

Исследование твердых тканей коронки зуба с использованием сканирующей электронной микроскопии и применением элементного анализа

Т.В. Павлова¹, Л.А. Павлова^{2✉}, О.М. Павлова¹, Х. Хсейно², В.Ю. Новиков²,
А.Н. Каплин³, А.В. Тверская², М.А. Затолокина^{3,4}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

²Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

³Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

⁴Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия

Аннотация. Внедрение новых методических подходов актуализирует проведение исследований, позволяющих устанавливать взаимосвязи между элементным составом твердых тканей зуба и данными микроскопического анализа. При использовании сканирующей электронной микроскопии выявлен характер расположения и размеры эмалевых призм, дано описание строения начальной и конечной эмали. Исследована зона дентино-эмалевого соединения, особенности расположения дентинных канальцев и состав матрикса дентина. Доказано, что содержание воды, органических веществ, натрия и калия больше в дентине, а концентрация магния, фосфора и кальция выше в эмали.

Ключевые слова: коронка зуба, сканирующая электронная микроскопия, элементы

Благодарности. Авторы выражают благодарность коллективу Центра коллективного пользования «Технологии и материалы» Белгородского национального исследовательского университета за помощь. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования Белгородского государственного национального исследовательского университета «Технологии и материалы», деятельность которого поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках договора № 100-ФЗ. 075-15-2021-690 (уникальный идентификатор проекта РФ 2296.61321X0030).

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2024-21-2-92-96>

Study of hard tissues of the tooth crown using scanning electron microscopy and elemental analysis

T.V. Pavlova¹, L.A. Pavlova^{2✉}, O.M. Pavlova¹, H. Khseyno², V.Yu. Novikov²,
A.N. Kaplin³, A.V. Tverskaya², M.A. Zatolokina^{3,4}

¹First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

²Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

³Kursk State Medical University, Kursk, Russia

⁴I.S. Turgenev Orel State University, Orel, Russia

Abstract. The introduction of new methodological approaches actualizes research that makes it possible to establish relationships between the elemental composition of hard dental tissues and microscopic analysis data. Using scanning electron microscopy, the nature of the location and size of enamel prisms was revealed, and a description of the structure of the initial and final enamel was given. The zone of the dentino-enamel junction, the location of the dentinal tubules and the composition of the dentin matrix were studied. It has been proven that the content of water, organic matter, sodium and potassium is higher in dentin, and the concentration of magnesium, phosphorus and calcium is higher in enamel.

Keywords: tooth crown, scanning electron microscopy, elementoses

Acknowledgments. The authors are grateful to the personnel of the Joint Research Center, "Technology and Materials", Belgorod National Research University, for their assistance. The work was carried out using equipment of the Joint Research Center of Belgorod State National Research University "Technology and Materials", the activity of which was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of agreement no. 075-15-2021-690 (unique identifier for the project RF 2296.61321X0030).

© Павлова Т.В., Павлова Л.А., Павлова О.М., Хсейно Х., Новиков В.Ю.,
Каплин А.Н., Тверская А.В., Затолокина М.А., 2024
© Pavlova T.V., Pavlova L.A., Pavlova O.M., Khseyno H., Novikov V.Yu.,
Kaplin A.N., Tverskaya A.V., Zatolokina M.A., 2024

Коронка – часть зуба, выступающая над поверхностью десен и обращенная в полость рта. Дентин определяет форму зуба, формирует стенки пульпарной камеры и покрыт эмалью – особой бесклеточной минерализованной структурой, которую условно принято называть тканью. Изучение тканей зуба имеет целый ряд трудностей, среди которых, с одной стороны, сложности получения образцов зубов, удаленных по клиническим показаниям, но не имеющих патологических изменений. С другой – необходимость специальной подготовки материала для морфологических исследований (фиксации, дегидратации, декальцинации, контрастирования и т.п.), что часто приводит к искажению структуры и артефактам.

Совершенствование методик, применение методов атомно-силовой и растровой микроскопии позволило расширить представления об организации микрорельефа поверхности эмали [1, 2, 3, 4], возрастных особенностях организации твердых тканей зуба [5, 6]. Уточнены детали строения дентино-эмалевого соединения [7], капиллярно-пористых пространств эмали [8, 9], изучается микрохимический состав твердых тканей зуба [10]. Одной из важных проблем является установление взаимосвязей между химическим составом твердых тканей зуба и их микроскопической организацией.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование твердых тканей коронки зуба с использованием сканирующей электронной микроскопии и применением элементного анализа.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали постоянные зубы пациентов в возрасте от 35 до 50 лет, 5 резцов и 5 моляров удалены по ортодонтическим показаниям. Для изучения ультраструктуры коронки зубов применяли растровый микроскоп FE Quanta 200 3D. Элементный состав тканей зуба, процентное содержание органических веществ, воды, калия, натрия, магния, кальция, фосфора, исследовали на детекторе регистрации спектров характеристического рентгеновского излучения фирмы EDAX, чувствительность метода 10–13 – 10–15 грамм. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное макроскопическое исследование показало, что анатомическая структура коронки удаленных зубов не изменена. Эмаль изученных зубов имела гладкую, блестящую поверхность без видимых дефектов и патологических изменений. Цвет варьировался от оттенков белого до желто-

коричневого в зависимости от возраста и состояния гигиены полости рта.

