

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АТОМНО-СИЛОВОЙ И РАСТРОВОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ С ЦЕЛЬЮ ВИЗУАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ АДГЕЗИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБА И КОМПОЗИЦИОННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ УДАРНЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ ТЕРМОНАГРУЗКАХ

Н.О. БЕССУДНОВА^{*,**}, С.Б. ВЕНИГ^{*}, Е.М. РЕВЗИНА^{*}, О.А. ШЛЯПНИКОВА^{*}, А.Н. ГРИБОВ^{*}

^{*} ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» МОУН РФ, Астраханская ул., д. 83 Саратов, 410026, Россия

^{**} ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» МЗ РФ, ул. Тимура Фрунзе, д. 16, стр. 1, Москва, 119034, Россия,
e-mail: nadezda.bessudnova@gmail.com

Аннотация. В настоящей работе проведена визуальная диагностика состояния адгезивных соединений дентина и композиционного полимерного материала под воздействием модельных циклических термических нагрузок с перепадом температур в 290°С и 100°С методами контактной атомно-силовой и растровой электронной микроскопии. Сравнительный анализ результатов температурных испытаний указывает на идентичность характера деструкции поверхностной морфологии при различных величинах ударных температурных нагрузок – разрушение происходит по границе адгезивного соединения дентина и композиционного полимерного материала в результате разрыва дентин-полимерных связей. Температурное воздействие на образец кипящими жидким азотом и дистиллированной водой с перепадом температур в 290°С не приводит к потере автомодельности системы, что выражается в воспроизводимости результатов, получаемых при термоударах со значительно меньшим перепадом температур (менее чем в 100°С) и большим количеством циклов. Полученные результаты указывают на возможность моделирования состояния интерфейсов адгезивных соединений высокими ударными нагрузками без потери информативности результатов. Кроме того, выявлено, что характерное время деструкции адгезивного соединения при циклических термонагрузках, соответствующих перепаду температур в полости рта, превышает средний срок службы реставрационной конструкции из композиционного полимерного материала. Предложенный метод визуализации позволяет качественно и количественно описывать изменения геометрии адгезивного соединения при его деструкции при термических нагрузках на микро- и наномасштабах.

Ключевые слова: медицинская визуализация, биомедицинская физика, инновации в медицине, реставрационная стоматология, атомно-силовая микроскопия, растровая электронная микроскопия, адгезия, адгезивные соединения, термические ударные нагрузки, деструкция.

APPLICATION OF ATOMIC-FORCE AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OR MEDICAL IMAGING AND DIAGNOSTICS OF ADHESIVE INTERFACES BETWEEN HARD TOOTH TISSUES AND COMPOSITE RESINS UNDER THERMAL SHOCK LOADS

N.O. BESSUDNOVA^{*,**}, S.B. VENIG^{*}, E.M. REVZINA^{*}, O.A. SHLYAPNIKOVA^{*}, A.N. GRIBOV^{*}

^{*} *Saratov National Research State University, Astrakhanskaya str., 83, Saratov, 410026, Russia*

^{**} *Central Research Institute of Dentistry and Maxillo-Facial Surgery, Timura Frunze St., 16, bld. 1, Moscow, 119034, Russia, e-mail:nadezda.bessudnova@gmail.com*

Abstract. The article is devoted to the results of visual diagnostics of dentin-resin interfaces under model thermal cyclic loadings with temperature drops of 290° C and 100° C, respectively, carried out by using atomic force- and scanning electron microscopy. A comparative analysis of the results of temperature tests revealed identity in character of surface morphology destructive failure under different value temperature drops. Fractures and cracks were observed along the boundaries of adhesive interfaces and were caused by dentin-polymer bond rupture. It was shown that temperature impact on samples by immersing them into boiling liquid nitrogen and distilled water with a temperature drop of 290° C did not cause the loss of self-similarity of the system. As a result, reproducibility of character of surface morphology destruction at different values of thermal loadings comparable to that at a lower (< 100°С) temperature differential, but at a much larger number of cycles, was achieved. Thus, the results make it possible to simulate adhesive interface states under thermal cyclic loadings, using model high temperature drops without any loss of information. Moreover, in the course of laboratory experiments it appeared that the characteristic time of the adhesive interface destruction under thermal cyclic load-

ings, corresponding to temperature changes in oral cavity, exceeded the average lifetime of composite restorations.

