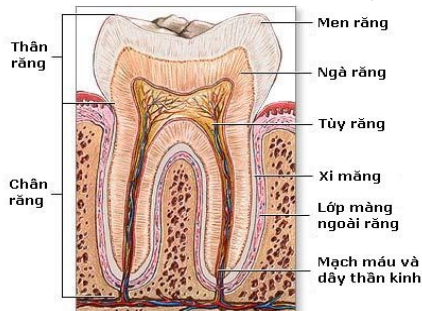


ỨNG DỤNG XÀ CỪ ĐỂ TÁI TẠO MEN RĂNG

Tái tạo men răng sau khi răng đã bị sâu, từ lâu luôn là mối quan tâm hàng đầu của nha khoa thế giới. Nhiều phương pháp đã từng được đề nghị nhằm khắc phục và lấp đầy các lỗ răng sâu, tuy nhiên hầu hết các phương pháp đều có giá thành cao hoặc men răng được tái tạo thường có độ bền cơ lý thấp. Gần đây, nhóm nghiên cứu của GS Zhang Lin đến từ Viện Hàn lâm Khoa học Trung Quốc đã đề nghị một phương pháp mới, ứng dụng chiết xuất trong xà cừ để có thể tái tạo men răng với giá thành thấp và độ bền cơ lý đáng kể.

Khái quát các phương pháp tái tạo men răng

Men răng vốn là một lớp phủ bên ngoài răng, có chức năng bảo vệ răng khỏi các tác động phá hoại, trong đó phổ biến nhất là hội chứng sâu răng (hình 1). Cấu trúc của men răng bao gồm các vật liệu hữu cơ tự nhiên kết hợp với một lượng lớn hydroxyapatite (HAP, chiếm 95-97% khối lượng) có hình dạng như những thanh que kích thước nano. Được điều chỉnh bởi các protein có trong men răng, những thanh que nano HAP này sẽ sắp xếp đặc khít và song song với nhau, tạo thành các bó HAP trật tự cao, đem lại độ cứng cho men răng [1]. Tuy nhiên, khi lớp khoáng vật trọng yếu này bị mất đi do sâu răng, lớp men rất khó được hồi phục trở lại, dẫn đến sự hình thành các lỗ sâu răng.



Hình 1: vị trí của men răng ở răng người

Nhằm tái tạo men răng một cách hiệu quả, một trong những giải pháp được ưa chuộng là tổng hợp những loại vật liệu có cấu trúc tương tự như men răng, chứa các thanh nano HAP. Cho đến thời điểm hiện tại, rất nhiều phương pháp tổng hợp đã được đề nghị cho mục đích trên, bao gồm kỹ thuật sol-gel [2], các quá trình cơ hóa [3], điện hóa [4], kết tinh dưới từ trường [5], thủy nhiệt [6]... Một đặc điểm chung của những phương pháp này là chúng thường đòi hỏi các điều kiện phản ứng nghiêm ngặt như nhiệt độ cao, áp suất cao, hàm lượng acid đậm đặc hoặc các hóa chất độc hại khác. Chính vì vậy, các phương pháp tổng hợp trên chỉ mới dừng lại ở mức độ nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, khó có thể áp dụng vào thực tế. Gần đây, các phương pháp tái kết tinh mang đặc tính sinh học đã thu hút sự chú ý của các nhà khoa học [7]. Roveri và các cộng sự [8] đã đề nghị một phương pháp mang đặc tính sinh học để có thể tái tạo bề mặt men răng, dựa trên việc quét một lớp tinh thể nano carbonate-hydroxyapatite sinh học. Tuy nhiên, những lớp phủ nano carbonate-hydroxyapatite

sinh học trong nghiên cứu của Roveri có độ tinh thể hóa thấp hơn nhiều so với lớp men apatite tự nhiên, khiến cho chúng vẫn chưa đáp ứng được các yêu cầu cơ lý. Ở một hướng nghiên cứu khác, nhiều công trình đã chứng tỏ các protein men răng là những nhân tố quan trọng thúc đẩy quá trình khoáng hóa và tái tạo cấu trúc tinh thể nano HAP trong men răng tự nhiên. Từ đó có không ít nghiên cứu đã đề nghị sử dụng protein men răng nhằm kích thích quá trình tái tạo men, nhưng đáng tiếc là protein men răng chỉ tồn tại trong thời kỳ đầu phát triển của men răng và bị thoái hóa dần theo quá trình lớn lên của men. Mặt khác, việc tách chiết protein men răng là một quá trình phức tạp và thường đẩy chi phí lên rất cao. Những khó khăn này đã hạn chế khả năng sử dụng protein men răng trong các ứng dụng hồi phục men lâm sàng.

