

**RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE**  
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte  
Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūts

**Vita ZĀLĪTE**

Doktora studiju programmas „Materiālzinātne” doktorante

**AR STRONCIJU UN FLUORU AIZVIETOTA KALCIJA  
DEFICĪTĀ HIDROKSILAPATĪTA SINTĒZE UN  
PIELIETOJUMS ZOBU EMALJAS  
REMINERALIZĀCIJĀ**

**Promocijas darba kopsavilkums**

Zinātniskais vadītājs  
asoc. profesors *Dr. sc. ing.*  
J. LOČS

**RTU Izdevniecība**  
**Rīga 2017**

Zālīte V. Ar stronciju un fluoru aizvietota kalcija deficītā hidroksilapatīta sintēze un pielietojums zobu emaljas remineralizācijā. Promocijas darba kopsavilkums. – R.: RTU Izdevniecība, 2017. – 25 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātes Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūta 2016. gada 28. jūnija sēdes lēmumu, protokols Nr. 16-15/16.

**ISBN 978-9934-10-944-7**

**PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS INŽENIERZINĀTŅU  
DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI  
RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ**

Promocijas darbs inženierzināņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2017. gada 31. maijā Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

**OFICIĀLIE RECENZENTI**

Vadošais pētnieks *Dr. sc. ing.* Andris Šutka  
Silikātu materiālu institūts, Rīgas Tehniskā universitāte

Vadošais pētnieks *Dr. phys.* Jānis Kleperis  
Cietvielu fizikas institūts, Latvijas Universitāte

Profesore *DBMS* Vita Mačiulskiene  
Zobārsniecības un mutes patoloģiju klīnika, Lietuvas Veselības zinātņu universitāte

**APSTIPRINĀJUMS**

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Vita Zālīte \_\_\_\_\_

Datums: \_\_\_\_\_

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, tajā ir ievads, trīs nodaļas (literatūras apskats, eksperimentālā daļa, rezultāti un to izvērtējumu), secinājumi, izmantotās literatūras saraksts un pielikumi. Promocijas darba saturs izklāstīts 135 lappusēs. Darbā ir 75 attēli, 22 tabulas, 1 pielikums un 168 literatūras avoti.

## PATEICĪBA

Vēlos teikt vissiltāko un vissirsnīgāko paldies sava promocijas darba vadītājam asociētajam profesoram Jānim Ločam par padomiem, ieinteresētību, uzmundrinošiem vārdiem un pozitīvās enerģijas devu, kad tas ir bijis vajadzīgs, kā arī par pacietību un atbalstu promocijas darba izstrādes laikā.

Paldies brīnišķīgajiem, atsaucīgajiem un izpalīdzīgajiem kolēģiem, īpaši, Marinai Sokolovai, Kristapam Rubenim, Līgai Stīpniecei, Janai Vecstaudžai par nesavtīgu palīdzību un ierosinājumiem, kā arī 208. kabineta meitenēm par nebeidzamo optimisma devu.

Paldies RTU Rūdolfa Cimdiņa Rīgas Biomateriālu inovāciju un attīstības centra vadībai par doto iespēju apmeklēt starptautiskas konferences, lai ziņotu par zinātniskajiem rezultātiem un gūtu dzīves pieredzi.

Izsaku pateicību RTU Mašīnbūves tehnoloģijas institūta direktoram Jānim Rudzītīm un doktorantam Jānim Lungevičam par iespēju izmantot iekārtas profilometrijas mērījumu veikšanai. Kā arī paldies pētniekam Kārlim Kundziņam par iespēju izmantot LU Cietvielu fizikas institūta zinātnisko infrastruktūru.

Vēlos teikt paldies RSU Šūnu transplantācijas centra vadītājam Ērikam Jakobsonam un darbiniekiem par citotoksicitātes pētījumu veikšanu.

Personīgs paldies RTU Dizaina fabrikas vadītājam Guntim Kuļikovskim par entuziasmu speciālu paraugu turētāju izgatavošanā.

Pateicības vārdus vēlos arī veltīt RTU studentēm Jolantai Rimšai, Ancei Annijai Baltiņai un Jūlijai Kozelai.

Ģimene... Ģimene man ir viss! Tādēļ neizmērojami liels paldies vīram Oskaram, meitai Ancei, mammai Irēnai, tētim Jurim, māsai Ritai un viņas līgavainim Pedro par uzmundrinošiem vārdiem, par atbalstu, par dresēšanu, telefona un TV pults paslēpšanu, ticību maniem spēkiem brīžos, kad pati vairs neticēju. Par to, ka viņi man ir!

## SATURS

DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS .....	6
Tēmas aktualitāte .....	6
Promocijas darbam izvirzītie mērķi .....	6
Mērķu sasniegšanai darbā veicamie uzdevumi:.....	6
Darba zinātniskā nozīme un novitāte .....	7
Darba praktiskā nozīme .....	7
Darbā aizstāvējamās tēzes .....	7
Darba aprobācija .....	7
LITERATŪRAS APSKATS .....	8
METODISKĀ DAĻA.....	9
REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS.....	10
1. CaP nanodaļiņu raksturošana .....	10
2. Modeļpastu raksturošana .....	13
3. Zobu emaljas remineralizācija .....	13
SECINĀJUMI.....	21
LITERATŪRAS SARAKSTS.....	22
DARBA APROBĀCIJA.....	23

# DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS

## Tēmas aktualitāte

Jaunākās zobārstniecības tendences liecina, ka speciālisti ir ieinteresēti pēc iespējas mazāk iejaukties zobu dabīgajā remineralizācijas procesā, ja vien zoba bojājums nav skāris dziļākos audu slāņus. Zobārstniecības praksē lielāku uzmanību pievērš kariesa monitoringam ar nosacījumu, ka pacients regulāri apmeklē speciālistu, tāpēc būtiski ir pieaudzis to pētījumu skaits, kas saistīti ar aktīvo vielu jeb remineralizācijas aģentu izpēti un inovatīvu produktu izstrādi. Tiek uzskatīts, ka šādiem līdzekļiem ir preventīva iedarbība un tie novērš kariesa attīstību tā sākotnējā stadijā. Balstoties uz pieejamo informāciju, jāsecina, ka par remineralizācijas fenomenu sāks runāt tikai 20. gadsimta 60. gados, bet intensīvi pētījumi šajā jomā sākušies ap 2006. gadu.

Kalcija fosfāti (CaP), īpaši hidroksilapatīts (HAp), bija, ir un būs plaši pētīti kā kaulaudus aizvietojoši un atjaunojoši materiāli, turklāt nu tiem pievēršusi uzmanību arī zobārstniecības speciālisti, saskatot šajos materiālos zobu emaljas remineralizācijas potenciālu. Mutes kopšanas līdzekļi, kas satur HAp, jau ir izturējuši klīniskos pētījumus un pierādījuši savu efektivitāti, iedarbojoties preventīvi uz kariesa attīstību. HAp molekula sastāv no trīs dažādām funkcionālajām grupām, tāpēc tā ir piemērota dažādām ķīmiskajām modifikācijām, tādējādi iegūstot uzlabotas vai izmainītas gan ķīmiskās, gan fizikālās, gan strukturālās īpašības. Līdz ar to, HAp struktūrā iekļaujot tādus elementus kā fluoru un stronciju, varētu uzlaboties HAp remineralizācijas efekts.

Analizējot zinātnisko literatūru par remineralizāciju *in vitro* apstākļos, secināts, ka pētījumos izvēlēti ļoti dažādi eksperimentālie apstākļi, kas apgrūtina objektīvu rezultātu izvērtēšanu un secinājumu veikšanu par konkrētiem remineralizācijas aģentiem. Līdz ar to ir nepieciešamība pēc vienota eksperimentālo procedūru kopuma šādu pētījumu veikšanai.

## Promocijas darbam izvirzītie mērķi

Balstoties uz literatūras analīzi un nepieciešamību pēc efektīviem mutes kopšanas līdzekļiem, kas preventīvi spētu aizsargāt zobu emalju, izvirzīti šādi mērķi:

- iegūt bioaktīvas CDHAp (kalcija deficītā hidroksilapatīta), SrCDHAp (ar stronciju aizvietota kalcija deficītā hidroksilapatīta), FCDHAp (ar fluoru aizvietota kalcija deficītā hidroksilapatīta) un SrFCDHAp (ar stronciju un fluoru dubultaizvietota kalcija deficītā hidroksilapatīta) nanodaļiņas, kas, pievienotas zobu kopšanas līdzekļiem, veicinātu zobu emaljas remineralizācijas procesu;
- aprakstīt remineralizācijas pētījumu eksperimentālo procedūru kopumu un veikt remineralizācijas novērtēšanu.

## Mērķu sasniegšanai darbā veicamie uzdevumi:

- veikt literatūras analīzi par CaP, kas uzrāda zobu emaljas remineralizācijas efektu, kā arī apkopot informāciju par komerciāli pieejamiem mutes kopšanas līdzekļiem, kas satur CaP;
- balstoties uz literatūras analīzi, sintezēt CDHAp ar sastāvā iekļautu stronciju (līdz 10 % (masas)) un fluoru (līdz 3 % (masas));
- izveidot modeļpastu bāzes sastāvu, kas nodrošinātu objektīvu kalcija fosfātu remineralizācijas potenciāla novērtēšanu *in vitro*;

- no literatūrā pieejamajiem datiem adaptēt un sagatavot remineralizācijas pētījumu metožu kopumu un aprakstīt eksperimentālo procedūru kopumu zobu emaljas remineralizācijas novērtēšanai;
- veikt remineralizācijas eksperimentus un novērtēt CaP remineralizācijas potenciālu.

### **Darba zinātniskā nozīme un novitāte**

- Pirmo reizi ar šķīdumu nogulsnešanas metodi sintezēts ar stronciju un fluoru dubultaizvietots CDHAp.
- Pirmo reizi novērtēta ar Sr un F dubultaizvietota CDHAp saturošas modeļpastas ietekme uz zobu emaljas remineralizāciju.
- Aprakstīts eksperimentālo procedūru kopums CDHAp un aizvietota CDHAp zobu emaljas remineralizācijas novērtēšanai.

### **Darba praktiskā nozīme**

Izveidots eksperimentālo procedūru un analītisko metožu kopums, lai novērtētu CDHAp un ar Sr un/vai F aizvietota CDHAp potenciālo izmantošanu zobu emaljas remineralizēšanai.

### **Darbā aizstāvāmās tēzes**

1. Izmantojot šķīdumu nogulsnešanas sintēzes metodi, var iegūt ar Sr un F dubultaizvietota CDHAp nanodaļiņas.
2. CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp un SrFCDHAp daļiņu ūdens suspensija paaugstina skābas ūdens vides pH.
3. Apstrādājot zobu emalju ar CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp un SrFCDHAp daļiņas saturošām modeļpastām, uz tās virsmas veidojas CaP pārklājums, kura biezums pieaug, palielinot apstrādes ciklu skaitu.

### **Darba aprobācija**

Promocijas darba izstrādes laikā publicēti 12 zinātniskie raksti, darba rezultāti prezentēti 12 starptautiskās konferencēs.

