

Коршунов А.С.¹, Конев В.П.², Московский С.Н.², Серов Д.О.¹, Вавакин В.Ю.³

Наноструктура эмали зубов в норме и дисплазии соединительной ткани

1 - Кафедра челюстно-лицевой хирургии, Омский государственный медицинский университет, г. Омск;
2 - Кафедра судебной медицины и правооказания, Омский государственный медицинский университет, г. Омск;
3 - Стоматологический факультет, Омский государственный медицинский университет, г. Омск

Korshunov A.S., Konev V.P., Moskovsky., Serov D.O., Vavakin V.Y.

Nanostructure of teeth enamel in norm and at dysplasia of connecting tissue

Резюме

По результатам исследования ультраструктуры эмали зубов методом атомно – силовой микроскопии можно говорить о нарушении минерализации и организации эмалевых призм у лиц с признаками дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Метод атомно-силовой микроскопии позволяет детально изучить внутренние структуры эмали зубов при ДСТ и без нее. Названный метод позволяет детально изучить отличительные признаки по форме и строению эмалевых призм, размеру эмалевых призм в вертикальной и горизонтальной плоскостях, количеству эмалевых призм в единице объема, расстоянию между эмалевыми призмами, величине оболочки эмалевой призмы, высоте межпризменного промежутка, которые имеют конкретное содержание и определенные принципы формообразования их индивидуальных особенностей. **Ключевые слова:** атомно – силовая микроскопия, дисплазия соединительной ткани, эмаль зуба

Summary

According to the results of the study of the tooth enamel ultrastructure by atomic force microscopy, it is possible to speak about the violation of mineralization and the organization of enamel prisms of persons with the signs of DCT. Atomic force microscopy method makes it possible to study in detail the internal structures of the enamel of teeth with and without DCT. This method allows us to study in detail the distinctive features of the shape and structure of the enamel prisms, the size of the enamel prisms in the vertical and horizontal planes, the number of enamel prisms per unit volume, the distance between the enamel prisms, the size of the cover of the enamel prism, the height of the inter-prism interval that have a specific content and certain principles of their individual characteristics shaping.

Key words: atomic force microscopy, connective tissue dysplasia, tooth enamel

Введение

С одной стороны дисплазия соединительной ткани (ДСТ) характеризуется снижением качества коллагена, при этом снижается качество коллагена 1,2,3 типов либо всех типов (болезнь Марфана) [2,6], с другой последовательно снижается качество плотных тканей морфологически связанных с соединительной тканью, в том числе эмаль зуба [3]. Взаимоотношение коллагеновых белков эмали при ДСТ практически не рассматривались. Перспективы изучения этого вопроса состоят в доступности для исследования эмали зубов (удаленных, разрушенных). Однако в этой связи ретинированные зубы с теоретической точки зрения представляют особый интерес, так как эмаль этих зубов не получала осмотических воздействий ротовой жидкости и получала осмотическое питание внутри соединительной ткани.

Это позволяет увидеть динамику развития незрелой эмали и в дальнейшем разработанные принципы использовать в уточненной морфологической диагностике ДСТ (прикладная цель), давать оценку эмали зрелых зубов при ДСТ и других системных состояниях. В литературе нами выявлены единичные научные работы по микроскопическому исследованию строения эмалевых призм при дисплазии соединительной ткани (ДСТ) [1,3,4,5]. Отсутствуют сведения об исследовании морфологических особенностей строения эмали зубов человека с использованием современных морфологических методов в корреляции с традиционными методами при ДСТ.

Исходя из изложенного, нами была поставлена задача поиска параллелей в строении эмали зубов человека у лиц с признаками ДСТ и без таковых методом атомно – силовой микроскопии в корреляции с обычными микроскопическими методами.

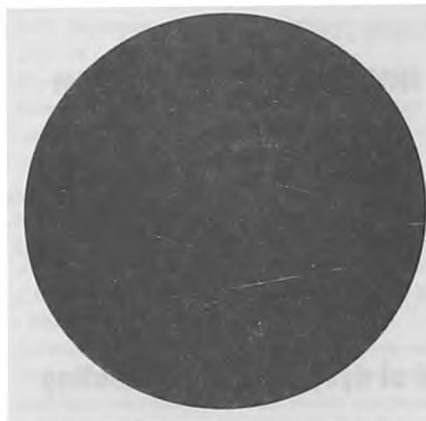


Рис.1. Ориентация эмалевых призм у обследованных группы без ДСТ (электронная микроскопия) Ув.× 1000

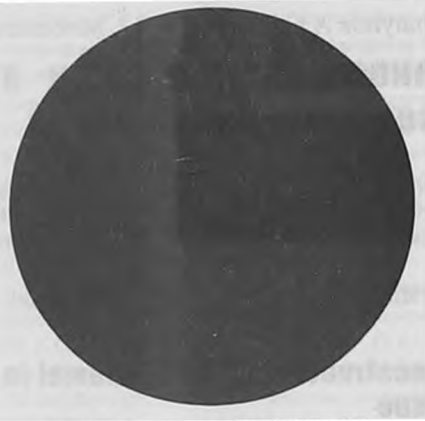


Рис.2. Ориентация эмалевых призм у обследованных группы с ДСТ (электронная микроскопия) Ув.× 1000

Материалы и методы

Морфологическая характеристика эмали зубов изучалась в 120 наблюдениях.

