

МИНЕРАЛОГИЯ

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ И СОСТАВА ЭМАЛИ ДЕПУЛЬПИРОВАННЫХ ЗУБОВ ЧЕЛОВЕКА

С.Л. Вотяков, Д.В. Киселева, Г.И. Ронь, Г.М. Акмалова,
Е.С. Шагалов, В.Г. Петрищева

Фосфатные минералы, слагающие эмаль и дентин зубов человека, характеризуются сложной переменной микроструктурой и морфологией, непостоянным химическим составом. Свойства эмали и дентина зависят от биогеохимических условий местности проживания, экологических и профессиональных факторов, возраста пациентов, сопутствующих соматических заболеваний и др. Особенности строения и текстуры зубной эмали (значение удельной поверхности и объема, средний размер и форма частиц, пор и др.) определяют ее физико-химические и физиологические свойства – прочность, проницаемость, эффективность процессов обмена и т.д. Морфологическое строение; химический состав и структура эмали являются ведущими факторами, определяющими кариесрезистентность зубов. Необратимый воспалительный процесс в пульпе или депульпирование зуба – наиболее часто встречаемое осложнение кариеса (пульпа – сосудисто-нервный пучок зуба, выполняющий защитную, пластическую и трофическую функции). Воспалительные процессы в пульпе ведут к нарушению стабильности структуры кристаллов гидроксиапатита, определяющих, по сути, резистентность тканей зубов. Необратимый воспалительный процесс в пульпе или депульпирование зуба вызывает нарушения в минеральном комплексе дентина, конечным результатом чего является разрушение кристаллической структуры твердых тканей, сопровождающееся биомеханической неустойчивостью депульпированных зубов.

Для депульпированного зуба сохраняется лишь один канал анионно-катионного обмена с организмом – через слюну в полости рта, в то время как процессы обмена в эмали (ее де- и реминерализация) через пульпарную жидкость и каналы в дентине практически закрыты. Можно предполагать, что при этом в эмали должны начинаться процессы ее «деградации» – изме-

нения микроструктуры, морфологии и состава. Анализ явления деградации эмали во времени – актуальная научная задача, поскольку и до настоящего времени закономерности изменений упорядоченности кристаллической структуры эмали и ее химического состава после депульпирования изучены недостаточно; роль пульпы (и слюнной жидкости) в поддержании упорядоченности кристаллической структуры и химического состава эмали остается дискуссионной.

Цель работы – комплексное исследование изменений микроструктуры и состава зубной эмали человека после депульпирования зубов с использованием методов *in vivo* (электрометрии эмали, кислотной биопсии поверхностного слоя эмали с последующим определением элементов в биоптате комплексометрическим и спектрофотометрическим методами) и *in vitro* (ДТА, ИК-спектроскопическое и масс-спектрометрическое исследование микропримесного состава эмали); выяснение роли пульпы и слюнной жидкости в процессах анионно-катионного обмена в эмали.

Образцы и методы исследования. С целью оценки состояния эмали витальных (живых, леченных по поводу кариеса, где сохранен сосудисто-нервный пучок) и депульпированных (девитальных, леченных по поводу осложненного кариеса с последующим пломбированием корневых каналов) зубов в постпломбировочный период на границе «зуб-пломба» во временном интервале до 2 лет была изучена прижизненная растворимость эмали по методу [Леонтьев, Вершинина, 1981] с определением в биоптате кальция и фосфора. Для оценки краевой адаптации пломб во временной динамике был использован электрометрический метод диагностики с использованием измерительного прибора ЭИ 2333 «СтИЛ». Всего были исследованы 4 выборки образцов: первая и вторая по 75 пломб, выполненных по поводу неослож-

ненного кариеса (витальные зубы) высоконаполненным композиционным материалом «Quixfil» и универсальным композиционным материалом Filtek Z 250, третья (78 пломб) и четвертая (77 пломб), выполненных теми же материалами по поводу осложненного кариеса (депульпированные зубы).

Для 10 типичных образцов эмали депульпированных и витальных зубов от пациентов различных возрастных групп (табл. 1) был выполнен термический анализ (дериватограф Q-1500 D) и ИК-спектроскопическое (ИК-Фурье-спектрометр Spectrum One) исследование, а также масс-спектрометрический анализ микропримесного состава эмали (масс-спектрометр ELAN9000). По групповой принадлежности все исследованные зубы являлись первыми молярами (коренными). Витальные зубы были удалены у пациентов по ортопедическим показаниям; все они являлись интактными (здоровыми, некариозными). Для проведения термического анализа измельченная навеска образца эмали помещалась в платиновый тигель и нагревалась в линейно-программируемом режиме со скоростью 10 °С/мин; исследования проводились в температурном интервале от 30 до 1000 °С в воздушной среде. Для ИК-спектроскопического исследования измельченная до порошкообразного состояния проба массой порядка 1 мг помещалась на металлический стержень с абразивным покрытием; съемка проводилась на приставке диффузного отражения в режиме абсорбции с разрешением 4 см⁻¹ при 30 сканированиях; полученные спектры обрабатывались с использованием программного обеспечения прибора и пакета PeakFit. v4.11. Для масс-спектрометрического исследования навески эмали растворялись во фторопластовых бюксах в 0.3 мл HNO₃ + 3 капли H₂O₂ при слабом нагревании: полученный раствор с добавленным элементом сравнения (индием) количественно переводился в полипропиленовый контейнер объемом 50 мл и доводился водой до метки. Из определяемых в эмали 50 элементов для следующих 11 тяжелых металлов: Rb, Co, Pb, Mn, Cu, Ti, Ni, Ba, Zn, Sr и Fe полученные содержания были выше предела обнаружения.

Электрометрический метод. Нами получены данные электропроводности эмали витальных и депульпированных зубов на границе пломба – твердые ткани зуба как по состоянию, непосредственно, после пломбирования, так и по ди-

Характеристика исследованных образцов

№	Образец	Характеристика зуба, время депульпирования, лет	Пол	Возраст
1	1	В*	Ж	56
2	II	В	Ж	59
3	III	В	М	28
4	16	В	М	60
5	2	Д**, 5,5	Ж	53
6	I	Д, 3,5	Ж	57
7	26	Д, 2,5	М	52
8	F	Д, 0,5	Ж	23
9	M	Д, 1	М	23
10	A	Д, 10	Ж	44

Примечание: *витальный зуб, **депульпированный.