Chính vì vậy, nhiều nỗ lực đã được thực hiện nhằm tìm kiếm các chất nền hữu cơ thay thế protein men răng tự nhiên. Các chất nền hữu cơ này phải có giá thành thấp và đặc biệt có khả năng tái cấu trúc men răng hiệu quả. Chúng thường là các loại gel tổng hợp

[7], hệ polymer kết hợp chất hoạt động bề mặt [9] hoặc một hệ protein/peptide [10]. Tuy nhiên, không giống như protein men răng tự nhiên vốn thúc đẩy quá trình hình thành các thanh nano HAP sắp xếp song song, những tinh thể HAP tái cấu trúc từ các tiền chất hữu cơ tổng hợp thường có những hình thái rất khác nhau như có dạng kim nano [11], các phiến mỏng [12]. Độ cứng của những dạng này thường chỉ bằng một nửa hoặc thấp hơn hẳn lớp men tự nhiên [12], do vậy không thể sử dụng trong các ứng dụng lâm sàng. Điều đó cũng khiến cho việc tái tạo các tinh thể HAP tạo men răng với thành phần, hình thái và các tính chất cơ học như mong muốn vẫn đang là một thách thức lớn đối với các nhà khoa học trên thế giới.

Ứng dụng chiết xuất trong xà cừ

Xà cừ là một vật liệu có nguồn gốc tự nhiên (hình 2), với cấu trúc bao gồm các lớp tinh thể aragonite (CaCO_3) có kích thước rộng khoảng 10-20 μm , chiếm 95% khối lượng vật liệu, được sắp xếp xen kẽ với các lớp polymer tự nhiên như chitin, lustrin... (chiếm khoảng 5% khối lượng còn lại). Thành phần của xà cừ rất giống với thành phần trong men răng của con người. Đặc biệt, hỗn hợp hữu cơ polymer tự nhiên của xà cừ có thể tách ra làm hai hệ, hệ protein



Hình 2: xà cừ tồn tại nhiều trong vỏ ốc

tan được trong nước (WSM) và hệ protein không tan, trong đó hệ tan được trong nước đã được chứng minh chứa các thành phần chịu trách nhiệm cho quá trình tinh thể hóa ở trật tự cao của các tinh thể CaCO_3 trong xà cừ. Gần đây, Lamghari và nhóm nghiên cứu của ông [13] đã phát hiện ra rằng, các thành phần trong WSM của xà cừ cũng có khả năng thúc đẩy sự phát triển của các tinh thể HAP ở 37°C trong xương chuột. Đồng thời, Ni và các cộng sự trong một nghiên cứu khác [14] đã thành công trong việc tổng hợp HAP trên bề mặt xà cừ nhờ vào sự kích thích của WSM. Bên cạnh đó, việc chiết tách WSM ra khỏi môi trường tự nhiên vốn là một quá trình đơn giản và có giá thành thấp. Chính những yếu tố này đã khiến cho WSM trở thành một đối tượng đầy tiềm năng cho các mục đích nha khoa.

Cụ thể, trong một nghiên cứu mới nhất của mình, GS Zhang Lin và các đồng nghiệp đến từ Phòng thí nghiệm trọng điểm hóa cấu trúc, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Trung Quốc đã tiến hành tái cấu trúc HAP trên men răng của người dựa vào việc sử dụng WSM. Kết quả nghiên cứu này vừa được đăng trên Tạp chí Crystal Engineering Community năm 2013 [15].

Tái tạo men răng từ protein WSM

Protein WSM được chiết ra khỏi xà cừ thô dựa theo quy trình của Bedouet [16]. Đầu tiên lớp calcite bên ngoài của xà cừ thô sẽ được bóc bỏ làm lộ ra lớp vỏ sò bên trong của xà cừ. Lớp vỏ này sẽ được nghiền mịn với kích thước hạt trung bình khoảng 0,75 μm , sau đó cho vào acid acetic và khuấy trộn ở 4°C trong khoảng

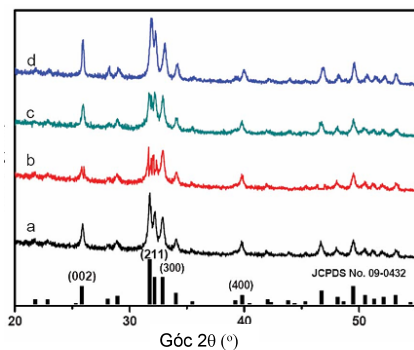
6 giờ. Phần nổi lên của dung dịch sẽ được thẩm tách với nước cất rồi cho vào cột trao đổi ion Sephadex G-15 nhằm loại muối khỏi phần hợp chất cao phân tử trong dung dịch. Phần phân tử này tiếp tục được pha loãng với dung dịch đệm phosphate (pH = 7,2) và đông lạnh lại để thu được hệ protein WSM.