## LITERATŪRAS APSKATS

Mutes veselības problēmas, kas saistītas ar zobu veselību, un to risināšana ir ļoti aktuāls pētījumu objekts. Turklāt pētījumos iesaistās ne tikai praktizējoši zobārsti, bet arī biologi un materiālzinātnieki. Pētnieki aizvien vairāk pievērš uzmanību zobu cieto audu bioloģiskajiem veidošanās procesiem un remineralizācijas-demineralizācijas līdzsvaru ietekmējošiem faktoriem. Izpratne par šiem notikumiem sniedz inovatīvas idejas un risinājumus tieši preventīvās un terapeitiskās zobārstniecības jomā.

Zobu emalja ir cietākie mineralizētie audi mugurkaulnieku organismā. Tā sastāv no 95 masas% HAp, 4 masas% ūdens un 1 masas% organisko vielu, kas pamatā ir proteīni [1]. Emaljas uzbūves mazākā uzbūves vienības ir adatveida, heksagonāli HAp nanokristāli. Šie kristāli ir novietoti paralēli viens otram un apvienoti šķiedrās, kas ir no 40 nm līdz 60 nm platas un dažus simtus mikrometrus garas. Savukārt šīs šķiedras veido no 4 μm līdz 8 μm platas vienības, kas tiek dēvētas par emaljas prizmām [2, 3]. Jāpiemin, ka nobriedušā emaljā nav dzīvu šūnu, kā tas ir dentīnā vai kaulos, kas ļautu pašam organismam atjaunot zaudētos emaljas audus. Līdz ar to vienīgais, kā demineralizētā emalja var atjaunoties, ir siekalās esošo jonu ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_2^-$  u. c.) saistīšana pie emaljas, veidojoties jauniem kristalizācijas centriem, kas transformējas par HAp kristāliem. Būtisks faktors ir arī siekalu dabīgā buferkapacitāte, kas līdzsvaro pH izmaiņas mutē. Tomēr mūsdienu sabiedrības sliktie ēšanas paradumi un nepiemērotas pārtikas izvēle remineralizācijas-demineralizācijas līdzsvaru novirza demineralizācijas virzienā tik ļoti, ka organisma dabīgās aizsargreakcijas un mehānismi nespēj atjaunot zudušos emaljas minerālus. Šādos gadījumos būtu jāizvēlas mutes higiēnas līdzekļi, kas maksimāli spētu atjaunot bojāto zobu emalju.

Daudzu gadu desmitu laikā gan laboratorijas, gan klīniskajos pētījumos ir pierādīta fluoru saturošu preparātu, pārklājumu un mutes higiēnas kopšanas līdzekļu efektivitāte zobu emaljas stiprināšanai un kariesa novēršanai. Tomēr pat mūsdienās notiek plaši pētījumi dažādu jaunu komponentu un materiālu radīšanā, kas ietver fluorīdjonus, jo vēl jo projām nav noskaidrots, kāds tieši ir fluorīda un emaljas mijiedarbības mehānisms, kā rezultātā emalja tiek stiprināta. Pamatā valda trīs uzskati:

- a) fluorīdjoni iekļaujas emaljas dabīgā minerāla sastāvā;
- b) fluorīdjoni kopā ar siekalās esošajiem  $\text{Ca}^{2+}$  joniem veido nešķīstošo  $\text{CaF}_2$ ;
- c) fluorīdjoni kopā ar siekalās esošajiem  $\text{PO}_4^{3-}$  un  $\text{Ca}^{2+}$  joniem veido HAp kristālus, tādējādi atjaunojot demineralizēto emalju.

Savukārt stroncijs sāļu sastāvā līdz šim mutes kopšanas līdzekļos ir bijis iekļauts kā zobu jutīgumu mazinošs līdzeklis, jo pētījumos šis efekts ir pierādīts [4]. Tomēr tā ietekme uz zobu cieto audu remineralizāciju nav pētīta. Gan  $\text{F}^-$ , gan  $\text{Sr}^{2+}$  joni *in vitro* eksperimentos ar baktērijām ir uzrādījuši to metabolismu inhibējošu efektu. Tas norāda, ka šos jonu klātbūtne varētu samazinātu mutes dobumā esošo kariogēno baktēriju radīto skābju koncentrāciju, kas vistiešāk ietekmē emaljas demineralizācijas progresu.

Pēdējos apmēram 15 gados popularitāti ir guvuši CaP, pamatā – amorfais kalcija fosfāts (ACP) un HAp, kā zobu cieto audu remineralizējošas vielas. Būtiska uzmanība tiek pievērsta ne tikai ķīmiskajam sastāvam, bet arī daļiņu morfoloģijai, lai tā būtu pēc iespējas līdzīgāka emaljas vai dentīna HAp nanokristāliem. Šādu daļiņu priekšrocības, lai veicinātu remineralizācijas procesu, ir šādas:

- a) tās var iekļūt nanoizmēru emaljas virsmas defektos, tādējādi iespējoties dziļākos emaljas slāņos un pat dentīnā;



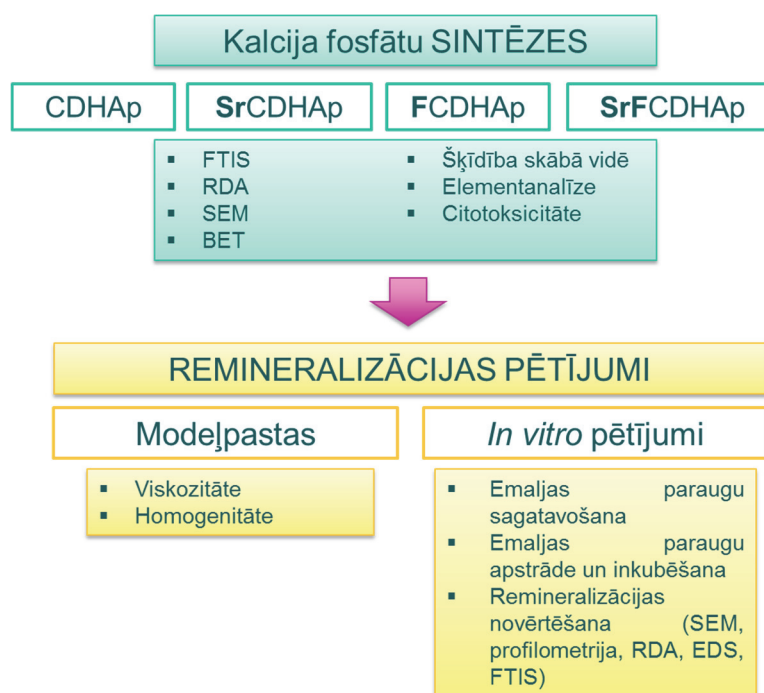
- b) tām ir lielāks virsmas laukums, kas nozīmē, ka materiālam būs lielāka reaģēšanas spēja un šķīdība, kas savukārt palielinātu  $\text{Ca}^{2+}$  un  $\text{PO}_4^{3-}$  jonu koncentrāciju mutes dobumā.

Lai sintētiskā ceļā iegūtu šādas formas nanodaļiņas, vispiemērotākā ir suspensijas nogulsnešanas metode, kas arī izvēlēta promocijas darba eksperimentālajā daļā.

Līdz šim nav pētīti un zobu kopšanas līdzekļos nav iekļauti SrCDHAp, SrFCDHAp, bet ir atrodama informācija par FCDHAp un CDHAp lietošanu remineralizācijas nodrošināšanai un veicināšanai, tāpēc ir nepieciešamas novērtēt visu četru komponentu emaljas remineralizēšanas potenciālu un iespējamo lietojumu preventīvajā un terapeitiskajā zobārstniecībā.

## METODISKĀ DAĻA

Promocijas darba eksperimentālo daļu var iedalīt divās lielās daļās: CaP sintēze un *in vitro* remineralizācijas pētījumi. 1. attēlā parādīti galvenie eksperimentālā plāna posmi un lietotās instrumentālās metodes.



1. attēls. Eksperimentālās daļas galvenie posmi.

Promocijas darba metodiskajā daļā aprakstīta CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp un SrFCDHAp nanodaļiņu suspensijas nogulsnešanas sintēze un katram produktam atbilstošie sintēzes apstākļi. SrFCDHAp iegūšanai izvēlētas divas alternatīvas sintēzes metodes. Iegūto produktu raksturošanai izmantotas dažādas instrumentālās metodes, kas uzskaitītas 1. attēlā. CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp un SrCDHAp nanodaļiņu iegūšanai kā reģenti izmantoti  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{SrO}$ ,  $\text{NH}_4\text{F}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  un  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Lai noteiktu Ca/P vai Ca+Sr/P molāro attiecību, kā arī fluora klātbūtni FCDHAp un SrFCDHAp struktūrā, pulverveida paraugi termiski apstrādāti  $1100\text{ }^\circ\text{C}$  vienu stundu.

Remineralizācijas pētījumiem ir divas daļas: CaP modeļpastu izveide un zobu emaljas remineralizācijas novērtēšana *in vitro*. Pirms modeļpastu izveides CaP nogulsnes (p\_CDHAp) pakļautas liofilizēšanai (l\_CDHAp) un izsmidzināšanas žāvēšanas (i\_CDHAp) procesam ar nolūku pārbaudīt, vai ir nepieciešama CaP nogulšņu

pirmsapstrāde. Lai objektīvi varētu novērtēt sintezēto CaP remineralizācijas efektu, modeļpastu sagatavošanai izvēlētas tikai četras sastāvdaļas: CaP (5 masas%, 10 masas%, 20 masas%), 2-hidroksietilceluloze, ūdens un glicerīns. Dažāda sastāva modeļpastām analizētas to konsistences homogenitātes izmaiņas un noteikta viskozitāte, to salīdzinot ar komerciālu zobu pastu.

*In vitro* pētījumiem izvēlēta liellopa zobu emalja, kuras uzbūve saskaņā ar literatūru ir vistuvākā cilvēka zobu emaljai. Emaljas paraugu sagatavošana ietver zoba attīrīšanu no mīkstajiem audiem, zoba kroņa atdalīšanu no saknes, tā sadalīšanu paraugos (3 mm × 4 mm), paraugu fiksēšanu paraugu turētājos, slīpēšanu un virsmas kodināšanu ar H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Promocijas darba metodiskajā daļā aprakstīti eksperimentālie apstākļi. Īsumā, zobu emaljas paraugi divas reizes diennaktī apstrādāti ar CaP modeļpastām, pirms katras apstrādes epizodes tie pakļauti 50 mM citronskābes iedarbībai trīs minūtes. Pārējā laikā zobu emaljas paraugi uzglabāti eksperimentālajā šķīdumā inkubatorā dinamiskos apstākļos 37 °C. Remineralizācijas pētījums ilga septiņas diennaktis. Emaljas virsmas pētīšanai pirms un pēc remineralizācijas eksperimenta izmantotās analīzes tehnikas redzamas 1. attēlā.

## REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

### 1. CaP nanodaļiņu raksturošana

Sintezēto kalcija fosfātu ķīmiskā un fāžu sastāva raksturošanai izmantotas RDA, FT-IS un EDS instrumentālās metodes. Īpatnējās virsmas laukums (ĪVL) un daļiņu izmērs noteikts, izmantojot N<sub>2</sub> sorbtometriju, bet kristalītu izmērs – pēc RDA raksturīgā maksimuma (002) HAp fāzei. Iegūtie dati apkopoti 1. tabulā.