Для исследования эмали зубов были отобраны зубы, находящиеся в костной ткани, не имеющие контакта с ротовой жидкостью. Данными свойствами обладают 38 и 48 зубы, которые были консервированы после удаления, одновременно помещались в нейтральный 10% раствор формалина.

По разработанной методике подготовки образцов для зубов подготовили шлифы, обработки поверхности медального щечного бугра с помощью шлифовальных, полировальных кругов и травления ортофосфорной кислотой [7], с последующим исследованием в АСМ-микроскопе Solver Pro (NT-MRT, Россия). Анализ образцов АСМ-изображения осуществлялся с помощью программного модуля обработки изображения Image Analysis NT-VDT. В результате были получены цифровые снимки зубов у обследованных лиц, по которым анализировали степень упаковки и формы эмалевых призм, размер эмалевых призм, размер межпризменного промежутка и его высоту, размер оболочки эмалевых призм у групп с ДСТ и без ДСТ.

Для решения поставленной задачи обследованные лица (120 наблюдений), были разделены на 2 группы численностью по 60 наблюдений в каждой с ДСТ и без ДСТ, у которых извлекали по одному ретинированному зубу (38,48) по ортодонтическим показаниям, с полностью сформированными корнями. Математическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета STATISTICA 10.0 (StatSoftInc.USA).

Результаты и обсуждение

Подготовленные шлифы образцов, эмали зубов нижней челюсти группы сравнения без ДСТ изучали на первом этапе с помощью электронно-микроскопического исследования, при котором эмалевые призм состоят из изолированных кристаллов, ориентированных перпендикулярно у эмалево-дентинной границы (рис.1).

Отличительной особенностью в группе без ДСТ было поперечное сечение эмалевых призм от 5 до 8 мк, однако достоверных данных не получено ($p > 0,05$).

Необходимо отметить, что форма эмалевых призм в группе без ДСТ имеет правильную, упорядоченную форму в виде шестигранных или семигранных форм эмалевых призм (рис.1). Пространства между эмалевыми призмами имеют небольшой размер во всей группе от 1 до 3 мк.

Детальное изучение ультраструктуры эмали группы сравнения без ДСТ, показало, что призм в поперечном сечении имеют аркообразную и многогранную форму с такой же их формой у основания. Противоположный конец призм клиновидный, которым она вклинивается в нижележащие призм. Таким образом, в группе сравнения без ДСТ широкие концы эмалевых призм разделены суженными концами вышележащего слоя призм.

Путем микрофотографирования эмалевых призм при помощи АСМ в группе сравнения поперечного сечения эмалевых призм воспроизведены отдельно эмалевые призм. При детальном исследовании эмалевой призм видно, что она имеет не гладкую, а волнообразную форму. На представленном снимке видно, что для данных призм характерно сужение и варикозное расширение (рис.3).

По данным рис.1 видно, что основу эмали составляет неорганическая основа, которая составляет основную массу эмали зуба без ДСТ. Эмаль человека без ДСТ содержит крупные кристаллы. Данное строение в группе сравнения без ДСТ обеспечивает жесткость эмали, неподатливость и трудную растворимость.

Особый научный интерес представляет изучение призматической оболочки, которая многими авторами опровергается.

Наличие призматической оболочки мы наблюдали в виде едва заметного ободка, прерывающегося на некоторых участках эмалевой призм или наличие хорошо выраженной призматической оболочки в группе без ДСТ (рис.3).

Не меньший интерес представляет выявление по данным табл.2,3 наиболее вариабельных признаков по

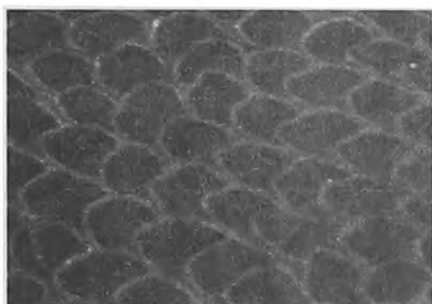


Рис.3. Ультраструктурное строение органической материи эмалевых призм в группе без ДСТ (атомно – силовая микроскопия) Ув.× 25000

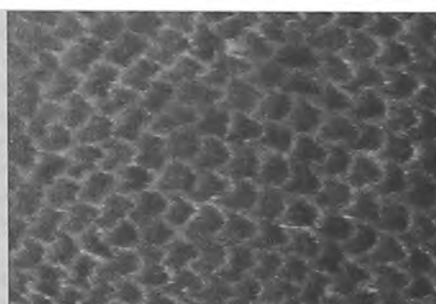


Рис.4. Ультраструктурное строение органической материи эмалевых призм в группе с ДСТ (атомно – силовая микроскопия) Ув.× 25000

данным количественных характеристик эмалевых призм в группах с ДСТ и без ДСТ.

