

## ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

© Гасюк А. П., Новосельцева Т. В., Ройко Н. В., Писаренко Е. А.

УДК 611.314+616.314.14

*Гасюк А. П., Новосельцева Т. В., Ройко Н. В., Писаренко Е. А.*

### СТРУКТУРНО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДЕНТИНА

Высшее государственное учебное заведение Украины

«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Данная работа является фрагментом НИР «Стоматологическая заболеваемость у детей с учетом эколого-социальных факторов риска и обоснование дифференцированных методов лечения и профилактики» № государственной регистрации 0110U002147.

Дентин – минерализованная, бесклеточная, бессосудистая, известковая ткань зуба, которая занимает промежуточное положение между костной тканью, цементом и эмалью [1,5,15,16]. Дентин тверже кости и цемента, но в 4-5 раз мягче эмали. Зрелый дентин содержит 69% неорганических веществ, 18% органических веществ и 13% воды [5,10].

Органический матрикс дентина, согласно данным литературы, представляет собой разного типа коллагены [2,3,6,15]. Одонтобласты синтезируют различные органические вещества, которые могут быть представлены тропоколлагеном. Тропоколлаген затем экстрацеллюлярно из примитивных частиц путем самосборки превращается в определенный тип коллагена I, II или VII типа [14, 22, 23].

В дальнейшем, на органический матрикс происходит отложение минерального компонента, который обеспечивает твердость дентина и ограничивает пульповую камеру от микробного фактора и механического воздействия [8,9,18].

Целью нашей работы было изучить структурно-биохимическую организацию дентина по литературным источникам и собственным исследованиям.

Дентин, в отличие от эмали, содержит много сиалопротеинов (неколлагеновые белки). По степени минерализации дентин аналогичен компактному веществу костной ткани. Минеральный компонент – гидроксиллапатит. В котором чаще, чем в кости, обнаруживается магний. В дентине также содержатся фтористые соли. В состав органического вещества дентина входит коллаген, богатый фосфатом, хондроитинсульфаты, гиалуроновая кислота [20,21,25,26,27]. При развитии кариеса в поврежденном дентине уменьшается количество оксипролина и оксизина и растет количество гликозамингликанов. В дентин также входят клеточные элементы – одонтобласты [4,19,24].

Дентин построен из минерализованной межклеточной субстанции, пронизанной многочисленными дентинными канальцами. Различают первичный дентин, который образуется перед формированием и прорезыванием зубов, вторичный дентин – регулярный или физиологический, образующийся в сформированном зубе после прорезывания и является продолжением первичного; третичный дентин – репаративный, заместительный, который образуется в ответ на действие патогенных агентов.

Первичный или плащевой дентин формируется низкодифференцированными, многоотростчатыми одонтоцитами вдоль эмалево-дентинной границы эмалевого органа в ходе эмбриогенеза. Именно в этой зоне образуются коллагеновые волокна 1 типа (волокна Корфа), а также якорные волокна (коллаген VII типа), скрепляющие эмаль с дентином.

Регулярный дентин формируется после прорезывания зубов и характеризуется наличием дентинных трубочек, в которых содержатся дихотомически разветвленные отростки одонтобластов. Они выявляются, согласно Лили Р. тионином [7]. В дентинных канальцах циркулирует дентинная жидкость, которая содержит органические и неорганические соединения, принимающие участие в восстановлении дентина. Жидкость представляет собой транссудат из капилляров пульпы, который фильтруется через эндотелиальные щели и короткие отростки одонтобластов. Данная жидкость по белковому составу подобна плазме крови и проникает в пространство, ограниченное мембраной Неймана [10,11].

Данная мембрана, согласно нашим данным, имеет высокое содержание протеидов, хорошо окрашивается гистохимически нильским голубым [12]. В образующемся пространстве между отростком и мембраной Неймана из дентинной жидкости путем экзоцитоза выделяются пиноцитарные пузырьки, которые поступают в перитубулярный дентин.

