

В.Д. Вагнер¹,
д.м.н., профессор, заслуженный
врач РФ, зав. отделом организации
стоматологической службы,
лицензирования и аккредитации

В.П. Конев²,
д.м.н., профессор, заслуженный работник
ВШ РФ, зав. кафедрой судебной медицины,
правоведения

А.С. Коршунов²,
ассистент кафедры челюстно-лицевой
хирургии

¹ ЦНИИСиЧЛХ

² ОмГМУ

Резюме. Рассмотрены результаты исследования минерального компонента и органического матрикса эмали ретинированных зубов 3.8 с помощью электронной и атомно-силовой микроскопии. Установлено, что у 15–20-летних людей наблюдается недостаточная зрелость эмали зубов, выражающаяся в менее плотной упаковке минерального компонента, большой доле органического матрикса, значительных размерах призматической оболочки, неровностях и выступах на поверхности эмалевых призм. После 20 лет доля органического матрикса уменьшается, минеральные призмы уплотняются и увеличиваются в размерах. Представленные факты указывают на важную роль взаимоотношения минерального компонента и органического матрикса в прочностных характеристиках эмали зубов, необходимость и значимость которых возрастает после прорезывания зуба.

Ключевые слова: минеральный компонент, органический матрикс, созревание, атомно-силовая микроскопия

Многие авторы утверждают, что процесс созревания эмали происходит в течение всей жизни человека и его рассматривают как защитный физиологический процесс [7, 8, 12, 13]. Однако на сегодняшний день этот вопрос вызывает много дискуссий. Ряд отечественных и зарубежных ученых считают, что минерализация и созревание эмали заканчиваются к 1–3 годам после прорезывания зуба [6, 9, 10, 18, 19]. Некоторые авторы утверждают, что полное созревание эмали зубов происходит еще до их прорезывания [14–17]. Наиболее убедительной считается точка зрения об индивидуальных сроках созревания эмали, которые зависят от состава органических и минеральных веществ, и после прорезывания зуба определяются составом смешанной слюны [1–3, 6, 12, 13]. К сегодняшнему дню установлено, что в процессе созревания эмали повышается содержание минеральных веществ и изменяется структура минеральных призм, которые становятся более компактными [1, 3, 10, 12, 21–23]. При этом формируется мнение об изменении эмали в течение дальнейшей жизни человека [4].

Изучение возрастных изменений минерального компонента и органического матрикса эмали зубов человека методами электронной и атомно-силовой микроскопии

Summary. The results of the research of the 3.8 impacted teeth's enamel's mineral component and its organic matrix with the help of electron and atomic force microscopy are studied. It has been stated that 15–20-year-olds have insufficient maturity of the tooth enamel, expressed in a less dense packing of the mineral component, a large proportion of the organic matrix, significant sizes of the prismatic shell, roughness and projections on the surface of enamel prisms. After 20 years, the amount of organic matrix decreases and the mineral prisms harden and increase in size. The presented facts indicate the critical role of the interconnection between the mineral component and the organic matrix in the tooth enamel's firmness, the importance of which increases after the tooth eruption.

Key words: mineral component, organic matrix, maturation, atomic force microscopy

Несмотря на множество публикаций о развитии и созревании эмалевых кристаллов в постнатальном онтогенезе, отсутствуют убедительные данные о темпах роста эмалевых кристаллов с использованием современных методов морфологического исследования, в частности, атомно-силовой микроскопии, и влиянии на него органического компонента в разных возрастных периодах человека.

