

С.Л. Вотяков, Г.И. Ронь, Д.Р. Борисов, Ю.В. Миндра, А.А. Краснобаев

ОСОБЕННОСТИ РАДИАЦИОННОГО ДЕФЕКТООБРАЗОВАНИЯ В БИОГЕННЫХ АПАТИТАХ

В последнее время все большее внимание ученых привлекает необычный для классической минералогии объект - биогенные минералы [2-5,15], в частности фосфаты кальция из эмали и дентина зубов человека. Развитие этих исследований стимулируется чисто практическими потребностями, в том числе необходимостью решения прикладных экологических задач, связанных с производственной деятельностью человека, воздействием радиационной загрязненности окружающей среды на человеческий организм и на свойства входящих в его состав биоминералов. На основании выполненных работ была показана высокая "чувствительность" материала эмали к радиационным воздействиям, предлагалось использовать ее в качестве биологического палеодозиметра для оценки полученной дозы облучения [1-5,16,17]. Исследования биогенных минералов имеют также и большое фундаментальное значение в связи с познанием механизмов кристаллизации и дефектообразования при РТ-параметрах живого организма, когда идет постоянный обмен веществ, особенно активный для ионов кальция и фосфора. Традиционные методы исследования минералов (химический, термический и рентгеноструктурный анализ) часто оказываются недостаточно эффективными при типизации биогенных разновидностей [10, 13]; в связи с этим актуальной представляется задача применения новых физических методик к изучению структурных дефектов в биогенных минералах. Настоящая работа продолжает наши исследования радиоспектроскопических свойств минералов твердых тканей зуба человека [6,7].

Материалом для исследования послужили зубы пациентов в возрасте от 22 до 50 лет, проживающих в различных экологических условиях на Урале, включая работавших в зоне аварии на Чернобыльской АЭС. Изучены интактные (здоровые) и пораженные кариесом различной глубины и локализации, а также депульпированные зубы. Отделение эмали от дентина осуществлялось визуально: для наведения парамагнитных центров поликристаллические пробы с размером частиц до 0,1 мм облучались рентгеном (трубка БСВ-2 Сu, напряжение - 55 кВ, ток - 10 мА, длительность облучения до 60 минут). ЭПР-исследование выполнено на спектрометре X-диапазона РЭ-1306 при температуре 300 К, масса проб - 20-100 мг. В качестве эталона использовался кристалл MgO:Мп.

Как в эмали, так и в дентине в исходном состоянии зубов пациентов, в том числе работавших в зоне аварии на ЧАЭС и получивших, по независимым оценкам, общую дозу облучения до 0,01 Гр. сигналы ЭПР наблюдать не удается - их интенсивность находится на пределе чувствительности ис-

