

## МЕТОД ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ПРИЖИЗНЕННО СОХРАННЫХ ЗУБОВ ДЛЯ МНОГОЦЕЛЕВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Ю.П.Костиленко, И.В.Бойко*

*Кафедра анатомии человека (зав – проф. Ю.П.Костиленко) Украинской медицинской стоматологической академии, г. Полтава*

---

Изучение твердых и мягких тканей зубов в их целостной прижизненной сохранности в настоящее время представляет одну из самых сложнейших морфологических проблем, что обусловлено невозможностью обойтись без предварительной процедуры декальцинации твердых тканей зуба, при которой происходит полная потеря эмали из-за большого преобладания в ней (около 96%) минеральных веществ [1]. Этим объясняется тот факт, что современные представления о строении зуба (особенно это касается эмали и ее связи с дентином) основаны на обобщении отдельных фрагментарных исследований.

Пытаясь преодолеть эти трудности, нами разработан метод, позволяющий решить те вопросы, которые в современной одонтологии являются наиболее существенными.

Вся процедура изготовления препаратов прижизненно сохранных зубов для многоцелевых морфологических исследований представляет собой модифицированную комбинацию методов фиксации тканей и заключения их в плотный компаунд эпоксидной смолы, используемых в практике трансмиссионной электронной микроскопии [2], с общеизвестной техникой изготовления шлифов зубов [3]. Для получения хороших результатов мы рекомендуем придерживаться следующих правил:

1. Сразу после экстракции зуба (нами использованы зубы, удаленные по ортодонтическим и ортопедическим показаниям на кафедре пропедевтики хирургической стоматологии с курсом реконструктивной хирургии головы и шеи УМСА), его промывают в физиологическом растворе, а затем у него отсекают примерно половину корня (или корней) в целях оптимального диффундирования в пульпу и дентин фиксирующего рас-

творителя (4% раствор глутарового альдегида на фосфатном буфере). Длительность фиксации – не менее 4 суток в холодильнике.

2. После отмывки зуба от фиксирующего раствора в фосфатном буфере проводят его дегидратацию в режиме плавного перехода от спиртов к ацетону в соответствии с методами подготовки тканей для трансмиссионной электронной микроскопии, но с двойным удлинением времени на каждом этапе.

3. Следующая операция заключается в тотальной пропитке целого зуба в режиме плавного перехода от ацетона до эпоксидной смолы (эпон-812) с двойным удлинением времени на каждом этапе. Пропитанный таким образом препарат помещают в чистую смесь эпоксидной смолы. Для получения более твердого компаунда к ней добавляют несколько больше отвердителя. Полимеризацию проводят в соответствующей размеру зуба кювете, в которой зуб помещается в необходимом для дальнейшей работы положении.

4. После полимеризации, которая длится несколько дольше обычного времени, полученный блок разрезают сепаровочным диском с таким расчетом, чтобы получить две половины зуба, каждая из которых будет расположена в толще прозрачной эпоксидной смолы. Затем торцевые поверхности с обнаженными тканями зуба подвергают шадящей шлифовке до получения ровного шлифа.

5. После промывки в дистиллированной воде и высушивания препараты окрашивают путем погружением их на 10 мин в раствор толуидинового или метиленового синего, в результате чего ткани зуба на поверхности шлифа приобретают окраску, интенсивность которой зависит от плотности концентрации в тканях органических веществ.

