

ЛАЗЕРНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

doi: 10.51639/2713-0568_2022_2_1_12

УДК 543.424

ГРНТИ 29.31.27

ВАК 01.04.05

Рамановская спектроскопия для оценки донорского ксеноматериала

^{1*} Самигуллин Р. Т., ¹ Тимченко П. Е., ¹ Тимченко Е. В., ¹ Писарева Е. В., ¹ Фролов О. О.,
¹ Гнедова А. А., ² Власов М. Ю., ² Волова Л. Т.

¹ 443086, Россия, Самара, Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С.П. Королёва

² 443099, Россия, Самара, Самарский государственный медицинский университет,
биотехнологический центр «БиоТех»

e-mail: samigullin.ravil2015@yandex.ru, * laser-optics.timchenko@mail.ru, timpavel@mail.ru,
pella1@rambler.ru, frolovaleh@gmail.com, pella1@rambler.ru, mvasov1@rambler.ru,
volovalt@yandex.ru

В данной статье представлены результаты спектральных исследований донорского ксеноматериала, полученных из разных источников (резец, моляр) и изготовленных по технологии «Лиопласт»®. Все исследования проводились с помощью метода Рамановской спектроскопии. Спектры снимали в трёх различных точках и усреднялись с помощью пакета программного обеспечения «Wolfram mathematica». Использовалось оборудование цифрового спектрометра высокого разрешения Andor Shamrock SR-303i, совмещённого с лазерным модулем Luxx Master LML-785.0RB-04. Был произведён нелинейный регрессионный анализ спектров, состоящий в их разложении на спектральные линии. В результате проведённых исследований, были получены данные статистического анализа спектров комбинационного рассеяния, было установлено, что резцы и моляры можно использовать для изготовления ксеноматериалов.

Ключевые слова: Рамановская спектроскопия, донорский материал, ксеноматериалы.

Введение

Для выполнения стоматологических реставрационных процедур и восполнения дефицита костной ткани альвеолярного отростка как правило используются ауто- и аллогенные биосовместимые материалы. Однако часто, из-за отсутствия донорского материала либо нежелания пациента использовать аллогенные ткани, возникают сложности с подбором биоимплантатов. Поэтому ведется поиск альтернативных заменителей дентальных тканей. Изучена биологическая реакция крыс на костный трансплантат крупного рогатого скота при восстановлении альвеолярной кости [1], купировании дефектов нижней челюсти при пересадке материала Bio-Oss карликовым свиньям [2] и собакам [3].

Ключевую роль в пролиферации и дифференцировке клеток играют ряд факторов роста и костные морфогенетические белки. Возможность использования деминерализованного

матрикса зубов в качестве носителя факторов роста и стволовых клеток доказана в работах [4,5].

Таким образом, деминерализованные ксеногенные костные биоимплантаты могут служить альтернативой ауто- и аллоимплантатам. Эффективность заживления костной ткани в значительной степени зависит от способа предоперационной обработки трансплантата, обуславливающей его механическую стабильность, биосовместимость, остеоиндуктивность и остеокондуктивность. В связи с этим возникает необходимость разработки методик оценки качества ксеногенного костно-пластического материала с использованием удалённых зубов животных.

Среди методов исследований широкое распространение получили оптические методы исследований [6–10].

Одними из распространённых оптических методов оценки биоматериалов различного назначения является метод рамановской спектроскопии [9, 10]. Так например, в работе [9] с помощью метода рамановской спектроскопии высокого разрешения были исследованы синтетические волокна гидроксиапатита и получены их спектральные характеристики. В работе [10] с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния исследовался наногидроксиапатит, легированный ионами иттрия для отслеживания структурных модификаций в чистых и легированных гидроксиапатитах в результате были получены характерные различия в спектрах образцов.

Цель работы: сравнительный спектральный анализ из ксеноматериалов из моляров и резцов прошедших, первичную обработку и деминерализацию, с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния.

Первый раздел: Материалы и методы

Объектами исследования являлись группы образцов ксеноматериалов, изготовленных по технологии «Лиопласт»® из зубов коровы.

Образцы разделены на три основные группы по типам донорского ксеноматериала (1 – моляр и 2 – резец) при одинаковой степени деминерализации 1.8н.