The suggested technique of visualization provides dentists with a powerful tool for both a qualitative and quantitative description of changes in geometry of adhesive interfaces under thermal loadings at micro- and nano-scales.

Key words: medical imaging, biomedical physics, innovations in medicine, restorative dentistry, adhesive interfaces, thermal cyclic loadings, destruction, atomic force microscopy, scanning electron microscopy.

Введение. В последние десятилетия в клинической реставрационной стоматологии при восстановлении анатомической и функциональной целостности зубов широко применяются адгезивные материалы и адгезивные технологии, допускающие минимальное препарирование твердых тканей зуба и позволяющие создавать в полости рта надежные, прочные соединения эмали и дентина с композиционными полимерными материалами на микро- и нано-масштабах [1-5]. Однако, несмотря на перспективность технологии, отдаленные результаты ее применения указывают на нестабильность дентин-полимерных связей во времени, что, в конечном итоге, приводит к деструкции адгезивного соединения и последующему разрушению реставрации [4-6]. Среди наиболее часто указываемых причин, вызывающих деструкцию адгезивного соединения, следует отметить старение гибридного слоя, деградацию полимера адгезивной системы, деградацию коллагеновых волокон, коллагенолитическую активность минерализованного дентина и ряд других факторов [7-10]. Среди внешних факторов, влияющих на стабильность дентин-полимерного соединения, выделяют механические окклюзионные нагрузки и термические нагрузки вследствие перепада температур в полости рта, вызывающие деформации расширения/сжатия. Исследователи на протяжении ряда лет изучают влияние последних на стабильность адгезивных дентин-полимерных соединений, однако выявление строгих зависимостей и закономерностей осложнено необходимостью учета множества факторов, влияющих на состояние соединений [11-12].

Цель исследования – разработка и апробация визуального метода диагностики, позволяющего объективно, на микро- и нано-уровнях провести оценку состояния адгезивных соединений твердых тканей зуба и композиционных полимерных материалов под действием ударной циклической термической нагрузки.

Материалы и методы исследования. С целью проведения экспериментов были отобраны образцы человеческих зубов, удаленных по ортодонтическим показаниям. Восстановление зубов выполнялось нано-керамическим композиционным материалом *Ceram XTM Duo Plus (Dentsply)* с использованием низкомодульного композиционного материала *FiltekTM Ultimate FlowableTM (3M ESPE)* с применением двухступенчатой однокомпонентной адгезивной системы V поколения *AdperTM Single Bond (3M ESPE)*. Распилы реставрированных зубов, позволяющие визуализировать адгезивное соединение дентина и полимерного материала, осуществлялись вдоль линий, схематично показанных на рис. 1.

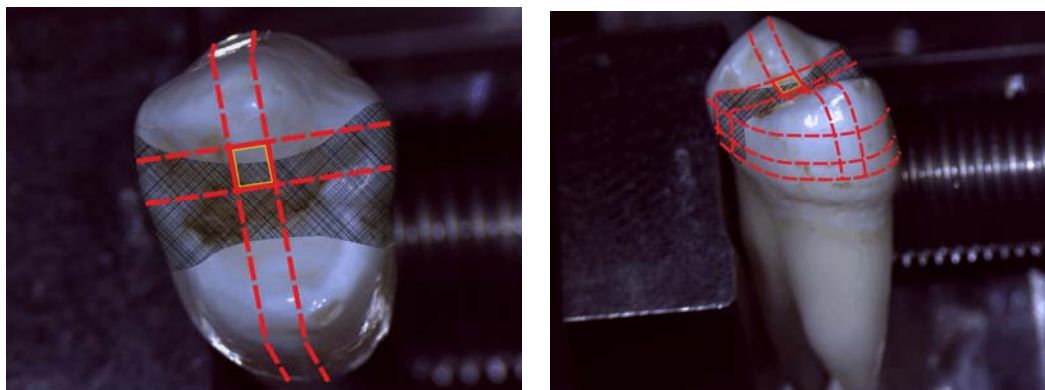


Рис. 1. Образец реставрированного зуба с указанием линий распила

Все исследуемые образцы были поделены на две группы. Образцы первой группы подвергались 1, 10 и 50 термоударам с перепадом температур в 290°C , достигаемым их попеременным погружением в кипящую дистиллированную воду (температура кипения $+100^{\circ}\text{C}$) и жидкий азот (температура кипения -196°C). Образцы второй группы подвергались 1, 50, 1000 и 2000 термоударам с перепадом температур в 100°C , поддерживаемым постоянством температуры в ячейках с кипящей дистиллированной водой (температура кипения $+100^{\circ}\text{C}$) и льдом (температура плавления 0°C). Температурные испытания образцов второй группы проводились с использованием разработанной и собранной дистанционно управляемой лаборатории, состоящей из двух термостатируемых ячеек из огнеупорного стекла, направляющей для фиксации исследуемого образца, нагревательного элемента и холодильника. Основным элементом уста-