Перитубулярный дентин окружает в виде цилиндра центральные и боковые отростки одонтобластов и гистохимически интенсивно окрашивается ШИК-реакцией. Это свидетельствует о том, что находящееся в нем вещество, очевидно, содержит тропоколлаген, богатый сиаловыми кислотами

(нейтральные мукопротеиды). За перитубулярным дентином непосредственно между отдельными трубочками локализуется интратубулярный дентин. Он содержит тангенциальные коллагеновые волокна Эбнера, которые относятся к коллагену II типа. Если тропоколлаген электронномикроскопически содержит волокнистые структуры диаметром 3-5 нм, то волокна Эбнера имеют диаметр от 20 до 100 нм. По нашему мнению, различные структуры волокнистых образований дентина обуславливают особенности его биоминерализации. Структурные гликопротеиды, состоящие из сиаловых кислот, принимают активное участие в адсорбции кальция. Это хорошо происходит как в регулярном дентине, так и в пре-дентине, прилежащем непосредственно к пульповой камере. Кальций адсорбируют фосфофорины как в тропоколлаген (хотя в меньшей степени), так и в коллаген I и II типа, где имеются поперечнополосатые структуры толщиной в среднем 100-200 нм [8,9]. Таким образом, анализ данных литературы и полученные нами результаты исследований показывают, что несмотря на сильную биоминерализацию, дентин является живой самообновляющейся тканью не только в эмбриональный период, но и на протяжении жизни [13,17]. Об этом свидетельствует постоянное обновление коллагеновых волокон плащевого дентина, представленных коллагеновыми волокнами I типа, регулярного дентина, состоящего из коллагеновых волокон II типа, а также предентина, содержащего, преимущественно, тропоколлагеновые фибриллы.

Исходя из вышесказанного, большой интерес представляет изучение биохимического состава отдельных коллагеновых волокон.

Синтез аминокислот коллагена происходит на рибосомах шероховатого эндоплазматического ретикулума. Он кодируется определенными генами, локализующимися в ядре одонтобласта. Перенос информации с генов ядра на рибосомы осуществляется м-РНК. Благодаря такой четко детерминированной системе различают 19 типов коллагена, отличающихся молекулярной организацией, тканевой и органной принадлежностью.

Согласно данным литературы, органический матрикс дентина в основном представлен коллагеном I, II и VII типов, которые параллельно с гликопротеидами и кислыми гликозаминогликанами синтезируются в одонтобластах, локализующихся в пульпе зуба.

Первый этап синтеза коллагеновых структур происходит на определенных рибосомах, где синтезируются определенные аминокислоты, состоящие из нескольких повторов gly-X-Y. Где в X-положение чаще расположен пролин, а в Y-положении – 4-гидроксипролин.

Эти свойства аминокислот ограничивают вращение полипептидной цепи. В результате этого образуется изогнутая нить проколлагена, содержащая 1050 аминокислот N-концевой, а также C-концевой сигнальный пептид. имеет длину около 280 нм и ширину – 1,4 нм и представлены  $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$  полипептидными цепочками с разным аминокислотным составом. За

счет многочисленных водородных связей молекула проколлагена может вращаться вправо по оси X-Y ( $\alpha$ -конформация белков) по пролину.

Тропоколлаген структурная единица коллагена. Три полипептидные цепи (около 1000 аминокислот каждая), скручиваясь, образуют молекулу тропоколлагена размерами 380x1,5 нм. Каждая спираль состоит из многократно повторяющихся триад аминокислот, из которых третья всегда глицин, вторая – пролин или лизин, а первая любая (кроме указанных трех). Спиральная организация придает волокнам структурную устойчивость и повышенную сопротивляемость растяжению.