намики изменения за временной интервал до 24 месяцев. Всего было проведено 3050 электрометрических измерений. Установлено, что численные значения электропроводности эмали зубов весьма значительно варьируют как для депульпированных, так и для витальных зубов. Значительный разброс данных отражает, на наш взгляд, индивидуальные особенности строения эмали пациента и особенностей краевого прилегания пломб; для депульпированных зубов электропроводность эмали, по видимому, зависит также от времени, прошедшего с момента депульпирования, и скорости индивидуального процесса деградации эмали. Все это существенно затрудняет анализ полученных экспериментальных данных. Тем не менее анализ усредненных электрометрических характеристик эмали витальных и депульпированных зубов и динамики их изменения во времени (рис. 1а) позволяет сделать некоторые выводы.

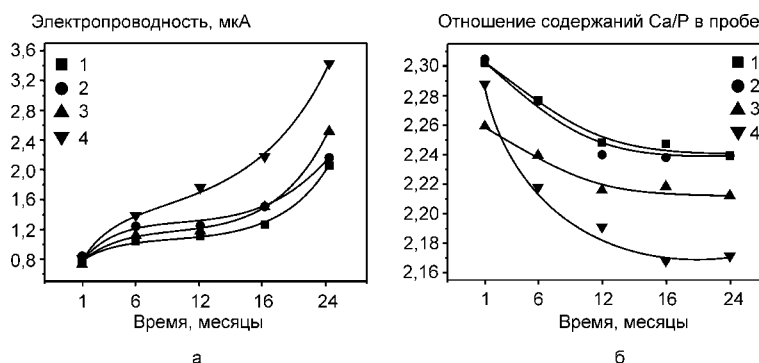


Рис. 1. Динамика изменения электрометрических характеристик (а) и Са/Р отношения (б) в пробах прижизненной биопсии эмали витальных (1, 2) и депульпированных (3, 4) зубов. 1, 3 – материал «Quixfil»; 2, 4 – материал FiltekZ 250.

Кривые изменения средних значений электропроводности эмали зубов от времени (рис. 1а) имеют S-образную форму с областью перегиба в районе 12 месяцев, т.е. за указанный временной интервал устанавливается некоторое квазиравновесное состояние в эмали зуба между процессами де- и реминерализации. Видно, что непосредственно после пломбирования усредненные значения проводимости эмали всех зубов практически совпадают (статистически различия незначимы). Динамика изменения проводимости эмали во времени за период до 24 месяцев зависит как от состояния зуба (витальный, депульпированный), так и от типа пломбировочного материала: для пломб с высоконаполненным композиционным материалом «Quixfil» электропроводность всегда ниже, чем для пломб, выполненных универсальным композиционным материалом Filtek Z 250, при этом в депульпированных зубах с нежизнеспособной пульпой электропроводность эмали зубов всегда выше, чем в соответствующих витальных зубах. Среднеквадратические отклонения средних значений электропроводности эмали зубов варьируют от 0.1 мкА в начальном состоянии пломбы до 1.0 мкА после 24 месяцев. Значительные разбросы средних значений обусловлены тем, что в исследованной выборке представлены пациенты различных возрастных групп, различной резистентности к кариесу, различных уровней гигиены, различных сроков депульпирования. Несмотря на это, для средних значений по выборке устанавливаются определенные временные закономерности изменения электропроводности эмали зубов.

Кислотная биопсия поверхностного слоя эмали. Нами получены экспериментальные данные для 305 проб эмали как после пломбирования, так и по динамике изменения за временной интервал до 24 месяцев. Установлено, что численные значения выхода Са и Р в пробах прижизненной биопсии эмали зубов весьма значительно варьируют как для депульпированных, так и для витальных зубов. Причины значительного разброса данных были проанализированы выше. Тем не менее анализ усредненных значений выхода Са и Р в пробах прижизненной биопсии эмали витальных и депульпированных зубов и динамики их изменения во времени (рис. 1б) позволяет сделать некоторые выводы.

Как непосредственно после пломбирования, так и во временной период до 24 месяцев выход Са и Р в пробах прижизненной биопсии

эмали зубов зависит, во-первых, от состояния зуба (витальный, депульпированный) и во-вторых, от типа пломбировочного материала (для пломб с высоконаполненным композиционным материалом «Quixfil» он ниже, чем для пломб, выполненных универсальным композиционным материалом Filtek Z 250), при этом в депульпированных зубах с нежизнеспособной пульпой содержание Са и Р в биоптатах эмали зубов всегда выше, чем в витальных зубах. В зависимости от времени, прошедшего с момента постановки пломбы, на кривых изменения выхода Са и Р, а также их отношения Са/Р (рис. 1б) в биоптатах эмали зубов наблюдается насыщение после 12 месяцев, т.е. за указанный временной интервал устанавливается некоторое квазиравновесное состояние в эмали зуба между процессами его де- и реминерализации. Полученные нами численные значения отношения Са/Р в пробах прижизненной биопсии эмали зубов существенно отличаются от соответствующего отношения в минеральной компоненте эмали – гидроксиапатите (1.67). По-видимому, это связано со специфичностью механизма растворения эмали, способностью гидроксиапатита противостоять действию кислоты (различной резистентностью эмали к кислотному разрушению). Ранее [Леонтьев, 1977] при исследовании послойной растворимости эмали было показано, что отношение Са/Р варьирует от 0,98 до 1,94, что существенно отличается от полученных нами данных и от соответствующего коэффициента в гидроксиапатите эмали. Следует заметить, что пломбировочные материалы, имеющие в своем составе фтор (например, композиционный материал «Quixfil»), способствуют более быстрой адаптации эмали к пломбированию, корректируя негативные изменения в ее минеральном обмене. Использование этих пломбировочных материалов уменьшает скорость кислотной растворимости эмали по кальцию и способствует повышению содержания кальция в эмали в области краевого прилегания пломб, что увеличивает срок службы пломб.