Цель исследования — изучить строение минерального компонента и органического матрикса эмали ретинированных зубов в возрастных группах 15–20, 21–30 и 31–40 лет методами электронной и атомно-силовой микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 140 мужчин, распределенных по возрасту на три группы: I группа — 15–20 лет, II — 21–30 лет, III — 31–40 лет. У каждого обследованного по ортодонтическим показаниям удаляли один ретинированный зуб 3.8 с полностью сформированными

корнями и не имевший контакта с ротовой жидкостью. Полученные образцы эмали зубов подготавливали на полировально-шлифовальном станке с шлифовальными кругами разной зернистости и полировальными кругами с алмазной суспензией Akasel разной зернистости. Образцы исследовали под оптическим микроскопом с 1000-кратным увеличением, а затем в атомно-силовом микроскопе (АСМ) SolverPro (NT-MRT, Россия). Анализ АСМ-изображений выполняли в программе Image Analysis NT-VDT [5]. По ходу подготовки шлифов образцов количественно и качественно оценивали глубину сошлифованной эмали стоматологическим глубиномером [6]. В результате получили цифровые снимки зубов, по которым изучали степень упаковки, форму, размер эмалиевых призм и размер их оболочки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Электронная микроскопия показала, что эмалиевые призм во всех группах упорядочены в правильную 6- или 7-гранную структуру (50 и 45% соответственно; см. таблицу). Наибольшее постоянство структуры наблюдали в III группе, где доминируют 7-гранные фигуры (рис. 1). Такие встречаются и в I и во II группе, но там в большом количестве встречаются 6-, а порой и 5-гранные фигуры (рис. 2).

Форма эмалиевых призм в возрастных группах

Число граней	Доля в группах, %		
	I	II	III
5	20	10	0
6	40	50	40
7	30	40	60

По мере взросления меняются размеры эмалиевых призм, но с сохранением постоянства аркообразной формы. Важным отличием ультраструктурного строения минерального компонента являются неровности и выступы на поверхности эмалиевых призм, которые ярко выражены в I (100%) и II группе (80%). В III группе шероховатости и неровности на эмалиевых призмах единичны (10%) и отличаются меньшей рельефностью. Во всех группах мы не обнаружили ни множественных разветвлений эмалиевых призм, ни их слияние.

Плотность упаковки эмалиевых призм является важным показателем зрелости эмали, увеличивающимся с возрастом, определяется степенью упаковки коллагена и характеризуется расстоянием между эмалиевыми призмами. Наибольшая плотность упаковки минерального компонента эмали наблюдается в III группе ($0,53 \pm 0,03$ нм), однако и в I, и во II группе наблюдали высокую степень упаковки



Рис. 1. Упаковка эмалиевых призм в III группе (ув. 1000)



Рис. 2. Упаковка эмалиевых призм в I группе (ув. 1000)

эмалиевых призм ($0,65 \pm 0,03$ и $0,72 \pm 0,02$ нм), соответствующую возрастной норме $0,5-0,6$ нм [1, 2].

При анализе данных АСМ важно отметить, что форма, размер и упорядоченность эмалиевых призм во всех группах коррелируют с плотностью упаковки. Наиболее упорядоченные эмалиевые призмы наблюдали в III группе, где они доминируют в виде 7-гранной фигуры с очень плотной упаковкой в $6,02 \pm 0,25$ ед. на срезе площадью 100 мкм^2 . В I и во II группе они также представлены 7-гранной фигурой (30 и 40% соответственно), однако в большом количестве встречаются 6-гранные (40% в I группе и 50% во II группе) с более хаотичным и менее плотным расположением эмалиевых призм ($5,68 \pm 0,13$ и $5,79 \pm 0,11$ на 100 мкм^2 соответственно). С возрастом изменяется не только форма и ориентация, но и размер эмалиевых призм (средний диаметр зрелой призмы $6,23 \pm 0,14$ мкм) [1, 2]. Необходимо обратить внимание на малые размеры призм в I группе — $4,68 \pm 0,51$ мкм, которые увеличиваются до $5,59 \pm 0,47$ мкм во II группе, а наибольших размеров достигают в III группе — $6,13 \pm 0,38$ мкм (рис. 3–5).

