

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЗУБНОЙ ТКАНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ

Карлина И.С.

*г. Москва, ФГАОУ ВО Первого МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет). РЦ «Медицинский Сеченовский Предуниверсарий», II класс*

*Руководители: Прокопов А.А., зав. кафедрой общей и биоорганической химии,
профессор, член корреспондент Академии инженерных наук им. А.М. Прохорова,
ФГОУ ВПО «Московский государственный университет» им. А.И. Евдокимова
Министерства здравоохранения РФ, г. Москва;
Доброхотов Д.А., доцент, преподаватель, кандидат фармацевтических наук,
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ, г. Москва*

В настоящее время начинает развиваться такая самостоятельная отрасль судебной медицины как судебная стоматология. В центре внимания судебной стоматологии находится идентификация личности по остаткам зубов. Это возможно благодаря тому, что зубной состав каждого человека индивидуален и у большинства людей имеются свои более или менее заметные отклонения от нормы в составе зубной ткани. При идентификации личности смотрят также и на наличие патологических процессов или образований.

Известно, что с течением времени состав зубной ткани может меняться. И судебные стоматологи учитывают это. Недавно обнаружили, что изменение состава зубов зависит не только от времени нахождения остатков в земле, но и от уровня кислотности pH окружающей его земли. Но пока не было проведено исследований, показывающих зависимость изменения состава зубной ткани от значения pH среды.

Именно поэтому я считаю, что результаты, полученные в ходе моего исследования, смогут помочь в дальнейшем развитии судебной стоматологии.

Цель проекта: определить изменение соотношений некоторых элементов зубной ткани в растворах с разной кислотностью среды.

Задачи проекта:

- 1) Изучить химический состав и физические свойства зубной ткани;
- 2) Провести эксперимент: сравнить состав зубов, находившихся в буферных растворах с разным уровнем pH;
- 3) На основании данных, полученных в ходе эксперимента, сделать выводы.

Теоретическая часть

Судебная стоматология

Для судебных стоматологов очень важным показателем является уровень кислот-

ности среды, в которой находился зуб. Поэтому эти знания необходимо развивать, чтобы судебные стоматологи могли проводить более точные исследования.

Объектами судебной стоматологии являются части лицевого скелета, зубы, зубные протезы, органы и ткани полости рта и т.д. Среди судебно-стоматологических вопросов, подлежащих разрешению, наиболее частыми являются вопросы, связанные с проведением идентификационных исследований с целью установления личности.

При идентификации личности, когда объектами исследования являются костные останки или любые обугленные и мелкие части трупов стоматологические методы отождествления личности нередко являются ведущими, поэтому продолжают интенсивно совершенствоваться. В указанных условиях особую ценность приобретают зубы, в связи с их стойкостью к различным неблагоприятным физико-химическим факторам, температуре, природным неблагоприятным факторам.

Доказательная значимость судебно-стоматологических исследований при идентификации личности в значительной мере зависит от правильности выбора методов их последовательного и рационального сочетания, знаний основ криминалистической идентификации, от учета степени изменчивости свойств объектов и их признаков. При этом следует помнить, что при отождествлении особенно важными являются специфические детали идентифицируемого объекта, которые могут оказаться решающими.

Общеизвестно, что элементный анализ биологического материала человека, в том числе зубной ткани, позволяет определять видовую принадлежность останков, возраст, экологические условия проживания, этно-территориальную принадлежность, некоторые группы заболеваний. Но привлекательность элементного состава зуб-

ной ткани в качестве идентификационного признака наталкивалась до сих пор на серьёзные научные проблемы из-за разнообразия проб и строгих требований к их репрезентативности, а также ограниченности аналитических методов, применяемых в судебной экспертизе. Появившиеся в последние годы публикации дают основание рассматривать безэталонную масс-спектрометрию и масс-спектрометрию с индуктивно связанной аргонной плазмой в качестве новых методов, перспективных для элементного анализа зубной ткани в широком диапазоне при решении экспертно-идентификационных задач.