Термический анализ эмали. Исследовано 10 типичных образцов эмали депульпированных и витальных зубов от пациентов различных возрастных групп (табл. 1). Все пробы эмали характеризуются потерями массы в четырех температурных диапазонах: при 30-250 °С из-за потери адсорбционной воды, находящейся в пористой структуре и на внешней поверхности эмали; при 250-430 °С из-за потери массы при

окислительной деструкции компонентов органической матрицы эмали; при 430-770 °С из-за полного разложения органических веществ, содержащихся в эмали, и при 770-1000 °С из-за потери массы при структурно-химических превращениях в неорганической составляющей эмали (выделения летучих компонентов CO_3^{2-} , Cl^- , F^- и др. [Горбунова и др., 2003] и преобразование нестехиометричного гидроксиапатита эмали в новые минеральные фазы – стехиометричный гидроксиапатит состава $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ и трикальцийфосфат β -модификации [Shi et al, 2005]).

Полученные численные значения потери массы весьма значимо (более чем на 40 %) варьируют как для выборки депульпированных, так и для выборки витальных зубов. Природа значительных колебаний вполне понятна и обсуждалась выше. Установлено, что средние значения в двух изученных выборках различаются: на рис. 2 представлены значения потерь массы эмали витальных и депульпированных зубов в изученных температурных диапазонах. Установлено, что для всей исследованной выборки образцов наблюдается прямо пропорциональная связь между содержанием адсорбционной воды и органической составляющей эмали зубов, причем содержание варьирует по пробам почти в 10 раз. Для витальных зубов характерны более высокие содержания адсорбционной воды и органической составляющей эмали, чем для депульпированных. В диапазонах 30-250 °С и 250-430 °С различия средних потерь массы являются статистически значимыми, что позволяет предположить наличие у витальной и депульпированной эмали некоторых качественных отличий по содержанию адсорбционной воды и органической составляющей. Напротив, средние потери массы для витальных и депульпированных зубов в диапазоне 430-1000 °С близки, причем на основании статистических данных можно утверждать, что различие в потерях массы в этом диапазоне является незначимым при принятой доверительной вероятности ($P=0,95$), а разброс значений обусловлен случайной погрешностью измерений.

Инфракрасная спектроскопия. Исследовано 10 типичных образцов эмали депульпированных и витальных зубов от пациентов различных возрастных групп (табл. 1). Наиболее интересны и информативны в диапазоне 400-4000 см^{-1} три участка спектра, поглощение в пределах которых обусловлено различными

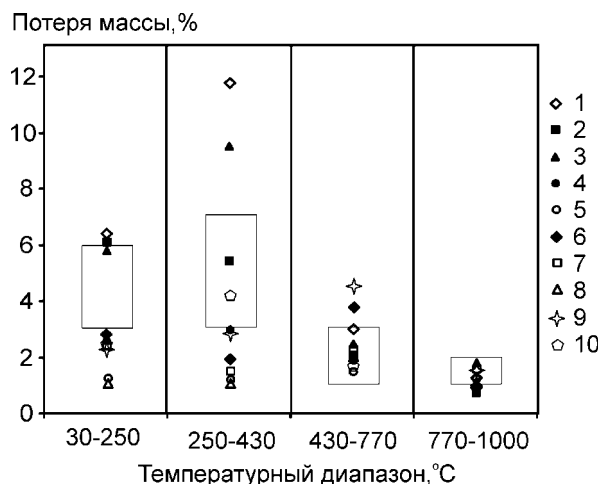


Рис. 2. Величина потери массы (мас. %) в различных температурных диапазонах для эмали витальных (залитые точки) и депульпированных зубов (незалитые точки). Нумерация образцов согласно табл. 1. Выделенные области соответствуют средним потерям массы эмали зубов с различным уровнем резистентности к кариесу согласно [Горбунова и др., 2003].

структурными группировками фосфатных минералов кальция.

Область 400-700 см^{-1} характеризуется наличием полос ИК-поглощения, обусловленных связями в фосфатных PO_4^{3-} группировках. Известно [Surovell, Stiner, 2001], что на параметры полос, характеризующих эти связи, существенно влияет степень кристалличности структуры. Для оценки влияния депульпирования на кристалличность апатита зубной эмали, а также последующей высокотемпературной обработки эмали нами были рассчитаны значения численного параметра инфракрасного расщепления (далее IRSF – infrared splitting factor) полос антисимметричного деформационного колебания ν_4 связи O-P-O с максимумами при 564 и 604 см^{-1} [Shi et al, 2005]. Цитированными авторами отмечалось, что при увеличении степени кристалличности биоапатита пики расщепляются (становятся более «разделенными»), при этом значение IRSF, определенное как отношение суммы интенсивностей пиков к интенсивности впадины между ними $\text{IRSF} = (I_{564 \text{ см}^{-1}} + I_{604 \text{ см}^{-1}}) / I_{584 \text{ см}^{-1}}$, где I – интенсивность соответствующей полосы [Weiner, Bar-Yosef, 1990] (рис.3), увеличивается. Рассчитанные значения параметра IRSF для эмали витальных и депульпированных зубов до и после отжига приведены в табл. 2 и на рис. 4.

