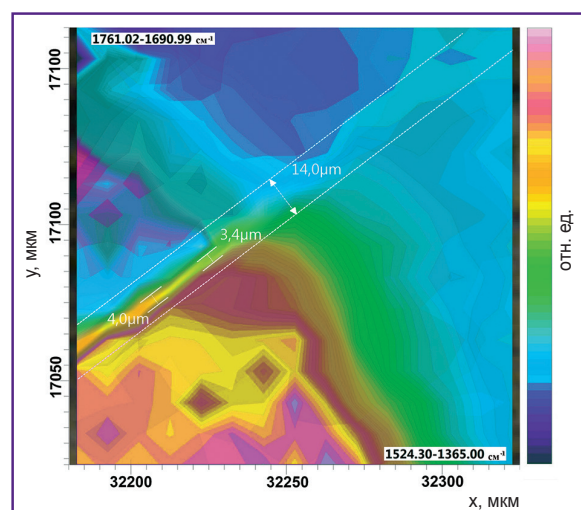


Рис. 6. ИК-изображение, полученное с использованием метода кластеризации с учетом особенностей ИК-спектров в областях 1760–1690 и 1520–1360 см⁻¹

интеграции стоматологических цемента и биомиметических композитов нового поколения.

Заключение

Продемонстрирована возможность применения молекулярной многомерной ИК-визуализации для анализа интеграции нового поколения биомиметических материалов, воспроизводящих минералорганический комплекс эмали, с нативными твердыми тканями зуба человека.

С помощью ИК-картирования интенсивности конкретной функциональной молекулярной группы с использованием синхротронного излучения были найдены и визуализированы различия между здоровой тканью, стоматологическим материалом и биомиметическим переходным слоем в межфазных областях, а также определены расположение и концентрация функциональных групп, отвечающих процессам интеграции биомиметического композита и нативной твердой ткани зуба человека.

Полученные микроспектроскопические данные достоверно подтверждают химическую дифференциацию материалов и наличие органоминерального взаимодействия на границе биомиметическая система-естественная твердая ткань зуба человека.

Финансирование исследования. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №18-29-11008 мк).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Литература/References

1. Rohr N., Fischer J. Tooth surface treatment strategies for adhesive cementation. *J Adv Prosthodont* 2017; 9(2): 85–92, <https://doi.org/10.4047/jap.2017.9.2.85>.
2. Pereira C.N de B., Daleprane B., Miranda G.L.P. de, Magalhães C.S. de, Moreira A.N. Ultramorphology of pre-treated adhesive interfaces between self-adhesive resin cement and tooth structures. *Revista de Odontologia da UNESP* 2017; 46(5): 249–254, <https://doi.org/10.1590/1807-2577.04917>.
3. Temel U.B., Van Ende A., Van Meerbeek B., Ermis R.B. Bond strength and cement-tooth interfacial characterization of self-adhesive composite cements. *Am J Dent* 2017; 30(4): 205–211.
4. Watson T.F., Atmeh A.R., Sajini S., Cook R.J., Festy F. Present and future of glass-ionomers and calcium-silicate cements as bioactive materials in dentistry: biophotonics-based interfacial analyses in health and disease. *Dent Mater* 2014; 30(1): 50–61, <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.08.202>.
5. Pontes D.G., Araujo C.T., Prieto L.T., de Oliveira D.C., Coppini E.K., Dias C.T., Paulillo L.A. Nanoleakage of fiber posts luted with different adhesive strategies and the effect of chlorhexidine on the interface of dentin and self-adhesive cements. *Gen Dent* 2015; 63(3): 31–37.
6. *Development, function and evolution of teeth.*

Edited by Teaford M.F., Smith M.M., Ferguson M.W.J. Cambridge University Press; 2000, <https://doi.org/10.1017/cbo9780511542626>.

7. Dorozhkin S. *Hydroxyapatite and other calcium orthophosphates: bioceramics, coatings and dental applications.* Nova Science Publishers, Inc New York; 2017; 462 p.

8. Uskoković V. Biomimetic mineralization and biomimicry of tooth enamel. In: *Non-metallic biomaterials for tooth repair and replacement.* Elsevier; 2013; p. 20–44, <https://doi.org/10.1533/9780857096432.1.20>.

9. Niu L., Zhang W., Pashley D.H., Breschi L., Mao J., Chen J., Tay F.R. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater* 2014; 30(1): 77–96, <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.07.013>.

10. Cao C., Mei M., Li Q., Lo E., Chu C. Methods for biomimetic mineralisation of human enamel: a systematic review. *Materials* 2015; 8(6): 2873–2886, <https://doi.org/10.3390/ma8062873>.