Химический состав эмали зубов

Эмаль зуба образована из амелобластов. Каждый кристалл эмали имеет гидратный слой, благодаря которому осуществляется ионный обмен. Сформированная эмаль зуба – это нерегенерирующаяся ткань, не содержащая клеток и клеточных элементов.

Эмаль зуба – самая твердая ткань в организме человека. В среднем толщина ее колеблется между 2,8 и 3,0 мм в зависимости от степени зрелости, химического состава. Основной структурный элемент эмали зуба – неорганические вещества (93-98% массы). Вторым по объему компонентом эмали является вода: данные о ее количестве колеблются между 1,5 и 4% массы. Эмаль также содержит органические соединения, в частности протеины и липиды. На состав эмали влияют питание, возраст и другие факторы. Ее составные части – это апатиты нескольких типов, основным из которых является гидроксипатит. Кроме того, в эмали зуба выявлено свыше 40 микроэлементов. Некоторые из этих микроэлементов попадают в полость рта только в результате стоматологических вмешательств, другие (например, олово и стронций) можно рассматривать как следствие влияния окружающей среды. Наряду с указанными соединениями в эмали в незначительном количестве выявлено ряд кальциево-фосфатных соединений, например, октакальцийфосфат. Вода содержится в зубной эмали в двух формах. Первая – связанная вода (гидратная оболочка кристаллов), вторая – свободная вода, располагающаяся в микропространствах. Свободная вода может при нагревании испаряться. Но эмаль способна впитывать воду при поступлении влаги. Это свойство можно использовать как объяснение определенных физических явлений при возникновении кариеса или его предупреждении. Эмаль зуба функционирует как «молекулярное сито», а эмалевая жидкость служит переносчиком молекул и ионов. Меньшая

часть органической субстанции зрелой эмали состоит из протеина (58%), липидов (48%) и незначительного количества углеводов, цитрата и лактата. Большая часть органических веществ находится во внутренней трети эмалевой оболочки в форме эмалевых пучков.

Элементный состав зуба

Известно, что состав зубной ткани может быть непостоянным, меняться под воздействием различных факторов как внутренних, так и внешних. В норме состав зубной ткани более чем на 50% состоит из неорганических солей (приложение 2). Но из-за того, что в настоящее время наблюдается загрязнение воздуха и воды, в составе зубной ткани увеличивается содержание фтора и магния, а содержание кальция, наоборот, уменьшается.

Эмаль покрывает всю поверхность коронки зуба. От ее свойств зависит прозрачность зуба и его блеск. Наиболее тонкий слой эмали в пришеечной области. Химический состав эмали может несколько различаться. Ее состав зависит от возраста зуба, особенностей окружающей среды и даже от привычек питания человека и места его проживания.

Главными элементами структуры эмали считаются кальций Са и фосфор Р и их химические соединения. Содержание кальция от массы всей эмали составляет до 37%, а на фосфор приходится 18%. Кроме них в свободном состоянии или в химических соединениях в эмали находится до 20 различных микроэлементов. Это железо Fe, сера S, цинк Zn, селен Se, на долю которых приходится более 1,0 мг/кг. Несколько меньше марганец Mn, медь Cu, бром Br, свинец Pb, рубидий Rb, никель Ni, магний Mg, кадмий Cd. И еще меньше до 0,1 мг/кг – титан Ti, вольфрам W, цезий Cs, висмут Bi. Органические вещества содержатся в небольшом количестве.

Все химически чистые фосфаты кальция имеют белый цвет. Большинство фосфатов кальция малорастворимы в воде, зато все они растворимы в кислотах. Главное отличие биологического апатита от просто апатита заключается в их химическом составе. Многочисленными исследованиями установлено, что в биологическом апатите часть ионов кальция, фосфата или гидроксида замещена другими ионами, например, вместо ионов кальция могут находиться ионы стронция, магния, натрия или калия; ионы фосфата частично замещены ионами карбоната. Примечательно, что многие ионы-заместители имеют отличную от исходных ионов величину заряда. Компен-

сация электрических зарядов в биологическом апатите происходит путем образования необходимого количества ионных вакансий, что приводит к нестехиометрическому химическому составу биологического апатита, поэтому невозможно говорить о точном химическом составе биологического апатита. Более того, химический состав сильно зависит и от вида твердой ткани.