1. tabula

Sintezēto CaP raksturlielumi

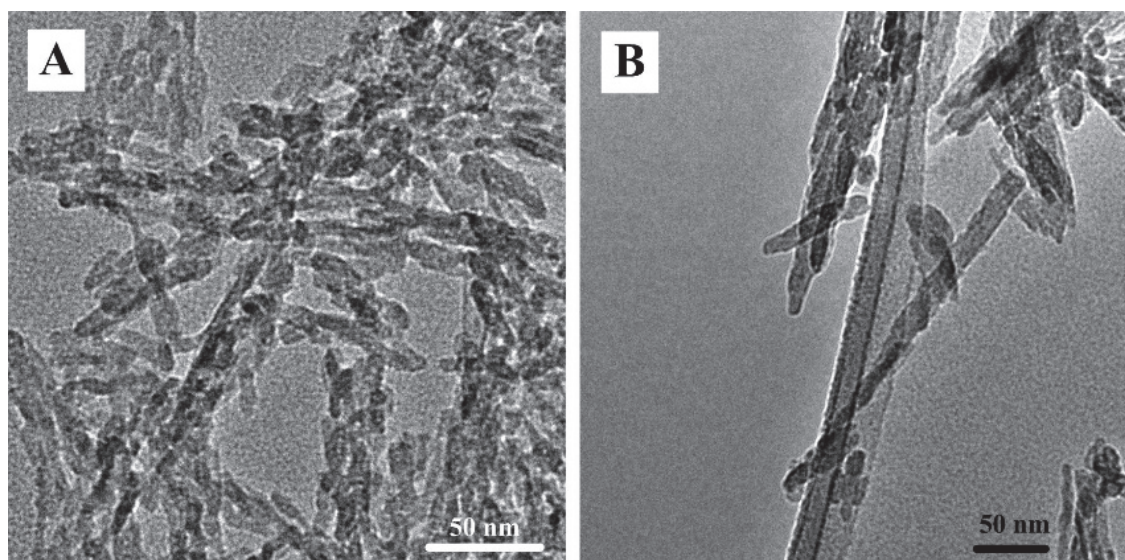
	FCDHAp	SrCDHAp	SrFCDHAp_N	SrFCDHAp_C	p_CDHAp	i_CDHAp	l_CDHAp
Ca/P molārā attiecība	1,64				1,65	1,65	1,65
Ca+Sr/P		1,64	1,64	1,64			
HAp/β-TCP, % (masas) *	86/14	82/12	86/14	84/16	89/11	89/11	89/11
F, % (masas)	1,6 ± 0,1	–	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,2	–	–	–
Sr, % (masas)	–	7,4 ± 0,4	7,1 ± 0,2	7,8 ± 0,3	–	–	–
ĪVL, m <sup>2</sup> /g	71,1 ± 0,2	94,5 ± 1,3	140,0 ± 1,5	78,1 ± 0,4	82,0 ± 0,8	92,0 ± 2,0	87,0 ± 1,1
Daļiņu izmēri d <sub>BET</sub> , nm	30,0 ± 0,1	22,6 ± 0,3	15,2 ± 0,2	26,5 ± 0,1	25,0 ± 0,2	23,9 ± 0,5	24,1 ± 0,2
Kristalītu izmēri d <sub>002</sub> , nm	30	27	18	27	27	29	30

\* Pēc augsttemperatūras apstrādes 1100 °C vienu stundu.

FT-IS spektros visiem sintezētajiem pulveriem detektētas apatīta fāzei raksturīgās  $[\text{PO}_4]$  un  $[\text{OH}]$  absorbcijas joslas. Papildus spektros uzrādās arī  $[\text{HPO}_4]$  un  $[\text{CO}_3]$  funkcionālo grupu maksimumi.  $[\text{CO}_3]$  liecina, ka sintēzes vidē ir izšķīdis atmosfēras oglekļa dioksīds, tādējādi iekļaujoties produktu struktūrā. Savukārt  $[\text{HPO}_4]$  klātbūtne norāda, ka iegūtie CaP pēc sintēzes ir kalcija deficīti. Pēc CaP pulverveida paraugu termiskās apstrādes novērots, ka spektros izzūd  $[\text{CO}_3]$  un  $[\text{HPO}_4]$  absorbcijas joslu svārstības, bet FCDHAp, SrFCDHAp\_N un SrFCDHAp\_C paraugiem parādās papildu maksimumi pie  $3543\text{--}3547\text{ cm}^{-1}$  un  $735\text{ cm}^{-1}$ , kas liecina, ka šo paraugu struktūrā ir fluors.

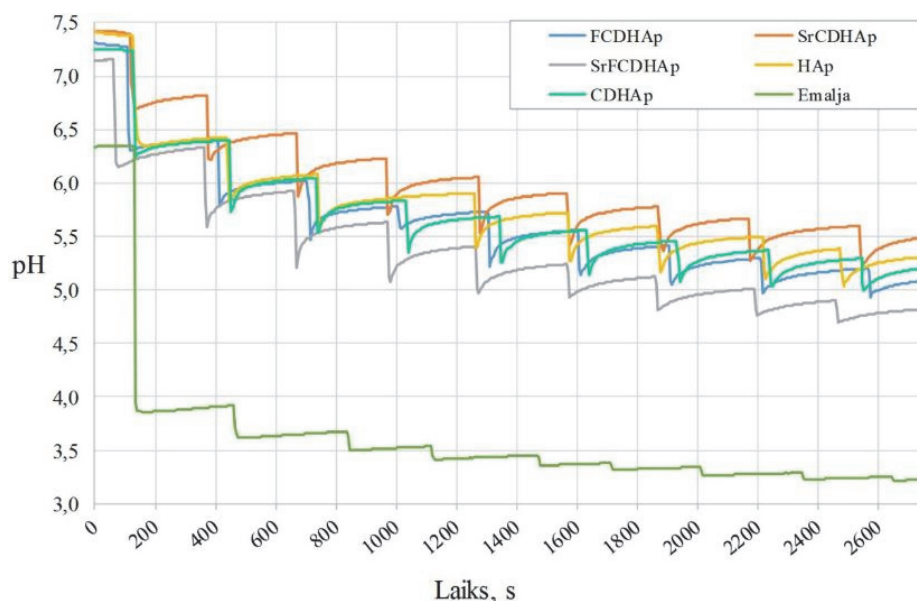
Elementanalīzes rezultāti ļauj secināt, ka pH ciklēšanas metode ir piemērotāka stroncija atomu, bet nitrātu metode fluora atomu iekļaušanai SrFCDHAp struktūrā.

SEM mikrofotogrāfijas liecina, ka sintezētajām daļiņām raksturīga adatveida morfoloģija, kas ir saskaņā ar literatūru [5]. Daļiņu garums ir no 100 nm līdz 300 nm, bet diametrs no 30 nm līdz 50 nm. SEM mikrofotogrāfijās novērojamo daļiņu dimensijas ir pretrunā ar aprēķinātajiem daļiņu un kristalītu izmēriem (1. tabula). Skaidrību šajā jautājumā vieš TEM mikrofotogrāfijas (2. attēls), kurās redzams, ka adatveida daļiņas patiesībā ir aglomerāti, kas sastāv no nano izmēra daļiņām, kuru izmēri atbilst 1. tabulā norādītajiem. Sintezējot SrCDFHAp ar pH ciklēšanas metodi, produktu kristalītu izmēri ( $29\text{ nm} \pm 3\text{ nm}$ ) ir lielāki nekā nitrātu metodes gadījumā ( $19\text{ nm} \pm 3\text{ nm}$ ).



2. attēls. TEM mikrofotogrāfijas: A – SrFCDHAp\_N nanodaļiņas, B – SrFCDHAp\_C nanodaļiņas.

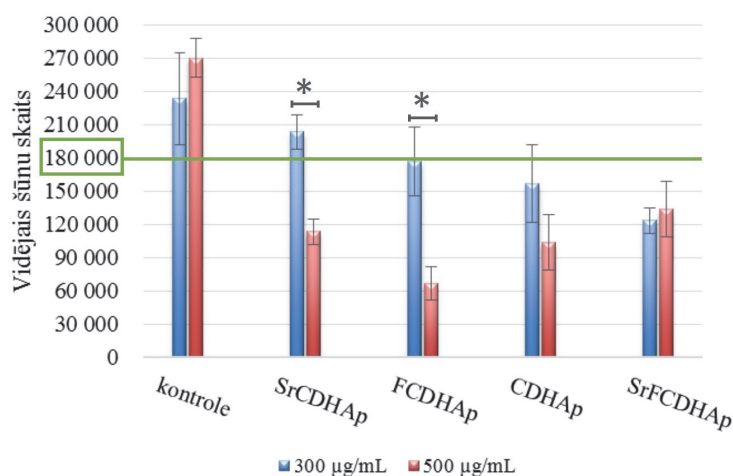
3. attēlā atspoguļota kalcija fosfātu spēja līdzsvarot ūdens sistēmas pH līmeni brīdī, kad tajā tiek ievadīta skābe. Pēc skābes pievienošanas visiem paraugiem sākotnēji novērojama strauja pH pazemināšanās. Sintezēto kalcija fosfātu gadījumā pH līmeņa samazināšanās ir aptuveni par 1,0–1,2 pH vērtībām, bet emaljai par 2,5 pH vērtībām, kas emaljas gadījumā nozīmē, ka tiek sasniegts kritiskais pH līmenis ( $\text{pH} \leq 5,5$ ), kad notiek neatgriezeniska emaljas šķīšana [6].



3. attēls. CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp, SrCDHAp suspensijas pH atkarība laikā pēc inkrementālas skābes pievienošanas.

Šis eksperiments norāda: ja emalju pārklātu ar kādu no kalcija fosfātiem, vispirms šķīstu jaunizveidotais slānis, nevis emalja, kas nozīmē, ka tā tiktu pasargāta gan no skābas pārtikas radītās erozijas, gan kariogēno baktēriju iedarbības.

Analizējot iegūtos citotoksicitātes pētījuma rezultātus (4. attēls) starp CaP nanodaļiņu suspensiju koncentrācijām, nozīmīgs smaganu epitēlijšūnu skaita samazinājums konstatēts SrCDHAp un FCDHAp paraugiem, kamēr CDHAp un SrFCDHAp nanosuspensiju dažādās koncentrācijas nav nozīmīgi ietekmējušas dzīvo šūnu skaitu. Salīdzinot 300 µg/mL paraugus, vērā ņemams šūnu skaita samazinājums ir bijis SrFCDHAp paraugam, kas no sākotnējā šūnu skaita ir samazinājies par 31 %. Līdz ar to var secināt, ka 300 µg/mL SrCDHAp, FCDHAp un CDHAp nanosuspensijas neuzrāda citotoksisku efektu, bet SrFCDHAp novērojams mērens citotoksisks efekts. Analizējot 500 µg/mL nanosuspensijas, *in vitro* rezultāti liecina, ka dzīvo šūnu skaits ir samazinājies par 26 % SrFCDHAp paraugam, 37 % SrCDHAp paraugam, 42 % CDHAp paraugam un 63 % FCDHAp paraugam. No iegūtajiem datiem var secināt, ka 500 µg/mL koncentrācija uzrāda mērenu citotoksicitātes efektu SrFCDHAp, CDHAp un SrCDHAp nanosuspensiju paraugiem, bet FCDHAp – izteiktu citotoksicitāti.