Видно, что численные значения параметра IRSF весьма значимо (до 30 %) варьируют как для депульпированных, так и для виталь-

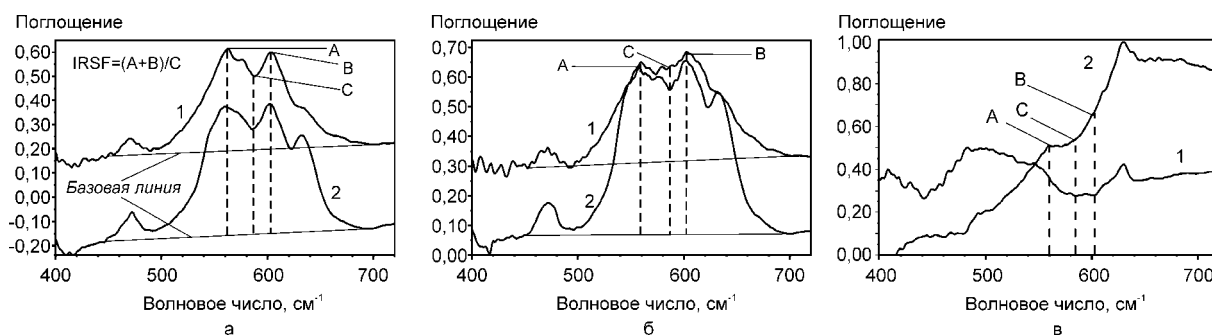


Рис. 3. ИК-спектры витального зуба 16 (а) и депульпированных зубов I (б) и А (в) до (1) и после (2) отжига в области антисимметричного деформационного колебания ν_4 связи О-Р-О и схема расчета параметра инфракрасного расщепления (IRSF) для оценки степени кристалличности гидроксиапатита зубной эмали согласно [Weiner and Bar-Yosef, 1990]. А – высота пика при 564 см^{-1} , В – высота пика при 604 см^{-1} , С – высота впадины между ними. Базовая линия проведена примерно от 450 см^{-1} до 700 см^{-1} .

Таблица 2

Значения параметра IRSF для эмали витальных и депульпированных зубов

Образец	Характеристика зуба	Значение IRSF	
		T=20 °C	T=1000°C
I	Витальный	4,00	2,49
16		2,77	2,48
II		3,16	2,32
III		2,61	2,28
Среднее		3,14	2,39
I	Депульпированный	3,00	2,78
26		2,37	2,33
F		2,36	4,21
M		3,06	3,57
Среднее		2,70	3,22

IRSF после отжига при 1000 °C

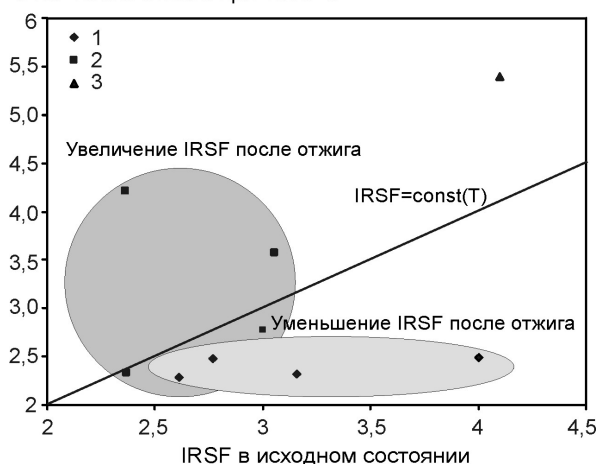


Рис. 4. Соотношение значений фактора инфракрасного расщепления (IRSF) антисимметричного деформационного колебания ν_4 связи О-Р-О зубной эмали в исходном состоянии и после отжига при 1000 °C . Витальные зубы (1), депульпированные зубы (2), данные работы [Shi et al, 2005] (3).

ных зубов. Значительный разброс данных отражает индивидуальные особенности строения эмали пациента, в частности, степень ее кристалличности; для депульпированных зубов кристалличность и, следовательно, параметр IRSF, по-видимому, зависит также от времени, прошедшего с момента депульпирования, и скорости процесса необратимого изменения эмали, ее «деградации» (изменения микроструктуры, морфологии и состава), начинающейся после момента проведения депульпирования. Дегградация эмали развивается в организме пациента достаточно индивидуально: ее степень зависит от его возраста, биогеохимических условий местности проживания, экологических и профессиональных факторов, сопутствующих соматических заболеваний и др. Все это существенно затрудняет анализ получаемых экспериментальных данных. Тем не менее, нами установлено, что в среднем для витальных зубов значение IRSF примерно в 1,2 раза больше, чем в депульпированных; для последних характерно также увеличение этого параметра после термической обработки, что свидетельствует об увеличении степени кристалличности эмали депульпированных зубов после отжига. Напротив, для витальных зубов точки на рис. 5 группируются в области, соответствующей уменьшению параметра IRSF после отжига (его значения не превышают 2,5), т.е. для эмали витальных зубов степень кристалличности при отжиге не увеличивается. Таким образом, фиксируется факт различия степени кристалличности депульпированных и витальных зубов как в исходном состоянии, так и после их лабораторного отжига.

Достаточно аномальны свойства эмали депульпированного зуба А (табл. 1), в частности, это проявляется на ИК-спектрах в области