новки являлся программируемый микропроцессорный робот. Схема и фотография экспериментальной установки приведены на рис. 2. Параметры возвратно-поступательного движения робота (скорость, время погружения и количество циклов и др.) управлялись пользователем.

Следует отметить, что исследовались небольшие по объёму образцы – фрагменты реставраций, содержащие адгезивные соединения, а не образцы реставрированных зубов, требующие сообщения большего количества теплоты для нагрева до определенной температуры.

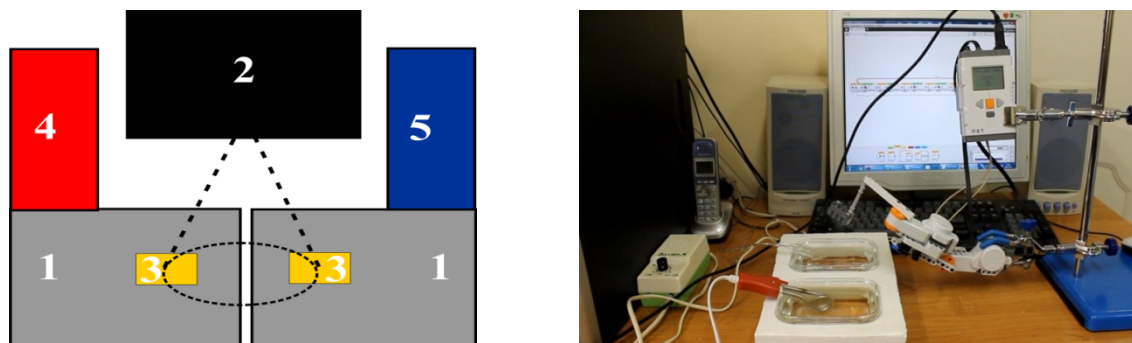


Рис. 2. Дистанционно-управляемая лаборатория. Схема прототипа установки (а) и фотография экспериментальной установки (б). Цифрами 1-5 обозначены термостатируемые ячейки, программируемый робот, направляющая с образцом, нагреватель и холодильник

Визуализация тканей дентина, реставрационного полимерного материала и адгезивного дентин-полимерного соединения проводилась на атомно-силовом микроскопе высокого разрешения *NanosurfNanite B*, «*Nanosurf*» (с разрешением в единицы нм) на различных этапах термоциклирования. Сканирующий электронный микроскоп *SEM MiraiILMU* («*TESCAN*») с системой энергодисперсионного анализа *EDX Inca Energy* («*Oxford Instruments*») применялся с целью визуализации морфологии поверхности и определения химического состава адгезивного соединения после завершения эксперимента.

Результаты и их обсуждение. На рис. 3 представлена двухмерная и трехмерная визуализация модификации поверхностной морфологии одного из образцов первой группы, полученная методами атомно-силовой микроскопии при сканировании области адгезивного соединения перед термическими испытаниями, после 1, 10 и 50 циклов. Распределению цветов соответствует распределение высот по поверхности образца (белому цвету соответствует максимальная высота, черному – минимальная). Сканирование образца выполнялось со стороны дентина.

Деструктивные изменения в области интерфейсов адгезивных соединений дентина и полимерного материала выявляются только после пятидесяти термоударов с перепадом температур 296°C . Таким образом, адгезивное соединение дентина и полимерного материала характеризуется высокой термостабильностью.

Следует отметить, что до проведения температурных испытаний область интерфейса адгезивного соединения дентина и полимерного материала визуализируется в виде характерного вала с наклоном в сторону материала дентина. Возможным объяснением наблюдаемой морфологии может быть то, что в процессе резки, несмотря на охлаждение образца, происходит его нагрев, сопровождающийся температурным расширением композиционного полимерного материала, полимерного материала адгезивной системы и тканей дентина. Поскольку материал адгезивной системы и реставрационный композиционный материал имеют общую полимерную основу, то коэффициенты температурного расширения указанных материалов близки и значительно отличаются от такового дентина. Поэтому при нагреве образца материал адгезивной системы, расширяясь, образует «наплыв» в виде вала в направлении дентина.

