

**А.В. Кабанова¹, З. Занг², Дж. Гуо², М.А. Шевченко³, Л.П. Кисельникова³,
П.Е. Панфилов¹**

**Изучение структуры подросткового коронкового дентина методом
просвечивающей электронной микроскопии**

¹ Институт естественных наук УрФУ, Екатеринбург, Российская Федерация

² Институт материаловедения им. Э. Шмида, Леобен, Австрия

³ МГМСУ, Москва, Российская Федерация

**A.V. Kabanova¹, Z. Zang², J. Guo², M.A. Shevchenko³, L.P. Kiselnikova³, P.E.
Panfilov¹**

TEM study of structure of young crown human dentin on the nano-scale

¹ Institute of natural science, Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian
Federation

² Erich Schmid Institute for Material Science, Austrian Academy of Science, Leoben,
Austria

³ Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

E-mail: gerbers13@mail.ru

Аннотация: Статья посвящена изучению структуры подросткового коронкового дентина с использованием просвечивающего электронного микроскопа, потому что ПЭМ является прямым методом наблюдения структуры твердых тел на нано-уровне. Образцы были вырезаны перпендикулярно главной оси зуба, затем механически утонялись до толщины 0,15 – 0,18мм и химически полировались в потоке H_3PO_4 до прозрачного состояния для электронного пучка в 200кV. Тонкие фольги дентина имеют слоистую морфологию (толщина слоя ~ 50нм) и клеточную структуру, сформированную из коллагеновых волокон (диаметр волокна ~ 5нм).

Annotation. The article deals with TEM study of structure of young crown human teeth on the nano-scale, because TEM is the sole method for direct observation of the structure of solids at the nanoscale (magnification $\geq 100k$). Samples were cut normally to the long axis of tooth, after that they were mechanically thinned (thickness 0,15-0,18mm) and were chemically polished in the jet of H_3PO_4 acid up to the transparent state for 200KV electron beam. Dentin thin foils possess the layered morphology (thickness of single layer is ~50 nm) and the cellular structure, which was formed from collagen fibers (diameter is ~5 nm).

Ключевые слова: структура, дентин, ПЭМ

Keywords: structure, dentin, TEM

С повышением возраста человека увеличивается степень минерализации твердых тканей его организма. Свойства дентина зубов человека зависят от

соотношения органической и минеральной составляющих и структурного состояния гидроксиапатита [3,4]. Известно, что у подростков степень минерализации дентина зубов наименьшая. При этом информация о структурном состоянии минеральной фазы в подростковом дентине ограничена и не позволяет определить основные механизмы влияния минеральной составляющей на его свойства. Решить такую задачу можно проведя исследование структуры дентина зубов пациентов подросткового возраста при помощи метода просвечивающей электронной микроскопии. Целью данной работы является изучение структуры подросткового

Цель исследования – изучение структуры подросткового коронкового дентина на нано- уровне (увеличение $\times 100k$ и выше) с помощью просвечивающего электронного микроскопа.

Материалы и методы исследования

Для исследований были взяты премоляры пациентов подросткового возраста 12-16 лет, удаленные по медицинским показаниям согласно Этическому протоколу МГМСУ (Москва) без видимых патологий. Все зубы были задокументированы с шести точек при помощи сканера Epson V750 PRO с разрешением 6400dpi. Визуальный анализ показал, что все они могут считаться интактными. Для изучения структуры коронкового дентина зубы разрезали на образцы перпендикулярно главной оси зуба. Резку проводили при помощи дисковой пилы со стоматологическим алмазным диском толщиной 0,2 мм (скорость вращения 5000 об/мин.), установленной на инструментальном микроскопе БМИ-2 (точность перемещения образца 0,05мм) под водным орошением. Для исследования брали образцы из средней части коронки, исходной толщиной 1 – 1,5 мм. Металлографическая аттестация показала, что качество рабочих поверхностей образцов после резки было достаточным для изучения структуры дентина и эмали зубов при увеличении до $\times 10$ (макроскопический уровень, доступный стоматологу при препарировании зубов) и не требовало дополнительной полировки. Для исследования структуры дентина в просвечивающем электронном микроскопе образцы утоняли на шкурках разной абразивности до толщины 0,15-0,18мм. Продукты полировки удаляли путем выдерживания образцов в концентрированной ортофосфорной кислоте в течение 2 минут. После чего образцы промывали в проточной воде 10 минут и сушили на воздухе. Тонкие фольги для просвечивающего электронного микроскопа получали следующим образом. Образцы толщиной 0,15-0,18мм разрезали на полоски шириной 2 мм и помещали между трафаретами из ПММА с отверстием 2мм в диаметре, расположенными в средней части. После чего образцы травил в потоке концентрированной ортофосфорной кислоты по методу окна в течение 40 минут с последующей промывкой в проточной воде и сушкой на воздухе.