Изменение химического состава зубной ткани при воспалительном процессе

В норме зубная ткань состоит из неорганических солей кальция. Но при воспалительных процессах ее состав может изменяться. Как известно, при кариесе уменьшается содержание фосфатов и органических веществ (белков) и увеличивается содержание карбонатов. Эти данные могут помочь создать более эффективную диагностику кариеса на ранних стадиях развития. Например, метод ИК-спектроскопии.

В норме микроэлементный состав зубной ткани представлен определенными пропорциями кальция, фосфора, магния, калия, натрия, фтора. Так в здоровом зубе содержание кальция в эмали равно 42,21%, в дентине – 40,37%. А в пораженной кариесом эмали и дентине снижается и равно соответственно 10,52 и 5,7%. Также снижается отношение Ca/P с 2 до 1,08. Стоит отметить, что это отношение определяет резистентность к кариесогенным факторам. И если оно опускается до значения 1,33 или опускается ниже его, то происходит разрушение кристаллов гидроксиапатита.

Практическая часть

В настоящее время судебная стоматология только начинает развиваться. Это связано с тем, что до этого времени не было хорошего и современного оборудования, с помощью которого можно было бы проводить исследования и идентифицировать личность. (Сейчас же уже создано достаточно нового оборудования). Сейчас главной задачей для дальнейшего развития судебной стоматологии как самостоятельного направления в судебной медицине является интенсивное внедрение в практику экспертизы новейших достижений в области физико-химических методов анализа, а в первую очередь – спектральных. Эти методы обладают очень хорошими возможностями, о которых будет сказано далее. Отечественные ученые, работающие в области судебной медицины, в настоящее время работают над разработкой приоритетных научных направлений в области медико-криминалистической идентификации личности, к которым относятся способы судебно-меди-

цинской реконструкции костного вещества (например, эмиссионный спектральный анализ, ИК-спектроскопия, рентгено-флуоресцентный анализ). Поэтому актуальным и перспективным для судебно-медицинской экспертизы являются следующие направления в судебной стоматологии, развитие которых зависит от использования аналитических возможностей спектральных методов:

- 1) Диагностика признаков человека по элементному составу зубной ткани;
- 2) Изучение цветовых характеристик зуба и их динамики в интересах судебно-медицинской экспертизы.

Плюс использования безэталонной масс-спектрометрии в том, что данный метод позволяет получить количественное значение концентраций всех элементов Периодической системы в широком динамическом диапазоне. Именно поэтому в настоящее время данный метод рассматривается в качестве нового и перспективного способа элементного анализа зубной ткани. Такие возможности пока мало где-либо использовались. Но с помощью метода безэталонной масс-спектрометрии можно проводить различные исследования для установления зависимости содержания химических элементов и их индексов по отношению друг к другу в тканях зуба от времени места захоронения трупа.

Для судебных медиков продолжительное время представляют особый интерес посмертное изменение окраски зубной ткани и характер пигментации зубов. В литературе описаны многочисленные попытки использовать цветовые характеристики зуба в качестве судебно-идентификационного признака, которые пока не нашли широкого признания среди судебных медиков. Были сделаны только первые шаги в установлении корреляционных отношений между цветовыми характеристиками зубной ткани и обстоятельствами захоронения трупа. Цвет ткани зависит, в частности, от её элементного состава, который в настоящее время уже может быть точно определён с помощью лазерной масс-спектрометрии. С другой стороны, достигнуты значительные успехи в объективизации инструментального измерения цветовых характеристик с использованием разнообразных спектрометров, цифровых видеосистем, спектрофотометрических цифровых систем. Таким образом, имеется возможность изучения зависимости между качественным и количественным составом зубной ткани и её спектральными, в том числе цветовыми, характеристиками.