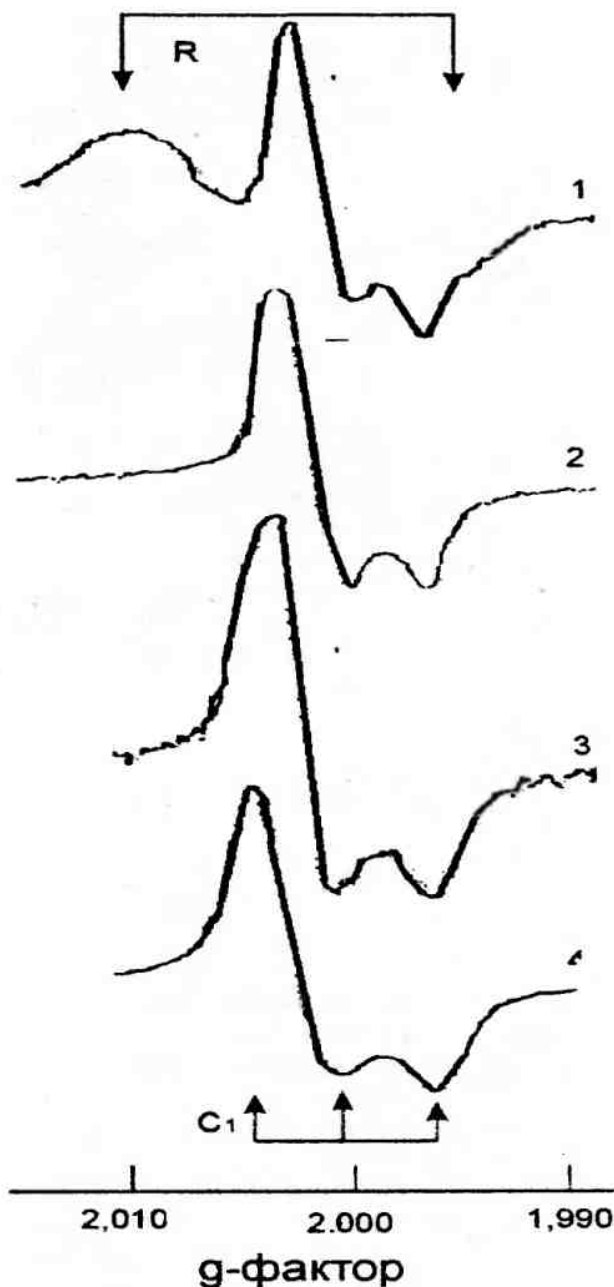


Рис. 1. Типичные спектры ЭПР облученной эмали (1), необработанного (2) и обработанного системой Denthesive II (3) дентина интактного зуба, удаленного по ортодонтическим показаниям у 25-летнего больного М., и молочного зуба, удаленного вследствие физиологической резорбции, у больного К., 6 лет (4). Длительность рентгеновского облучения 60 минут

пользованной аппаратуры. В результате лабораторного рентгеновского облучения во всех образцах наводятся сигналы в области g -фактора $\sim 2,0$, связанные с образованием радиационных ион-радикалов. Спектры, приведенные на рис. 1, типичны для всех изученных нами проб эмали и дентина интактных, кариозных и депульпированных зубов; аналогичный спектр наблюдался и в пробах молочных зубов. Видно (см. рис. 1), что сигнал ЭПР имеет достаточно сложную форму и обусловлен суперпозицией четырех линий: трех узких интенсивных с $g_1=2,003$, $g_2=2,001$, $g_3=1,997$ и существенно менее интенсивной и более широкой с $g_4=2,0$. В ряде образцов в низкополевой части широкой линии выделяется внутренняя структура при $g=2,009$ и $2,012$.

Три интенсивные g_1 - g_3 линии наблюдаются во всех пробах интактных, кариозных и депульпированных зубов пациентов разного возраста, в том числе и детей. Линии обусловлены карбонатными ион-радикалами, образующимися при замещении PO_4^{3-} группировок (изоморфизм А-типа) или анионов OH^- , F^- , Cl^- в каналах структуры гидроксилapatита (изоморфизм В-типа, за CO_3^{2-} -комплексы. Для биогенных апатитов на основе данных ИК-спектроскопии [8, 12, 14] доминирующим полагается изоморфизм В-типа, при этом зарядовая компенсация карбонат-ионов CO_3^{2-} осуществляется как за счет появления катионных или гидроксил вакансий, так и за счет вхождения одновалентных катионов в позиции кальция или гидроксил-ионов вместо PO_4^{3-} тетраэдров. Ранее предлагались различные