Строение эмали зубов нижней челюсти группы с ДСТ изучали на втором этапе с помощью электронно-микроскопического и АСМ исследований. Эмалевые призмы состоят из изолированных кристаллов, ориентированных перпендикулярно у эмалево-дентинной границы (рис.2). Отличительной особенностью в группе с

ДСТ было поперечное сечение эмалевых призм от 2 до 4 мк, что значительно отличается от показателей без ДСТ, однако достоверных данных не получено ($p > 0,05$).

Необходимо отметить, что форма эмалевых призм в группе с ДСТ имеет неправильную, слабо упорядоченную форму в виде пятигранных, шестигранных, семигранных эмалевых призм, что говорит о высокой степени полиморфизма эмалевых призм в группе с ДСТ (табл.1).

Таблица 1. Качественные характеристики эмалевых призм (оптическая микроскопия)

Группы обследованных / Показатели	Общая характеристика	Форма эмалевых призм
Группа пациентов без ДСТ (n=60)	Постоянство	Аркообразные шестигранные семигранные (полукруглые)
Группа пациентов с ДСТ (n=60)	Вариабельность	Аркообразные квадратные прямоугольные остроконечные пятигранные шестигранные семигранные

Таблица 2. Количественные характеристики эмалевых призм (зондовая микроскопия)

Группы обследованных / Показатели	Размер эмалевых призм в горизонтальной плоскости (dx), микрон	Размер эмалевых призм в вертикальной плоскости (dx), микрон	Количество эмалевых призм в единице объема (10 * 10 микрон)
Группа пациентов без ДСТ (n=60)	5,96 ± 0,5	5,82 ± 0,5	5,98 ± 0,1
Группа пациентов с ДСТ (n=60)	4,43 ± 0,35*	4,91 ± 0,3*	4,65 ± 0,1*

Примечание. Степень достоверности различия рассчитана по отношению к группе сравнения *- $P < 0,05$.

Таблица 3. Количественные характеристики эмалевых призм (зондовая микроскопия) – продолжение

Группы обследованных/ Показатели	Расстояние между эмалевыми призмами, нм	Угол эмалевой призмы, градус	Величина оболочки призмы, нм	Высота межпризменного промежутка, нм
Группа пациентов без ДСТ (n=60)	0,7 ± 0,04	95,9 ± 2,7	0,3 ± 0,07	28,8 ± 2,7
Группа пациентов с ДСТ (n=60)	3,1 ± 0,2*	99,8 ± 2,9	2,4 ± 0,1*	205,9 ± 0,9*

Примечание. Степень достоверности различия рассчитана по отношению к группе сравнения *- $P < 0,05$.

Пространства между эмалевыми призмами имеют большой размер в группе с ДСТ от 6 до 10 мк.

Детальное изучение ультраструктуры эмали группы с ДСТ, показало, что призмы в поперечном сечении имеют прямоугольную, остроконечную, квадратную формы эмалевых призм с такой же их формами у основания. Противоположный конец призм остроконечный, вытянутый, которым она вклинивается в нижележащие призмы (табл.1).

Путем микрофотографирования эмалевых призм при помощи АСМ в группе с ДСТ поперечного сечения эмалевых призм воспроизведены отдельно эмалевые призмы. При детальном исследовании эмалевой призмы видно, что она имеет не гладкую, а волнообразную форму, как и в группе сравнения без ДСТ. По представленным снимкам видно, что для данных призм характерно сужение и варикозное расширение (рис.2,4).

Как и в группе без ДСТ основу эмали составляет неорганическая основа, которая составляет основную массу эмали зуба. Эмаль человека с ДСТ содержит мелкие кристаллы, причем величина кристаллов также отличается выраженным полиморфизмом (табл.1). Данное строение в группе с ДСТ в отличие от группы сравнения обеспечивает меньшую жесткость эмали и большую подверженность по растворимости, зависящая от факторов внутренней и внешней среды человеческого организма.

В группе с ДСТ в образцах кристаллов эмали прослеживается широкий слой органической материи, что достоверно больше данного показателя в группе без ДСТ ($p < 0,05$). По данным ультраструктурного строения эмалевых призм данная морфологическая структура также прослеживается при ДСТ, которая не прослеживается в аналогичной группе без ДСТ, что несомненно нельзя утверждать о варианте нормы по данному показателю при ДСТ (табл.2,3).

