

УДК 616.314.13:576.2

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЭМАЛИ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЗУБА

Ю.А. ИППОЛИТОВ\*

С помощью растровой электронной микроскопии, рентгеноспектрального микроанализа и гистохимических методов исследования изучены морфологические образования эмали, участвующие в обменных процессах твердых тканей зубов.

**Ключевые слова:** эмаль, реминерализация, электронная микроскопия

Эмаль наиболее минерализованная ткань организма. Она содержит 95% минеральных веществ (преимущественно гидроксиапатита, карбонатапатита, фторапатита и др.), 1,2% – органических, 3,8% приходится на воду – связанную с кристаллами, органическими компонентами и свободную [1].

Состав органического содержания зрелой эмали известен очень условно. Jenkins G.N. приводит следующие цифровые данные о содержании органических веществ в эмали премоляров и моляров (в процентах от сухой массы) – нерастворимые белки – 0,3-0,4%, растворимые белки – 0,05%, жиры – 0,6%, цитраты – 0,1% [10]. Самые распространенные белки, около 90% от всей органической фракции – гидрофобные протеины (амелогенины), обогащенные аминокислотами и 10% кислотные белки – энамелины [9].

Эмаль не содержит клеток и не способна к регенерации при повреждении, однако в ней постоянно происходит обмен минеральных ионов, которые поступают в нее как со стороны подлежащих зубных тканей (дентина, пульпы), так и из слюны [2,8]. Одновременно с поступлением ионов (реминерализацией) происходит их удаление из эмали (деминерализация). Эти процессы постоянно находятся в состоянии динамического равновесия. Его сдвиг в ту или иную сторону зависит от многих факторов, в том числе от содержания микро- и макроэлементов в слюне, pH в полости рта и на поверхности зуба [1]. Степень проницаемости эмали неодинакова в различные периоды развития зуба. Она снижается в следующем ряду: эмаль непрорезавшегося зуба → эмаль временного зуба → эмаль постоянного зуба молодого человека → эмаль постоянного зуба пожилого человека.

Механизм проникновения органических соединений в эмаль зуба пока до конца не ясен. В первую очередь следует указать существование специальных морфологических образований для поступления органических веществ и минеральных ионов – это ламеллы. Кроме того, описаны эмалевые пластинки, пучки и веретена – участки эмали, содержащие недостаточно обызвествленные эмалевые призмы и межпризменное вещество, в которых выявляется значительная концентрация белков с высокой молекулярной массой, родственных белку энамилину. [2]

Органический состав матрицы эмали остается и поныне менее изученным по сравнению с ее минеральной фазой.

Поверхность эмали при осмотре характеризуется микрорельефом, образованным перикиматиями и углублениями в виде ямок, которые выявляются при использовании сканирующего электронного микроскопа. Появление новых технологий позволяет на качественно новом уровне изучать строение органической структуры твердых тканей зуба [5,6].

**Цель исследования** – изучение морфологических образований и веществ белковой природы эмали человеческого зуба.

**Материалы и методы исследования.** С помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ) в режиме вторичной электронной эмиссии, а также рентгеноспектрального микрохимического количественного анализа (РМКА) исследована эмаль удаленных по ортодонтическим показаниям зубов у людей в возрасте 17-25 лет. Эмалевая поверхность каждого из 50 зубов исследована при увеличении от 800 до 4000 раз с помощью низковакуумного электронного микроскопа GEOL GSM – 6380 LV производства Японии.

Использование РЭМ позволило получить высокую разрешающую способность без предварительной обработки объектов (зубов) золотом или углеродом, что дало возможность достоверно оценить с помощью РМКА количественный микрохимический анализ микроструктур и образований на поверхности эмали. Изображение и результаты фиксировали с помощью цифровой техники.

Впервые в серии гистохимических исследований проверена гипотеза о наличии в тканях зуба человека «cationного белка» (КБ) и набора его составляющих аминокислот. Учитывая гисто- и цитогенез структур зуба и ранее полученные результаты на материале многослойного плоского частично ороговевающего эпителия слизистой оболочки полости рта, выполнены исследования, в основе которых лежит оригинальная техника приготовления тонких парафиновых срезов цельных зубов и модифицированная гистохимическая технология идентификации КБ с использованием бромфенолового синего [3,4,7].