11. Chen L., Yuan H., Tang B., Liang K., Li J. Biomimetic remineralization of human enamel in the presence of polyamidoamine dendrimers in vitro. *Caries Res* 2015; 49(3): 282–290, <https://doi.org/10.1159/000375376>.

12. Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Gushchin M.S., Ippolitov Y.A., Prutskij T. The importance of the biomimetic composites components for recreating the optical properties and molecular composition of intact dental tissues. *Journal of Physics: Conference Series* 2017; 917(4): 042019, <https://doi.org/10.1088/1742-6596/917/4/042019>.

13. Xia Z. *Biomimetic principles and design of advanced engineering materials.* John Wiley & Sons; 2016; 321 p., <https://doi.org/10.1002/9781118926253>.

14. Dorozhkin S. Self-setting calcium orthophosphate formulations: cements, concretes, pastes and putties. *International Journal of Materials and Chemistry* 2012; 1(1): 1–48, <https://doi.org/10.5923/j.ijmc.20110101.01>.

15. Li H., Gong M., Yang A., Ma J., Li X., Yan Y. Degradable biocomposite of nano calcium-deficient hydroxyapatite-multi(amino acid) copolymer. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 1287–1295, <https://doi.org/10.2147/ijn.s28978>.

16. Ruan Q., Zhang Y., Yang X., Nutt S., Moradian-Oldak J. An amelogenin–chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta Biomaterialia* 2013; 9(7): 7289–7297, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.004>.

17. Yao Y., Shao H., Zhang Q. Development and characterization of a novel amorphous calcium phosphate/multi (amino acid) copolymer composite for bone repair. *J Biomater Tissue Eng* 2015; 5(5): 387–390, <https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1321>.

18. Melo M.A., Weir M.D., Rodrigues L.K., Xu H.H. Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dental Materials* 2013; 29(2): 231–240, <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.10.010>.

19. Wu X.T., Mei M.L., Li Q.L., Cao C.Y., Chen J.L., Xia R., Zhang Z.H., Chu C.H. A direct electric field-aided biomimetic mineralization system for inducing the remineralization of dentin collagen matrix. *Materials* 2015; 8(11): 7889–7899, <https://doi.org/10.3390/ma8115433>.

20. Barghamadi H., Atai M., Imani M., Esfandeh M. Effects of nanoparticle size and content on mechanical properties of dental nanocomposites: experimental versus modeling. *Iranian Polymer Journal* 2015; 24(10): 837–848, <https://doi.org/10.1007/s13726-015-0369-5>.

21. Wang H., Xiao Z., Yang J., Lu D., Kishen A., Li Y., Chen Z., Que K., Zhang Q., Deng X., Yang X., Cai Q., Chen N., Cong C., Guan B., Li T., Zhang X. Oriented and ordered biomimetic remineralization of the surface of demineralized dental enamel using HAP@ACP nanoparticles guided by glycine. *Sci Rep* 2017; 7(1): 40701, <https://doi.org/10.1038/srep40701>.

22. Wu X., Zhao X., Li Y., Yang T., Yan X., Wang K. In situ synthesis carbonated hydroxyapatite layers on enamel slices with acidic amino acids by a novel two-step method. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 54: 150–157, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.006>.

23. Aljabo A., Abou Neel E.A., Knowles J.C., Young A.M. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016; 60: 285–292, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.047>.

24. Wang P., Liu P., Peng H., Luo X., Yuan H., Zhang J., Yan Y. Biocompatibility evaluation of dicalcium phosphate/calcium sulfate/poly (amino acid) composite for orthopedic tissue engineering in vitro and in vivo. *J Biomater Sci Polym Ed* 2016; 27(11): 1170–1186, <https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1184123>.

25. Lübke A., Enax J., Wey K., Fabritius H.-O., Raabe D., Epple M. Composites of fluoroapatite and methylmethacrylate-based polymers (PMMA) for biomimetic tooth replacement. *Bioinspir Biomim* 2016; 11(3): 035001, <https://doi.org/10.1088/1748-3190/11/3/035001>.

26. Sa Y., Gao Y., Wang M., Wang T., Feng X., Wang Z., Wang Y., Jiang T. Bioactive calcium phosphate cement with excellent injectability, mineralization capacity and drug-delivery properties for dental biomimetic reconstruction and minimum intervention therapy. *RSC Advances* 2016, 6(33): 27349–27359, <https://doi.org/10.1039/c6ra02488b>.

27. Adachi T., Pezzotti G., Yamamoto T., Ichioka H., Boffelli M., Zhu W., Kanamura N. Vibrational algorithms for quantitative crystallographic analyses of hydroxyapatite-based biomaterials: II, application to decayed human teeth. *Anal Bioanal Chem* 2015; 407(12): 3343–3356, <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8539-z>.