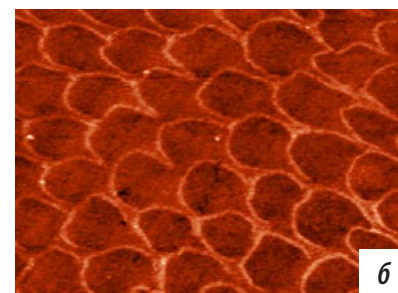
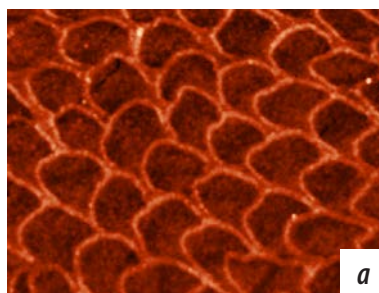


Рис. 3. Типичное строение эмали у пациентов I (а) и III (б) группы (АСМ, ув. 25 000)

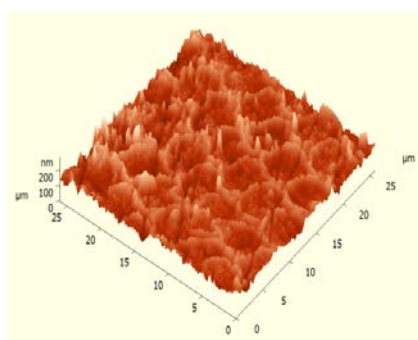


Рис. 4. Рельефность эмалиевых призм по данным АСМ в I группе (ув. 50 000)

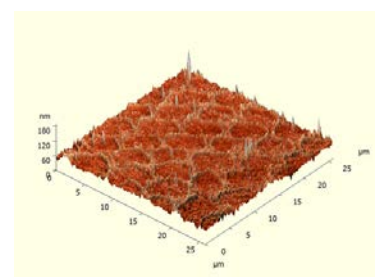


Рис. 5. Рельефность эмалиевых призм по данным АСМ в III группе (ув. 50 000)

Различная плотность упаковки кристаллов указывает на недостаточную зрелость эмали зубов в возрасте до 31 года, однако наблюдается увеличение темпа созревания эмалевых призм в указанных группах.

Призматическую оболочку наблюдали во всех группах: размером $0,36 \pm 0,05$ нм в I группе, $0,25 \pm 0,04$ нм во II группе, а в III группе она практически не видна ($0,07 \pm 0,01$ нм) и прерывается на некоторых участках ($p < 0,05$). В зрелой эмали ее средний диаметр составлял $0,07 \pm 0,02$ нм [1, 2].