Образование коллагенового волокна происходит во внеклеточном пространстве в результате спонтанного, специфического соединения между собой тропоколлагеновых фибрилл. Структура коллагенового волокна была изучена методами рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии. Коллагеновое волокно имеет поперечную исчерченность с интервалом 680 А. В то же время длина молекулы тропоколлагена составляет 3000 А. Таким образом, период структуры волокна в несколько раз меньше, чем длина составляющих волокон молекул; это показывает, что ряды молекул тропоколлагена не могут лежать точно друг над другом. И в самом деле, один ряд тропоколлагенов смещен по отношению к соседнему ряду примерно на 1/4 длины молекулы. Отсюда следует, что основу структурной организации коллагенового волокна составляют сдвинутые на четверть ступенчато расположенные параллельные ряды тропоколлагеновых молекул. Такая «аранжировка» напоминает музыкальную фугу.

Любопытная структурная особенность волокна состоит в том, что расположенные в ряд молекулы тропоколлагена не связаны «конец в конец». Между концом одной молекулы и началом следующей имеется промежуток около 400 А. Этот промежуток играет особую роль при формировании кости. Кость состоит из органической фазы, почти целиком представленной коллагеном, и неорганической, а именно фосфата кальция. Последний, по своему строению, близок к гидроксипатиту с составом  $\text{Ca}_{10}(\text{P}_04)_6(\text{OH})_2$ . Коллаген необходим для образования кости, как место отложения кристаллов фосфата кальция. Оказалось, что первые кристаллы откладываются с интервалом порядка 680 А, что совпадает с периодом коллагенового волокна. Вполне вероятно, что промежутки вдоль ряда молекул тропоколлагена выполняют роль центров отложения минеральных составных частей кости.

Молекулы проколлагена, в отличие от тропоколлагена, не способны к спонтанному образованию волокна; для этого необходимо предварительное отщепление N- и C- концевых пептидов. Таким образом, формирование коллагеновых волокон аналогично формированию нитей фибрина. Проколлаген аналогичен фибриногену, тропоколлаген – мономерам фибрина, а проколлаген-пептидазы – тромбину. В обеих системах условием образования

волокна является специфическое протеолитическое расщепление.

Фибробласты секретируют проколлаген, но не тропоколлаген. Механизмы биосинтеза и секреции аналогичны тем, которые действуют в случае проферментов поджелудочной железы и других секреторных белков. Коллагеновое волокно формируется во внеклеточной жидкости вблизи поверхности фибробласта, но не внутри него, поскольку проколлаген-пептидазы находятся вне клетки. Концевые пептиды в цепях-предшественниках препятствуют несвоевременному формированию волокна. Возможно также, что они участвуют в переносе проколлагена через мембрану фибробласта. На более раннем внутриклеточном этапе эти дополнительные пептиды способствуют взаимной ориентации и соединению трех цепей для последующего образования тройной спирали. Особое значение при этом имеют межцепочечные дисульфидные связи.

Коллаген, подобно фибрину, стабилизирован ковалентными поперечными связями. Коллагеновым волокнам свойственно два типа поперечных связей: внутримолекулярные (в пределах одной тропоколлагеновой единицы) и межмолекулярные (между отдельными тропоколлагеновыми единицами). Рассматриваемые связи встречаются только в двух близких белках – коллагене и эластине.

Таким образом, биосинтез коллагена происходит следующим образом:

1. Биосинтез проколлагена полипептидных цепей на рибосомах Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Ser (глицина и пролина 33% и 21% от общего состава разных аминокислот).

2. Образование проколлагена в эндоплазматическом ретикулуме – процесс гидроксирования с образованием 3- и 4- гидроксипролина и О-гликозирования остатков гидроксипролина в аппарате Гольджи и образованием тройной спирали. Межцепочечное взаимодействие спиралей в виде единой молекулы за счет многочисленных водородных связей с участием гидроксированных

аминокислотных остатков. Одновременно в аппарате Гольджи формируются гликопротеиды и гликозаминогликаны.

3. Экзоцитоз секреторными пузырьками проколлагена в межотростчатые пространства отростков одонтобластов и перенос его через фосфолипидную мембрану Неймана в перитубулярный дентин.