Исследование структуры дентина на нано- уровне проводили на просвечивающем электронном микроскопе TEM/STEM JEOL2100F (напряжение 200кВ).

Результаты исследования и их обсуждение

После документирования рабочих поверхностей образцов в режиме «на отражение», для каждого образца были составлены топограммы обеих рабочих поверхностей при увеличении $\times 100$ и $\times 500$: одна из которых располагалась вблизи границы с эмалью, а другая – около пульповой камеры. На топограммах был виден слой эмали, граница эмаль-дентин, и дентин. В ряде случаев на поверхности можно было наблюдать пульповую камеру. Изучение морфологии поверхностей образцов при увеличении $\times 100$ не выявило различий в размерах дентинных каналов и их распределении по поверхности образцов подросткового коронкового дентина. Изучение формы дентинных каналов в зависимости от места расположения в дентинной матрице проводили на топограммах, полученных при увеличении $\times 500$. Было обнаружено, что на участках, расположенных около границы с эмалью, у дентинных каналов границы четкие, а их форма близка к концентрической. Напротив, около пульповой камеры границы каналов растравлены до такой степени, что установить их изначальную форму практически невозможно. Варьирование времени травления образцов в пределах от 2 до 10 минут не меняло данной картины: у пульповой камеры каналы были растравлены, а около эмали нет. Были определены размеры участков в которых наблюдается растрав каналов и где его нет. Оказалось, что в подростковом коронковом дентине можно выделить четкую границу между участками с растравленными и нерастравленными каналами, линейные размеры которых соотносятся примерно как 1 : 2

Электронномикроскопическое (на просвет) исследование показало, что подростковый коронковый дентин имеет слоистую морфологию. Он состоит из тонких слоев толщиной 50-100нм, которые располагаются перпендикулярно главной оси зуба (рис. 1). Рост дентина происходит постепенно. Сначала образуются слои одонтобластов, которые затем преобразуются в дентинные каналы [2]. На тонких участках вблизи края фольги виден твидовый контраст -

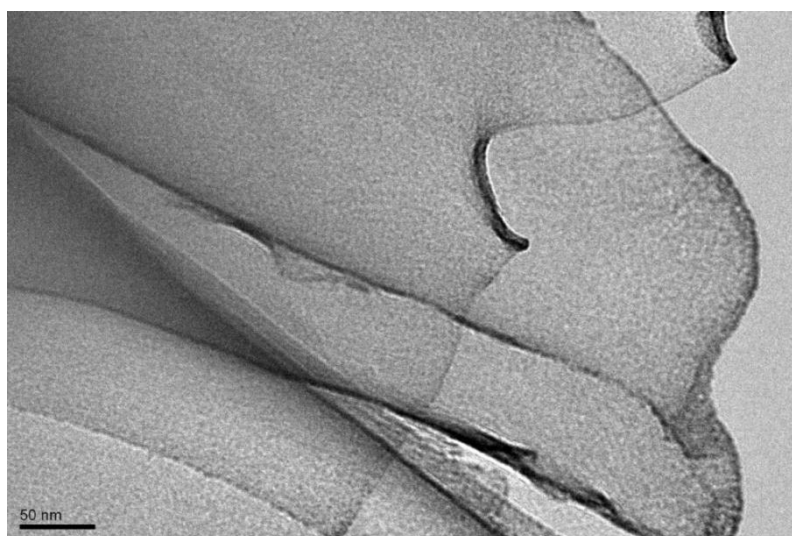


Рис. 1. Слоистая структура с «твидовым» контрастом в тонкой области коронкового дентина

чередование светлых и серых пятен, который указывает на то, что материал находится либо в аморфном, либо нано-кристаллическом состоянии. Действительно, на электронограммах, снятых с тонких участков фольг наблюдается диффузионное гало, характерное для аморфных твердых тел. Вдали от краев на толстых участках фольги видны сетки, образованные волокнами коллагена произвольной ориентировки. Волокна имеют толщину порядка 5нм, что соответствует литературным данным о средней толщине волокна тропоколлагена [4,5]. В сетках наблюдаются ячейки диаметром 10-100нм (рис. 2).

