УДК616.314-002-008

В.А. Румянцев, О.С. Полунина

ОЦЕНКА НАНОИМПРЕГНАЦИИ ДЕНТИНА ЗУБОВ С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ КАРИЕСА

Кафедра пародонтологии ГБОУ ВПО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

В стоматологии для профилактики рецидивирующего и вторичного кариеса зубов, а также пульпита используют антисептическую обработку кариозной полости, дентинные адгезивы, лазерное излучение и др. Однако эти методы не позволяют добиться эффективной деконтаминации и обтурации дентинных трубочек, в которых может продолжать персистироватьпатогенная микрофлора.

В работе впервые при экспериментальном лечении кариеса дентина с помощью электронной микроскопии изучена эффективность новой методики таргетной гальванофоретической наноимпрегнации дентина наночастицами комплексного препарата гидроксида меди-кальция. Гальванофорез осуществляли с помощью алюминиевой фольги, контактирующей с содержащим медь препаратом.

Установлено, что после инструментальной обработки полости наноимпрегнацию дентина целесообразно проводить в течение 14 сут. За этот срок происходит обтурация 85–90% дентинных трубочек на глубину в среднем 800 мкм и насыщение дентина кальцием, что способствует восстановлению его минерального состава, нарушенного в результате микробной деминерализации. Эффективность наноимпрегнации дентина гидроксидом меди-кальция снижается с увеличением возраста зубов, а также при наличии кариозной полости.

Ключевые слова: *кариес дентина, гидроксид меди-кальция, гальванофорез, электронно-микроскопическое исследование.*

ELECTRON MICROSCOPIC EVALUATION OF TEETH DENTIN NANOIMPREGNATION IN THE EXPERIMENTAL TREATMENT OF CARIES

V.A. Rumjantsev, O.S. Polunina

Tver State Medical University

Antiseptic cavity, dentine adhesives, laser light and othersmethods are usedin dentistry for the prevention of recurrent and secondary caries and pulpitis. However, these methods do not allow to achieve effective decontamination and obturation of dentinal tubules, which may continue to persist pathogenic microflora.

For the first time in the experimental treatment of dentine caries the efficacy of a new method of targeted dentin galvanoforetic nanoimpregnation by nanoparticle complex preparation of copper-calcium hydroxide was studied by electron microscopy examination. Galvanoforez was performed with aluminum foil in contact with the copper-containing drug.

It is found that after the tooling cavity dentin nanoimpregnation is advantageously carried out within 14 days. During this period obturation of 85–90% dentinal tubules to a depth of 800 nm and an average saturation of the dentine in calcium take place, which helps to restore its mineral composition, disturbed as a result of microbial demineralizing. Efficacy of dentin nanoimpregnation by copper-calcium hydroxide declines with increasing age of the teeth as well as the presence of cavities.

Key words: *caries dentin, copper-calcium hydroxide, galvanoforez, electron microscopic examination.*

Введение

Распространенность и интенсивность кариеса зубов у населения России не снижаются, и он остается основной причиной раннего удаления зубов. Несмотря на внедрение в практику стоматологии новых технологий и материалов, эффективность лечения кариеса зубов остается недостаточной. Виной тому – рецидивирующий и вторичный кариес [1–2]. На перелечивание таких зубов расходуется треть рабочего времени стоматолога.

При эндодонтическом лечении апикального периодонтита хорошо зарекомендовал себя метод «депофореза» гидроксида меди-кальция (ГМК), позволяющий за счет введения с помощью электрического тока в дентинные трубочки (ДТ) наночастиц препарата осуществлять не только их эффективную деконтаминацию, но и обтурацию [3]. Эти эффекты позволяют значительно повысить эффективность лечения, предупредить прогрессирование инфекции в апикальной зоне [4]. Используя в качестве источника тока не специальный прибор, как при «депофорезе», а гальваническую пару [5–6], мы получили еще более выраженный эффект при лечении осложненных форм кариеса зубов [7–9].