Полученные результаты могут лечь в основу практических рекомендаций для

решения вопросов судебно-медицинской экспертизы.

Целью настоящего исследования является изучение элементного состава массива зуба (эмаль и дентин) и зубной эмали методом лазерной масс-спектрометрии, изучение динамики содержания химических элементов в зубной ткани в широком диапазоне кислотности среды. Определение корреляционных отношений в изменениях цветовой характеристики и элементного состава твердых тканей зуба в результате пребывания зубов в жидких средах с различной кислотностью.

Метод лазерной масс-спектрометрии на приборе ЭМАЛ-2

Прибор ЭМАЛ-2 предназначен для проведения анализа твердых образцов. Двойная фокусировка позволяет получить хорошее разрешение (приложение 3). На предварительном этапе происходит выравнивание компонентов ионного пучка по энергии, далее разделение в статистическом, то есть постоянном, магнитном поле. Специальная видеосистема дает увеличение в 200 раз, благодаря чему можно проводить локальный анализ, а режим сканирования позволяет определить усредненный состав участка, можно также проводить послойный анализ.

Схема работы прибора ЭМАЛ-2

На твердый образец в вакууме воздействует сфокусированное импульсное лазерное излучение. Происходит бесфракционный переход в газообразное состояние, затем происходит ионизация. Все это возможно при температуре 20000 градусов, при которой любое соединение распадается на атомы, дающие положительные и отрицательные ионы и электроны. Высокий положительный потенциал выталкивает положительные ионы, а специальная система формирует ионный пучок. Но ионы в этом пучке различаются по значениям энергии и скорости. Поэтому нужно выровнять их по скоростям. Для этого в составе прибора находится электростатический анализатор – фрагмент шарового конденсатора, в котором усреднение происходит из-за разности в траекториях ионов различных энергий в стационарном электрическом поле. После ионный пучок под прямым углом входит в область поперечного постоянного магнитного поля, где разделяется в зависимости от массы и заряда ионных компонентов. Эти ионы регистрируются на специальных фотопластинках или пленке (каждый вид фиксируется в виде узкой черточки). После проявления фотоматериала виден набор линий с различной степенью почернения.

После проявления фотопластин или фотопленки УФ-4 и УФ-5 визуализируется суммарный эффект локального пучка на специальную эмульсию. Сигналы низкой интенсивности можно накапливать теоретически неограниченное время. Фиксируется одновременно весь набор линий масс-спектра, следовательно, в одном эксперименте определяются все элементы, присутствующие в данном образце. Чтобы получить четкую линию основного компонента достаточно одного импульса ионного пучка, но для получения линии примесей необходимо «обстреливать» образец пучком несколько часов.

Интенсивности линий определенного элемента зависят только от его концентрации в образце. Интенсивность ионного тока обусловлена, во-первых, экспозицией, а во-вторых, относительной распространенностью данного изотопа. Экспозиция – это величина, которая показывает суммарный электрический заряд всех ионов, прошедших через щель анализатора; измеряется высокочувствительным электрометром.

Ход практической работы

Элементный анализ выполняется за 5-6 часов (в среднем определяется 20 элементов), его аппаратное оформление включает в себя масс-спектрометр, в который вводится проба, ионизированная лучом лазера. Способы регистрации масс-спектров используют различные (чаще – фотопластинки), расшифровку проводят с помощью автоматизированных или полуавтоматизированных систем, сочетающих в себе микроденситометр и компьютер со специализированными программами обработки данных.

Шаг первый

Анализировали образцы в виде гомогенизированного массива 3 зубов на лазерном масс-спектрометре ЭМАЛ-2 (источником лазерного излучения служил лазер ИЗ-25 с активным элементом из оксида иттрия Y₂O₃, легированного неодимом, интегрирующие детекторы – фотопластины Iford Q2 или фотопленка). Каждый анализ позволял получить сведения о массовой доле и о мольном содержании кальция Ca, кремния Si, фосфора P, серы S, хлора Cl, бора B, углерода C, азота N, кислорода O, фтора F, натрия Na, магния Mg, алюминия Al, калия K, титана Ti, ванадия V, хрома Cr, марганца Mn, железа Fe, кобальта Co, никеля Ni, меди Cu, цинка Zn, стронция Sr, иттрия Y, циркония Zr, бария Ba. В таблице приведены результаты в виде массовых долей элементов по каждому образцу, среднее содержание пересчитано на мг/кг и сопоставлено с литературными данными (приложение 1).