28. Mitić Ž., Stolić A., Stojanović S., Najman S., Ignjatović N., Nikolić G., Trajanović M. Instrumental methods and techniques for structural and physicochemical characterization of biomaterials and bone tissue: a review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017; 79: 930–949, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.127>.

29. *Optical spectroscopy and computational methods in biology and medicine*. Edited by Barańska M. Springer, Dordrecht; 2014; 540 p., <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7832-0>.

30. Hędzulek W., Marcinkowska A., Domka L., Wachowiak R. Infrared spectroscopic identification of chosen dental materials and natural teeth. *Acta Phys Pol A* 2008; 114(2): 471–484, <https://doi.org/10.12693/aphyspola.114.471>.

31. Vongsvivut J., Pérez-Guaita D., Wood B.R., Héraud P., Khambatta K., Hartnell D., Hackett M.J., Tobin M.J. Synchrotron macro ATR-FTIR microspectroscopy for high-resolution chemical mapping of single cells. *Analyst* 2019; 144(10): 3226–3238, <https://doi.org/10.1039/c8an01543k>.

32. Seredin P., Goloshchapov D., Ippolitov Y., Vongsvivut P. Pathology-specific molecular profiles of saliva in patients with

multiple dental caries — potential application for predictive, preventive and personalised medical services. *EPMA Journal* 2018; 9(2): 195–203, <https://doi.org/10.1007/s13167-018-0135-9>.

33. Dusevich V., Xu C., Wang Y., Walker M.P., Gorski J.P. Identification of a protein-containing enamel matrix layer which bridges with the dentine–enamel junction of adult human teeth. *Arch Oral Biol* 2012; 57(12): 1585–1594, <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.04.014>.

34. Seredin P.V., Kashkarov V.M., Lukin A.N., Goloshchapov D.L., Al-Zubaidi Asaad Abdulhussein, Ippolitov Y.A., Julian R., Doyle S. Research hydroxyapatite crystals and organic components of hard tooth tissues affected by dental caries using FTIR-microspectroscopy and XRD-microdiffraction. *Kondensirovannyye sredy i mezhfaznye granitsy* 2013; 15(3): 224–231.

35. Fattibene P., Carosi A., Coste V.D., Sacchetti A., Nucara A., Postorino P., Dore P. A comparative EPR, infrared and Raman study of natural and deproteinated tooth enamel and dentin. *Phys Med Biol* 2005; 50(6): 1095, <https://doi.org/10.1088/0031-9155/50/6/004>.

36. Seredin P., Goloshchapov D., Kashkarov V., Ippolitov Y., Bamberg K. The investigations of changes in mineral–organic and carbon–phosphate ratios in the mixed saliva by synchrotron infrared spectroscopy. *Results in Physics* 2016; 6: 315–321, <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2016.06.005>.

37. Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M., Rumyantseva N.A., Seredin P.V., Leshin A.S., Agapov B.L., Domashevskaya E.P. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by precipitation using hen's eggshell. *Ceramics International* 2013; 39(4): 4539–4549, <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.11.050>.

38. Goloshchapov D.L., Leshin A.S., Savchenko D.V., Seredin P. Importance of defect nanocrystalline calcium hydroxyapatite characteristics for developing the dental biomimetic composites. *Results in Physics* 2019; 13: 102158, <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.102158>.

39. Nanci A. *Ten cate's oral histology: development, structure, and function*. Elsevier Health Sciences; 2013; 400 p.

40. Ипполитов Ю.А. Возможность повышения биологической тропности светоотверждаемой бондинговой системы для адгезии твердых тканей зуба к пломбирочному материалу. *Бюллетень Волгоградского научного центра РАН* 2010; 4(28): 31–34.

Ippolitov Yu.A. The possibility of bond system biological compatibility improvement for adhesion of hard dental tissues to filling material. *Byulleten' Volgogradskogo nauchnogo tsentra RAMN* 2010; 4(28): 31–34.

41. Seredin P., Goloshchapov D., Prutskij T., Ippolitov Y. Phase transformations in a human tooth tissue at the initial stage of caries. *PLoS One* 2015; 10(4): e0124008, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124008>.

42. Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Prutskij T., Ippolitov Yu.A. A simultaneous analysis of microregions of carious dentin by the methods of laser-induced fluorescence and Raman spectromicroscopy. *Opt Spectrosc* 2018; 125: 803, <https://doi.org/10.1134/S0030400X18110267>.

43. Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Prutskij T., Ippolitov Yu.A. Fabrication and characterisation of composites materials similar optically and in composition to native dental tissues. *Results in Physics* 2017; 7: 1086–1094, <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2017.02.025>.