На сканирующих электронных микрофотографиях эмали выявлены эмалевые призмы (рис. 1), которые на продольных срезах имели слегка изогнутую волнистую S-образную форму, а на поперечных – вид арок. Диаметр призм, расположенных ближе к дентино-эмалевой границе, был $(3,02 \pm 0,30)$ мкм, что значительно меньше таковых в области поверхности зуба $(5,45 \pm 0,61)$ мкм. Основу эмали составляли крупные кристаллы гидроксиапатита, напоминающие вытянутые неправильные шестиугольники, между которыми сохранялись микропространства. Кристаллические структуры располагались упорядочено: в центральной части призмы лежали практически параллельно длинной оси, а в удаленных участках – веерообразно. Узкий периферический слой «оболочки» или «короны призм» обладал меньшей электронной плотностью. В межпризменном веществе кристаллы лежали перпендикулярно кристаллам призм. Наружный слой – конечная эмаль – чрезвычайно вариабельный по строению: в одних участках обнаружены плотные беспризменные зоны, в других эмалевые призмы достигали самой поверхности зуба.

При сканирующей электронной микроскопии поверхность эмали представлена характерными образованиями в виде неровностей и мелких вдавлений (ямок), создающих структуру на подобии сот. Начальная эмаль – внутренний слой толщиной $(7,50 \pm 2,82)$ мкм – не содержала призм. В области дентино-эмалевого соединения встречались участки с большим содержанием белков и слабо минерализованными эмалевыми призмами: эмалевые пластинки, пучки и веретена.

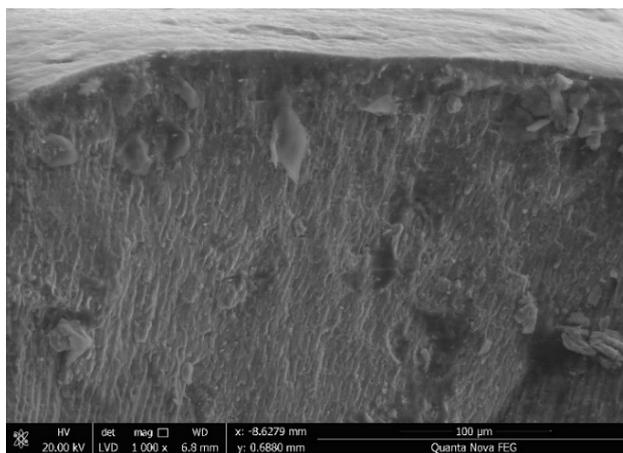


Рис. 1. Эмаль (резец). Сканирующая электронная микрофотография ($\times 1000$)

Дентин коронки зуба содержал межклеточное вещество (обызвествленный матрикс), пронизанное канальцами (трубочками) (рис. 2).

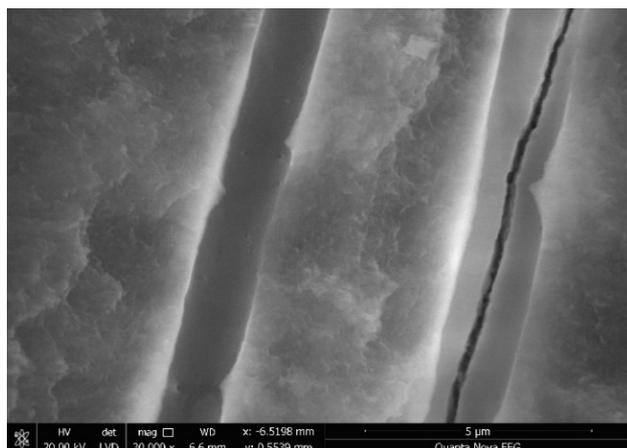


Рис. 2. Дентин (резец). Сканирующая электронная микрофотография ($\times 30\,000$)

В матриксе обнаружены коллагеновые волокна и протеогликаны, кристаллические структуры располагались либо между фибриллами, либо на их поверхности, реже – внутри волокон. Кристаллы в дентине мельче, чем в эмали, они различны по форме: игольчатые в околопульпарной зоне, пластинчатые ближе к дентино-эмалевому соединению. Слегка изогнутые дентинные каналы имели сложное ветвление, плотность их расположения уменьшалась в направлении от пульпы к дентино-эмалевому соединению. Расстояние между каналцами значительно варьировало и составляло от $(5,35 \pm 0,85)$ до $(8,24 \pm 1,85)$ мкм. Стенка каналцев образована более минерализованным перитубулярным дентином, в пространстве между ними располагался менее обызвествленный интертубулярный матрикс.