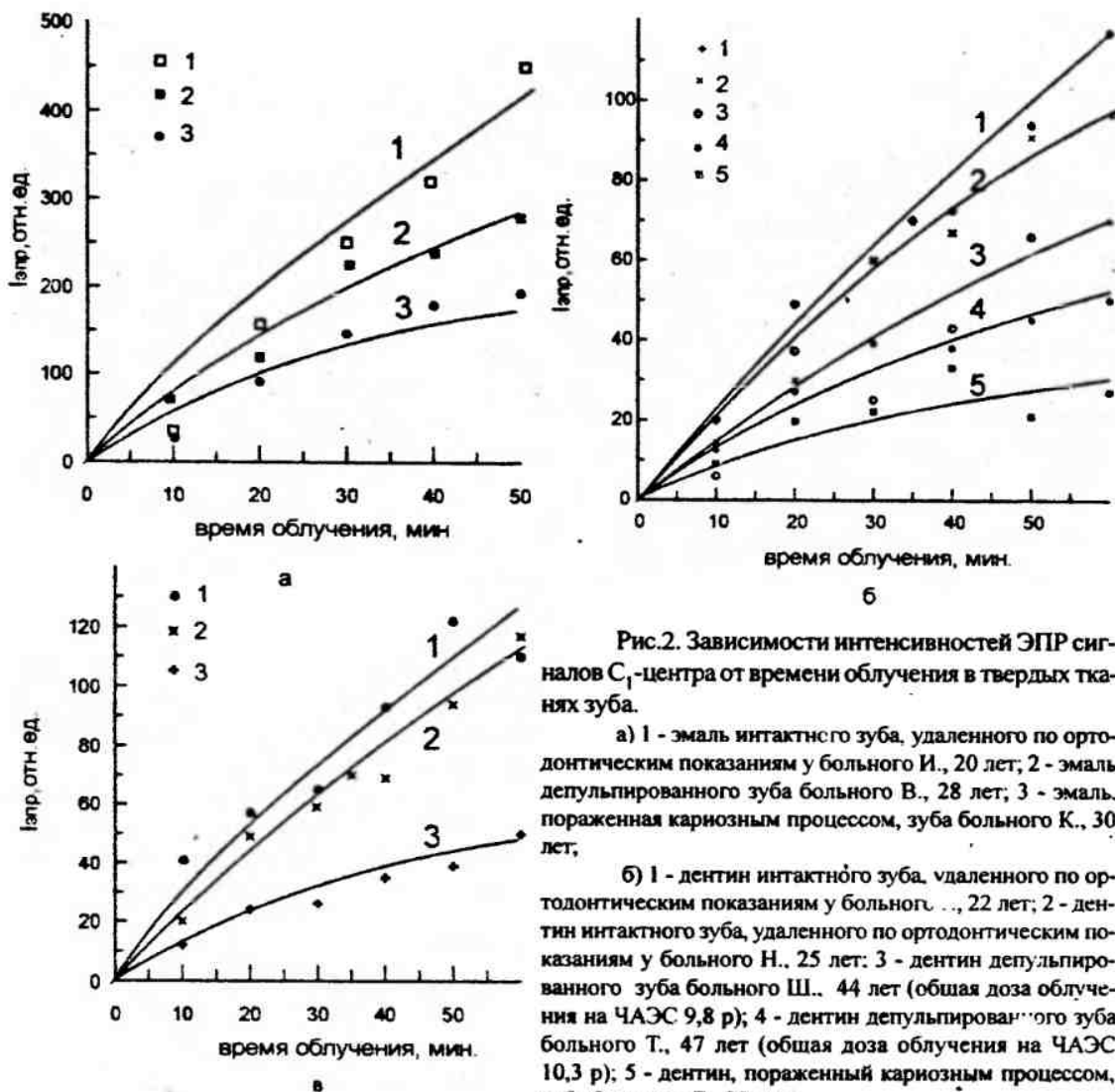


Рис.2. Зависимости интенсивностей ЭПР сигналов C_1 -центра от времени облучения в твердых тканях зуба.

а) 1 - эмаль интактного зуба, удаленного по ортодонтическим показаниям у больного И., 20 лет; 2 - эмаль депульпированного зуба больного В., 28 лет; 3 - эмаль, пораженная кариозным процессом, зуба больного К., 30 лет;

б) 1 - дентин интактного зуба, удаленного по ортодонтическим показаниям у больного ..., 22 лет; 2 - дентин интактного зуба, удаленного по ортодонтическим показаниям у больного Н., 25 лет; 3 - дентин депульпированного зуба больного Ш., 44 лет (общая доза облучения на ЧАЭС 9,8 p); 4 - дентин депульпированного зуба больного Т., 47 лет (общая доза облучения на ЧАЭС 10,3 p); 5 - дентин, пораженный кариозным процессом, зуба больного Л., 20 лет;

в) 1-3 - дентин интактного зуба, удаленного по ортодонтическим показаниям у больного П., 32 лет: 1 - контрольный образец; 2 - образец, обработанный системой Dentheseive II; 3 - образец, обработанный системой One step