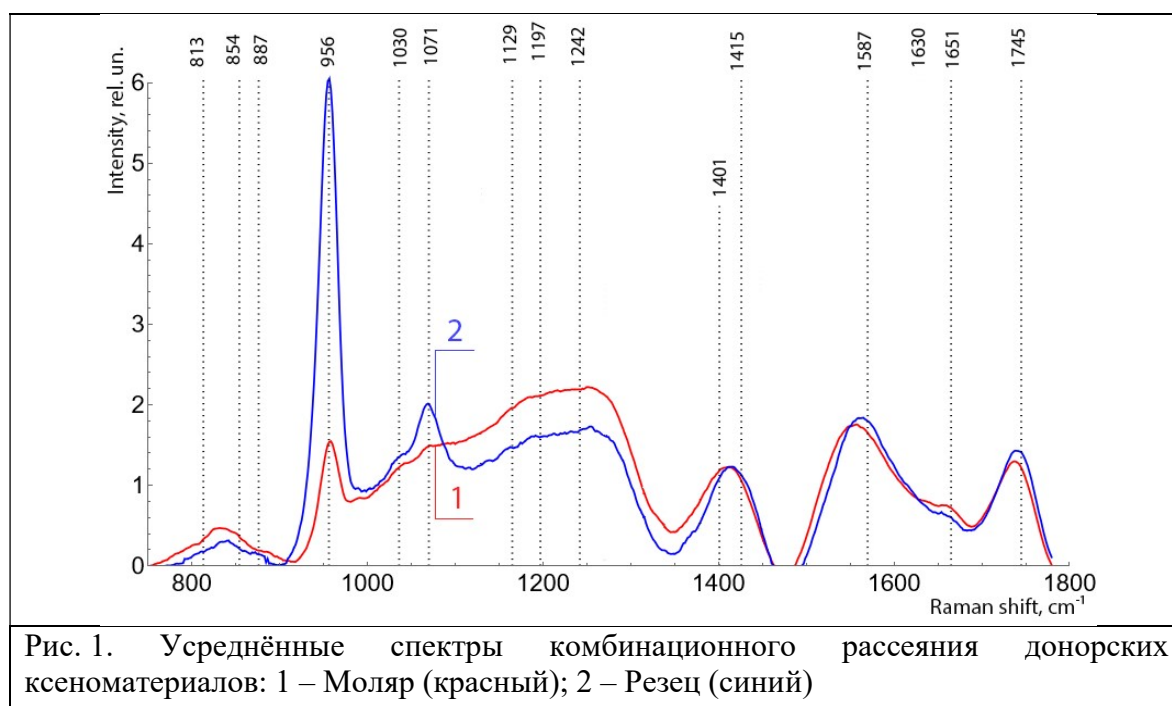
В качестве основного метода исследования ксеноматериала использовался метод спектроскопии комбинационного рассеяния света, реализованный цифровым спектрометром высокого разрешения Andor Shamrock SR-303i со встроенной охлаждающей камерой DV420A-OE, обеспечивающей спектральное разрешение 0,15 нм, и волоконным световодом, оптический зонд для рамановской спектроскопии RPB785, совмещенный с лазерным модулем Luxx Master LML-785.0RB-04 (до 500 мВт, длина волны 785 нм) [11].

Спектры снимали в трёх различных точках и усреднялись с помощью пакета программного обеспечения «Wolfram mathematica» [12].

Второй раздел: Анализ

На рисунке 1 приведены результаты исследований образцов донорских ксеноматериалов. Значительные изменения наблюдаются на линиях 956 см^{-1} (P-O симметричное валентное), 1071 см^{-1} (C-O плоское валентное), $1129...1242\text{ см}^{-1}$ (Amide III). Значимых изменений на других линиях КР не наблюдается. Данные изменения обусловлены особенностью структуры моляров и резцов. Вероятно, уменьшение минеральных компонент в молярах при данной степени деминерализации по сравнению с резцами обусловлено более быстрым выходом минералов из моляров под воздействием кислоты из-за особенностей строения слоев дентина и эмали. Известно, что гидроксиапатит дентина структурирован

низкокристаллическим фосфатом кальция, что делает возможным ремоделирование кости в будущем [13]. Напротив, гидроксиапатит эмали стехиометрически имеет структуру высококристаллического фосфата кальция, который в меньшей степени подвержен деградации, в том числе и под действием кислот. Упорядоченная структура кристаллов не позволяет остеокластам быстро разрушать матрикс, что приводит к замедлению резорбции [14].