Để có được các mẫu men răng thật, nhóm nghiên cứu sử dụng một mẫu răng hàm của người (không bị sâu, cũng chưa từng được trám). Mẫu răng này ban đầu sẽ được rửa và xử lý với sodium hypochlorite 3% để ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn. Sau đó, nó được cắt dọc thành những phiến mỏng dày khoảng 1 mm bằng máy cắt 650 SBT sử dụng lưỡi dao kim cương. Các phiến mỏng thu được sẽ tiếp tục được mài nhẵn với giấy mài SiC 600, 1.000 và được rửa sạch trong nước cất. Cuối cùng, các phiến men này sẽ được ngâm vào acid phosphoric 37% trong vòng 35 giây để giả lập môi trường ăn mòn men răng.

Nhằm mục tiêu tái tạo lại men răng, các lớp men bị ăn mòn sẽ được ngâm trong 12 ml dung dịch khoáng hóa chứa dung dịch muối phosphate và 0,6 mg/ml WSM và được ủ ở 37°C trong vòng 72 giờ. Sau giai đoạn khoáng hóa, các mẫu men răng sẽ được tách khỏi dung dịch, rửa và để khô ở nhiệt độ thường. Các mẫu men răng tái tạo khi không có WSM cũng được thực hiện trong điều kiện tương tự nhằm mục đích so sánh.

Tính chất cơ hóa của men răng tái tạo

Hình 3 lần lượt trình bày giản đồ nhiễu xạ tia X của các mẫu men răng tự nhiên, men răng bị

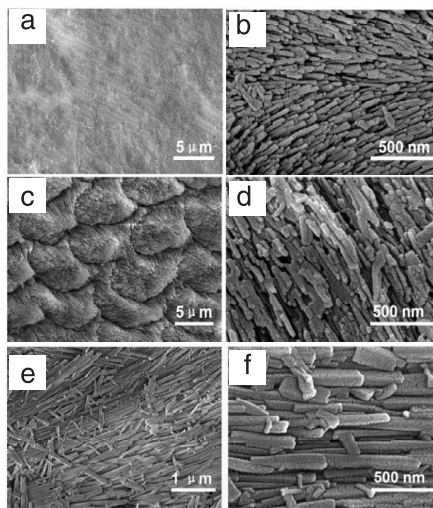


Hình 3: giản đồ nhiễu xạ tia X của các mẫu: (a) men răng tự nhiên, (b) men răng bị acid ăn mòn, (c) men răng tái tạo không có WSM, (d) men răng tái tạo với WSM

ăn mòn bởi acid, men răng tái tạo không có WSM và có sử dụng WSM. Cả bốn giản đồ đều thể hiện các mũi nhiễu xạ của pha lục phương HAP. Tuy nhiên, khi men răng bị ăn mòn bởi acid, cường độ các mũi nhiễu xạ này lập tức bị giảm rõ rệt, đồng thời một vài mũi cũng gần như biến mất, cho thấy HAP đã bị phá hủy một phần bởi acid. Khi men răng được tái tạo, cường độ các mũi này bắt đầu tăng trở lại. Đặc biệt đối với mẫu tái tạo với WSM, giản đồ phổ nhiễu xạ tia X rất giống với mẫu men răng ban đầu.

Kết quả này cũng tương đồng với các quan sát trên kính hiển vi điện tử quét (SEM, hình 4). Men răng tự nhiên được cấu tạo từ các thanh HAP với bề mặt láng phẳng (hình 4a) chứa các thanh nano HAP được sắp xếp song song theo một trật tự rất cao (hình 4b). Khi bị ăn mòn bởi acid, những tinh thể HAP bị hòa tan một phần, hình thành những bó HAP với trật tự kém và mật độ thấp (hình 4d). Vì vậy khi quan sát ở thang đo 5 μm , sự sắp xếp các thanh HAP này sẽ tạo ra một cấu trúc bề mặt vẩy cá (hình 4c). Chỉ đến khi được tái tạo với WSM, các thanh nano HAP

mới xuất hiện trở lại với mật độ và độ trật tự cao, sắp xếp song song tương tự như hình thái của men răng ban đầu (hình 4e và f).