Шаг второй

Были использованы буферные растворы со значениями pH 1,7; 6,9 и 9,2, в которых выдерживали по три здоровых зуба в течение 21 дня. Далее после стандартной подготовки массив зуба подвергали элементному анализу на лазерном масс-спектрометре ЭМАЛ-2 (каждое аналитическое определение содержало информацию по 27 элементам). При выборе элементов, динамика содержания которых может оказаться идентификационно значимой, оказалось, что у некоторых из них содержание менялось в незначительных пределах или не менялось вообще: ванадий V (<0,0001-0,0002), хром Cr (0,0006-0,0013), марганец Mn (0,0006-0,0008), кобальт Co (0,0001), никель Ni (0,0002), медь Cu (0,0005-0,0011), иттрий Y (0,0002), цинк Zr (0,0002-0,0003). У трёх элементов, обнаруженных в больших количествах, концентрации менялись несущественно: фосфор P (13,29-14,06), сера S (0,031-0,050), хлор Cl (0,167-0,228). Но во всех трёх образцах отмечено увеличение содержания натрия Na в кислой среде (в нейтральной и щелочной средах изменения не-

значительные), а фтор F наоборот – в кислой среде несколько снижается. Во всех средах для всех образцов зарегистрировано снижение содержания бария Ba, титана Ti, кальция Ca, бора B, магния Mg и увеличение содержания цинка Zn, кремния Sr, кислорода O (см. приложение 2). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о целесообразности изучения динамики содержания натрия Na, фтора F, бария Ba, титана Ti, кальция Ca, бора B, магния Mg, цинка Zn, стронция Sr и кислорода O в качестве наиболее возможных маркеров времени.