Для повышения информативности полученных спектров КР был произведён нелинейный регрессионный анализ спектров, состоящий в их разложении на спектральные линии. На рисунке 2 представлен результат разложения спектрального контура на сумму распределений линий Гаусса.

Среднее значение коэффициента детерминации результирующего спектра от исходного в области $800 \dots 1780 \text{ см}^{-1}$ составило $R^2 = 0,99$, относительная погрешность определения интенсивности спектральных линий не превышает 5 %, усредненное стандартное отклонение координаты линии x_0 составляет 1 см^{-1} , усредненное стандартное отклонение ширины линии (HWHM) Гаусса dx составило 2 см^{-1} .

На рисунке 3 описана дискриминантная функция LD-1 описывает дисперсию на 100 %. Положительные значения LD-1 в большей степени характерны для спектров КР, резцов, отрицательные – для моляров.

На рисунке 4 показаны коэффициенты матрицы факторной структуры, имеющие физический смысл корреляции между переменными в модели и дискриминирующей функцией. Чем выше по модулю значение LD-1 для переменной, тем в большей степени она определяет разницу в дискриминационной модели между группами образцов.

Для исследуемых образцов специфичность составила 66,7 %, чувствительность 33,3 %.

Перекрытый анализ модели на основе дискриминантного анализа показал точность 50 %, что говорит о том, что значимых изменений между группами образцов нет.