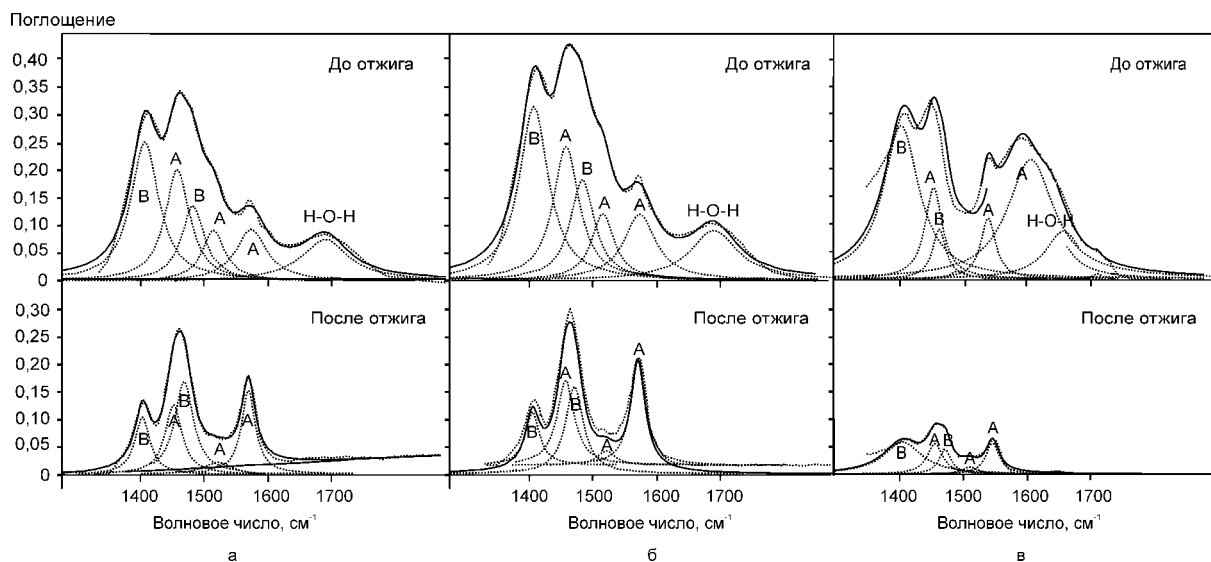


Рис. 5. Особенности ИК-спектра витального зуба 16 (а) и депульпированных зубов 26 (б) и А (в) до и после высокотемпературного отжига при 1000 °С в области О-С-О связи и его разложение на элементарные компоненты лоренцевой формы (разложение проведено в программе PeakFit). А – карбонат-ионы А-типа; В – карбонат-ионы В-типа.

400-700 cm^{-1} : как до, так и после отжига пики 564 и 604 cm^{-1} на спектрах вообще не проявляются (рис. 3в). По-видимому, структура зуба, ее фосфатный мотив характеризуется очень низкой степенью кристалличности, которая и после отжига практически не увеличивается. Можно предположить, что основным фактором, определяющим столь низкую степень кристалличности матрицы, является время, прошедшее с момента депульпирования (10 лет).

Область 1350-1800 cm^{-1} характеризуется наличием полос ИК-поглощения, обусловленных связями О-С-О в карбонат-ионах, замещающих в структуре гидроксиапатита эмали ионы OH^- (замещение А-типа) и PO_4^{3-} (замещение В-типа) [Shi et al, 2005]. В общем случае в спектре выделяется шесть максимумов, соответствующих двум различным типам замещения карбонат-ионов. В этой же области спектра в исходных пробах эмали как витальных, так и депульпированных зубов наблюдается интенсивная полоса молекулярной воды с максимумом 1650 cm^{-1} . Для количественного сопоставления спектров эмали депульпированных и витальных зубов и динамики их изменения при отжиге нами было проведено разложение (с использованием программного пакета PeakFit) профиля суммарного поглощения в этой области на 6 элементарных компонентов лоренцевой формы (рис. 5). Компоненты с максимумами в областях 1452-1456, 1495-1501, 1547-1551 cm^{-1} отнесены к колебаниям карбонат-ионов в А-позициях; в областях 1412-1414,

1469-1472 cm^{-1} – в В-позициях. Для оценки изменения содержания карбонат-ионов в эмали до и после термической обработки нами использовалось отношение интегральных интенсивностей карбонат-ионов А- и В-типа (далее – коэффициент $A/B = I(\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{OH}^-) / I(\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PO}_4^{3-})$). Интегральные интенсивности каждого типа карбонат-ионов рассчитывались путем суммирования площадей соответствующих пиков, полученных при разложении на элементарные ло-

Таблица 3

Отношения интегральных интенсивностей карбонат-ионов А и В-типа в эмали витальных и депульпированных зубов до и после отжига при 1000 °С

Образец	Характеристика зуба	А/В	
		До отжига	После отжига
16	Витальные	0,98	1,02
II		0,50	0,83
III		1,12	1,07
I		0,49	—
Среднее		0,77	0,97
26	Депульпированные	0,95	1,43
I		1,27	2,58
F		0,48	0,75
M		0,88	1,95
A		0,41	0,66
2		0,49	—
Среднее		0,75	1,47

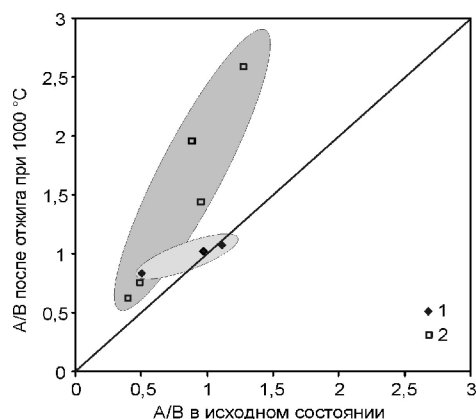


Рис. 6. Соотношение значений отношения интегральных интенсивностей карбонат-ионов А-типа к карбонат-ионам В-типа в зубной эмали в исходном состоянии и после отжига при 1000 °C: 1 – витальные зубы, 2 – депульпированные зубы.

ренцевы компоненты. Результаты расчета приведены в табл. 3 и на рис. 6.

Видно, что численные значения отношения А/В весьма значимо (более чем на 55 %) варьируют как для депульпированных, так и для витальных зубов. Природа колебаний вполне понятна и была обсуждена выше. Несмотря на значительность колебаний, нами установлено, что средние значения в двух изученных выборках различаются. На рис. 6 видно, что точки, соответствующие витальным и депульпированным зубам, образуют два тренда, которые в значительной степени не перекрываются между собой. Вариации отношений интегральных интенсивностей карбонатных группировок до и после отжига в обеих группах зубов достаточно значимые (для депульпированных зубов разброс значений примерно в 5 раз выше, чем для витальных); на наш взгляд, это отражает индивидуальные особенности эмали, степень ее деградации после депульпирования, а также особенности распределения карбонатных ионов между А- и В-позициями. Для эмали витальных зубов при тер-

мической обработке отношение А/В либо не изменяется (пробы 16 и III), либо изменяется незначительно (увеличивается примерно в 1,3 раза, проба II), что может свидетельствовать об устойчивости карбонат-ионов, гидроксильных и фосфатных группировок в минеральной составляющей. Напротив, для депульпированных зубов при термической обработке отношение А/В изменяется достаточно значимо – оно возрастает в 1,5-2 раза и более. Рост отношения А/В при высокотемпературном отжиге свидетельствует о существенном выносе CO_3^{2-} группировок, замещающих фосфат-ионы, вследствие пониженной кристалличности минеральной составляющей эмали в депульпированных зубах и (или) при выносе CO_3^{2-} группировок в позиции гидроксил-ионов. Полученные данные не противоречат ранее выполненным исследованиям [Shi et al, 2005]. Следует отметить, что зуб А, депульпированный 10 лет назад (рис. 5в), характеризуется самыми низкими значениями отношений А/В, что свидетельствует о преимущественном вхождении CO_3^{2-} группировок в В-позиции.