4. Образование тропоколлагена происходит отщеплением специфическими протеиназами N-С-пропептидов проколлагена при его внеклеточной модификации.

5. Внеклеточное образование протофибриллы. Агрегированные в длину и поперечнике с помощью водородных связей молекулы тропоколлагена с отщеплением концевых пептидов.

6. Фибриллярный уровень организации коллагенового волокна. Скрепление между собой 5-6 протофибрилл при участии гликозаминогликанов.

7. Волоконный уровень образуется путем агрегации фибрилл от единичных до нескольких десятков.

**Выводы.** Структурно-биохимически дентин представляет собой сложную биоминерализованную ткань, в которой следует различать плащевой дентин, представленный терминальными отростками одонтобластов (колаген I типа), а также скрепляющими дентин с эмалью якорными волокнами (колаген VII типа). Вторая зона – регулярный дентин, состоящий из дихотомических отростков одонтобластов, ограниченных мембраной Неймана, представленной фосфолипидами, за которой расположен перитубулярный дентин (тропоколлаген). За ним идет интертубулярный дентин (волокна Эбнера), состоящий из коллагена II типа. Наконец, зона преддентина представлена ШИК позитивными структурами, состоящими из тропоколлагена.

Следовательно, органический матрикс дентина синтезируется не только одонтобластами, но и их отростками. При этом, синтезируемый одонтобластами тропоколлаген экстрацеллюлярно осуществляет самосборку с формированием коллагена I- II типов.

## Литература

1. Боровский Е. В. Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – М.: Медицина, 1991. – 304 с.
2. Быков В. Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека / В. Л. Быков. – Санкт-Петербург: Спец. лит., 1996. – С 109-126.
3. Гасюк А. П. Морфо- и гистогенез основных стоматологических заболеваний (на украинском и русском языках) / А. П. Гасюк, В. И. Шепитько, В. Н. Ждан. – Полтава, 2008. – 93 с.
4. Гасюк А. П. Пульпа зуба в норме и при патологии / А. П. Гасюк, М. Д. Король, Т. В. Новосельцева. – Полтава, 2004. – 140 с.
5. Дельцова О. І. Гістологія та ембріологія органів ротової порожнини / Дельцова О. І., Чайковський Ю. Б., Герашенко О. І. – Івано-Франківськ : Кальварія, 1994. – 96 с.
6. Заварзин А. А., Основы сравнительной гистологии / А. А. Заварзин. – Л., 1985. – 400 с.
7. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – Москва : Мир, 1969. – 630 с.
8. Нарушение процесса минерализации твердых тканей зуба и принципы его регуляции / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев, А. М. Максимовская [и др.] // Стоматология. – 1984. – Т. 63, № 5. – С. 19-22.
9. Ньюман У. Минеральный обмен кости / У. Ньюман, М. Ньюман; пер. с англ. – М.: Медицина, 1961. – 270 с.
10. Окушко В. Р. Физиология эмали и проблема кариеса зубов / В. Р. Окушко. – Кишинев : Штиинца, 1989. – 80 с.
11. Окушко В. Р. Функциональная кислотоустойчивость эмали: факт или миф? / В. Р. Окушко // ДентАрт. – 1996. – № 4. – С. 9-11.
12. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс – М.: Изд. Иностран. литер., 1962. – 960 с.

## ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

13. Саркисов Д. С., Туманов В. П. Приспособительные и компенсаторные процессы. В кн.: Общая патология человека. 2-е изд. Т. 2, (под ред. А. И. Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова. – М.: Медицина, 1990. – С. 199-322.
14. Серов В. В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В. В. Серов, А. Б. Шехтер – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
15. Фалин Л. И. Гистология и эмбриология полости рта и зубов / Л. И. Фалин – М.: Медгиз, 1963. – 65 с.
16. Хем А. Гистология в пяти томах / А. Хем, Д. Кормак. – М.: Мир, 1983. – (учебник в 5 т. / кн. 4).
17. Шехтер А. В. Репаративная регенерация и дисрегенерация (Роль межклеточных взаимодействий) / А. В. Шехтер // Современные проблемы регенерации. – Йошкар-Ола, 1987. – С. 48-63.
18. George A. Role of phosphophoryn in dentin mineralization / A. George, J. Hao // Cells Tissues Organs. – 2005. – № 181 (3-4). – P. 232-240.
19. Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts / E. Couve // Arch. Oral Biol. – 1986. – Vol. 31, № 10. – P. 643-651.
20. Cross K. J. Protein dynamics of bovine dentin phosphophoryn / K. J. Cross, N. L. Huq, E. C. Reynolds // J. Pept. Res. – 2005. – № 66 (2). – P. 59-67.
21. Jadowiec J. A. Extracellular matrix-mediated signaling by dentin phosphophoryn involves activation of the Smad pathway independent of bone morphogenetic signaling / J. A. Jadowiec, X. Zhang, J. Li [et al.] // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281 (9). – P. 5341-5347.
22. Chang S. Synthesis of a potentially bioactive, hydroxyapatite-nucleating molecule / S. Chang, H. Chen, J. Liu [et al.] // Calcif. Tissue Int. – 2006. – № 78 (1). – P. 55-61.
23. He G. Phosphorylation of phosphophoryn is crucial for its function as a mediator of biomineralization / G. He, A. Ramachandran, T. Dahl [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005. – № 280 (39). – P. 33109-33114.
24. Holland G. R. The odontoblast process: form and function / G. R. Holland // J. Dent. Res. – 1985. – Vol. 64 (Spec. Iss.). – P. 499-514.
25. Mah J. Dentine phosphoprotein in gingival crevicular fluid during root resorption / J. Mah, N. Prasad // Eur J. Orthod. – 2004. – № 26(1). – P. 25-30.
26. Marshall G. W. Dentin microstructure and characterization [Review] / G. W. Marshall // Quintessence International. – 1993. – Vol. 24, № 9. – P. 606-617.
27. Ye L. Deletion of Dentin Matrix Protein-1 Leads a Partial Failure of Maturation of Predentin into Dentin, Hypomineralization, and Expanded Cavities of Pulp and Root Canal during Postnatal Tooth Development / L. Ye, M. MacDougall, S. Zhang [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279 (18). – P. 19141-19148.

УДК 611.314+616.314.14

### СТРУКТУРНО-БІОХІМІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ДЕНТИНА

Гасюк А. П., Новосельцева Т. В., Ройко Н. В., Писаренко Е. А.

**Резюме.** Структурно-біохімічно дентин являє собою складну біомінералізовану тканину, в якій слід розрізняти плащовий дентин (перша зона), представлений термінальними відростками одонтобластів (колаген I типу), а також скріплюючим дентин з емаллю якірними волокнами (колаген VII типу). Друга зона – регулярний дентин, що складається з дихотомічних відростків одонтобластів, обмежених мембраною Неймана, що представлена фосфоліпідами. За нею розташований перитубулярний дентин (тропоколаген), за яким знаходиться інтертубулярний дентин (волокна Ебнера), що складається з колагену II типу. Нарешті, зона предентину представлена ШИК-позитивними структурами, що складаються з тропоколагену.

Отже, органічний матрикс дентину синтезується не тільки одонтобластими, але і їх відростками. При цьому тропоколаген, що синтезується одонтобластими екстрацелюлярно здійснює самозборку з формуванням колагену I- II типів.

**Ключові слова:** дентин, біохімія, колаген, тропоколаген, одонтобласт.

УДК 611.314+616.314.14

### СТРУКТУРНО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДЕНТИНА

Гасюк А. П., Новосельцева Т. В., Ройко Н. В., Писаренко Е. А.