Выводы

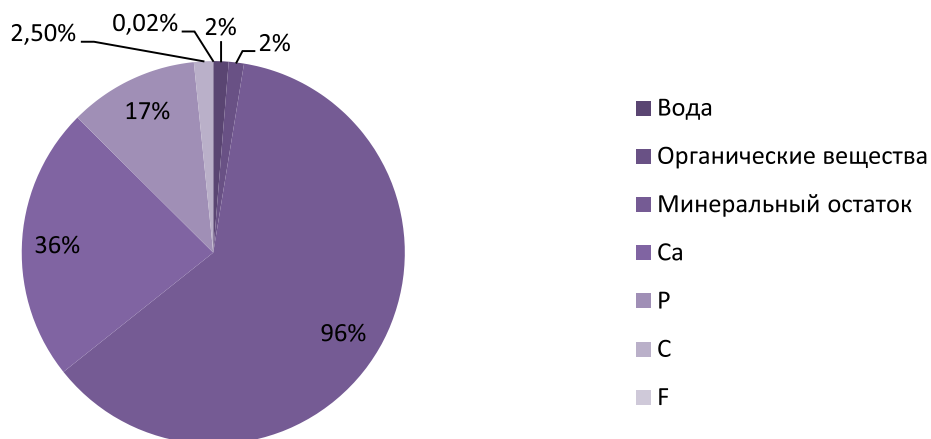
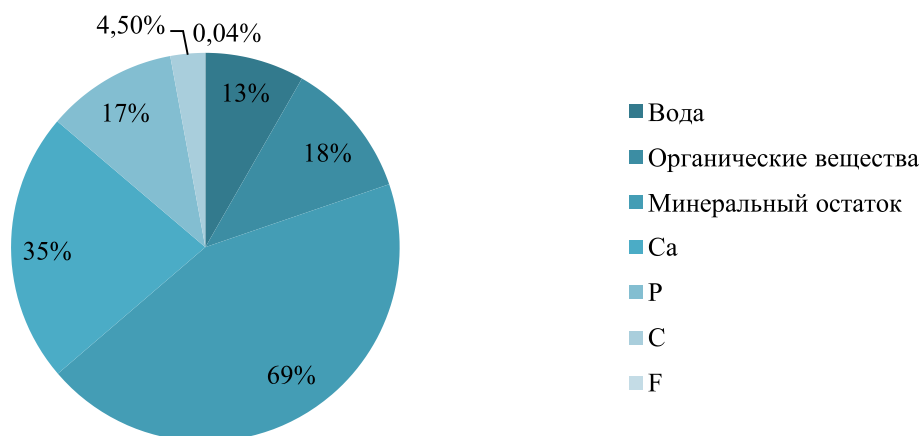
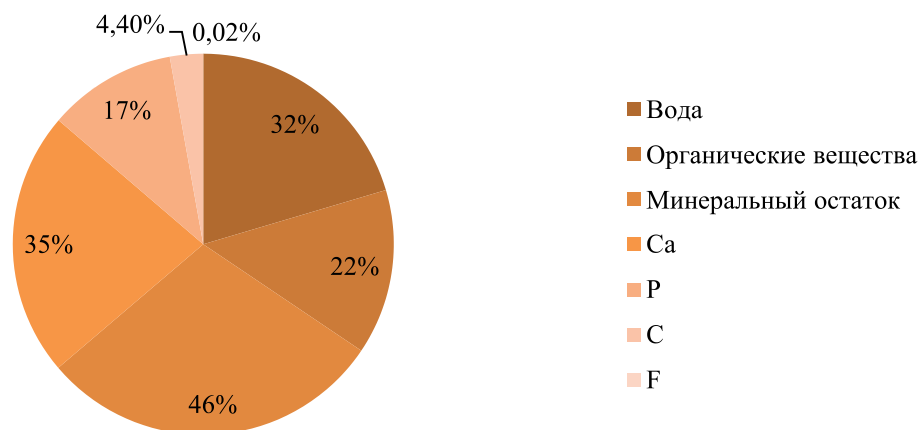
1. Были определены соотношения некоторых элементов зубной ткани в растворах с разной кислотностью среды (кислая, нейтральная и щелочная) на приборе ЭМАЛ-2 методом масс-спектрометрического анализа.
2. Изучены элементный состав и физические свойства зубной ткани.
3. Рассмотрены задачи судебной стоматологии.
4. Изучены основные методы определения элементного состава зубной ткани, используемые в современной стоматологии.

Приложение 1

Результаты определения элементного состава зубов (массив, массовая доля, %)