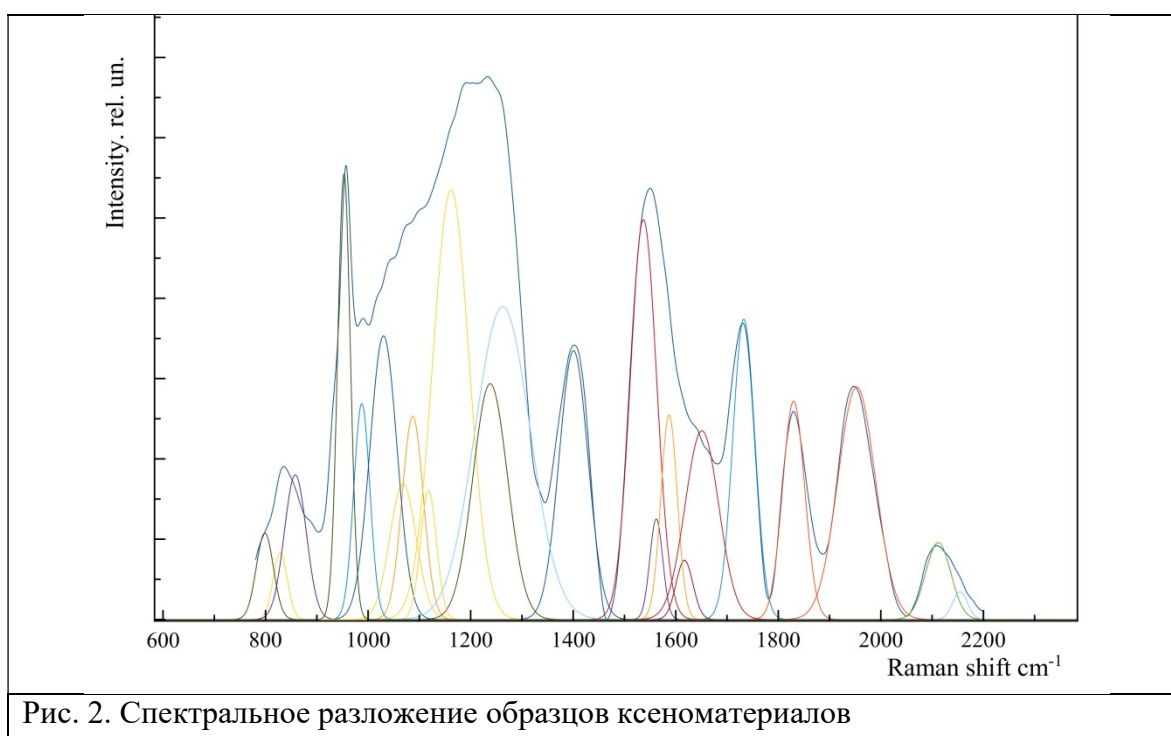


Рис. 2. Спектральное разложение образцов ксеноматериалов

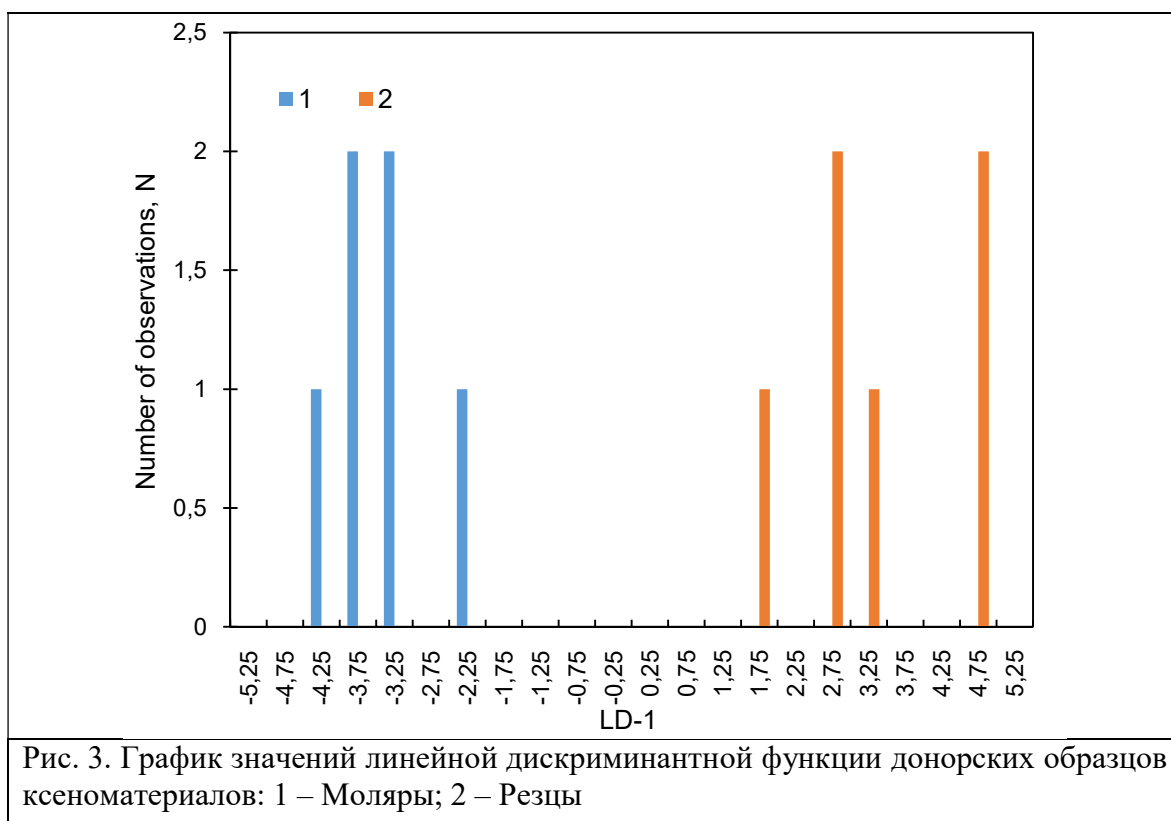
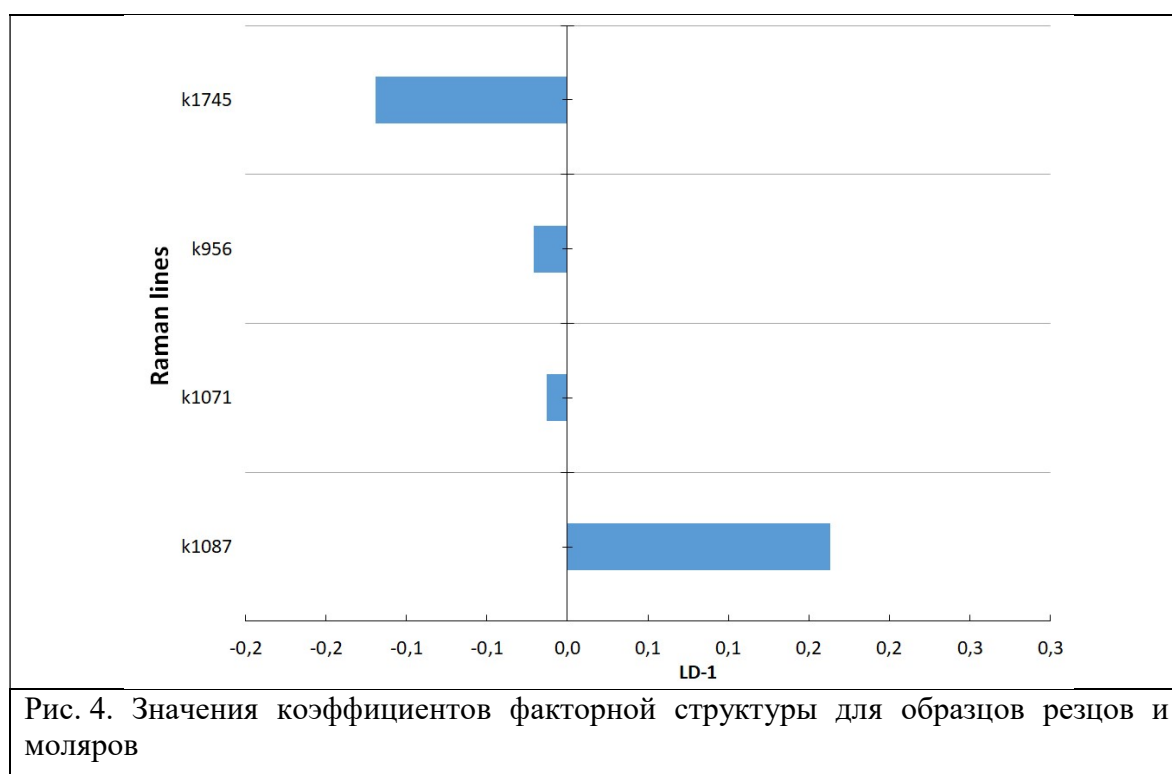