Гистохимические микропрепараты получены из удаленных зубов по ортодонтическим показаниям. Количественные исследования выполнены на установке «Микротелс-4», где осуществляется оцифровка микротелевизионного изображения в пределах выбранных областей и расчет величин экстинций по точкам. Проводили операции вывода изображения в псевдоцветах на экран дисплея. Участки считывания с необходимыми структурами ограничивались вручную методом работы с квадратом, расчет статистических таблиц проводили автоматически после выбора измеряемых площадей, отражаемых на дисплее. Для решения задачи о репрезентативной выборке использовался метод аккумулированных средних. Изучено 10 премоляров верхней челюсти человека (выборка для дискриминативного анализа и построения матрицы схожести/различимости по Виллокинсону), статистическая обработка осуществлялась с помощью программы STX, длина выборки 100 значений.

Наличие КБ идентифицируется по связыванию структурами декальцинированного зуба молекул бромфенолового синего при значении pH 8,2. Контрольные реакции выполнены с использованием трипана и хлористого тионила для деполимеризации белков и блокады карбоксильных групп «маркерных» аминокислот и КБ. Кроме того, после проведения шик-реакции с периодатным окислением определяли уровень нейтральных гликопротеинов (НГП) в твердых тканях зуба, а также уровень кислого несульфатированного гликопротеина – гиалуроновой кислоты (ГК) по методике Мюллера, как характерных биополимеров «гтаневого барьера».

Исследования проведены в центре коллективного пользования научным оборудованием (ЦКПНО) Воронежского государственного университета при помощи кандидата технических наук Агапова Б.Л., а также в ЦНИИе Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко в морфологическом отделе под руководством проф. Быкова Э.Г.

**Результаты и их обсуждения.** На электронных сканируемых изображениях фрагментов зубов поверхность эмали представлена характерными образованиями в виде неровностей и мелких вдавлений (ямок) диаметром 4-6 мкм и глубиной 0,5-3 мкм. Помимо ямок, микротрещин и валиков микрорельеф эмали представляют углубления в виде отверстий, как бы переходящих в канальцы диаметром до 2 мкм, создавая в совокупности структуру в виде сот. Прицельный количественный микрохимический анализ позволил определить состав химических элементов на поверхности эмали и в устье углубления эмали (рис. 1,2,3,4 и табл. 1,2,3,4). На электронных рис. 3 и 4 представлены сколы эмали, где отчетливо видны кристаллообразные структуры вдоль поверхности эмалевых призм, а также пористая поверхность, напоминающая пустоты в виде канальцев. Количественный анализ пустого пространства в виде канальцев показан в табл. под электронным изображением.

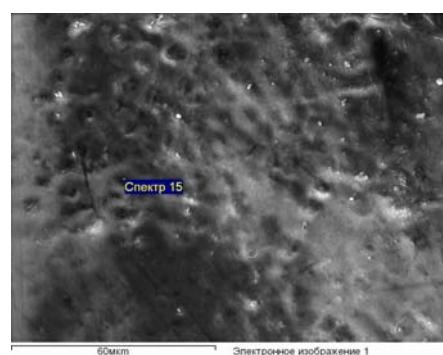


Рис.1. Электронное изображение поверхности эмали.  
Увеличение в 1500 раз.

\* ГОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» 394000 г. Воронеж, ул. Студенческая 10, ГОУ ВПО ВГМА им. Н.Н.Бурденко, тел. (4732) 55-56-19, e-mail: [stomat@vmail.ru](mailto:stomat@vmail.ru)

Таблица 1

## Количественный микрохимический анализ в области эмалевого канальца

Элемент	Весовой %	Атомный%
C	20.54	31.60
O	34.71	40.10
P	19.12	11.41
Cl	0.67	0.35
Ca	35.88	16.54
Итоги	110.92	

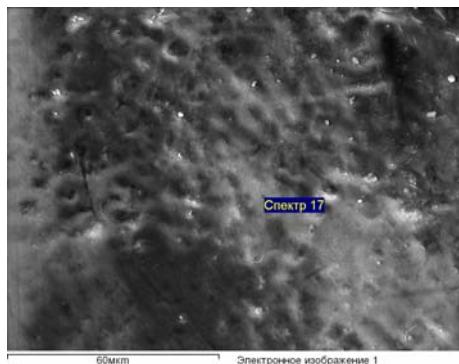


Рис. 2. Электронное изображение поверхности эмали. Увеличение в 1500 раз.