По результатам элементного анализа (табл.), содержание воды и органических веществ в дентине составило $(12,21 \pm 2,81)$, это достоверно выше, чем в эмали $(4,94 \pm 1,65)$.

Особенности распределения элементов в коронке зуба (резцы), %

Химический состав	Эмаль	Дентин
Вода и органические вещества	$4,94 \pm 1,65$	$12,21 \pm 2,81^*$
Na	$3,86 \pm 0,07$	$3,93 \pm 0,04$
Mg	$1,21 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,04$
P	$27,95 \pm 2,03$	$29,05 \pm 1,56$
Ca	$62,17 \pm 3,52$	$52,41 \pm 2,36^*$
K	$0,81 \pm 0,06$	$1,30 \pm 0,05$

* $p < 0,05$ по сравнению дентина с эмалью.

Концентрация фосфора и кальция в твердых тканях зуба значительно превышает концентрацию других элементов. Количество кальция в эмали $(62,17 \pm 3,52)$ достоверно выше, чем в дентине

$(52,41 \pm 2,36)$. Эмаль и дентин в незначительных количествах содержат и другие минеральные компоненты. Процентное содержание натрия, фосфора и калия в дентине несколько превышает содержание этих элементов в эмали, а магния, напротив, больше в эмали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эмалевые призмы имеют волнистую S-образную форму на продольных срезах и вид арок на поперечном сечении. Диаметр призм у дентино-эмалевой границы составляет $(3,02 \pm 0,30)$ мкм, в области поверхности зуба $(5,45 \pm 0,61)$ мкм. Начальная эмаль имеет толщину $(7,50 \pm 2,82)$ мкм и не содержит эмалевых призм. Дентинные каналы в коронке зуба слегка изогнуты и имеют сложное ветвление. Расстояние между дентинными каналцами варьирует от $(5,35 \pm 0,85)$ до $(8,24 \pm 1,85)$ мкм. Доказано, что содержание воды и органических веществ в дентине достоверно выше, чем в эмали. Процентное содержание натрия и калия больше в дентине, а концентрация магния выше в эмали.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Павлова Т.В., Пешкова Э.К., Колесников Д.А. Клинические наблюдения и анализ стоматологического статуса пациентов с заболеваниями щитовидной железы. *Фундаментальные исследования*. 2012;4(1):97–100.
2. Павлова Т.В., Пешкова Э.К., Марковская В.А. и др. Новые морфофункциональные подходы к изучению твердых тканей зуба при патологии щитовидной железы. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация*. 2013;21(1):90–94.
3. Антонова И.Н., Гончаров В.Д., Кипчук А.В., Боброва Е.А. Особенности морфологического строения неорганической составляющей эмали и дентина зуба человека на наноуровне. *Морфология*. 2014;146(5):52–56.
4. Гончаров В.Д., Антонова И.Н., Кипчук А.В., Скоробогатова А.И. Методика морфологического и морфометрического анализа поверхности эмали зуба человека с помощью атомно-силовой микроскопии. *Морфология*. 2016;150(5):71–76.
5. Вагнер В.Д., Конев В.П., Коршунов А.С. и др. Изучение характера созревания эмалевых призм человека в различные периоды постнатального онтогенеза методом атомно-силовой микроскопии. *Стоматология*. 2021;100(3):19–24.
6. Шумилов Б.Р., Воробьева Ю.Б., Малыгина И.Е., Чертовских А.В. Современные представления о кристаллической структуре гидроксиапатита и процессах возрастных изменений эмали зуба (исследование in vitro). *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2015;4(1):77–86.
7. Вагнер В.Д., Коршунов А.С., Курятников К.Н. и др. Характер обменных процессов в твердых тканях зубов человека в зависимости от их морфологического строения. *Стоматология*. 2022;101(6):7–13. doi: 10.17116/stomat20221010617.

8. Кунин А.А., Моисеева Н.С., Кунин Д.А. Микро- и ультраструктура эмали зуба и ее значение для профилактики кариеса. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2017;2(61):4–8.

9. Леонтьев В.К., Шестель И.Л., Педдер В.В. и др. Ультраструктура и топографическая характеристика капиллярно-пористого пространства интактной зубной эмали. *Институт стоматологии*. 2021;4(93):106–108.

10. Seredin P.V., Ippolitov Y.A., Ippolitov I.Y. et al. Morphology of the human dental enamel. *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2014;16(2):142–146.

REFERENCES

1. Pavlova T.V., Peshkova E.K., Kolesnikov D.A. Clinical observations and analysis of the dental status of patients with thyroid diseases. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental research*. 2012;4(1):97–100. (In Russ.).