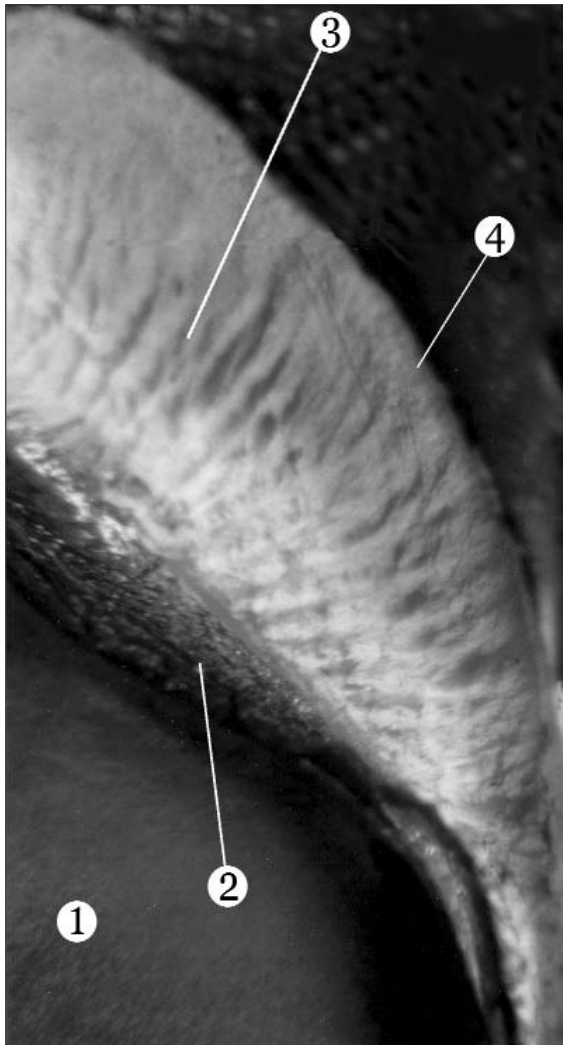


Рис. 1. Боковой отдел бугорковой части коронки третьего моляра человека. Эпоксидный шлиф после поверхностной декальцинации. Окраска толуидиновым синим. Световая микроскопия. Об. х3,7, ок. х5

1 – дентин; 2 – дентино-эмалевая граница; 3 – эмаль; 4 – поверхностный слой эмали.

На данном этапе препарат готов для предварительного изучения с помощью светового микроскопа в отраженном свете. Данный этап является исходным для проведения дальнейших манипуляций в целях изучения внутренней структуры эмали и ее связи с дентином. Следует указать на одно самое существенное достоинство предлагаемого метода. Оно заключается в том, что получаемый в результате распила блок содержит половину зуба (обнаженного с торцевой поверхности шлифа), который находится пропитанным в массе однородного компаунда смолы, за исключением эмали, не подвергаю-

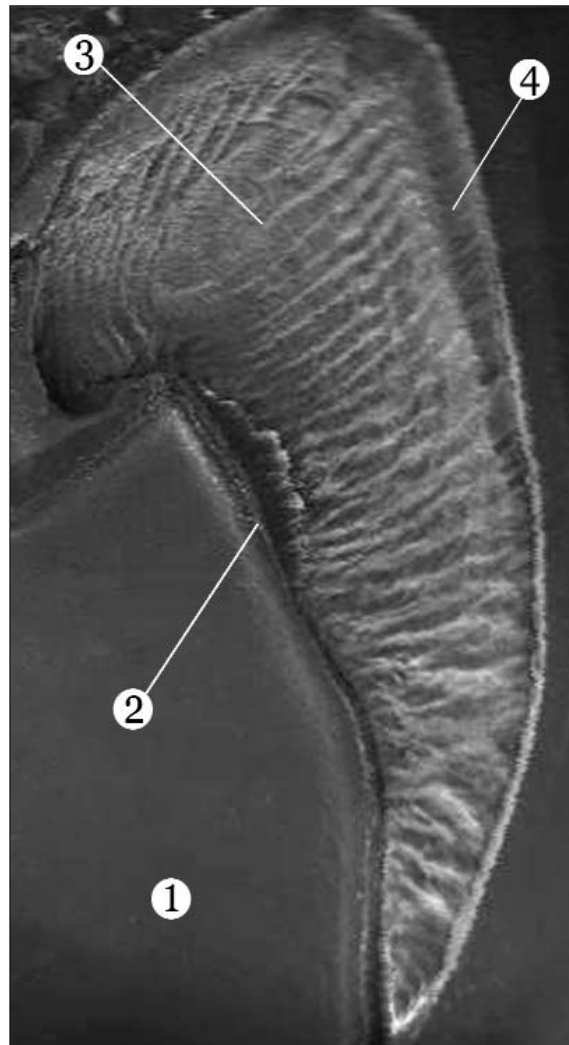


Рис. 2. Боковой отдел бугорковой части коронки третьего моляра человека. Эпоксидный шлиф после поверхностной декальцинации. Сканограмма. Ув. х 30

1 – дентин; 2 – дентино-эмалевая граница; 3 – эмаль; 4 – поверхностный слой эмали.