Таблица 2

## Количественный микрохимический анализ в области эмалевого кристалла

Элемент	Весовой %	Атомный%
C	10.24	14.75
O	51.75	55.99
Na	0.69	0.52
P	21.10	11.79
Cl	0.81	0.40
Ca	38.31	16.54
Итоги	122.91	

Таблица 4

## Количественный микрохимический анализ в области эмалевого канальца

Элемент	Весовой %	Атомный%
C	30.23	51.62
Na	0.62	0.55
Mg	0.28	0.23
P	19.06	12.62
Cl	0.43	0.25
Ca	37.11	18.99
O	12.27	15.73
Итоги	100.00	

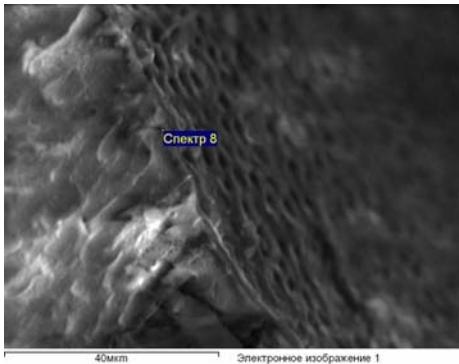


Рис. 3 Электронное изображение скола у поверхности эмали. Увеличение в 2000 раз.

Количественный анализ констатирует увеличение весового процента в эмалевом канальце по углероду, что говорит о повышенном наличии органической составляющей в этом морфологическом образовании, тогда как весовой процент по кальцию, фосфору, хлору и кислороду выше в кристалле апатита эмалевой поверхности, чем в канальце эмалевого кристалла.

Таблица 3

## Количественный микрохимический анализ в области эмалевого канальца

Элемент	Весовой %	Атомный %
C	19.08	30.70
O	38.54	46.56
Na	0.41	0.34
P	14.91	9.30
Cl	0.58	0.32
Ca	26.47	12.77
Итоги	100.00	

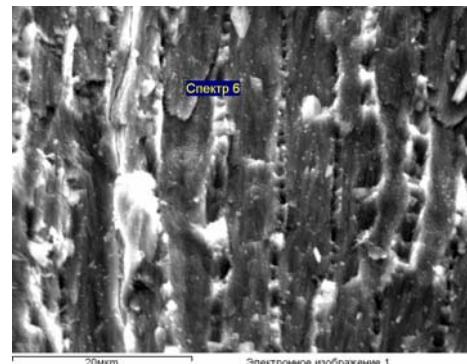


Рис. 4. Электронное изображение скола эмали. Увеличение в 4000 раз.

В гистохимических микропрепаратах белок выявляется во всех отделах зуба и связан со структурами канальцев в дентине и эмали в виде гомогенного окрашивания.

Содержание КБ значительно в структурах эмали - 0,3559+0,01,  $\sigma=0,119$ , а в близлежащем дентине соответствующие значения составили величину 0,1528+0,004,  $\sigma=0,045$ .

Результаты микроденситометрии могут быть основанием для гипотезы о путях формирования защитных сред зуба, патогенетическое значение которых для понимания возникновения и развития кариозного процесса не известно.

Одновременно выполнены исследования по диагностике статистической модели, на основании данных дескриптивного анализа с применением диаграммы распределений на плоскости Пирсона.

Статистическая модель для КБ эмали описывается простым  $\beta$ -распределением.

Кроме того, после проведения шик-реакции с периодатным окислением определен более высокий уровень НГП в эмали прилежащей к дентину, чем в поверхностной эмали.

Высокими вариациями топохимии и содержания отличается ГК – кислый несульфатированный гликопротеин. В эмали определяются высокие реакции этого гликопротеина в межпризматическом веществе, хотя имеет место неравномерность распределения красителя от эмали к дентину.

Если принять во внимание роль углеводно-белковых биополимеров и веществ белковой природы как защитного фактора многослойных плоских эпителиев человеческого организма от бактерии и продуктов их метаболизма, то возможно предположение о выполнении подобной функции и в твердых тканях зуба, а микроскопические пространства, заполненные биополимерами составляют единую диффузную систему обмена минеральных ионов эмали человеческого зуба.