Hình 4: hình chụp kính hiển vi của các mẫu: (a và b) men răng tự nhiên, (c và d) men răng bị ăn mòn bởi acid, (e và f) men răng được tái tạo với WSM

Để kiểm tra độ cứng của men răng sau khi được tái tạo, nhóm nghiên cứu của Zhang Lin đã tiến hành đo độ cứng Vickers của các mẫu. Với mẫu men răng ban đầu, độ cứng đạt $317.63 \pm 8.42 \text{ kg/m}^2$. Khi bị ăn mòn bởi acid, độ cứng chỉ còn $79.54 \pm 2.93 \text{ kg/m}^2$. Khi được tái tạo trong môi trường không có WSM, độ cứng tăng lên khoảng $195.23 \pm 29.53 \text{ kg/m}^2$. Nhưng khi có mặt WSM, độ cứng đã tăng lên đến $242.78 \pm 18.29 \text{ kg/m}^2$. Tất cả những kết quả này chứng tỏ phương pháp sử dụng WSM rất khả quan trong việc tái tạo men răng sau khi bị ăn mòn. Nghiên cứu của GS Zhang Lin vì thế đã mở ra một tiềm năng ứng dụng mới của xà cừ: sử dụng các protein WSM để điều trị sâu răng. Phương pháp này không chỉ có giá thành rẻ mà còn có thể đạt

được mức độ hiệu quả rất khả quan, giúp răng có thể hồi phục gần như ban đầu ■

LTK (tổng hợp)

Tài liệu tham khảo

- [1] H.A. Lowenstam and S. Weiner, On Biomineralization, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [2] K. Cheng, G. Shen, W.J. Weng, G.R. Han, J.M.F. Ferreira and J. Yang, Mater. Lett., 2001, 51, 37-41.
- [3] S.C. Liou, S.Y. Chen and D.M. Liu, Biomaterials, 2003, 24, 3981-3988.
- [4] S. Ban and J. Hasegawa, Biomaterials, 2002, 23, 2965-2972.
- [5] N.M. Sundaram, E.K. Girija, M. Ashok, T.K. Anee, R. Vani, R.V. Suganthi, Y. Yokogawa and S.N. Kalkura, Mater. Lett., 2006, 60, 761-765.
- [6] L. Yan, Y.D. Li, Z.X. Deng, J. Zhuang and X.M. Sun, Int. J. Inorg. Mater., 2001, 3, 633-637.
- [7] S. Busch, Angew. Chem., Int. Ed., 2004, 43, 1428-1431.
- [8] N. Roveri, E. Battistella, C.L. Bianchi, I. Foltran, E. Foresti, M. Iafisco, M. Lelli, A. Naldoni, B. Palazzo and L. Rimondini, J. Nanomater., 2009, DOI: 10.1155/2009/746383.
- [9] M. Kawashita, M. Nakao, M. Minoda, H.M. Kim, T. Beppu, T. Miyamoto, T. Kokubo and T. Nakamura, Biomaterials, 2003, 24, 2477-2484.
- [10] L. Addadi, S. Weiner and M. Geva, Z. Kardiol., 2001, 90(Suppl), 92-98.
- [11] Y. Fan, J.R. Nelson, J.R. Alvarez, J. Hagan, A. Berrier and X. Xu, Acta Biomater., 2011, 7, 2293-2302.
- [12] Y.W. Fan, J.R. Nelson, J.R. Alvarez, J. Hagan, A. Berrier and X.M. Xu, Acta Biomater., 2011, 7, 2293-2302.
- [13] M. Lamghari, M.J. Almeida, S. Berland, H. Huet, A. Laurent, C. Milet and E. Lopez, Bone, 1999, 25, 91S-94S.
- [14] M. Ni and B.D. Ratner, Biomaterials, 2003, 24, 4323-4331.
- [15] X. Li, D. Pan, S. Lin, Z. Zhuang and Z. Lin, Cryst. Eng. Comm., 2013, 15, 4351-4356.
- [16] L. Bedouet, A. Marie, L. Dubost, J. Peduzzi, D. Duplat, S. Berland, M. Puissegur, H. Boulzaguet, M. Rousseau, C. Milet and E. Lopez, Mar. Biotechnol., 2007, 9, 638-649.