структурные и электронные модели карбонатных радикалов. В [2] указывалось, что преимущественный вклад вносится центрами $CO_3^{\cdot-}$, образующимися как при лабораторном облучении *in vitro*, так при облучении *in vivo* по схеме $CO_3^{2-} + e^- \rightarrow CO_3^{\cdot-}$. В последующих работах [4, 5] эти же линии были приписаны ион-радикалам $CO_2^{\cdot-}$, образующимся по схеме $CO_2 + e^- \rightarrow CO_2^{\cdot-}$. Нам не удалось в рамках настоящей работы решить этот дискуссионный вопрос в пользу какой-либо модели ион-радикала, поэтому ниже основной центр, связанный с линиями g_1 - g_3 , обозначен как C_1 . Он возникает после облучения во всех образцах, как в эмали, так и в дентине. Данный факт весьма примечателен, он свидетельствует о том, что различия по фазовому составу и по степени кристалличности минералов твердых тканей зуба (эмали и дентина) не приводят к качественным различиям в типах радиационных точечных дефектов. В тоже время фиксируются значительные количественные различия по интенсивностям сигналов на спектрах ЭПР. Следует напомнить, что эмаль зуба на 95-97 % состоит из неорганического вещества, представленного хорошо окристаллизованным гидроксилатапатитом, который с увеличением возраста пациента замещается на фторатапатит. В состав минеральной фракции дентина (72-75%) входит ряд плохо окристаллизованных нестехиометричных фосфатных минералов кальция, таких, как гидроксилатапатит, витлокит и др. При кариозных поражениях в твердых тканях зуба начинаются процессы деминерализации и дегидратации, вплоть до полного замещения гидроксилатапатита витлокитом; в тканях уменьшается содержание фосфора и кальция (биоминералы в организме человека - депо этих ионов); растет количество хлора и CO_3 -группировок [11, 12]. При этом,

несмотря на указанное качественное структурное разнообразие минеральных видов в эмали и дентине и различие их химических составов, положение на спектре линий карбонатного C_1 ион-радикала не изменяется, т.е. его пространственная конфигурация и электронное строение оказываются практически нечувствительными к изменению дальнего окружения, связанного с изменениями всей матрицы.

С целью выделить типоморфные спектроскопические признаки зубных тканей у пациентов с различным типом и уровнем поражений были изучены динамические характеристики C_1 -центра - поведение его линий в зависимости от дозы облучения и температуры отжига. На рис.2. представлены типичные зависимости интенсивности сигнала C_1 -центра в эмали и дентине различных зубов от времени рентгеновского облучения. Установлено, что в пределах каждого зуба интенсивность C_1 -центра от эмали, независимо от времени облучения, в 1,5-2 раза выше, чем в дентине (дозные зависимости для материала молочных зубов занимают, как правило, промежуточное положение между кривыми для эмали и дентина). Следовательно, содержание карбонатных предцентров в гидроксилпатите эмали, а также их радиационные свойства (способность к перезарядке при облучении) выше. Полученные результаты согласуются с представлениями о минерале, составляющем эмаль, как о высококристаллической низкодефектной стехиометричной разности. Но при этом нами отмечено, что колебания интенсивности наведенного облучением C_1 -центра в эмали зубов различных пациентов достигают 2-3 раз и более, причем интенсивность существенно зависит от состояния зуба: кариозные поражения, а также депульпирование зуба значительно снижают ее величину. В последнем случае процесс обмена осуществляется только посредством взаимодействия со слюной, а обмен через пульпу (кровеносное русло и иннервация) при этом отсутствует. Это отражается как на содержании карбонатных предцентров, так и на их радиационных свойствах. Ранее [11] было показано, что депульпирование зуба приводит к сокращению количества физиологической жидкости в нем и изменению релаксационных процессов на ядрах 1H и ^{31}P , фиксируемых методом ЯМР. Отмечалось также [12], что процессы де- и реминерализации в депульпированных зубах протекают быстрее.

Аналогичные закономерности поведения C_1 -центра в зависимости от времени облучения установлены и для дентина. Здесь колебания интенсивности при фиксированной дозе облучения в зависимости от степени возрастного и патологического изменения дентина вследствие процессов деминерализации и дегидратации достигают почти 6-7 раз, причем с ростом этого изменения интенсивность C_1 -центра уменьшается, т.е. кариозное поражение зуба и особенно его депульпирование значительно меняют свойства дентина из-за нарушения в нем процессов обмена веществ. Полученные данные указывают на ограниченные возможности использования интенсивности сигналов C_1 -центра в палеодозиметрических приложениях, но они открывают возможность применения дозных зависимостей сигналов C_1 -центра как перспективного количественного индикатора степени поражения твердых тканей зуба. Установление статистических закономерностей и связей - задача последующих исследований.