В результате ударных температурных воздействий на тестируемые образцы, содержащие адгезивное соединение, возникают деструктивные разрушения, которые не только визуализируются, но могут быть исследованы качественно и количественно. При термоударе деструкция на ранних и последующих стадиях проявляется в виде щели, возникающей вдоль линии интерфейса дентина и композиционного полимерного материала. Глубина образующейся щели может быть определена по цветовой шкале и составляет порядка трёх-пяти микрон. Следует отметить, что при расчёте глубины щели следует учитывать усилие, с которым кантилевер атомно-силового микроскопа воздействует на исследуемую поверхность в процессе её сканирования.

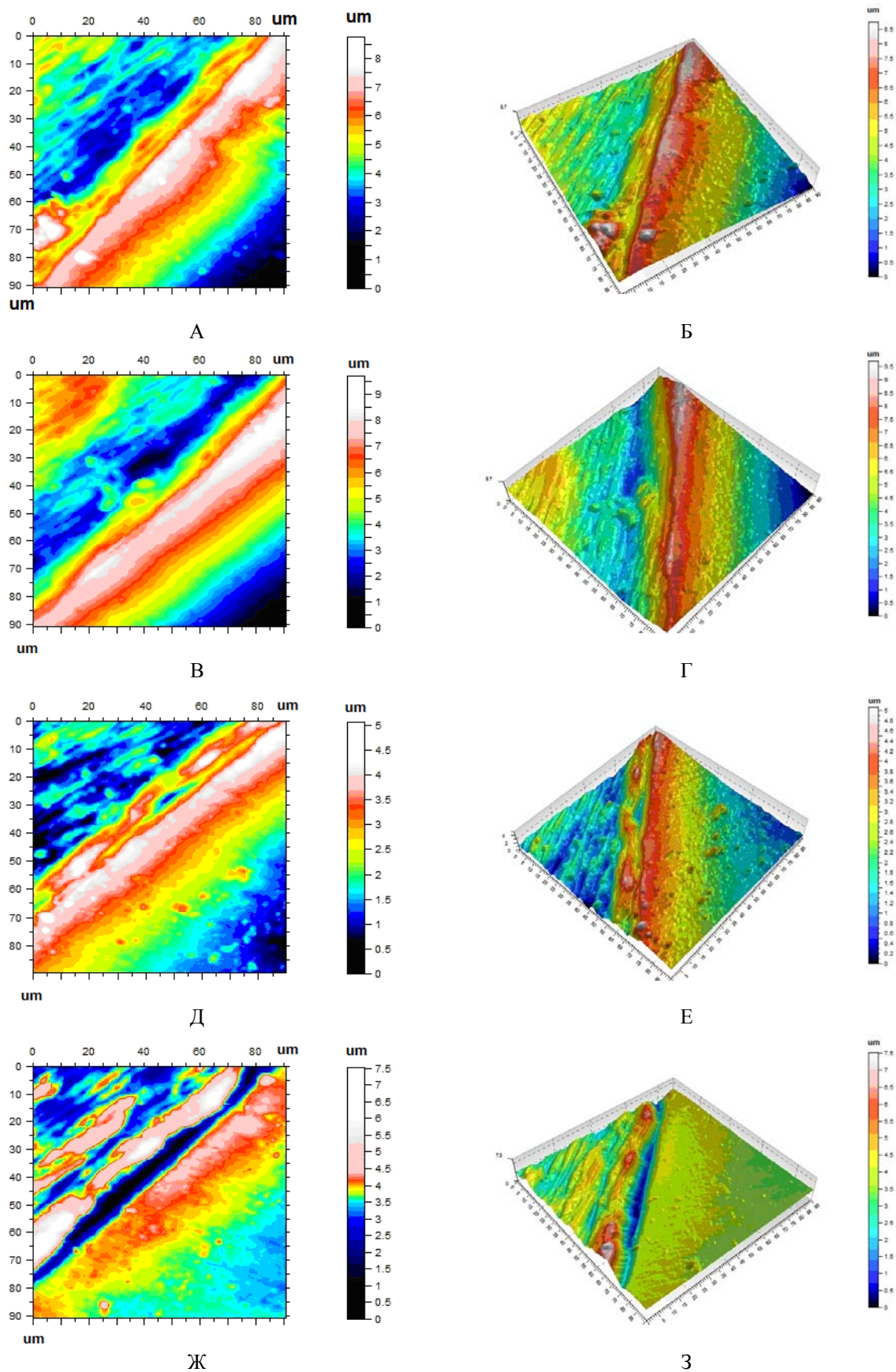


Рис. 3. Двухмерная (а, в, д, ж) и трехмерная (б, г, е, з) цветовая визуализация распределения высот по поверхности образца первой группы перед термоударами, после 1, 10 и 50 циклов термической нагрузки соответственно