Область 2500-4000 см^{-1} характеризуется наличием полос ИК-поглощения, обусловленных водородными связями во всех типах молекулярной воды (адсорбированной на поверхности и в порах, а также входящей в органическую компоненту эмали) и в гидроксильных группировках, расположенных в гидроксиапатите зубной эмали. Для молекулярной воды характерна широкая неразрешенная полоса поглощения, а для ОН-группировок – достаточно узкие пики поглощения при 3570 и 3497 см^{-1} (рис. 7). Видно, что спектры эмали до отжига характеризуются повышенным содержанием молекулярной воды, а пики гидроксильных группировок носят второстепенный характер. Напротив, после отжига вид спектров качественно изменяется: на них доминируют узкие пики гидроксильных группировок, а полосы молекулярной воды исчезают. Провес-

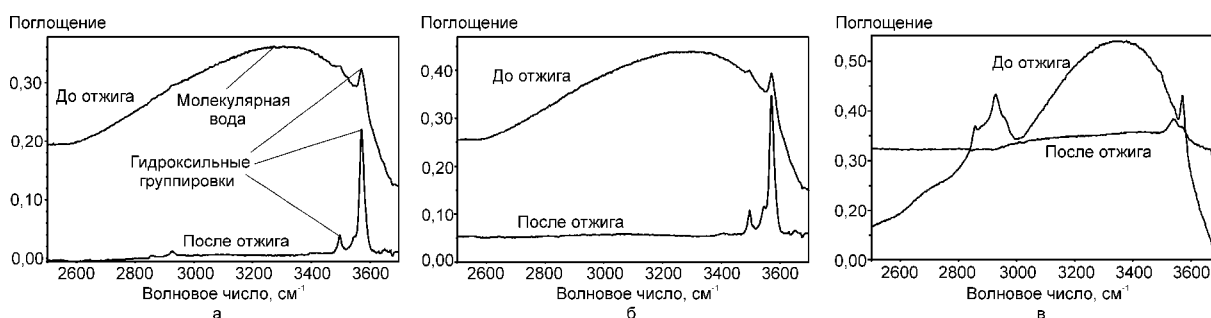


Рис. 7. ИК-спектры витального зуба 16 (а) и депульпированных зубов 26 (б) и А (в) до и после отжига при 1000 °C в области 2600-3600 см^{-1} , характеризующей колебания водородных связей.

Содержание микроэлементов в эмали витальных и депульпированных зубов, мкг/г

№ образца	1	2	I	II	III	16	26	F	M
Навеска, мг	6,1				6,1	7,4	5,8	4,7	4,8
Состояние эмали	После отжига	После отжига	После отжига	После отжига	После отжига	После отжига	После отжига	До отжига	До отжига
Rb	0,220	0,241	0,295	0,211	0,207	0,087	0,092	0,081	0,108
Co	0,537	0,652	0,524	0,663	0,636	0,542	0,586	0,545	0,547
Pb	8,730	2,263	2,763	9,001	–	0,998	1,091	0,584	0,470
Mn	2,525	4,140	3,320	5,983	5,355	1,512	3,490	0,951	0,691
Cu	13,775	4,728	7,004	5,290	4,019	8,255	16,567	0,505	0,352
Ti	7,095	5,002	12,579	11,884	15,255	4,739	8,135	2,769	2,351
Ni	12,457	12,363	17,517	16,689	14,473	12,085	13,470	12,934	12,176
Ba	4,553	2,798	17,821	7,6288	–	9,587	7,670	3,205	4,280
Zn	95,031	337,264	264,960	111,266	75,179	123,771	169,149	189,834	182,147
Sr	129,328	62,722	275,238	135,258	109,940	244,557	105,731	149,721	167,231
Fe	1434,957	1351,801	1200,215	1626,256	1525,683	1355,67	1416,112	1715,115	1704,365

ти количественное сопоставление спектров эмали витальных и депульпированных зубов представляется затруднительным, однако качественно можно отметить, что для витального зуба характерно более высокое содержание воды, чем для депульпированного. Этот вывод вполне согласуется с данными термического анализа.

ICP-MS анализ микропримесного состава зубной эмали. Ранее неоднократно исследовалось содержание главных компонентов (Ca, P) и основных элементов-примесей (Na, Mg, Cl и т.д.) в зубной эмали (см. например, [Цимбалов и др., 2004]). Исследованию ее микропримесного состава посвящено гораздо меньшее число публикаций. Однако известно, что эмаль способна встраивать и накапливать из окружающей среды многие элементы-примеси. Нами исследовано 10 типичных образцов эмали депульпированных и витальных зубов от пациентов различных возрастных групп (табл. 1); для них проведен ICP-MS анализ содержания тяжелых металлов Ba, Co, Ni, Rb, Sr, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb и Ti. При анализе микропримесного состава актуальным является вопрос о форме их вхождения: известно, что может реализоваться как их изоморфное структурное вхождение в позицию Ca в матрице гидроксиапатита ($Me \rightarrow Ca$), так и образование собственных микро- и нанофаз. Из одиннадцати исследованных нами тяжелых металлов все, кроме Ti, находятся, как правило, в двухвалентной форме и входят в число изоморфных примесей, достаточно типичных

для фосфатных минералов кальция. По-видимому, эти элементы не должны образовывать собственных минеральных микро- и нанофаз. Нами предпринята попытка доказать это предположение и косвенно вскрыть форму нахождения катионов тяжелых металлов в эмали депульпированных зубов, используя данные ICP-MS анализа ее состава в исходном состоянии и после отжига при 1000 °C.

Полученные нами содержания тяжелых металлов в эмали витальных и депульпированных зубов до и после отжига приведены в табл. 4. Видно, что содержания весьма значимо варьируют как для депульпированных, так и для витальных зубов. Природа колебаний вполне понятна. Заметим, что согласно [Кораго, 1992], содержание основных элементов Sr, Fe, Cu и Zn составляет 50-400 мкг/г, 8-218 мкг/г, 10-100 мкг/г и 152-227 мкг/г, соответственно, т.е. варьирует весьма значимо.