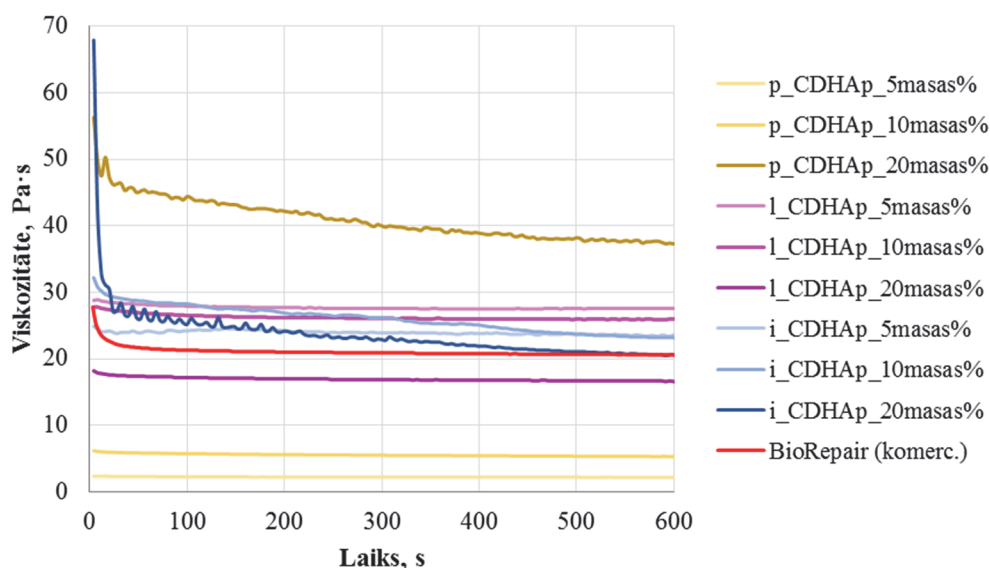


4. attēls. Dzīvo šūnu skaits pēc 48 h ekspozīcijas testējamo nanodaļiņu suspensijās; \* $p < 0,05$  (starp datiem nozīmīga atšķirība).

## 2. Modeļpastu raksturošana

Sākotnēji modeļpastu izveides procesā novērtēta CDHAp daļiņu morfoloģijas ietekme uz sagatavošanas procesu un pastu homogenitāti. Noskaidrots, ka *i\_CDHAp* pulveris sastāv no sfēriskiem aglomerātiem, kuru izmēri ir aptuveni 5 µm un kas veidoti no nanoizmēru CDHAp daļiņām. Savukārt liofilizēšanas rezultātā *l\_CDHAp* pulverim raksturīgi neregulāras formas aglomerāti, kas formējušies no nanodaļiņām. Savukārt neapstrādātas CDHAp nogulsnes nesatur aglomerātus, kas rodas abos iepriekš minētajos žūšanas procesos. Līdz ar to šādu materiālu ir vieglāk disperģēt modeļpastas bāzes sastāvā, lai tas saturētu disperģētas nanodaļiņas, nevis disperģētus nanodaļiņu aglomerātus.

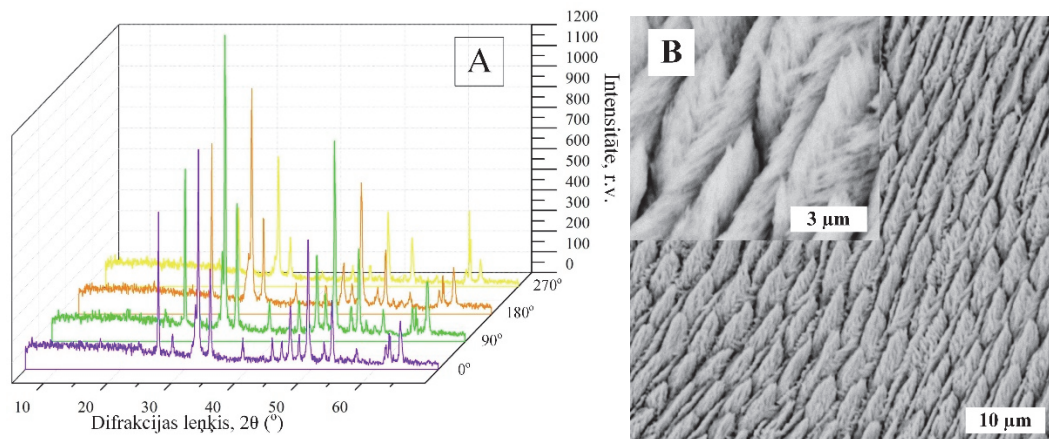
Modeļpastu viskozitātes mērījumi parādīti 5. attēlā. 5 % un 10 % CDHAp modeļpastu viskozitāte variē robežās no 2,5 Pa·s līdz 28,0 Pa·s. Mērījumi rāda, ka *p\_CDHAp\_5masas%*, *p\_CDHAp\_10masas%*, *i\_CDHAp\_5masas%*, *l\_CDHAp\_5masas%*, *l\_CDHAp\_10masas%* un *l\_CDHAp\_20masas%* modeļpastu viskozitāte laikā nemainās. Tas liecina, ka iegūtās pastām ir Ņūtona šķidrums raksturs. Turpretī *i\_CDHAp\_20masas%*, *p\_CDHAp\_20masas%* un *BioRepair* uzrāda tiksotropu efektu, jo viskozitāte samazinās pie konstanta bīdes ātruma visa mērījuma laikā, kas ir būtiska zobu pastas īpašība. Viskozitātes mērījumi liecina, ka izvēlētais modeļpastu sastāvs ar 20 masas% CaP atbilst komerciālo zobu pastu reoloģiskajām īpašībām.



5. attēls. Sagatavoto pastu viskozitātes atkarība no laika, salīdzinot ar komerciālo zobu pastu *BioRepair*.

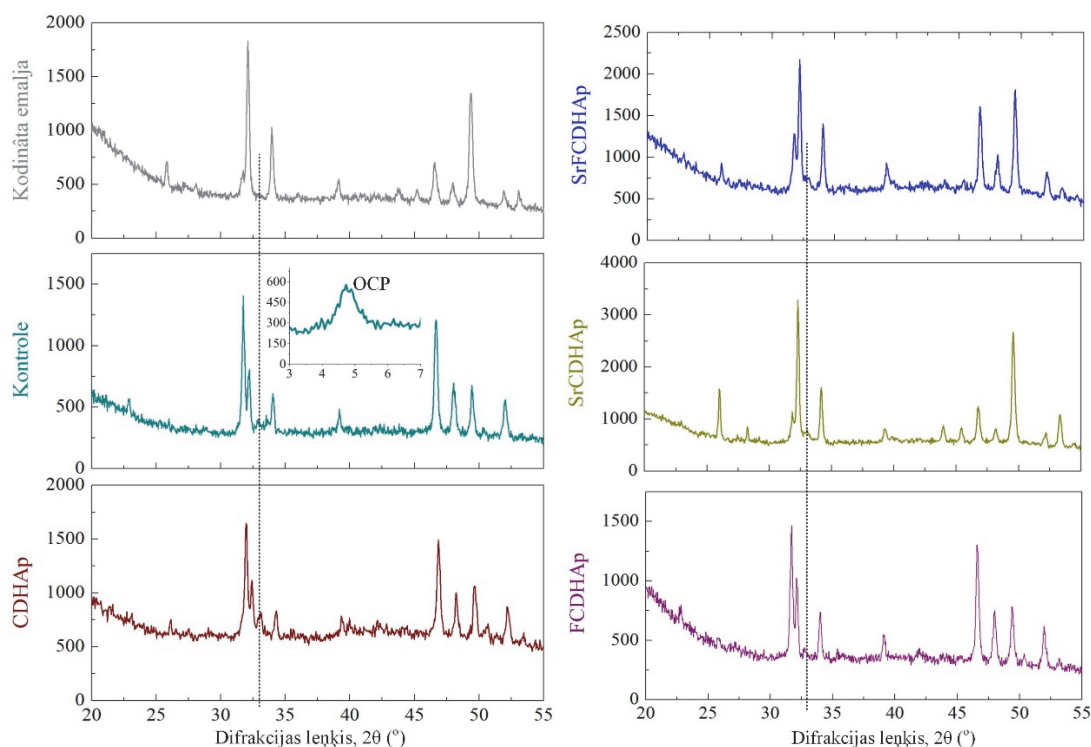
## 3. Zobu emaljas remineralizācija

Lai novērtētu liellopa zobu emaljas virsmas izmaiņas pēc remineralizācijas pētījumiem, veikta kodinātas emalja raksturošana ar dažādām instrumentālajām metodēm. 6. attēlā (A) redzama RDA aina kodinātai emaljai un SEM mikrofotogrāfija (B) emaljas virsmai. RDA aina liecina, ka emalju veidojošo HAp kristālu izvietojums ir orientēts, jo difraktogrammā nav detektēti visi HAp fāzei raksturīgie refleksi. Orientāciju uzskatāmi parāda arī SEM attēlā redzamās HAp prizmas. Ar EDS analīzi noteikts, ka emaljas sastāvā ir tādi ķīmiskie elementi kā Ca, P, O, C un N. C un N satur emaljas organiskā daļā – proteīni.



6. attēls. A – kodinātas liellopa zoba emaljas RDA aina (uzņemot emaljas parauga RDA difraktogrammas, tā orientācijas pret rentgenstarojuma avotu mainīta ik pa 90°, attiecīgi 0°, 90°, 180°, 270°). B – SEM mikrofotoģrāfija kodinātai liellopa zoba emaljai.

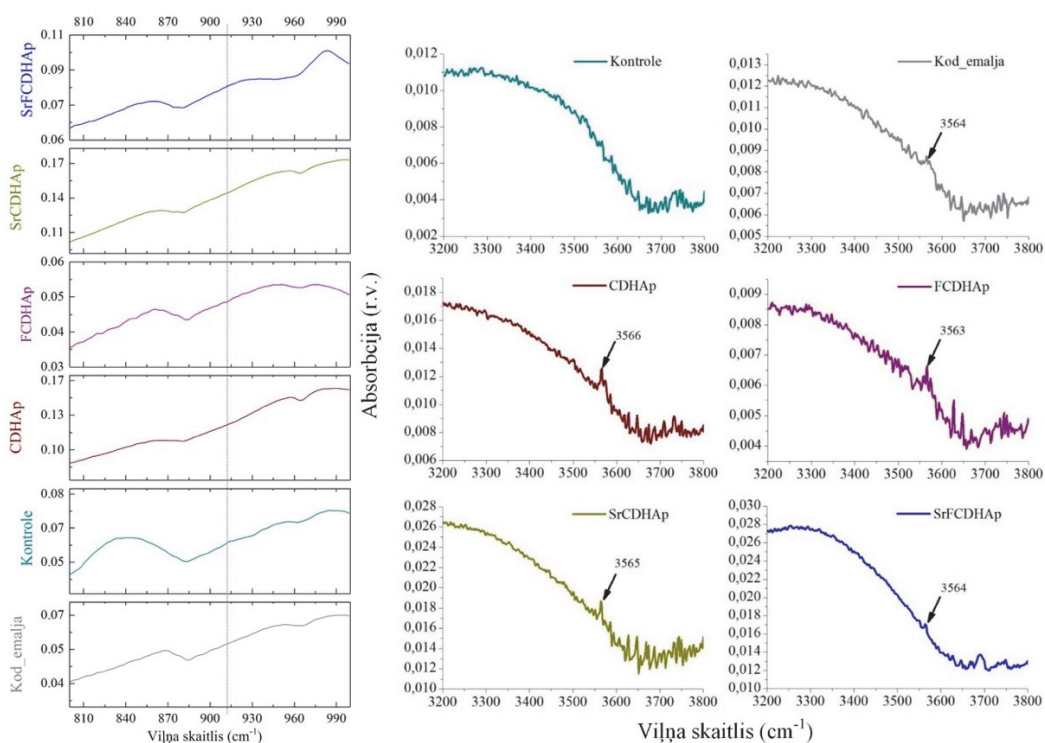
Remineralizēto emaljas paraugu RDA analīze (7. attēls) atklāj jauna maksimuma veidošanos visiem paraugiem (Rem\_CDHAp pie  $2\theta$  leņķa 33,13°, Rem\_kontrolē – 32,89°, Rem\_SrFCDHAp – 32,85°, Rem\_SrCDHAp – 32,91° un Rem\_FCDHAp – 32,93°) salīdzinājumā ar kodinātu zobu emaljas virsmu. Rem\_kontrolē paraugiem konstatēts arī maksimums pie  $2\theta = 4,8^\circ$ , kas raksturīgs oktakalcija fosfātam (OCP) [7].