На рис. 4 представлены изображения поверхностной морфологии (а) и карты распределения химических элементов (б) для того же образца после серии из 50 термоударов на видимом поле 100 мкм, полученные методами растровой электронной микроскопии и энерго-дисперсионного анализа вещества. Цифрой 1 обозначен материал дентина с системой дентинных канальцев, цифрой 2 – разрушенное адгезивное соединение, цифрами 3 и 4 – низкомолекулярный и высокомолекулярный композиционные материалы соответственно. Синим цветом обозначен кальций, красным – фосфор и зеленым – кремний.

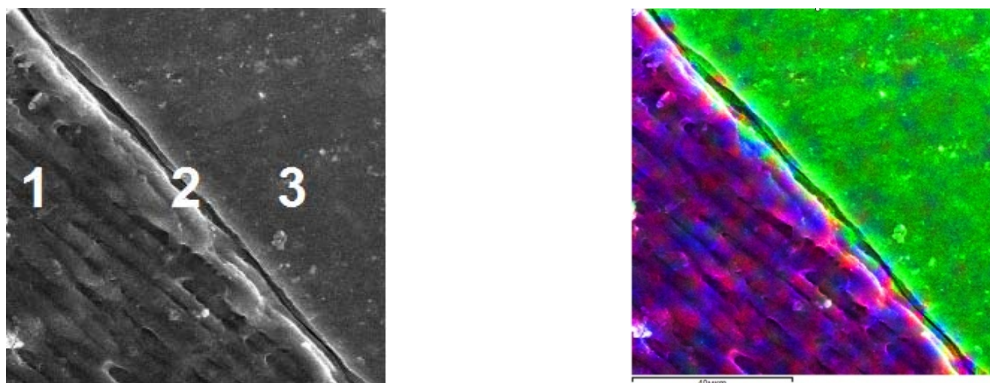


Рис. 4. Морфология (а) и карта распределения химических элементов по поверхности адгезивного дентин-полимерного соединения после 50 циклов термической нагрузки, полученные с применением SEM/EDX

Результаты исследований методами растровой электронной микроскопии показали, что деструкция интерфейсов адгезивных дентин – полимерных соединений под воздействием перепада температур не сопровождается перераспределением элементов в исследуемых образцах.

Пример модификации поверхностной морфологии образца второй группы под воздействием серии термоударов с перепадом температур в 100°C представлен на рис. 5 в виде цветowych диаграмм распределения высот по поверхности образца и соответствующих им 3D-визуализациям поверхности, полученных при сканировании области адгезивного соединения перед термическими испытаниями, после 50, 1000 и 2000 циклов. Сканирование, как и в первом случае, проводилось со стороны дентина.

Следует отметить, что начальные деструктивные изменения интерфейсов адгезивных соединений дентина и полимерного материала определяются после проведения порядка 2000 циклов, что превышает средний срок службы реставрационной конструкции из композиционного материала [13].

Выводы:

1. Предложен и реализован метод визуальной диагностики состояния дентин-полимерных адгезивных соединений под воздействием перепада температур с применением методов контактной атомно-силовой и растровой электронной микроскопии.

2. Разработанный метод позволил изучить надёжность адгезивных соединений под воздействием ударных термических нагрузок с перепадами температур в 290°C и в 100°C . Установлено, что исследуемые адгезивные соединения обладают высокой термостабильностью, их разрушение при термических нагрузках, соответствующих перепаду температур в полости рта, определяется после проведения количества циклов, превышающих средний срок службы реставраций.

3. Обнаружена воспроизводимость экспериментальных результатов в виде деструкции адгезивного соединения дентина и полимерного материала в виде продольной щели по линии их интерфейса при различных величинах ударной термической нагрузки и количестве циклов, что указывает на возможность моделирования состояния интерфейсов адгезивных соединений высокими ударными нагрузками без потери информативности и достоверности.