Широкая малоинтенсивная линия g_4 (см. рис.1), обозначенная далее как R-центр, наблюдается на спектрах ЭПР как дентина, так и эмали интактных и кариозных зубов, причем в эмали линия интенсивнее и имеет несколько иную форму. Интенсивность линии R-центра варьирует по образцам нерегулярно и составляет в среднем 6-12% от интенсивности C_1 -центра; с увеличением дозы облучения интенсивность линий обоих центров пропорционально возрастают. Полученные результаты трудно интерпретировать в рамках предложенной ранее [3, 9] модели R-центра, как связанного с радиационными дефектами в органической составляющей (коллагеновых волокнах). Известно [10], что неоднородность зуба по содержанию и свойствам органической составляющей незначительна, т.е. она не может являться причиной наблюдаемых значительных вариаций интенсивности R-центра. По-видимому, линия g_4 элементарна: определенный вклад в нее вносят несколько различных радикалов как в органической составляющей, так и в плохо упорядоченной неорганической.

В последние годы в стоматологической практике активно применяются адгезивные системы предпломбировочной подготовки зуба. Их основу составляют достаточно активные по отношению к минеральной составляющей химические реагенты, приводящие к образованию так называемого "гибридного слоя". Спектроскопических исследований влияния этих компонентов до сих пор не проводилось. Нами изучено воздействие двух адгезивных систем (Denthesive II фирмы Kulzer, One step фирмы Bisco), для чего из материала зуба изготовлялись тонкие шлифы, на поверхность которых поэтапно наносились компоненты систем; полученные данные сопоставлялись с контрольными участками образцов, не подвергавшимся обработке.

На рис.1 приведен типичный спектр дентина интактного зуба после обработки системой Denthesive II и облучения. Сигнал обусловлен суперпозицией трех узких интенсивных линий с g_1 - g_3 , связанных с C_1 -центром, а также малоинтенсивным сигналом от R-центра (обработка адгезивными

системами существенно уменьшала его амплитуды). Учитывая то, что обработка в значительной степени сохраняет органическую составляющую зуба, отмеченный результат свидетельствует в пользу связи R-центра с парамагнитными центрами в неорганической составляющей приповерхностного, так называемого "смазанного" слоя, разрушающегося при обработке адгезивными системами.

Динамика изменения интенсивности C_1 -центров, ее зависимость от времени облучения дентина интактного зуба до и после обработки адгезивными системами показаны на рис. 2 (в). При одинаковой дозе облучения интенсивность сигналов ЭПР всегда выше в образцах, обработанных Dentesive II, чем в обработанных системой One step. Скорость радиационного накопления дефектов в этих образцах также выше и сопоставима с таковой в контрольных. Таким образом, установлено, что применение адгезивных систем приводит к изменению отклика минерала на рентгеновское излучение, наиболее выраженному для системы тотального протравливания One step.

О гео- и техногенных апатитах известно, что при их отжиге до 200-300°С происходит обратимый распад карбонатных ион-радикалов вследствие их перехода в непарамагнитное состояние. Воздействие отжигов на биогенные минералы, слагающие твердую ткань зуба, носит более сложный характер из-за изменения свойств собственно матрицы, в которой локализованы карбонатные группировки, вследствие повышения ее кристалличности, потери воды, разрушения органических слоев и др. Вопросам термостабильности радиационных сигналов ЭПР в эмали большое внимание уделено в последних публикациях А.С. Брика с соавторами [5]. Ими, в частности, было показано для ориентированных пластинок эмали, что в процессе отжига происходит изменение формы суперпозиционного спектра карбонатных группировок и его угловых зависимостей в первую очередь за счет изменения свойств собственно матрицы. Наряду с этим идет распад CO_2^- -центра с его переходом в непарамагнитное состояние, а также увеличение количества CO_2^- -центров, имеющих фиксированную ориентацию в пространстве. Выполненные нами исследования порошковых проб эмали и дентина показали, что в интервале температур отжига 100-500°С форма спектра изменяется, но ее интерпретация не так наглядна и однозначна, как в ориентированных пластинках эмали. Нами отмечено, что при отжиге полностью исчезает сигнал от R-центра, в то время как асимметричная линия от C_1 -центра со значениями $g_1 = 2,003$, $g_2 = 2,001$, $g_3 = 1,997$, как правило, преобразуется в узкую симметричную линию дисперсионной формы ω значением $g = 2,000$. Несомненно, пространственная конфигурация и электронное строение соответствующего ион-радикала иное, чем у карбонатного C_1 -центра. Фиксируется влияние степени поражения зуба. Однако для детального анализа влияния сложной температурной динамики свойств матрицы (степени кристалличности и дегидратаций, состояния ближайших соседей ион-радикала, схем компенсации заряда и др.) на форму спектра в различных зубах требуются дополнительные экспериментальные данные.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 96-05-64532).