7. attēls. RDA difraktogrammas zobu emaljas paraugu virsmai pēc remineralizācijas *in vitro* eksperimenta (salīdzināts ar kodinātas emaljas virsmu); uz ordinātu ass attēlota intensitāte.

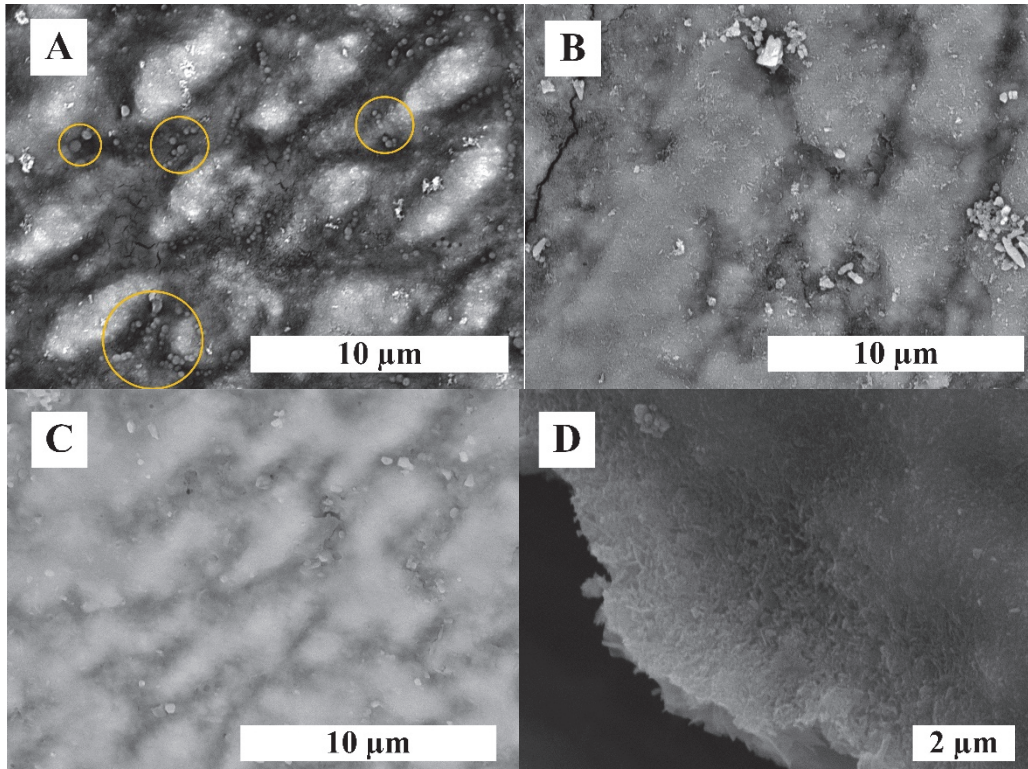
Remineralizēto paraugu FT-IR spektros novērotas ne tikai HAp raksturīgo absorbcijas joslu svārstības, bet arī amīdgrupu svārstības diapazonā no  $1560\text{ cm}^{-1}$  līdz  $530\text{ cm}^{-1}$ , kas norāda uz [N–H] liekšanās svārstībām un [C–N] stiepšanās svārstībām. Paraugiem,

sākot ar Kod\_emalja un beidzot ar SrFCdHAp, detektētas  $[\text{PO}_4]$  absorbcijas joslas viļņu skaitļa apgabalā no  $599\text{ cm}^{-1}$  līdz  $472\text{ cm}^{-1}$ . Savukārt platajā maksimumu kopā, kas reģistrēta no  $720\text{ cm}^{-1}$  līdz  $1160\text{ cm}^{-1}$ , balstoties uz informāciju literatūrā, iespējams notikusi  $[\text{PO}_4]$  un  $[\text{HPO}_4]$  saišu svārstību pārklāšanās, kas nozīmē, ka paraugos ir iespējama OCP klātbūtne. Šajā diapazonā Rem\_kontrole paraugam redzams neliels pacēlums pie  $912\text{ cm}^{-1}$  (8. attēls), kas nav novērots pārējiem paraugiem. Saskaņā ar literatūru [7, 8], tas atbilst OCP fāzes  $[\text{P}-\text{OH}]$  absorpcijas joslai. Šis novērojums ir saskaņā RDA rezultātiem. Papildus identificēta arī  $[\text{OH}]$  funkcionālās grupas klātbūtne, ko apliecina neliels pacēlums pie no  $630\text{ cm}^{-1}$  līdz  $636\text{ cm}^{-1}$ , kas novērots visiem remineralizācijas eksperimentam pakļautajiem paraugiem, izņemot Kod\_emalja. Otra raksturīgā  $[\text{OH}]$  svārstību vieta ir  $\sim 3565\text{ cm}^{-1}$  (8. attēls). Visiem emaljas paraugiem novērojamas arī  $[\text{CO}_3]$  absorbcijas joslas no  $1410\text{ cm}^{-1}$  līdz  $1450\text{ cm}^{-1}$ .



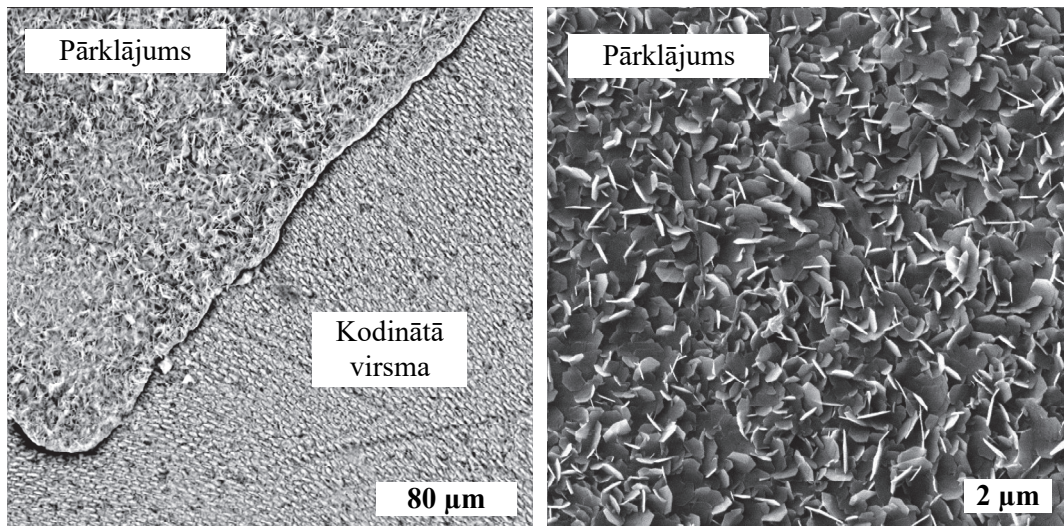
8. attēls. FT-IS spektri zobu emaljas paraugu virsmas pēc *in vitro* remineralizācijas eksperimenta (ordinātu ass – absorbcijas vienības).

9. attēlā redzama emaljas paraugu virsma pēc apstrādes ar i\_CDHAp\_20 masas%, l\_CDHAp\_20 masas% un p\_CDHAp\_20 masas% modeļpastām. i\_CDHAp gadījumā starp emaljas prizmām var redzēt nogulsnētas, sfēriskas daļiņas (daļa no tām izceltas ar dzeltenu riņķa līniju), kas ir raksturīgas izsmidzināti žāvētam materiālam. Būtiski, ka šo daļiņu izmēri ir aptuveni  $2\text{ }\mu\text{m}$  un mazāk. Tas ļauj domāt, ka šādas morfoloģijas daļiņas būtu piemērotas atvērto dentīna kanāliņu noslēgšanai, kas ne tikai samazinātu kariesa attīstību, bet papildus dotu zobu jutīgumu mazinošu efektu, jo tiktu bloķēta šķidrums kustība šajos kanāliņos, kas kairina zoba nervu [4]. Pēc paraugu apstrādes ar l\_CDHAp redzams, ka kodinātai emaljai raksturīgā virsmas tekstūra vairs nav saskatāma, kas ļauj spriest, ka ir veidojies kalcija fosfātu pārklājums. Līdzīga aina konstatēta arī p\_CDHAp modeļpastas gadījumā. Aplūkojot paraugu lielākā palielinājumā (D attēls), konstatēts, ka p\_CDHAp modeļpastas sastāvā esošās nanodaļiņas ir veidojušas aizsargslāni uz emaljas virsmas.



9. attēls. SEM mikrofotogrāfijas pēc apstrādes ar i\_CDHAp\_20 masas% (A), l\_CDHAp\_20 masas% (B), p\_CDHAp\_20 masas% (C, D) modelpastām.

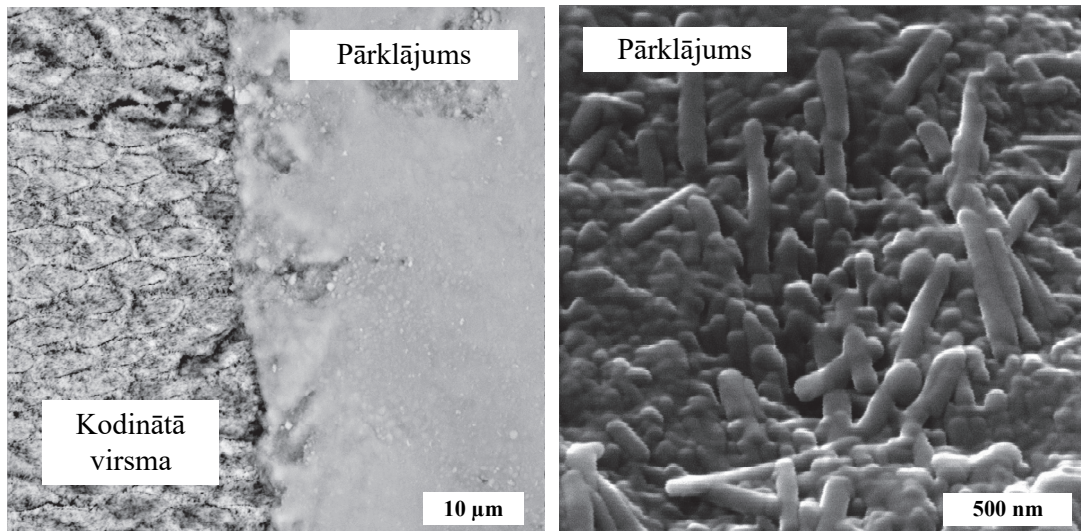
10. attēls atklāj Rem\_kontroles parauga virsmu, kur labi redzama robežvieta starp sākotnējo kodināto virsmu un jaunizveidojušos pārklājumu. Jaunais pārklājums sastāv no plēkšņveida kristāliem. Šādas formas kristāli raksturīgi OCP un HAp [9, 10]. OCP fāzes klātbūtni apstiprina arī FT-IS spektrs un RDA difraktogramma konkrētajam paraugam.