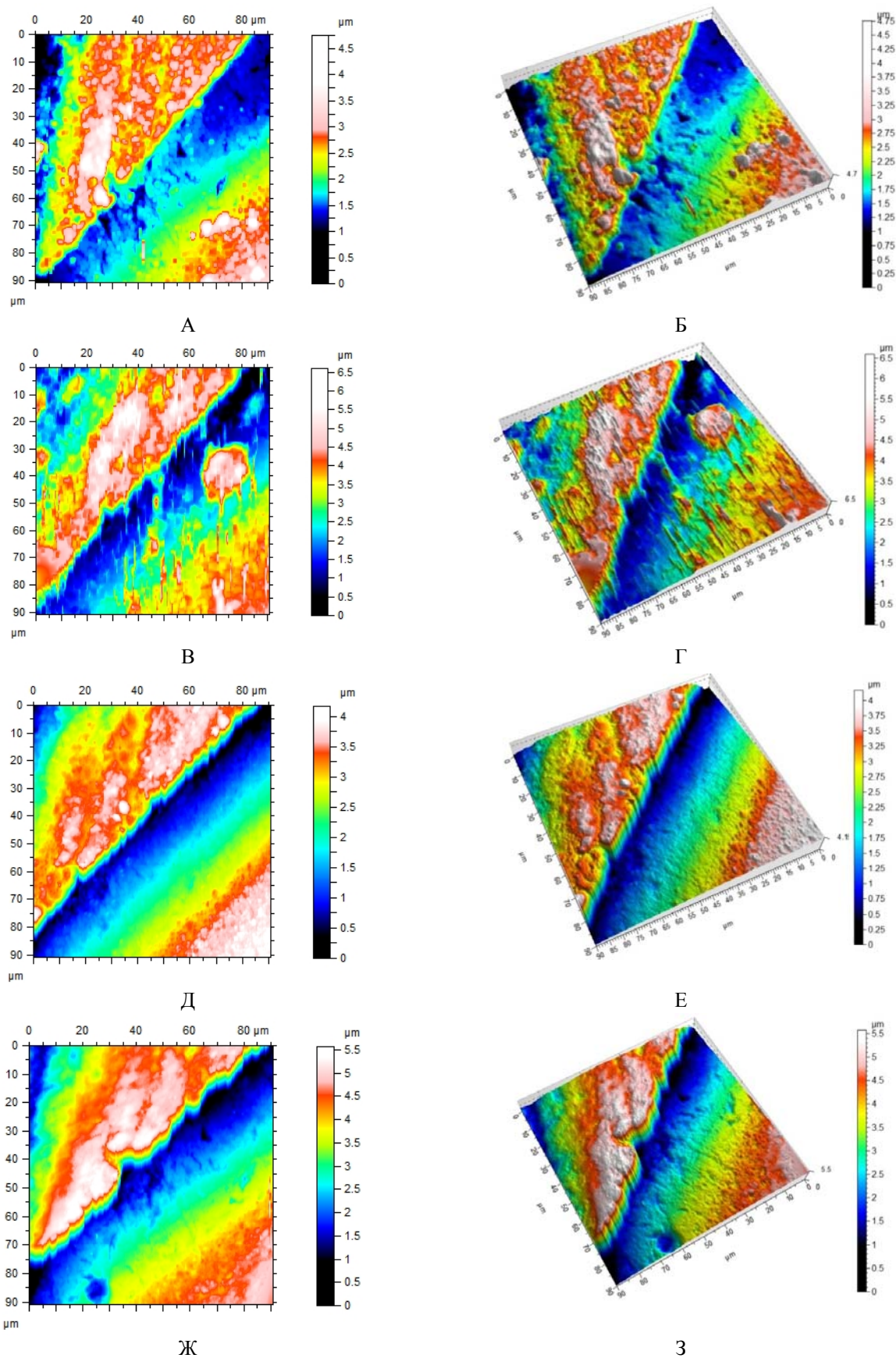


Рис. 5. Двухмерная (а, в, д, ж) и трехмерная (б, г, е, з) визуализация цветового распределения высот по поверхности образца второй группы перед термоударами, после 50, 1000 и 2000 циклов термической нагрузки соответственно