Список литературы

1. Бриллиант М.Д., Клевезаль Г.А., Мордвинцев П.И. и др. Определение накопленной дозы гамма-излучения по эмали зуба // Гематология и трансфузиология. 1990. № 12. С. 11-15.
2. Брик А.В., Садуев Н.Б., Ларииков А.Л., Багмут Н.Н. Об изменении ориентации кристаллитов гидроксилapatита в эмали зуба при ее нагревании // Мин. журн. 1993. Т.15, № 1. С. 85-89.
3. Брик А.В., Радчук В.В. Ретроспективная инструментальная // Природа. 1994. № 2. С. 3-11.
4. Брик А.В., Щербина О.И. Минералы биологического происхождения: характеристики карбонатных групп и механизмы их изменения при нагревании образцов // Материалы Международного минералогического семинара "Структура и эволюция минерального мира". Сыктывкар, 1997. С.14-15.
5. Брик А.В., Щербина О.И., Хаскелл Э.Х. и др. О механизмах изменения парамагнитных центров в эмали зубов при нагревании по данным ЭПР. // Мин. журн. 1997. Т.19, № 4. С.3-13.
6. Вотяков С.Л., Ронь Г.И., Борисов Д.Р., Мандра Ю.В. Спектроскопические особенности биогенных апатитов // Тезисы докладов Международной научной конференции "Спектроскопия, рентгенография и кристаллохимия минералов". Казань, 1997. С. 130-131.
7. Вотяков С.Л., Ронь Г.И., Борисов Д.Р., Мандра Ю.В. Радиационное дефектообразование и люминесценция биогенных апатитов // Тезисы докладов международного минералогического семинара "Структура и эволюция минерального вида". Сыктывкар, 1997. С.114.
8. Кнубовец Р.Г. Структурная минералогия апатита: Автореф. дис. ... докт. геол.-минер. наук. М., 1988. 37с.
9. Крутиков В.Ф. Парамагнитные центры в апатите древних фосфоритов // Физика минералов

я их аналогов / Отв. ред. В.М. Винокуров. Л., 1991. С.19-26.

10. *Кораго А.А.* Введение в биоминералогию. С.-Пб. Недра, 1992. 280с.

11. *Кулагин А.П., Лагутина Н.Я.* Изучение структурно - химического состояния твердых тканей интактных и депульпированных зубов методами ядерно-магнитного и ЭПР// Тр. ЦНИИС. 1991. С.30-31.

12. *Лагутина Н.Я., Воробьев В.С., Кулагин А.П. и др.* Влияние депульпирования на состояние твердых тканей зубов // Стоматология. 1990. №2. С. 13-116.

13. *Пальчик Н.А., Григорьева Т.Н. и др.* Кристаллохимический анализ минеральных образований в слюнных железах человека // Материалы Международного минералогического семинара "Структура и эволюция минерального мира". Сыктывкар, 1997. С.158-159.

14. *Физика апатита/ Под. ред. В.С.Соболева.* Новосибирск: Наука, 1975. С. 110.

15. *Юшкин Н.П.* Биоминеральные взаимодействия: от биоминералогии до витаминералогии// Сыктывкарский минералогический сборник. 1997. №26. С. 5-30.

16. *Ikeya M., Miyagawa J., Okajima S.* ESR dosimetry for atomic bomb survivors using shell buttons and tooth enamel // Jap. J. Appl. Phys. 1984. V.24, № 9. P. 697-699.

17. *Ishii H., Ikeya M.* ESP dosimetry of teeth residents close to Chernobyl Reactor accidents.// J. Nucl. and Technol. 1990. V.27, № 12. P. 1153-1157.