10. attēls. Zoba emaljas parauga (Rem\_kontrole) virsmas SEM mikrofotogrāfija.

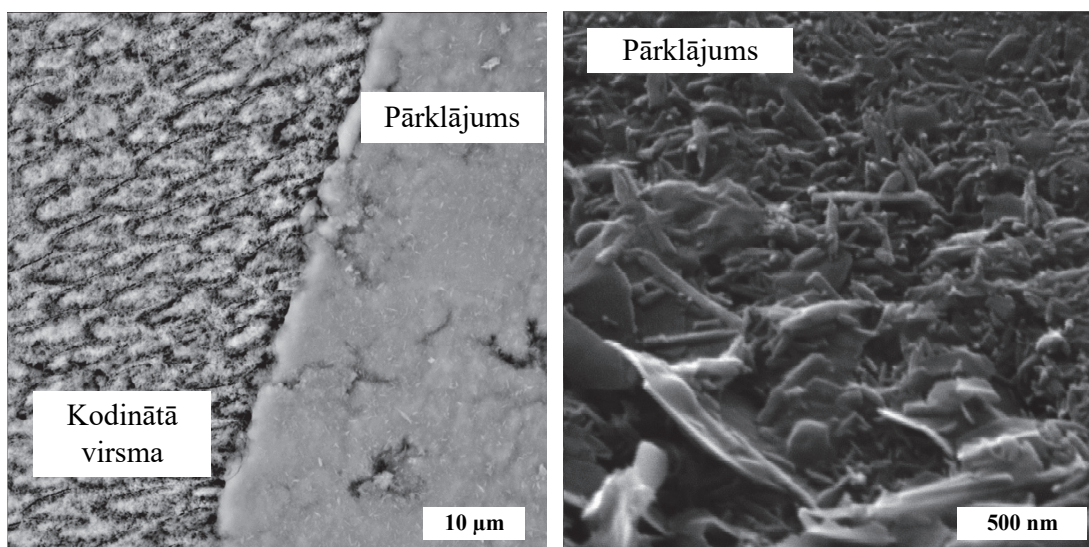
Rem\_CDHAp paraugam arī ir novērojama robežvieta starp kodināto emaljas virsmu un apstrādāto (11. attēls). Bet šīs paraugu grupas emaljas aizsargslāņa struktūra būtiski atšķiras no kontroles grupas. Nav novērojami plēkšņveida kristāli, bet gan haotiski izkārtotus garenas formas kristāli ar noapaļotiem galiem.





11. attēls. Zoba emaljas parauga (Rem\_CDHAp) virsmas SEM mikrofotogrāfija.

12. attēls liecina, ka Rem\_FCDHAp paraugu grupai aizsargslānis sastāv no garenām, haotiski izvietotām FCDHAp daļiņām.

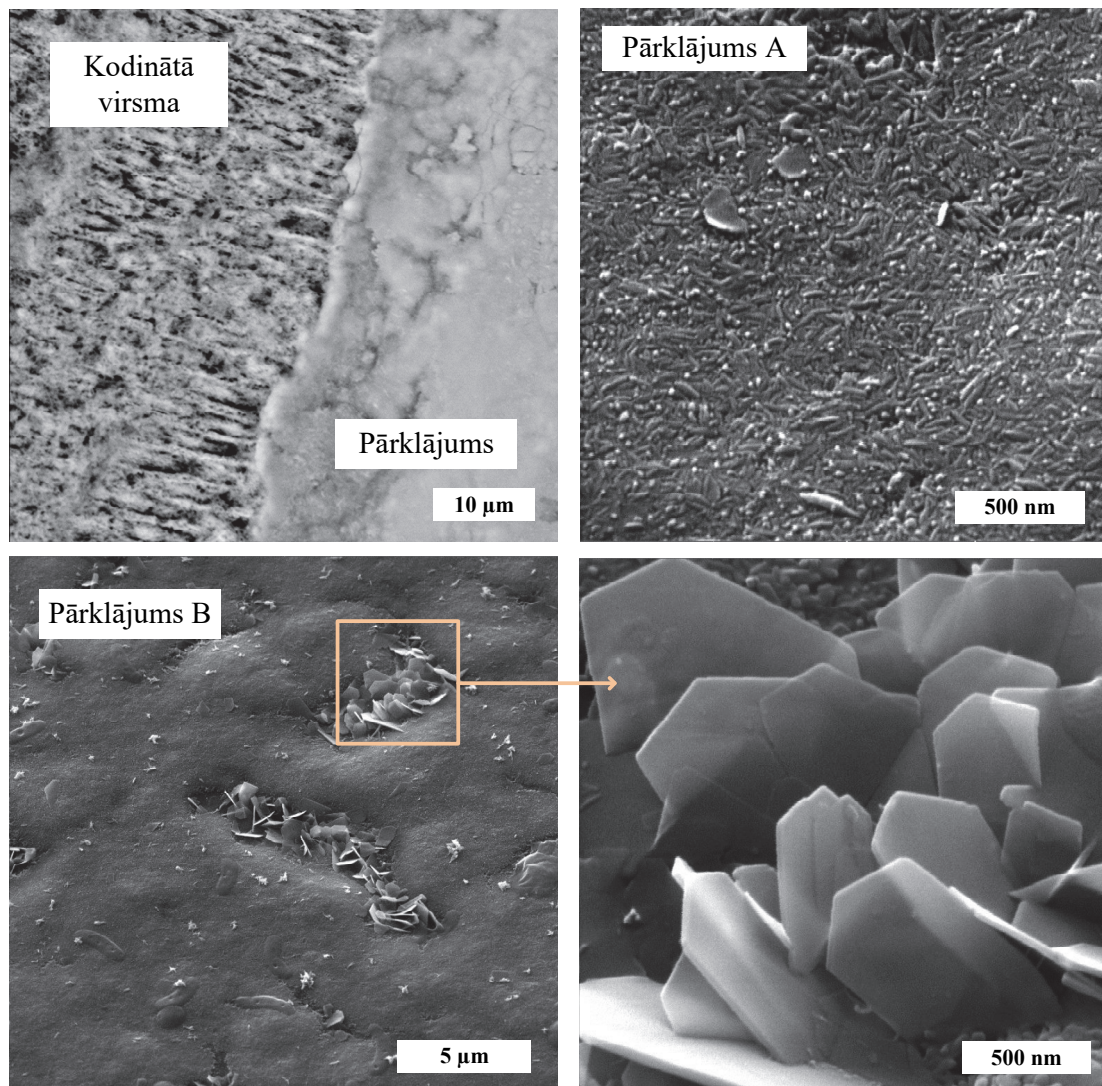


12. attēls. Zoba emaljas parauga (Rem\_FCDHAp) virsmas SEM mikrofotogrāfija.

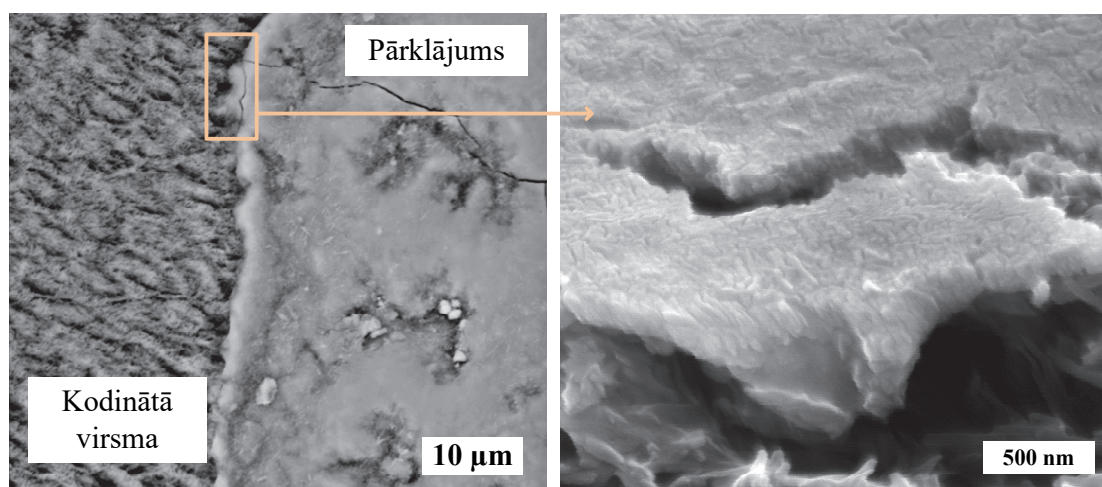
SEM mikrofotogrāfijās Rem\_SrCDHAp paraugiem (13. attēls) pārklājuma virsmā redzami cieši, tomēr bez noteiktas orientācijas izvietojušies SrCDHAp kristāli. Interessants novērojums vienam no šiem paraugiem bija plēkšņveida kristālu grupas, kas veidojušās tajās pārklājuma vietās, kur ir padziļinājumi (13. attēla C un D). Līdzīgas formas kristāli novēroti arī kontroles grupas paraugiem. Tas ļauj secināt, ka jaunizveidotais apatīta slānis ir piemērots, lai notiktu biomimētisks mineralizācijas process, līdzīgi kā tas ir dabīgās emaljas virsmai.

14. attēlā redzams viens no Rem\_SrFCDHAp grupas paraugiem. Attēlā, kur redzama robežvieta starp kodināto emaljas virsmu un aizsarglāni, būtiskas vizuālās atšķirības salīdzinājumā ar Rem\_CDHAp, Rem\_FCDHAp, Rem\_SrCDHAp nav novērojamas. Tomēr, aplūkojot parauga pārklājuma lūzuma vietu 100 000 reižu palielinājumā, novērojams, ka daļiņas, kas to veido, ir novietojušās paralēli viena otrai un orientētās noteiktā virzienā. Bet tā kā RDA analizē netika konstatēta daļiņu orientācija, kas varētu apstiprināt veikto novērojumu SEM mikrofotogrāfijā, būtu nepieciešamas veikt papildu pētījumus, piemēram, izmantojot leņķu rentgenstaru

atstarošanas difraktometriju (angļu val. *small angle x-ray scattering; SAXS*) un SEM, kas aprīkots ar fokusēto jonu lielgabalu (angļu val. *focused ion beam; FIB-SEM*), kas ļautu analizēt ļoti plānu virsmas slāni.