**Резюме.** Структурно-биохимически дентин представляет собой сложную биоминерализованную ткань в которой следует различать плащевой дентин, представленный терминальными отростками одонтобластов (коллаген I типа), а также скрепляющими дентин с эмалью якорными волокнами (коллаген VII типа). Вторая зона – регулярный дентин, состоящий из дихотомических отростков одонтобластов, ограниченных мембраной Неймана, представленной фосфолипидами. За которой расположен перитубулярный дентин (тропоколлаген). За ним идет интертубулярный дентин (волокна Эбнера), состоящий из коллагена II типа. Наконец, зона предентина представлена ШИК-позитивными структурами, состоящими из тропоколлагена.

Следовательно, органический матрикс дентина синтезируется не только одонтобластими, но и их отростками. При этом синтезируемый одонтобластими тропоколлаген экстрацелюлярно осуществляет самозборку с формированием коллагена I- II типов.

**Ключевые слова:** дентин, биохимия, коллаген, тропоколлаген, одонтобласт.

UDC 611.314+616.314.14

### **Structural and Biochemical Organization of the Dentine**

**Gasyuk A. P., Novoseltseva T. V., Royko N. V., Pisarenko E. A.**

**Abstract.** Dentin is the mineralized, acellular, avascular, lime tooth tissue, which occupies an intermediate position between the bone cement and enamel.

The dentine is constructed of the mineralized intercellular substance, penetrated by numerous dentinal tubules. It is necessary to distinguish primary dentine which is formed prior to the formation and eruption of teeth, a secondary dentine is the regular or physiological, resulting in the formed after the eruption of the tooth and is a continuation of the primary; a tertiary dentine – reparative, substitutive, which is formed in response to pathogenic agents.

Primary or mantle dentine is formed by low-differentiated, multidendritic odontocytes along the enamel-dentin border of the enamel organ during embryogenesis. In this zone type I collagenic fibers (Korf's fibers), as well as the anchor fibers (type VII collagen), binding enamel to a dentine.

Regular dentin is formed after the eruption of the teeth and is characterized by the presence of dentinal tubules, which contain dichotomizing bifurcated processes of odontoblasts. The dentin fluid circulates in the dentinal tubules and contains organic and inorganic compounds that participate in the reconstruction of the dentin. Fluid is a transudate from the capillaries of the pulp, which is filtered through the endothelial gap and short processes of odontoblasts. This fluid, by protein composition is similar to blood plasma and penetrates into the space bounded by the Neumann's membrane.

This membrane, according to our data, contains a lot of proteids, well stained histochemically with the Nile blue. Exocytosis pinocytic vesicles are initiated from dentinal liquid in the formed space between the process and Neumann's membrane enter to the peritubular dentin.

The peritubular dentin surrounds the central and lateral processes of odontoblast in the form of the cylinder and histochemically stained intensely with PAS-reaction, indicating that the substance contains the tropocollagen rich in sialic acids (neutral mucoproteins).

The intratubular dentine is localized behind a peritubular dentine directly between separate tubules. It contains tangential collagenic Ebner's fibers which belong to type II collagen.

Structural glycoproteins, consisting of sialic acids are actively involved in the adsorption of calcium. This occurs both in regular dentin, and in predentin, adjacent directly to the pulp chamber. Calcium is adsorbed by phosphorines both to tropocollagen (although to a lesser degree), and collagen type I and II, where striated structures with an average thickness of 100-200 nm are localised. Thus, the analysis of literature data and results of our studies show that despite the strong biomineralization, dentin is a living self-renewing tissue, not only in the embryonic period, but throughout life. This is evidenced by a constant renewal of mantle dentin collagen fibers, represented by type I collagen fibers, regular dentin, consisting of type II collagen fibers, as well as predentin, containing predominantly tropocollagen fibrils.

Consequently, the organic matrix of dentin is synthesized not only by odontoblasts, but their processes too. At the same time, tropocollagen synthesized by odontoblasts, the extracellularly self-assembles along with the formation of types I- II collagen.

**Keywords:** dentin, biochemistry, collagen, tropocollagen, odontoblast.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 24. 09. 2014 р.*