**Вывод.** Таким образом, углеводно-белковые биополимеры и вещества белковой природы обнаруживаются в межпризменных пространствах эмали, играя ведущую роль в процессах обмена в эмали человеческого зуба, образуя физиологический барьер для микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.

## Литература

- Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. М.: Медицина, 1991. 304 с.
- Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека : учеб. пособие / В.Л.Быков. СПб., 1998. 248 с.
- Быков Э.Г. Способ выявления гистидина: Рац. предложение № 1155 от 10.05.1989. Воронеж: ВГМИ, 1989.
- Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. Л.: Медгиз, 1961. 340 с.

5. Особенности микроструктуры эмали и дентина интактных и кариозных зубов / В.К.Леонтьев [и др.] // Материалы конф., посвящ. памяти проф. А.А. Паниковского, окт. 2001 г. М., 2002. С. 59–62.

6. Растворная электронная микроскопия и рентгеноспектральный микронализ структуры и химического состава твердых тканей зуба / А.А.Кунин [и др.] // Современные методы профилактики, диагностики и лечения важнейших заболеваний: материалы программно-целевых исследований к 80-летию ВГМА. Воронеж, 1998. С. 101–102.

7. Шубич М.Г. Распределение катионных биополимеров в эпидермисе кожи человека / М.Г. Шубич // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1973. Т. 65, № 8. С. 8–12.

8. Bergman G. Microscopic demonstration of liquid flow through human dental enamel / G. Bergman // Arch. Oral. Biol. 1963. Vol. 8. P. 233–235.

9. Dental mineralization / M.Goldberg [et al.] // Int. J. Dev. Biol. 1995. Vol. 39. P. 93–110.

10. Jenkins G.N. The physiology and biochemistry of mouth / G.N. Jenkins. 4-th ed. Oxford, 1978. 599 p.

#### HUMAN TOOTH ENAMEL FUNCTIONAL MORPHOLOGY

YU.A. IPPOLITOV

Voronezh State Medical Academy after N. N. Burdenko

Enamel morphological formations participating in hard tooth tissues metabolic processes were studied by scanning electron microscopy, X-ray spectroscopic micro- and quantitative analyses and histochemical methods of examination.

**Key words:** enamel, remineralization, electronic microscopy

УДК 616.12-008.331.1+616.24-092

#### СРАВНИТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА\*

О. М. КОРОЛЬКОВА\*

Обследовано 460 больных с хронической обструктивной болезнью сердца (ХОБЛ), 40 пациентов с постстромбоэмбологической легочной гипертензией, 50 – с застойной левожелудочковой недостаточностью (ЗСЛЖ). Основываясь на математическом анализе, были выделены клинико-гемодинамические группы, отражающие стадии развития патологического процесса и тяжесть болезни. Показана зависимость между гемодинамическими нарушениями правых и левых отделов сердца, снижением функции внешнего дыхания, показателями сатурации кислорода при формировании легочной гипертензии в различных группах. Процессы ремоделирования сердца были наиболее выражены в группах ПТЭЛГ, ЗСЛЖ. Полученные результаты использованы в разработке алгоритмов комплексной терапии легочной гипертензии на различных стадиях процесса.

**Ключевые слова:** легочная гипертензия, гемодинамика, ремоделирование.

До настоящего времени не совсем ясны механизмы формирования, а также дифференциально-диагностические признаки отличия легочной гипертензии (ЛГ) при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), постстромбоэмбологическом синдроме. Проблемой также остается дифференциальный диагноз ЛГ, обусловленный собственно застойной левожелудочковой недостаточностью (ЗСЛЖ). Причинами легочной гипертензии при застойной левожелудочковой недостаточности, обусловленной различными причинами (ишемическая болезнь сердца - ИБС, дилатационная миокардиопатия – ДКМП, и др.) могут быть повышение кровенаполнения легких в результате венозного застоя, а также при определенных условиях – присоединяющаяся рецидивирующая тромбоэмболия в системе легочной артерии. В этом случае уровень ЛГ значительно возрастает (легочное артериальное давление среднее – ЛАДср. >70 мм рт.ст.) [3]. Остаются не до конца решенными вопросы патогенеза и показания к терапии при различных этиологических вариантах легочной гипертензии [2,4].

**Цель исследования** – комплексная гемодинамическая ценка особенностей формирования легочной гипертензии различного генеза.