Сопоставление микроэлементного состава эмали витальных и депульпированных зубов после термической обработки показало следующее: различия между средними содержаниями элементов Rb, Co, Cu, Ti, Ni, Ba и Sr являются статистически незначимыми при принятой доверительной вероятности ($P = 0,95$), а разброс значений обусловлен случайной погрешностью измерений. Значительно больший интерес представляют четыре элемента (Pb, Mn, Zn, Fe), для которых выявлено статистически значимое различие между содержаниями в эмали витальных и депульпированных зубов. Отмеченные двухвалентные катионы вхо-

дят в число изоморфных примесей, типичных для фосфатных минералов кальция и, по-видимому, они не должны образовывать собственных минеральных микро- и нанофаз.

Для выявления закономерностей поведения этих элементов в эмали витальных и депульпированных зубов после термической обработки был применен ассоциативный анализ с использованием метода многократной корреляции [Бурков, Боровиков, 1968]. В рамках данного метода все элементы, формирующие исследуемую совокупность, делятся на две «генеральные» (оппозиционные друг другу) группы; для каждой группы выделяются совокупности элементов, обнаруживающие сходное поведение в объекте исследования. В результате анализа установлено, что для витальных зубов выделяется две генеральные совокупности, находящиеся в оппозиции друг к другу; в пределах каждой из них можно выделить следующие ассоциации: 1) ассоциация цинка с железом, марганцем и свинцом, 2) ассоциация марганца с железом и свинцом, 3) ассоциация железа со свинцом. Напротив, для депульпированных зубов можно выделить следующие ассоциации: 1) ассоциация марганец – железо, 2) ассоциация свинец – цинк, 3) ассоциация марганец – цинк, свинец, 4) ассоциация железо – цинк, свинец.

Анализ содержаний исследуемых микропримесей тяжелых металлов в эмали депульпированных зубов до и после термической обработки при 1000 °C показывает, что после отжига содержание тяжелых металлов изменяется, причем большинство из них имеет тенденцию к увеличению их содержания. По данным статистической обработки результатов изученные элементы можно разбить на две группы. Для проб депульпированной эмали первой группы (Ba, Co, Ni, Rb, Sr и Ti) средние содержания элементов незначимо отличаются между собой до и после отжига, их различия обусловлены только случайной составляющей погрешности определения при доверительной вероятности $P=0,95$. Напротив, в пробах депульпированной эмали для второй группы элементов (Mn, Fe, Cu, Zn, Pb) средние содержания значимо отличаются друг от друга до и после отжига, то есть при термической обработке происходит концентрирование некоторых микропримесей.

Возникает вопрос о причине подобного эффекта. Напомним, что при отжиге при 30-250 °C происходит потеря воды (в среднем для эмали депульпированных зубов 5,3 %); при 250-430 °C

– потери массы из-за деструкции органической матрицы эмали (в среднем 6,4 %); при 430-770 °C – из-за полного разложения органических веществ (в среднем 5,0 %) и при 770-1000 °C из-за потери массы в неорганической составляющей эмали (в среднем 2,5 %). Таким образом, общие потери массы при отжиге до 1000 °C составляют от 5,2 % до 22,4 % (в среднем 12 %), т.е. рост содержаний микроэлементов Ba, Co, Ni, Rb, Sr, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb и Ti за счет убыли массы должен быть не более 14 % в предположении, что привноса-выноса микроэлементов при отжиге не происходит. Напротив, нами экспериментально установлено, что средние содержания элементов Ba, Co, Ni, Rb, Sr и Ti незначимо отличаются до и после отжига, т.е. при отжиге эти микроэлементы частично «теряются» (испаряются). По-видимому, можно исключить связь потерь этих элементов с низкотемпературными процессами при 30-430 °, более вероятным представляется связь с отгонкой органической составляющей эмали и структурно-химическими превращениями неорганической составляющей эмали. Опираясь на эту закономерность, можно сделать косвенный вывод о форме нахождения этих элементов в органо-минеральной матрице эмали на границе минерал–органическая составляющая. Элементы Ba, Co, Ni, Rb, Sr и Ti входят, по-видимому, в форме металл-органических соединений или собственных микро- и нанофаз.

Средние содержания элементов Mn, Fe, Cu, Zn, Pb при термической обработке увеличиваются, что и должно происходить при их вхождении в структуру фосфатных минералов. По-видимому, эти элементы достаточно прочно встраиваются в структуру гидроксиапатита эмали и не выходят из нее даже при температурной обработке при 1000 °C. Некоторое превышение роста содержания этих элементов после отжига относительно прогнозируемого может быть обусловлено неконтролируемым привносом микроэлементов в процессе отжига в платиновых тиглях дериватографа.

Обобщенные данные клинических исследований и физико-химических характеристик эмали витальных и депульпированных зубов приведены в табл. 5.

Таким образом, впервые с привлечением современных аналитических инструментальных методов *in vivo* и *in vitro* (электрометрии эмали, кислотной биопсии поверхностного

Таблица 5

Обобщенные данные клинических исследований и физико-химических характеристик эмали витальных и депульпированных зубов