Рис. 3. График значений линейной дискриминантной функции донорских образцов ксеноматериалов: 1 – Моляры; 2 – Резцы



Заключение

Проведённый расширенный сравнительный анализ спектров комбинационного рассеяния исследуемых образцов ксеноматериалов, полученных из моляров и резцов показал, что наиболее выраженные спектральные изменения после процесса деминерализации наблюдаются в образцах из моляров и проявляются в изменении концентрации PO_4^{3-} и CO_3^{2-} по сравнению с резцами, о чём свидетельствуют изменения на линиях 1071 см^{-1} (C-O плоское валентное), 956 см^{-1} (P-O симметричное валентное) соответственно. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что гидроксиапатит эмали имеет структуру высококристаллического фосфата кальция, что делает эмаль резцов более плотной, медленнее растворяющейся под воздействием кислот.

Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют, что у них нет конфликта интересов по материалам данной статьи с третьими лицами, на момент подачи статьи в редакцию журнала, и им ничего не известно о возможных конфликтах интересов в настоящем со стороны третьих лиц.

Список литературы

1. de Almeida C. S., Sartoretto S. C., Durte I. M., Alves A. T. N. N, Barreto H. V., Resende R. F. B [and etc.] In vivo evaluation of bovine xenograft associated with oxygen therapy in alveolar bone repair // J. Oral. Implantol. 2021. Vol. 47. № 6. P. 465–471.
2. Catros S., Sandgren R., Pippenger B. E., Fricain J. C., Herber V., El Chaar E. A novel xenograft bone substitute supports stable bone formation in circumferential defects around dental implants in minipigs // Int. J. Oral. Maxillofac. Implants. 2020. Vol. 35. № 6. P. 1122–1131.