**Материалы и методы исследования.** На базе пульмонологического отделения Воронежской областной клинической больницы № 1 проведено комплексное клинико-гемодинамическое обследование 42 больным с застойной сердечной недостаточностью, 460 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) различной степени тяжести, 30 больных с постстромбоэмбологической легочной гипертензией (ПТЭЛГ). Гемодинамика исследовалась с помощью современных неинвазивных методик доплерэхокардиографии (ДЭХОКГ), компьютерной ангиопульмографии, а также в некоторых случаях - зондирования правых полостей сердца. ДопплерЭХокардиография проведена на Эхокардиографе Voluson-730 фирмы «General-Electrik» в одно – двухмерных режимах, а также режиме импульсной допплерографии из парастернального, апикального и субкостального доступов с регистрацией комплекса параметров кровотока в аорте и легочной артерии по общепринятым методикам. Среднее давление в легочной артерии определялось по методике Kitabatake A. Диастолическая функция правого и левого желудочков оценивалась по форме транстрикуспидального и трансмитрального потоков соответственно. Фракция выброса правого желудочка (ПЖ) измерялась по методике Рандмара И. Л. с соавт., 1994 с определением:

ПЖс – площадь сечения ПЖ в систолу,

ПЖд – площадь сечения ПЖ в диастолу,

ПЖс

ИПЖ = ----- – индекс изменения площади ПЖ, который ПЖд

по данным авторов, является эквивалентом фракции выброса.

Определение функции внешнего дыхания проведено на бодиплетизмографическом комплексе фирмы «Erich Eger» с регистрацией петли поток – объем с определением показателей: жизненная емкость легких (ЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1), индекс Тиффно, пиковая объемная скорость выдоха (ПОС), мгновенная объемная скорость выдоха при выдохе 25%, 50%, 75% ЖЕЛ, средняя объемная скорость в интервале от 25% до 75% ЖЕЛ (СОС 25-75). Компьютерная томография легких проведена на приборе: Somatom Emotion фирмы «Siemens».

Рентгенконтрастные методы исследования проведены на аппарате фирмы «Siemens».

Анализировалось большое количество показателей, включая sistолическое давление в легочной артерии (СДЛА), диастолическое давление в легочной артерии (ДДЛА), среднее давление в легочной артерии (ДЛАср.), давление заклинивания в легочной артерии (ДЗЛА), общее легочное сосудистое сопротивление (ОЛСС), сердечный индекс (СИ), фракция выброса правого, левого желудочков, толщина задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), толщина передней стенки правого желудочка (ТПСПЖ), sistолическая и диастолическая дисфункция правого желудочка (ПЖ), размер правого желудочка в диастолу (ПЖд), размер левого желудочка в диастолу (ЛЖд), показатели функции внешнего дыхания (ФВД), газового состава крови (в т.ч. сатурация кислорода в капиллярной крови SaO2) и др.

Выделено 5 групп больных (1 – ХОБЛ средней степени (n=180), 2 – ХОБЛ тяжелой степени (n=200). 3 – ХОБЛ крайне тяжелой степени (n=80), 4 – ЗСЛЖ (n=42), 5 – ПТЭЛГ (n=40)). Диагноз ХОБЛ устанавливался на основании анамнеза, клинической картины заболевания, данных комплексного клинико-инструментального обследования в соответствии с «Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Update from 2006» [1]. Причинами застойной сердечной недостаточности зарегистрированы: ИБС: постинфарктный кардиосклероз (n=32); ДКМП (n=18). У всех пациентов наблюдалась хроническая сердечная недостаточность (ХСН) 2-3 функционального класса (ФК). Диагноз тромбоэмболии в системе легочной артерии подтверждался с помощью компьютерной ангиографии рентгеновской ангиографии по показаниям. Отдельно обследована группа контроля – группа 0 (20 здоровых добровольцев). Статистическая обработка цифровых данных проводилась с помощью IBM PC Celeron 2100 с применением пакета программ STATGRAPHICS 5.1 for Windows. Использовались параметрические или непараметрические критерии в зависимости от типа распределения в рядах. Достоверными считались различия при  $p < 0.05$ . С целью сравнительной оценки комплексных показателей гемодинамики, а также корреляционной связи с клиническими и биохимическими показателями

\* Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко Кафедра госпитальной терапии с курсом ревматологии и профпатологии ИПМО, Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, Тел. 8 (4732) 57-96-98