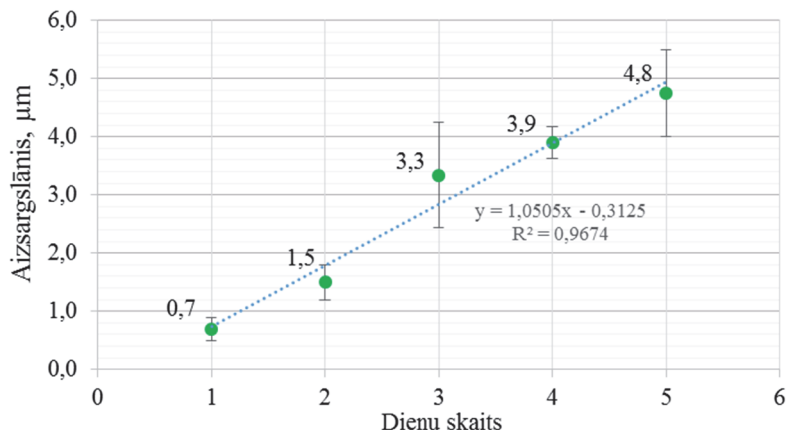


13. attēls. Zoba emaljas parauga (Rem\_SrCDHAp) virsmas SEM mikrofotogrāfija.



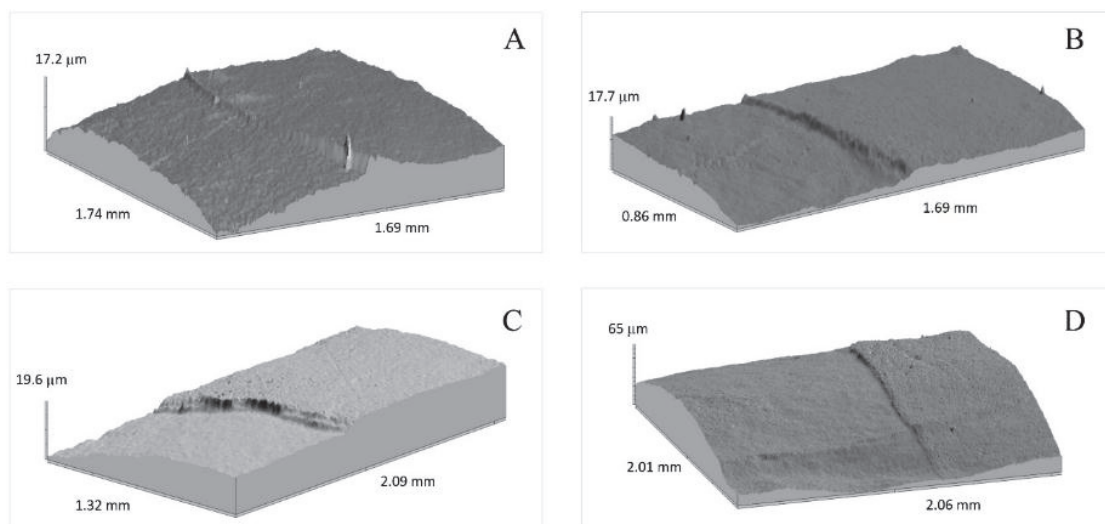
14. attēls. Zoba emaljas parauga (Rem\_SrFCDHAp) virsmas SEM mikrofotogrāfija.

Promocijas darbā realizēts aizsargslāņa veidošanās kinētikas pētījums. 15. attēls demonstrē Rem\_CDHAp aizsargslāņa veidošanās kinētiku piecu dienu laikā. Novērots, ka, ņemot vērā kļūdu robežas, aizsargslāņa biezuma palielinājumam ir lineāra tendence. Vienā dienā aizsargslānis palielinās apmēram par  $0,8 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$ . Līdz ar to var secināt, ka jaunā aizsargslāņa biezums laikā palielinās, kaut arī emaljas paraugi pirms katras apstrādes ar CaP modelpastām pakļauti skābes iedarbībai.



15. attēls. Rem\_CDHAp aizsargslāņa veidošanās kinētika piecu dienu laikā.

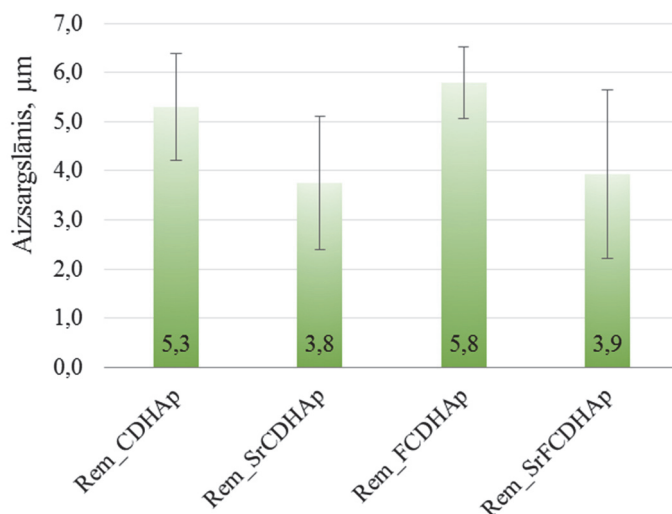
Veicot profilometrijas mērījumus, iegūtas ne tikai profilogrammas, bet arī paraugu virsmas fotosimulācijas. 16. attēlā redzamas emaljas paraugu 3D fotosimulācijas. Rem\_CDHAp, Rem\_FCDHAp, Rem\_SrCDHAp un Rem\_SrFCDHAp emaljas paraugu virsmas fotosimulācijas atklāj, ka aizsargslāņa un demineralizētās virsmas robežlīnija ir pakāpienveida. Tas viennozīmīgi norāda, ka uz virsmas daļas, kas nebija pārklāta ar nagu laku, bet pakļauta apstrādei ar modelpastām, ir veidojies jauns slānis.



16. attēls. Zobu emaljas paraugu (A – Rem\_CDHAp, B – Rem\_FCDHAp, C – Rem\_SrCDHAp, D – Rem\_SrFCDHAp) virsmas 3D fotosimulācijas.

CaP aizsargslāņa biezumu raksturo dati, kas atspoguļoti 17. attēlā. Profilometrijas dati liecina, ka biežākais aizsargslānis veidojas Rem\_CDHAp un Rem\_FCDHAp paraugiem, bet šķietami plānāks tas ir Rem\_SrCDHAp un Rem\_SrFCDHAp paraugiem. Tomēr, balstoties uz datu analīzi, jāsecina, ka rezultātiem starp grupām nav statistiski nozīmīgas atšķirības. *Thuy et al.* pētījumā zobu emaljas remineralizēšanai izmantots šķīdums, kas satur  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  un  $\text{H}_2\text{PO}_3^-$  jonus. Pēc paraugu uzglabāšanas šajā šķīdumā 14 dienas zinātnieki konstatēja, ka  $\text{Sr}^{2+}$  un  $\text{F}^-$  klātbūtne ir veicinājusi

bojātās emaljas virsmas remineralizēšanos, salīdzinot ar viena paša fluorīda esamību remineralizējošajā šķīdumā [11].



17. attēls. Zobu emaljas paraugu remineralizētā slāņa biezums pēc septiņu dienu apstrādes ar Rem\_CDHAp, Rem\_FCDHAp, Rem\_SrCDHAp un Rem\_SrFCDHAp modeļpastām.

Tomēr jāpiemin, ka būtiska nozīme šāda veida pētījumos varētu būt tam, kādā formā Sr un F nonāk kontaktā ar emaljas virsmu, t. i., brīva jona formā vai saistīts jau kādā struktūrā, kā tas ir šajā promocijas darbā. Savukārt *Cao et al.* pētījis  $\text{Ca}^{2+}$  jonu un emaljas matricas atvasinājumu (angļu val. *enamel matrix derivatives*) kombinācijas efektu uz remineralizācijas procesu un novērojis, ka pēc 96 h ir veidojies 3,5 μm biezs remineralizētais slānis [12]. Analizējot *Thuy et al.* un *Cao et al.* darbus, viennozīmīgus secinājumus nevar veikt, jo bijušas dažādas eksperimentālās procedūras un remineralizācijai izmantotie materiāli ir atšķirīgi. Analizējot literatūru, secināts, ka, lai rezultātus varētu salīdzināt un izteikt uz pētījumiem balstītus apgalvojumus, *in vitro* remineralizācijas eksperimentu procedūrām dažādos eksperimentos jābūt vienādām.

Cilvēks ik gadu erozijas dēļ zaudē no 10 μm līdz 40 μm no emaljas virsējā slāņa [4], tāpēc promocijas darbā izmantoto CaP daļiņu iekļaušana mutes kopšanas līdzekļos, pamatā zobu pastās, savlaicīgi palīdzētu ne tikai novērst kariesa attīstību, bet arī samazināt emaljas nodilumu, jo sākotnēji notiktu aizsargslāņa šķīšana un dilšana.

Profilometrijas rezultāti papildina SEM mikrofotogrāfijās (3.3.4. apakšnodaļa) redzamo informāciju un liecina, ka *in vitro* remineralizācijas eksperimentu laikā ir notikušas būtiskas virsmas izmaiņas, un var apgalvot, ka dotajos pētījuma apstākļos uz visiem apstrādātajiem emaljas paraugiem ir veidojies aizsargslānis.

## SECINĀJUMI

1. Šķīdumu nogulsnešanas metode ir piemērota dubultaizvietota CDHAp iegūšanai, turklāt šī sintēzes tehnoloģija nodrošina, ka izgulsnēto daļiņu morfoloģija ir pielīdzināma dabīgā zoba emaljas minerālās daļas HAp kristāliem.
2. pH ciklēšanas metode ir piemērotāka stroncija atomu, bet nitrātu metode fluora atomu iekļaušanai SrFCDHAp struktūrā. Sintezējot SrCDFHAp ar pH ciklēšanas metodi, produktu daļiņu izmēri ( $29 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$ ) ir lielāki nekā nitrātu metodes gadījumā ( $19 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$ ).
3. Visi sintezētie CaP uzrāda ūdens sistēmas pH līmeņa paaugstināšanos, ja sistēmā ievada skābi.
4. Izvēlētais modeļpastu sastāvs ar komerciālajām zobu pastām atbilstošu pastas viskozitāti nodrošina kalcija fosfātu slāņa veidošanos uz kodinātas emaljas virsmas.
5. Uz emaljas paraugu virsmas, kas apstrādāti ar CDHAp, FCDHAp, SrCDHAp un SrFCDHAp modeļpastām, veidojas attiecīgā aizvietotā CaP aizsargslānis, bet uz neapstrādātas emaljas virsmas veidojas biomimētiskais CaP slānis, kas sastāv no OCP un HAp.
6. Aprakstīts remineralizācijas protokols, kas ļauj novērtēt izveidoto modeļpastu un attiecīgi to sastāvā esošo CaP potenciālo emaljas aizsargefektu. Septiņu dienu ilgā remineralizācijas eksperimenta laikā veidojas līdz  $5,8 \text{ } \mu\text{m} \pm 0,7 \text{ } \mu\text{m}$  biezs CaP aizsargslānis.