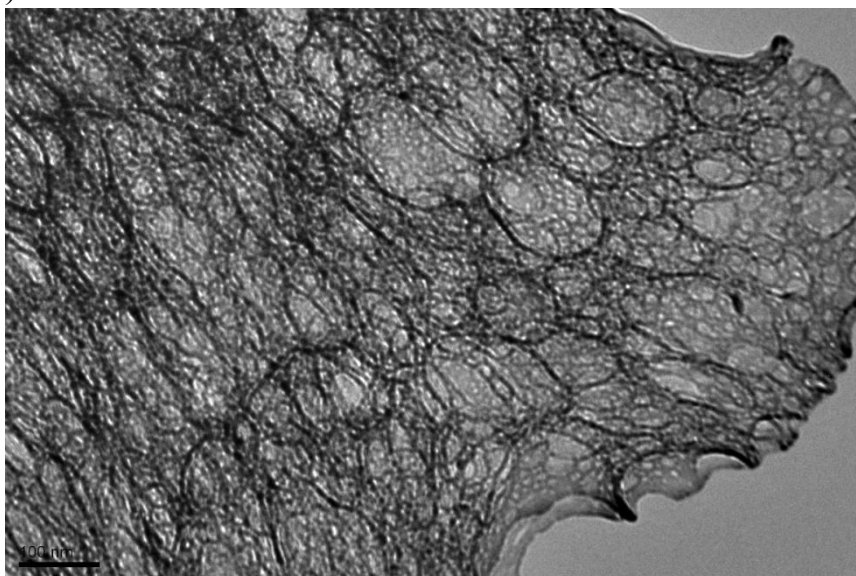


Рис. 2. Клеточная структура, сформированная коллагеновыми волокнами в тонкой области коронкового дентина

Элементный анализ, выполненный с помощью EDXA спектрометра, установленного на электронном микроскопе, показал, что в фольгах подросткового коронкового дентина присутствуют составляющие гидроксиапатита кальция (Ca, P, O, C). Анализ электронограмм с этих участков показывает, что дентин, включая его минеральную составляющую, находится в аморфном состоянии. Таким образом, можно сделать вывод, что гидроксиапатит кальция в подростковом коронковом дентине находится преимущественно в аморфном состоянии. Выделения частиц гидроксиапатита в подростковом коронковом дентине не наблюдалось даже при увеличениях 100к и выше.

Рентгенографическое исследование показало, что подростковый коронковый дентин находится в рентгено-аморфном состоянии – наблюдаемые на спектре пики сильно уширены. Структурный тип гидроксиапатитакальция, определенный по расположению пиков на рентгенограммах был следующим:

гексагональный тип $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ (Space Group P63/m (176); $a = 9,441\text{\AA}$; $c = 6,881\text{\AA}$; $c/a = 0,729$; Crystallite (Scherrer) 200\AA) [1]

Выводы:

1. Дентин обладает слоистой морфологией.
2. Существует клеточная структура, образованная из коллагеновых волокон в толстых прозрачных электронных полях дентина фольги

Литература:

1. Alpatova V. G. Experimental and radiological studying of features of a structure of a second teeth at teenagers and persons of young age / Alpatova V. G. et al. / Institute of Stomatology –, iss. 52, v. 3 / 2011, P. 83–85.
2. Arana-Chavez V. E., Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine / Arana-Chavez V. E., Massa L. F. / The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, v. 36 / 2004, P. 1367–1373.
3. Meyers M. A. Biological materials: Structure and mechanical properties / Meyers M. A. et al / Progress in Materials Science, v. 53 / 2008, P. 1–206.
4. Ritchie R. O. Bioinspired structural materials / Ritchie R. O. et al / Nature Materials v. 14 / 2014, P. 23–36.
5. Sezen M. 3D electron microscopy investigations of human dentin at the micro/nano-scale using focused ion beam based nanostructuring / Sezen M. / Sadighikiaab S. / RSC Adv. v. 5 / 2015, P. 7196–7199.

Работа выполняется при частичной финансовой поддержке РФФ (грант № 15-19-10007, ППЕ) и РФФИ (грант № 15-08-04073а, КАВ).

УДК 61:612.176.4

**О.В. Кудрявцев², В.Э. Тимохина^{1,3}, В.Д. Красовский¹, К.Р. Мехдиева¹
Ф.А.Бляхман^{1,2}**

**ФИЗИЧЕСКАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ЮНЫХ
СПОРТСМЕНОВ С СИНДРОМОМ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ
ТКАНИ**

¹Институт физической культуры, спорта и молодежной политики
Уральский Федеральный Университет имени первого президента Российской
Федерации Б.Н. Ельцина

²Кафедра медицинской физики, информатики и математики
Уральский государственный медицинский университет

³Детская городская клиническая больница № 11
Екатеринбург, Российская Федерация

**O.V. Kudryavtsev², V.E. Timokhina^{1,3}, V.D. Krasovsky¹, K.R. Mekhdieva¹
PHYSICAL WORKING CAPACITY OF YOUNG ATHLETES WITH
CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA SYNDROME**