Пик количества минерального компонента приходится на возраст 31–40 лет, а минимум — на группу 15–20 лет. Также в III группе присутствует минимальное содержание органического матрикса ($p < 0,05$), и такое строение обеспечивает большую жесткость и трудную растворимость эмали, риск поражения патологическим процессом которой увеличивается после прорезывания зуба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования размера, формы, упаковки эмалевых призм методами электронной и атомно-силовой микроскопии в различные возрастные периоды можно судить о высоких темпах их роста и развития. В возрасте до 31 года эмалевые призмы напоминают аркообразную форму, менее плотно упакованы, имеют различные размеры, что свидетельствует об их незрелости. Однако, несмотря на выраженную изменчивость содержания неорганического компонента, с возрастом отмечается активный рост и уплотнение эмалевых призм. АСМ позволяет детально изучить внутренние структуры эмали зубов, при этом определяя их конкретное содержание и индивидуальные принципы формообразования путем количественной оценки минерального компонента и органического матрикса.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Коршунов А.С., Конев В.П., Сулимов А.Ф. Возможности оценки качества эмали зубов при наследственной патологии соединительной ткани методом атомно-силовой микроскопии. — Материалы XV Всероссийского стоматологического форума Дентал-Ревю. — *Российская стоматология*. — 2017; 10 (1): 43–4.
2. Мирсалихова Ф.Л. Особенности биофизических свойств и минерализующей функции слюны у детей в период прорезывания постоянных зубов. — *Клиническая стоматология*. — 2016; 80(4): 4–6.
3. Московский С.Н., Коршунов 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; 6: 887–91.
4. Рзаева Т.А., Ковылина О.С., Кисельникова Л.П. Стоматологическая реабилитация детей при наследственном незавершенном амелогенезе. — *Клиническая стоматология*. — 2014; 70(2): 4–6.
5. Шестель И.Л., Коршунов А.С., Лосев А.С., Шестель Л.А., Давлеткильдеев Н.А., Конев В.П. Способ изготовления препаратов зубов для морфологических исследований эмалевых призм в атомно-силовом (АСМ) и инвертированном микроскопах. — Патент РФ № 2458675 от 20.08.2012.
6. Коршунов А.С., Мухин А.Н., Серов Д.О., Конев В.П., Московский С.Н. Глубиномер стоматологический. — Патент РФ № 187021 от 13.02.2019.
7. Adeleke-Stainback P., Chen E., Collier P., Yuan Z.A., Piddington R., Decker S., Rosenbloom J., Gibson C.W. Analysis of the regulatory region of the bovine X-chromosomal amelogenin gene. — *Connect Tissue Res*. — 1995; 32 (1–4): 115–8.
8. Ai K., Warshawsky H. Ultrastructure and composition of basement membrane separating mature ameloblasts from enamel. — *Arch Oral Biol*. — 2008; 53 (4): 310–7.
9. Aoba T., Moreno E.C. The enamel fluid in the early secretory stage of porcine amelogenesis: chemical composition and saturation with respect to enamel mineral. — *Calcif Tissue Int*. — 1987; 41 (2): 86–94.
10. Bei M. Molecular genetics of ameloblast cell lineage. — *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. — 2009; 312B (5): 437–44.
11. Beyeler M., Schild C., Lutz R., Chiquet M., Trueb B. Identification of a fibronectin interaction site in the extracellular matrix protein ameloblastin. — *Exp Cell Res*. — 2010; 316 (7): 1202–12.
12. Birch W., Dean C. Rates of enamel formation in human deciduous teeth. — *Front Oral Biol*. — 2009; 13: 116–20.
13. Daculsi G., Kerebel B. High-resolution electron microscope study of human enamel crystallites: size, shape, and growth. — *J Ultrastruct Res*. — 1978; 65 (2): 163–72.
14. Daculsi G., Menanteau J., Kerebel L.M., Mitre D. Length and shape of enamel crystals. — *Calcif Tissue Int*. — 1984; 36 (5): 550–5.
15. Diekwisch T.G., Berman B.J., Gentner S., Slavkin H.C. Initial enamel crystals are not spatially associated with mineralized dentine. — *Cell Tissue Res*. — 1995; 279 (1): 149–67.
16. Fincham A.G., Moradian-Oldak J., Simmer J.P., Sarte P., Lau E.C., Diekwisch T., Slavkin H.C. Self-assembly of a recombinant amelogenin protein generates supramolecular structures. — *J Struct Biol*. — 1994; 112 (2): 103–9.
17. Gibson C.W. Regulation of amelogenin gene expression. — *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. — 1999; 9 (1): 45–57.
18. Gibson C.W., Yuan Z.A., Hall B., Longenecker G., Chen E., Thyagarajan T., Sreenath T., Wright J.T., Decker S., Piddington R., Harrison G., Kulkarni A.B. Amelogenin-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. — *J Biol Chem*. — 2001; 276 (34): 31871–5.
19. Hart P.S., Hart T.C., Michalec M.D., Ryu O.H., Simmons D., Hong S., Wright J.T. Mutation in kallikrein 4 causes autosomal recessive hypomaturation amelogenesis imperfecta. — *J Med Genet*. — 2004; 41 (7): 545–9.
20. Kawasaki K., Weiss K.M. SCPP gene evolution and the dental mineralization continuum. — *J Dent Res*. — 2008; 87 (6): 520–31.
21. Kerebel B., Daculsi G., Kerebel L.M. Ultrastructural studies of enamel crystallites. — *J Dent Res*. — 1979; 58 (spec Issue B): 844–51.
22. Lacruz R.S., Bromage T.G. Appositional enamel growth in molars of South African fossil hominids. — *J Anat*. — 2006; 209 (1): 13–20.
23. Lacruz R.S., Nanci A., Kurtz I., Wright J.T., Paine M.L. Regulation of pH During Amelogenesis. — *Calcif Tissue Int*. — 2010; 86 (2): 91–103.