Элемент	№ образца							Среднее из 7 образцов, %	Среднее из 7 образцов, мг/кг	Содержание элемента по данным литературы, мг/кг
	1	2	3	4	5	6	7			
B	0,0134	0,0043	0,0036	0,0054	0,0128	0,0092	0,0082	0,0081	81	
C	2,5689	0,7687	0,6572	2,1783	0,5754	0,7994	0,6662	1,1734	11734	
N	0,1901	0,1557	0,1576	0,1918	0,1149	0,1464	0,1506	0,1582	1582	
O	37,5664	36,9037	38,0581	37,5390	36,2635	37,0013	36,1651	37,0710		
F	0,0336	0,0717	0,0662	0,0203	0,0276	0,0418	0,0259	0,0410	410	1000-4300
Na	1,7405	0,9101	1,3882	1,0040	0,9918	1,4831	1,3434	1,2659	12659	1931-17646
Mg	0,0832	0,1863	0,2723	0,2139	0,2503	0,3965	0,4638	0,2666	2666	1716-15500
Al	0,0108	0,0495	0,0094	0,0125	0,0379	0,0480	0,0300	0,0283	283	0,43-400
Si	0,1140	0,0992	0,0662	0,1102	0,1599	0,2958	0,2218	0,1524	1524	1000-14200
P	17,5223	17,7303	18,4498	18,0645	17,0985	17,8866	17,3429	17,7278	177278	46300-169000
S	0,0156	0,0418	0,0615	0,0379	0,0625	0,0649	0,0464	0,0472	472	500-3180
Cl	0,1120	0,2753	0,2319	0,2284	0,2389	0,3253	0,2662	0,2397	2397	127-1150
K	0,0627	0,0752	0,0449	0,0646	0,1637	0,1088	0,1714	0,9876	9876	100-1960
Ca	39,6885	42,4159	40,2893	40,0642	43,7423	41,1708	42,8865	41,4654	414654	81000-383000
Ti	0,0024	0,0072	0,0021	0,0109	0,0111	0,0103	0,0113	0,0079	79	1-17,2
V	<0,0002	<0,0003	<0,0003	0,0002	<0,0003	<0,0002	<0,0002			
Cr	0,0018	0,0014	0,0012	0,0031	0,0021	0,0012	0,0026	0,0019	19	0,01-5
Mn	0,0018	0,0018	0,0016	0,0017	0,0017	0,0014	0,0016	0,0017	17	0,3-5,7
Fe	0,0260	0,0372	0,0169	0,0377	0,0886	0,0349	0,0292	0,0386	386	87-132
Co	<0,0003	<0,0003	<0,0003	0,0003	<0,0003	<0,0003	<0,0002			
Ni	<0,0004	<0,0005	0,0005	0,0004	<0,0005	<0,0005	<0,0005			
Cu	0,0030	0,0021	0,0019	0,0018	0,0021	0,0016	0,0027	0,0022	22	0,22-12
Zn	0,0131	0,0154	0,0091	0,0208	0,0137	0,0182	0,0159	0,0152	152	70-2878
Sr	0,0268	0,0574	0,0467	0,0341	0,0213	0,0270	0,0215	0,0335	335	1-200
Y	0,0009	<0,0007	<0,0006	0,0009	0,0007	0,0006	0,0007			
Zr	0,0008	0,0009	0,0009	0,0009	0,0009	0,0008	0,0008			
Ba	0,2006	0,1854	0,1602	0,1521	0,1152	0,1136	0,1229	0,1500	1500	1-105

Химический состав твердых тканей зуба

Химический состав эмали**Химический состав дентина****Химический состав цемента**

Фотография масс-спектрометра ЭМАЛ-2



Список литературы

1. Агасян П.К., Николаева Е.Р. Основы электрохимических методов анализа (потенциометрический метод). М.: МГУ, 1986. 196 с.
2. Бегельман И.А. Клиника, лечение и профилактика кариеса зубов // Стоматология. 1967. – Т. 46. № 5. – С. 19-24.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1983. С. 27, 46-48.
4. Боровский Е.В. Кариес зубов: Актовая речь. М., 1972. 13 с.
5. Боровский Е.В. Кариес зубов: Учебное пособие. М., 1983. 44 с.
6. Боровский Е.В., Агафонов Ю.А. Последовательность применения реминерализующих растворов фторида натрия, рекомендуемая для профилактики и лечения кариеса на стадии белого пятна // Стоматология. 1994. № 1. С. 5-6.
7. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М.: Медицина, 1991. 302 с.

8. Боровский Е.В., Леус П.А. Роль некоторых факторов в возникновении кариеса зубов // Стоматология. 1969. Т. 48, № 4. С. 15.
9. Боровский Е.В., Леус П.А. Экспериментальное исследование твердых тканей зубов // Экспериментальные исследования в стоматологии. Пермь, 1972. С. 91-93.
10. Боровский Е.В., Леус П.А. Этиологические факторы и механизм развития кариеса зубов // Стоматология. 1976. – Т. 55. № 5. – С. 8486.
11. Боровский Е.В., Леус П.А., Качержинский В.В. Реминерализация твердых тканей зуба // Стоматология. 1977. № 2. С. 79.
12. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Л.: Химия, 1972. С. 93, 252-256.
13. Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Кармалькова И.С. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов // Вестник ВГМУ. 2011. № 1.