Характеристика	Метод исследования	Витальные зубы	Депульпированные зубы
Клинические характеристики	Визуальный	Хорошее прилегание пломб через 24 месяца в 50 %.	Хорошее прилегание пломб через 24 месяца в 23 %.
Проводимость эмали в области краевого прилегания пломбы	Электрометрия, ЭИ 2333 «СТИЛ»	Увеличение со временем ¹ средних значений электропроводности от 0,78 до 2,05 мкА для материала «Quixfil» и от 0,84 до 2,16 мкА для материала Filtek Z 250	Увеличение со временем ¹ средних значений электропроводности от 0,73 до 2,52 мкА для материала «Quixfil» и от 0,81 до 3,43 мкА (на 24 месяц) для материала Filtek Z 250
Содержание кальция и фосфора в эмали в области краевого прилегания пломбы	Прижизненная биопсия эмали зубов, методика Леонтьева-Дистеля	Увеличение со временем ¹ содержания кальция (до 193,5 мкМ/л) и фосфора (до 86,5 мкМ/л), уменьшение молярного коэффициента кальций-фосфор (до 2,23) для материала «Quixfil»; кальция (до 195,7 мкМ/л) и фосфора (до 87,3 мкМ/л), уменьшение молярного отношения кальций-фосфор (до 2,24) для материала Filtek Z 250	Увеличение со временем ¹ содержания кальция (до 197,7 мкМ/л) и фосфора (до 89,2 мкМ/л), уменьшение молярного коэффициента кальций-фосфор (до 2,22) для материала «Quixfil»; кальция (до 201,8 мкМ/л) и фосфора (до 92,6 мкМ/л), уменьшение молярного отношения кальций-фосфор (до 2,18) для материала Filtek Z 250
Средние потери массы эмали при нагревании до 1000 °С	Термический анализ, дериватограф Q-1500 D	4,3 % в диапазоне 30-250 °С (потери адсорбционной воды); 4,9 % в диапазоне 250-430 °С (потери органической составляющей эмали)	2,7 % в диапазоне 30-250 °С (потери адсорбционной воды); 3,8 % в диапазоне 250-430 °С (потери органической составляющей эмали)
Степень кристалличности (упорядоченности) структуры. Относительное содержание основных структурных единиц эмали: фосфат-ионов, карбонат-ионов, гидроксил-ионов	Инфракрасная спектроскопия, ИК-Фурье спектрометр SpectrimOne	Высокая кристалличность структуры, ее уменьшение после термической обработки. Повышенное содержание гидроксил-ионов. Схемы вхождения в структуру карбонат-ионов не изменяются при отжиге.	Пониженная кристалличность структуры, ее увеличение термической обработки. Пониженное содержание гидроксил-ионов. Схемы вхождения в структуру карбонат-ионов изменяются при отжиге: увеличение доли карбонат-ионов в позициях фосфат-ионов.
Содержание микропримесей в эмали: Rb, Co, Cu, Ti, Ni, Ba, Sr Pb, Mn, Zn, Fe	Масс-спектрометрический анализ, ИСП-масс-спектрометр ELAN9000	Термически обработанные пробы: Содержание цинка 101 мкг/г Содержание железа 1485 мкг/г Содержание свинца 6 мкг/г	Термически обработанные пробы: Содержание цинка 257 мкг/г Содержание железа 1322 мкг/г Содержание свинца 2 мкг/г

Примечание. ¹Все кинетические данные приведены на 24 месяца.

слоя эмали с последующим определением кальция и фосфора в биоптате, ДТА, ИК-спектроскопического и масс-спектрометрического исследований микропримесного состава эмали) изучены особенности структуры и состава эмали витальных и депульпированных зубов. Экспериментально доказано, что состав и структура эмали витальных зубов существенно отличается от таковых для депульпированных аналогов. Для последних сохраняется лишь один канал ионного обмена с организмом – через слюну в полости рта, в то время как процессы обмена в эмали через пульпарную жидкость и каналы в дентине практически закрыты. Полученные нами данные указывают на то, что роль пульпы в поддержании упорядоченности кристаллической структуры эмали является достаточно значимой, если не ведущей. Очевидно, что процесс необратимого изменения эмали, ее «деградации», начинающейся после проведения депульпирования, развивается в организме пациента достаточно индивидуально: он зависит от его возраста, биогеохимических условий местности проживания, экологических и профессиональных факторов, сопутствующих соматических заболеваний и др. Все это существенно затрудняет анализ получаемых экспериментальных данных. Тем не менее, при статистическом подходе удается выделить некую единообразную временную динамику деградации эмали депульпированных зубов; ее характеристический временной интервал составляет порядка года. Этот интервал связан со скоростями необратимых кристаллохимических преобразований в фосфатных минералах, слагающих эмаль.

*Работа выполнена в рамках программы
Президиума Российской академии наук
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУКИ – МЕДИЦИНЕ»,
подпрограммы №2 программы
фундаментальных исследований Президиума*

*РАН «Происхождение и эволюция биосферы»,
гранта РФФИ 04-05-64346, гранта Президента
РФ «Поддержка ведущих научных школ» НШ-
4210.2006.5 и гранта Минобразования
РНИП.2.1.1.1840, а также при финансовой
поддержке целевой научно-исследовательской
программы «Молодежные научные гранты»
УрО РАН.*

Список литературы

- Бурков Ю.К., Боровиков Л.И.* Корреляционный анализ закономерностей распределения малых элементов для решения вопросов седиментогенеза // Междунар. геолог. конгресс, XXIII сессия. Доклады советских геологов. М.: Наука, 1968.
- Горбунова И.Л., Недосеко В.Б., Дроздов В.А., Антоничева Н.В.* Исследование термоустойчивости интактной зубной эмали у лиц с различным уровнем резистентности к кариесу // Стоматология. 2003. № 3. С. 4-8.
- Кораго А.А.* Введение в биоминералогия СПб.: Недра, 1992. 75 с.
- Леонтьев В.К.* Механизмы декальцинации эмали и ее способность противостоять растворению // Стоматология. 1977. № 10. С. 72-75.
- Леонтьев В.К., Вершинина О.И.* Методы последовательного и совместного определения Са и Р в биоптатах из эмали зубов. // Стоматология. 1981. № 5. С.22-23.
- Цимбалистов А.В., Пихур О.Л., Франк-Каменицкая О.В., Голубцов В.В., Плоткина Ю.В.* Результаты исследования морфологического строения, химического состава и параметров кристаллической решетки апатитов твердых тканей зубов // Научные исследования в стоматологии. Т. 2. 2004. С. 60-63.
- Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U.* Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: Decomposition and transformation of carbonate groups // Eur. J. Mineral. 2005. V.17. P. 769-775.
- Surovell T.A., Stiner M.C.* Standardizing infrared measures of bone mineral crystallinity: an experimental approach // J. Archaeol. Sci. 2001. V. 28. P. 633-642.
- Weiner S., Bar-Yosef O.* States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: a survey // J. Archaeol. Sci. 1990. V. 17. P. 187-196.