Литература

1. Bessudnova N.O., Bilenko D.I., Venig S.B., Atkin V.S. Zacharevich A.M. A new x-ray adhesive system with embedded nanoparticulate silver markers for dental applications // Proc. SPIE 8699, Saratov Fall Meeting 2012: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIV; and Laser Physics and Photonics XIV, 86990R (February 26, 2013); doi:10.1117/12.2018764; URL: <http://dx.doi.org/10.1117/12.2018764>
2. Bessudnova N.O., Bilenko D.I., Zakharevich A.M. Application of x-ray nano-particulate markers for the visualization of intermediate layers and interfaces using scanning electron microscopy // Proc. SPIE 8337, Saratov Fall Meeting 2011: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIII. 2012. 833709.
3. Munck J. De. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results // J. Dent. Res. 2005. Vol. 84, №2. P. 118–132.
4. Amaral F.L. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review // J Esthet Restor Dent. 2007. Vol. 19. P. 340–353.
5. Breschi L. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface // Dent Mater. 2008. Vol. 24. P. 90–101.
6. Liu Y. Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation // Journal of Dental Research. 2011. Vol. 90, №8. P. 953–968.
7. Pashley D.H. State of the art etch-and-rinse adhesives // Dental materials. 2011. № 27. P. 1–16.
8. Breschi L. Dental adhesion review: Aging and stability of bonded interface // Dental Materials. 2008. №24. P. 90–101.
9. Much J. De. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results // J Dent Res. 2005. № 84. P. 118–132.
10. Dorfer C. E. The nanoleakage phenomenon: influence of different dentin bonding agents, thermocycling and etching time // Eur. J. Oral. Sci. 2000. Vol. 108. P. 346–351.
11. Gale M.S., Darvell B.W. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations // Dent. 1999. № 27. P. 89–99.
12. Cenci M. Influence of thermal stress on marginal integrity of restorative materials // J Appl Oral Sci. 2008. Vol 16, № 2. P. 106–110.
13. NIDCR strategic plan 2014 - 2019. URL: <http://www.nidcr.nih.gov/Research/ResearchPriorities/StrategicPlan/> (дата обращения 17.08.2014).

References

1. Bessudnova NO, Bilenko DI, Venig SB, Atkin VS. Zacharevich AM. A new x-ray adhesive system with embedded nanoparticulate silver markers for dental applications. Proc. SPIE 8699, Saratov Fall Meeting 2012: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIV; and Laser Physics and Photonics XIV, 86990R (February 26, 2013); doi:10.1117/12.2018764; URL: <http://dx.doi.org/10.1117/12.2018764>
2. Bessudnova NO, Bilenko DI, Zakharevich AM. Application of x-ray nano-particulate markers for the visualization of intermediate layers and interfaces using scanning electron microscopy. Proc. SPIE 8337, Saratov Fall Meeting 2011: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIII. 2012. 833709.
3. Munck J De. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. J. Dent. Res. 2005;84(2):118-32.
4. Amaral FL. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. J Esthet Restor Dent. 2007;19:340-53.
5. Breschi L. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. Dent Mater. 2008;24:90-101.
6. Liu Y. Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. Journal of Dental Research. 2011;90(8):953-68.
7. Pashley DH. State of the art etch-and-rinse adhesives. Dental materials. 2011;27:1-16.
8. Breschi L. Dental adhesion review: Aging and stability of bonded interface. Dental Materials. 2008;24:90-101.
9. Much J. De. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. J Dent Res. 2005;84:118-32.
10. Dorfer CE. The nanoleakage phenomenon: influence of different dentin bonding agents, thermocycling and etching time. Eur. J. Oral. Sci. 2000;108:346-51.
11. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. Dent. 1999;27:89-99.
12. Cenci M. Influence of thermal stress on marginal integrity of restorative materials. J Appl Oral Sci. 2008;16(2):106-10.

13. NIDCR strategic plan 2014 - 2019. URL: <http://www.nidcr.nih.gov/Research/ResearchPriorities/StrategicPlan>.

Библиографическая ссылка:

Бессуднова Н.О., Вениг С.Б., Ревзина Е.М., Шляпникова О.А., Грибов А.Н. Применение методов атомно-силовой и растровой электронной микроскопии с целью визуальной диагностики состояния адгезивных соединений твердых тканей зуба и композиционных полимерных материалов при ударных циклических термонагрузках // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №4. Публикация 6-1. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-4/6-1.pdf> (дата обращения: 27.10.2017). DOI: 10.12737/article_5a0589ffd7f1c7.76704976.