3. Antunes A. A., Oliveira Neto P., de Santis E., Caneva M., Botticelli D., Salata L. A. Comparisons between Bio-Oss(®) and Straumann(®) Bone Ceramic in immediate and staged implant placement in dogs mandible bone defects // *Clin. Oral. Implants Res.* 2013. Vol. 24. № 2. P. 135–42.
4. Um I. W., Ku J. K., Kim Y. K., Lee B. K., Leem D. H. Histological review of demineralized dentin matrix as a carrier of rhBMP-2 // *Tissue Eng. Part B. Rev.* 2020. Vol. 26. № 3. P. 284–293.
5. Liu G., Xu G., Gao Z., Liu Z., Xu J., Wang J. [and etc.] Demineralized dentin matrix induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells // *Cells Tissues Organs.* 2016. Vol. 201. № 1. P. 65–76.
6. Привалов В. Е., Половченко С. В., Чартий П. В. Экспериментальное зондирование промышленных аэродисперсных потоков // *Научно-технические ведомости Санкт-Петербургского государственного политехнического университета. Физико-математические науки.* 2014. № 4 (206). С. 64–7.
7. Мкртычев О. В., Привалов В. Е., Фотиади А. Э., Шеманин В. Г. Лазерная абляция нанокompозитов // *Научно-технические ведомости Санкт-Петербургского государственного политехнического университета. Физико-математические науки.* 2015. № 1(213). С. 128–135.
8. Привалов В. Е., Шеманин В. Г. Лидарное уравнение с учетом конечной ширины линии генерации лазера // *Известия высших учебных заведений. Физика.* 2014. Т. 57. № 8. С. 49–58
9. Shah F. A. Characterization of Synthetic Hydroxyapatite Fibers Using High-Resolution, Polarized Raman Spectroscopy. // *Appl Spectrosc.* 2021. Vol. 75. № 4. P. 475–479.
10. Yilmaz B., Evis Z. Raman spectroscopy investigation of nano hydroxyapatite doped with yttrium and fluoride ions // *Spectroscopy Letters.* 2014. Vol. 41. № 1. P. 24–29.
11. Тимченко Е. В., Тимченко П. Е., Писарева Е. В., Даниил М. А., Волова Л. Т., Федотов А. А. [и др.] Оптический анализ костной ткани методом рамановской спектроскопии при экспериментальном остеопорозе и его коррекции с помощью аллогенного гидроксиапатита // *Журнал оптических технологий.* 2020. Т. 87. № 3. С. 161–167.
12. Тимченко П. Е., Тимченко Е. В., Волова Л. Т., Зыбин М. А., Фролов О. О., Долгушов Г. Г. Оптическая оценка дентинных материалов // *Оптическая память и нейронные сети.* 2020. Т. 29. № 4. С. 354–357.
13. Bohner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements // *Injury.* 2000. Vol. 31 № 4. P. 37–47.
14. Kim Y. K., Lee J., Um I. W., Kim K. W., Murata M., Akazawa T., Mitsugi M. Tooth-derived bone graft material // *J. Korean Assoc. Oral. Maxillofac. Surg.* 2013. Vol. 39. № 3. P. 103–11.

Raman spectroscopy for the evaluation of donor xenomaterial

- ^{1*} Samigullin R. T., ¹ Timchenko P. E., ¹ Timchenko E. V., ¹ Pisareva E. V., ¹ Frolov O. O.,
¹ Gnedova A. A., ² Vlasov M. Yu., ² Volova L. T.

¹ 443086, Russia, Samara, Samara National Research University named after Academician S. P. Korolev

² 443099, Russia, Samara, Samara State Medical University, BioTech Biotechnology Centre

This paper presents the results of spectral studies of donor xenomaterial obtained from different sources (incisor, molar) and fabricated using the Lioplast® technology. All investigations were carried out by Raman spectroscopy. Spectra were taken at three different points and averaged using the Wolframmathematica software package. We used an Andor Shamrock SR-303i high resolution digital spectrometer coupled with a Luxx Master LML-785.0RB-04 laser module. A non-linear regression analysis of the spectra was performed, consisting in their decomposition into spectral lines. As a result of these studies, statistical analysis of Raman spectra was obtained, it was found that incisors and molars can be used for xenomaterials.

Key words: Raman spectroscopy, donor material, xenomaterials.