## LITERATŪRAS SARAKSTS

- [1] M. Epple, E. Baeuerlein, eds., Handbook of Biomineralization. Medical and Clinical Aspects, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2007.
- [2] P. Vallutti, ed., Non-metallic biomaterials for tooth repair and replacement, Wiley-VCH Publishing, 2013.
- [3] M. Hannig, C. Hannig, Nanomaterials in preventive dentistry., Nat. Nanotechnol. 5 (2010) 565–9. doi:10.1038/nnano.2010.83.
- [4] M. Mantzourani, D. Sharma, Dentine sensitivity: past, present and future., J. Dent. 41 Suppl 4 (2013) S3-17. doi:10.1016/S0300-5712(13)70002-2.
- [5] M. Sadat-Shojai, M. T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi, Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures, Acta Biomater. 9 (2013) 7591–7621. doi:10.1016/j.actbio.2013.04.012.
- [6] S. V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates in dentistry, J. Mater. Sci. Mater. Med. 24 (2013) 1335–1363. doi:10.1007/s10856-013-4898-1.
- [7] I. A. Karampas, C. G. Kontoyannis, Characterization of calcium phosphates mixtures, Vib. Spectrosc. 64 (2013) 126–133. doi:10.1016/j.vibspec.2012.11.003.
- [8] B. O. Fowler, M. Markovic, W. E. Brown, Octacalcium Phosphate 3. Infrared and Raman Vibrational-Spectra, Chem. Mater. 5 (1993) 1417–1423. doi:10.1021/cm00034a009.
- [9] J. P. Simmer, a G. Fincham, Molecular mechanisms of dental enamel formation., Crit. Rev. Oral Biol. Med. 6 (1995) 84–108. doi:10.1177/10454411950060020701.
- [10] D. O. Costa, B. a Allo, R. Klassen, J. L. Hutter, S. J. Dixon, A. S. Rizkalla, Control of surface topography in biomimetic calcium phosphate coatings., Langmuir. 28 (2012) 3871–80. doi:10.1021/la203224a.
- [11] T. T. Thuy, H. Nakagaki, K. Kato, P. A. Hung, J. Inukai, S. Tsuboi, H. Nakagaki, M. N. Hirose, S. Igarashi, C. Robinson, Effect of strontium in combination with fluoride on enamel remineralization in vitro., Arch. Oral Biol. 53 (2008) 1017–22. doi:10.1016/j.archoralbio.2008.06.005.
- [12] C. Robinson, S. Connell, S. J. Brookes, J. Kirkham, R. C. Shore, D. a M. Smith, Surface chemistry of enamel apatite during maturation in relation to pH: Implications for protein removal and crystal growth, Arch. Oral Biol. 50 (2005) 267–270. doi:10.1016/j.archoralbio.2004.11.017.

## DARBA APROBĀCIJA

### Publikācijas zinātniskajos žurnālos

1. V. Zalīte, J. Rimša, J. Locs, K. Kundzins. Synthesis of strontium and fluorine co-substituted calcium deficient hydroxyapatite nanoparticles for tooth enamel remineralization: two alternative wet precipitation routes. *Journal of materials Chemistry B*, **2017**, (iesniegta, citēts datu bāzē SCOPUS)
2. V. Zalīte, J. Locs. Characterization and Preparation of Calcium Phosphate Model Toothpaste for Tooth Enamel Remineralization. *Key Engineering Materials*, **2017**, 721, 213–218. (citēts datu bāzē SCOPUS)
3. G. Salms, V. Ananjevs, V. Kasyanovs, A. Skagers, I. Salma, J. Vetra, V. Zalīte, L. Stipniece, S. Petronis. Change of Biomechanical Parameters in the Lower Jaws of Rabbits with Experimental Osteoporosis after Implantation of Calcium-Phosphate Bioceramics Material in the Greater Trochanter Region. *Key Engineering Materials*, **2017**, 721, 224–228. (citēts datu bāzē SCOPUS)
4. S. Petronis, J. Locs, V. Zalīte, M. Pilmane, A. Skagers, I. Salma, G. Salms. Impact of Biphasic Calcium Phosphate Bioceramics on Osteoporotic Hip Bone Mineralization *in vivo* Six Months after Implantation. *Key Engineering Materials*, **2017**, 721, 229–233. (citēts datu bāzē SCOPUS)
5. J. Rimša, V. Zalīte, J. Ločs. Synthesis of Strontium and Fluorine Co-Substituted Calcium Phosphate. *Riga Technical University 57th International Scientific Conference "Materials Science and Applied Chemistry" (MSAC 2016): Proceedings and Programme*, **2016**, 147–152. (Open Access)
6. V. Zalīte, J. Locs. Characterization of different hydroxyapatite particles for tooth enamel remineralization. *Key Engineering Materials*, **2016**, 674, 139–144. (citēts datu bāzē SCOPUS)
7. V. Zalīte, K. Kostrjukova, J. Locs. Preparation of F-doped Hydroxyapatite via Wet-Chemical Precipitation Technique Combined with pH-cycling. *Advanced Materials Research*, **2015**, 1117, 205–209 (citēts datubāzē EBSCO Host)
8. A. Dubnika, V. Zalīte. Preparation and characterization of porous Ag doped hydroxyapatite bioceramic scaffolds. *Cer. Inter.*, **2014**, 40, 9923–9930 (citēts datu bāzē SCOPUS)
9. V. Zalīte, M. Sokolova, D. Jakovlevs, K. Rozenbergs, L. Berzina-Cimdina. Characterization of rabbit mesenchymal cell attachment on calcium phosphate surface. *RTU zinātniskie raksti «Materiālzinātne un lietišķās ķīmija»*, 30. krājums, **2014**, 22–27 lpp.
10. J. Locs, V. Zalīte, L. Berzina-Cimdina. Ammonium hydrogen carbonate provided viscous mass foaming – a novel technology for the preparation of porous ceramics. *J. Eur. Cer. Soc.*, **2013**, 33, 3437–3443. (citēts datu bāzē SCOPUS)
11. V. Zalīte, V. Groma, D. Jakovlevs, J. Locs, G. Salms. Characterization of rabbit mesenchymal stem cell attachment on calcium phosphate surface. *IFMBE Proceedings* 38, **2013**, 194–197 (citēts datu bāzē SCOPUS)
12. S. Petronis, J. Petronis, V. Zalīte, J. Locs, A. Skagers, M. Pilmane. New biphasic calcium phosphate in orthopedic surgery: First clinical results. *IFMBE Proceedings* 38, **2013**, 174–177 (citēts datu bāzē SCOPUS)

## Grāmatas nodaļa

D. Loca, J. Locs, A. Dubnika, V. Zalīte, L. Berzina-Cimdina. Nodaļa: 9. Porous hydroxyapatite for drug delivery. Redaktors M. Mucalo. Hydroxyapatite (HAP) for biomedical application. ISBN 978-1-78242-033-0, *Woodhead Publishing Ltd*, 2015, 189–205 lpp.

## Patenti

1. WO 2016/178174 A1 "Method for manufacturing bone implants and bone implant" Wojciech Swieszkowski, Tadeusz Chudoba, Sylwia Kusnieruk, Aleksandra Kedzierska, Bartosz Wozniak, Julia Rogowska-Tylman, Dariusz Smolen, Elzbieta Pietrzykowska, Witold Lojkowski, Jacek Wojnarowicz, Aharon Gedanken, Jānis Ločs, Vita Zālīte, Māra Pilmane, Ilze Šalma (publicēts 10.11.2016.)
2. LV 15060 B "Līdzeklis kaulaudu defektu aizvietošanai osteoporozes gadījumā" Andrejs Skaģers, Ilze Šalma, Ģirts Šalms, Jānis Vētra, Sandris Petronis, Māra Pilmane, Jānis Ločs, Vita Zālīte (publicēts 20.04.2016.)

## Pētījuma rezultāti aprobēti šādās vietējās un starptautiskās konferencēs ar recenzētām konferenču tēzēm:

1. V. Zalīte, J. Locs, J. Lungevics. Strontium and fluorine co-substituted hydroxyapatite for tooth enamel remineralization. *10th annual meeting of Scandinavian Society for Biomaterials*, Hafjell, Norway, March 15-17, 2017. *European Cells and Materials* 33:1 (Suppl), p 42, 2017.
2. V. Zalīte, J. Locs. Characterization and Preparation of Calcium Phosphate Model Toothpaste for Tooth Enamel Remineralization. *25th International Baltic Conference ENGINEERING MATERIALS & TRIBOLOGY BALTMATRIB 2016*, Riga, Latvia, November 3–4. Abstract Book p. 62.
3. V. Zalīte, J. Locs, J. Vecstaudza "The design of calcium phosphate particles for tooth hard tissue remineralization" *15th Euro Congress on Dental & Oral Health*, Rome, Italy, October 24–26, 2016. *Dentistry* 6:9 (Suppl) p.73, 2016
4. L. Stipniece, J. Vecstaudza, V. Zalīte, K. Salma-Ancane, D. Loca, L. Berzina-Cimdina „Optimization of the synthesis and design of calcium phosphates for biomedical application” *LU Cietvielu fizikas institūta 32. zinātniskā konference (LU 74. zinātniskās konferences ietvaros)*, 17.02.–19.02. 2016, Rīga, Latvija
5. V. Zalīte, J. Locs „Characterization of different hydroxyapatite particles for tooth enamel remineralization” *24th International Baltic Conference ENGINEERING MATERIALS & TRIBOLOGY BALTMATRIB*, Tallinn, Estonia, November 5–6, 2015. Abstract Book.
6. V. Zalīte, J. Locs „Preparation of substituted hydroxyapatite for tooth enamel remineralization” *27th European Conference on Biomaterials*, Krakow, Poland, August 30–September 3, 2015. Abstract Book p.785.
7. V. Zalīte, J. Locs „Preparation of Sr and F co-substituted hydroxyapatite via wet-chemical precipitation technique”, *8th Conference of Scandinavian Society for Biomaterials*, Sigulda, Latvia, May 6–8, 2015. Abstract Book p. 93
8. V. Zalīte, J. Locs, K. Kostrjukova “Characterization of fluorhydroxyapatite produced by pH-cycling” *Riga Technical University 55th International Scientific Conference*, Riga, Latvia, October 14–17, 2014.



9. V. Zalite, K. Kostrjukova, J. Locs “Preparation of F-doped Hydroxyapatite via Wet-Chemical Precipitation Technique Combined with pH-cycling” *13th International Conference on Global Research and Education, InterAcademia*, Riga, Latvia, September 10–12, 2014.
10. J. Locs, V. Zalite “Ammonium hydrogen carbonate provided viscous slurry foaming of calcium phosphates for preparation of porous ceramics” *Biointerfaces in Biomaterials*, Aarhus, Denmark, March 26–28, 2014.
11. V. Zalite, D. Jakovlevs, J. Locs “Characterization of rabbit mesenchymal stem cell attachment on calcium phosphate surface” *Biointerface*, Dublin, Ireland, October 23–25, 2012.
12. V. Zalite, “Development of calcium phosphate ceramics in Rudolfs Cimdinis Riga Biomaterials Innovations and Development Centre” *Symposium “Bioceramics and Cells for reinforcement of bone*, Riga, Latvia, October 19–20, 2012. Abstract Book p. 42
13. V. Zalite, V. Groma, D. Jakovļevs, J. Locs, G. Salms “Ultrastructural characteristics of tissue response after implantation of calcium phosphate ceramics in the mandible of rabbit” *International Symposium on Biomedical Engineering and Medical Physics*, Riga, Latvia, October 10–12, 2012.