щейся пропитке смолой благодаря ее чрезмерно прочной кристаллической структуре. Иными словами, эмаль оказывается заключенной в объеме, который ограничен пропитанным дентином, с одной стороны, и внешним слоем чистой эпоксидной смолы – с другой. Благодаря этому она становится доступной для направленного и контролируемого травления в декальцинирующем растворе. Для этого нами использован хелатообразующий агент (трилон-Б).

Под его воздействием происходит постепенное послойное вытравливание эмали из того объема, в котором она находится. В

результате этого между дентином и внешним слоем эпоксидной смолы, являющимся конформным внешней поверхности зубной коронки, образуется постепенно углубляющаяся полость, глубину которой легко контролировать временем пребывания препарата в декальцинирующем растворе. Дном данной полости становится обнажившийся слой протравленной эмали, рельеф которого отражает ее внутреннюю структуру, доступную для изучения в световом и сканирующем электронном микроскопах.

Вместе с тем, в ходе процедуры травления происходит (пропорциональное по глубине травления) обнажение внешней поверхности дентина (дентинно-эмалевой границы), которая становится доступной для визуального изучения в сканирующем электронном микроскопе.

Для предварительного изучения данных препаратов в световом микроскопе (в отраженном свете) их следует окрасить толуидиновым или метиленовым синим. Это позволяет выявить в толще эмали локализацию органического вещества (рис. 1).

Подготовка их для изучения в сканирующем электронном микроскопе заключается в нанесении на препараты проводящего слоя путем ионного напыления в вакууме спектрально чистой меди. Изучение полученных образцов осуществлено в сканирующем электронном микроскопе РЭММА-102 в лаборатории электронной микроскопии Сумского государственного университета (рис. 2).

Говоря о возможностях разработанного нами метода, следует отметить, что изготовленные с его помощью препараты могут быть использованы для прицельного получения полутонких и ультратонких срезов в целях проведения исследований в световом и трансмиссионном электронном микроскопах. Кроме того, они являются наиболее удобными для осуществления микроанализа химических элементов по всем зонам твердых тканей зуба.

Таким образом, предлагаемый метод является многоцелевым и может быть эффективно использован при изучении патоморфогенеза разнообразных поражений твердых тканей зубов человека.

### Литература

1. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека: Учебное пособие. – 2-е изд., испр. – СПб: Спец. Лит, 1998. – 247 с.
2. Волкова О.В., Елецкий Ю.П. Основы гистологии с гистологической техникой. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия: Пер. с англ. – М.: Мир, 1969. – С. 584-585.

### МЕТОД ВИГОТОВЛЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ПРИЖИТТЕВО ЗБЕРЕЖЕНИХ ЗУБІВ ДЛЯ БАГАТОЦІЛЬОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

*Ю.П.Костиленко, І.В.Бойко*

**Резюме.** Запропонований метод являє собою модифіковану комбінацію методів фіксації тканин та заливання їх епоксидною смолою, які використовуються в електронній мікроскопії, з технікою виготовлення шліфів зубів та подальшого східчастого травлення емалі. Крім вивчення препаратів у світловому та скануючому електронних микроскопах, метод дозволяє прицільно виготовляти напівтонкі та ультратонкі зрізи з метою проведення дослідження дентину та пульпи зуба в світловому та трансмісійному електронному микроскопах.

**Ключові слова:** епоксидна смола, шліфи зубів, емаль зуба, дентин, світлова мікроскопія, електронна мікроскопія.

### A METHOD OF MANUFACTURING PREPARATIONS – PRESERVED TEETH IN LIFETIME FOR MULTI-PURPOSE RESEARCHES

*Yu.P.Kostylienko, I.V.Boiko*

**Abstract.** The proposed method represents a modified combination of fixing for their embedding in epoxide resin that are used in electron microscopy with the technique of manufacturing grinds of teeth and further stepped etching of enamel. Except of studying specimens under light and scanning electron microscopes, the method enables to manufacture specifically semithin and ultrathin sections for the purpose of investigating dentin and dental pulp with light and transmission electronic microscopes.

**Key words:** epoxide resin, dental grinds, dental enamel, dentin, light microscopy.

Ukrainian Medical Stomatological Academy (Poltava)

Надійшла в редакцію 07.04.2004 р.