2. Pavlova T.V., Peshkova E.K., Markovskaya V.A. et al. New morphofunctional approaches to the study of hard dental tissues in thyroid pathology. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Meditsina. Farmatsiya*. 2013;21(1):90–94. (In Russ.).

3. Antonova I.N., Goncharov V.D., Kipchuk A.V., Bobrova E.A. Peculiarities of the morphological structure of the inorganic component of human dental enamel and dentin at the nano-level. *Morfologiya = Morphology*. 2014;146(5):52–56. (In Russ.).

4. Goncharov V.D., Antonova I.N., Kipchuk A.V., Skorobogatova A.I. Methods for morphological and morphometric analysis of the surface of human tooth enamel using atomic

force microscopy. *Morfologiya = Morphology*. 2016;150(5):71–76. (In Russ.).

5. Vagner V.D., Konev V.P., Korshunov A.S., Kuryatnikov K.N., Skurikhina A.P. Study of the human enamel prisms maturation nature in different periods of postpartum ontogenesis by atomic force microscopy. *Stomatologiya = Stomatology*. 2021;100(3):19–24. (In Russ.).

6. Shumilovich B.R., Vorobyova Yu.B., Malykhina I.E., Chertovskikh A.V. Modern ideas about the crystal structure of hydroxyapatite and the processes of age-related changes in tooth enamel (in vitro study). *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology*. 2015;4(1):77–86. (In Russ.).

7. Vagner V.D., Korshunov A.S., Kuryatnikov K.N. et al. The nature of metabolic processes in human dental hard tissues depending on their morphological structure. *Stomatologiya = Stomatology*. 2022;101(6):7–13. (In Russ.). doi: 10.17116/stomat20221010617.

8. Kunin A.A., Moiseeva N.S., Kunin D.A. Micro- and ultrastructure of tooth enamel and its importance for the prevention of caries. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika = Pediatric dentistry and dental prophylaxis*. 2017;2(61):4–8. (In Russ.).

9. Leontyev V.K., Shestel I.L., Pedder V.V. et al. Ultrastructure and topographic characteristics of the capillary-porous space of intact tooth enamel. *Institut stomatologii = The dental institute*. 2021;4(93):106–108. (In Russ.).

10. Seredin P.V., Ippolitov Y.A., Ippolitov I.Y. et al. Morphology of the human dental enamel. *Kondensirovannyye sredy i mezhfaznye granitsy = Condensed Matter and Interphases*. 2014;16(2):142–146.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Татьяна Васильевна Павлова – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; tvmolgun@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2360-2875>

Любовь Арнольдовна Павлова – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологии, Медицинский институт, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; ✉ Lpavlova1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5537-2157>

Оксана Мирославна Павлова – кандидат педагогических наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ompravlova@inbox.ru, <https://orcid.org/0009-0008-7888-0921>

Хсейно Хазем – аспирант кафедры стоматологии общей практики, Медицинский институт, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; Hossino@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0009-0003-5583-0586>

Всеслав Юрьевич Новиков – научный сотрудник Центра коллективного пользования «Технологии и Материалы», Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; novikov_v@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7734-0535>

Антон Николаевич Каплин – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия; drkaplin46@gmail.com

Анастасия Владимировна Тверская – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Медицинский институт Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия; tverskaya@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2663-8569>

Мария Алексеевна Затолокина – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Курский государственный медицинский университет, Курск; заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия; marika1212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9553-1597>

Статья поступила в редакцию 09.01.2024; одобрена после рецензирования 14.05.2024; принята к публикации 04.06.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Tatyana V. Pavlova – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Histology, Embryology and Cytology, First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia; tvmolgun@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2360-2875>

Lyubov A. Pavlova – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pathology, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia; Lpavlova1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5537-2157>

Oksana M. Pavlova – Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology and Cytology, First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia; ompavlova@inbox.ru, <https://orcid.org/0009-0008-7888-0921>

Khseino Hazem – Postgraduate student of the Department of General Practice Dentistry, Medical Institute, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia; Hossino@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0009-0003-5583-0586>

Vseslav Yu. Novikov – Researcher at the Center for Collective Use "Technologies and Materials", Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia; novikov_v@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7734-0535>

Anton N. Kaplin – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kursk State Medical University, Kursk, Russia; drkaplin46@gmail.com

Anastasia V. Tverskaya – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University Medical Institute, Belgorod, Russia; tverskaya@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2663-8569>

Maria A. Zatolokina – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Kursk State Medical University, Kursk; Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, I.S. Turgenev Oryol State University, Orel, Russia; marika1212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9553-1597>

The article was submitted 09.01.2024; approved after reviewing 14.05.2024; accepted for publication 04.06.2024.