Полиморфизм по величине эмалевых призм можно обнаружить в группе при ДСТ.

По данным снимкам шлифов эмали зубов при ДСТ следует отметить, что кристаллы расположены менее плотно друг к другу при сравнении с аналогичными снимками зубов без ДСТ (рис.3,4).

Особый научный интерес представляет изучение призматической оболочки при ДСТ и ее сравнение с данными показателями группы без ДСТ.

Наличие призматической оболочки мы наблюдали в виде широкого ободка, непрерывно прослеживающаяся по всей поверхности эмалевой призмы при ДСТ (рис.4). Наличие призматической оболочки в группе при ДСТ

можно объяснить недостаточной минерализацией постоянных зубов.

Между призмами эмали постоянных зубов с ДСТ расположено межпризматическое вещество, которое на микроскопических шлифах представляется аморфным, прозрачным, светло — серого цвета, расположено толстой полосой. Следует отметить, что толщина межпризматического вещества в группе с ДСТ имеет большие размеры относительно группы без ДСТ (рис.3,4). Выполняя важную питательную функцию в эмали, она уменьшается по мере созревания и минерализации зубов.

Заключение

По результатам исследования ультраструктуры эмали зубов можно говорить о нарушении минерализации и организации эмалевых призм у лиц с признаками ДСТ. Это объясняется недостаточно плотной упаковкой эмалевых призм в единице объема, их хаотичным расположением, недостаточно организованным и минерализованным матриксом.

Изучение морфологического строения эмали зубов при ДСТ и без ДСТ методами электронной и атомно-силовой микроскопии показали, что метод атомно-силовой микроскопии позволяет детально изучить отличительные признаки по форме и строению эмалевых призм, размеру эмалевых призм в вертикальной и горизонтальной плоскостях, количеству эмалевых призм в единице объема, расстоянию между эмалевыми призмами, величине ободочки эмалевой призмы, высоте межпризматического промежутка. При этом внутреннее строение эмали зубов при ДСТ имеют конкретное содержание и определенные принципы формообразования их индивидуальных особенностей.■

Коришунов А.С., ассистент кафедры челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск; Конев В.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой судебной медицины и правоведения ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск; Московский С.Н., к.м.н., ассистент кафедры судебной медицины и правоведения ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск; Серов Д.О., клинический ординатор кафедры челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск; Вавакин В.Ю., студент стоматологического факультета ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск; Автор, ответственный за переписку - Коришунов А.С., 644041, Омская область, г. Омск, ул. 5 Рабочая, д. 70а, кв. 9, 8 913 604 41 53, Andrey_K_180588@mail.ru.

Литература:

1. Конев В.П., Шестель И.Л., Коришунов А.С., Московский С.Н., Копылова Ю.Ю., Лосев А.С., Давлеткильдеев Н.А. Взаимотношение органического матрикса и минерального компонента в костях и эмали зубов при дисплазии соединительной ткани. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 26(3): 77-5.
2. Конев В.П. Дисплазия соединительной ткани: вопросы секционной диагностики, клинко-анатомические параллели. *Омский научный вестник*. 2000; 13: 148-3.
3. Коришунов А.С. Диагностика дисплазии соединительной ткани по твердым тканям зубов человека.

- Стаматология. 2017; 96(3): 60-2.*
4. Кориунов А.С., Конев В.П., Сулимов А.Ф. Возможности оценки качества эмали зубов при наследственной патологии соединительной ткани методом атомно-силовой микроскопии. *Российская стаматология. 2017; 10(1): 43-2.*
 5. Московский С.Н., Кориунов А.С., Шестель И.Л., Конев В.П., Хамов М.А., Марковский С.О. Использование атомно — силовой микроскопии в изучении плотных тканей орофациальной области. *Казанский медицинский журнал. 2012; 93(6): 887-4.*
 6. Нечаева Г.И., Яковлев В.М., Конев В.П., Друк И.В., Морозов С.Л. Дисплазия соединительной ткани: основные клинические синдромы, формулировка диагноза, лечение. *Лечащий врач. 2008; 2: 22-4.*
 7. Шестель И.Л., Кориунов А.С., Лосев А.С., Шестель Л.А., Давлеткильдеев Н.А., Конев В.П., изобретатели. Способ изготовления препаратов зубов для морфологических исследований эмалевых призм в АСМ и инвертированных микроскопах. *RUS патент 2458675. 2011. Май 04.*
 8. Macho G.A., Jiang Y.H., Spears I.R. Enamel microstructure – a truly three-dimensional structure. *J Hum E. 2003; 45: 81-10.*