Кариес зуба сопровождается проникновением патогенной микрофлоры в ДТ, вызывая за счет собственной кислотопродукции деминерализацию дентина [10], со временем приводящую к его пигментации и нарушению адгезии пломбы. На 1 мм^2 поверхности дентина приходится до 60 000 ДТ

диаметром каждой в среднем 800 нм. Под пломбой микробная биопленка может размножаться и распространяться как в сторону пломбы, вызывая рецидив кариеса, так и в сторону пульпы зуба, вызывая ее воспаление [11–12]. Для предотвращения этого нежелательного эффекта предлагаются разные способы обтурации ДТ − с помощью наночастиц гидроксиапатита [13–14], дентинных адгезивов [3, 12], лазерного излучения [15] и др. Однако эти способы не обеспечивают достаточно выраженного и пролонгированного противомикробного и обтурирующего действия в отношении ДТ. Исходя из этого, мы предположили, что наноимпрегнация ГМК может оказаться эффективной в профилактике рецидивирующего кариеса и пульпита при кариозных поражениях дентина. Сообщений на эту тему в литературе нет.

Целью исследования явилась электронно-микроскопическая оценка управляемой наноимпрегнации дентина зубов *in vitro* препаратом гидроксида меди-кальция, используемым в перспективе для профилактики рецидивирующего кариеса и пульпита.

Материал и методы исследования

Для исследования в лабораторной модели были подобраны 15 постоянных пораженных кариесом и интактных зубов с сохранившимися коронками, удаленных по разным показаниям у пациентов в возрасте от 16 до 35 лет: 5 резцов и клыков, 5 первых и вторых премоляров и 5 первых и вторых моляров, как верхней, так и нижней челюсти.

Удаленные зубы очищали от обрывков волокон периодонта. Далее, если это был интактный зуб, трепанировали коронку и препарировали полость средней глубины; если зуб был ранее лечен по поводу кариеса – удаляли старую пломбу и освежали дно полости бором. Дно полостей обрабатывали 17% раствором ЭДТА для удаления «смазанного» слоя и промывали дистиллированной водой. Наноимпрегнацию препаратом ГМК осуществляли с помощью гальванофореза в лабораторной модели. Она представляла собой ванночку, заполненную физиологическим раствором, в которой подвешивались удаленные зубы таким образом, что корень зуба до эмалево-дентинной границы находился в растворе. Дно сформированной полости покрывали тонким слоем ГМК, сверху помещали алюминиевую фольгу и хлопчатобумажную нить, которая служила дренажем и одновременно электролитическим мостиком к раствору в ванночке. Таким образом, алюминий фольги и медь ГМК создавали гальваническую пару. Зубы закрывали временной пломбой «Septopack» с выведением наружу дренажа из нити. Величину гальванического тока измеряли мультиметром. Она колебалась в разных зубах от 13 до 15 мкА. В качестве ГМК применяли «Купрал» (Humanchemie GmbH, Германия).

Через 3, 7 и 14 сут (всего 3 серии по 5 зубов в каждой) зубы вынимали из раствора, удаляли временные пломбы, полости промывали от остатков ГМК дистиллированной водой. Затем зубы раскалывали так, чтобы линия раскола проходила перпендикулярно дну полости (поперечный скол). Поверхности сколов и дна полостей тщательно шлифовали с помощью шлиф-машины. Полученные образцы изучали на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) «Hitachi TM3030» (Япония) при ускоряющем напряжении 15 кВ, который позволяет не только получать увеличенное изображение, но и осуществлять элементный анализ исследуемого материала. Исследовали как поверхности поперечных сколов, так и поверхности сформированных полостей.

Результаты и обсуждение

Показатели гальванического тока, полученные в эксперименте (13–15 мкА), свидетельствуют о том, что он не должен ощущаться пациентом во время гальванофореза, поскольку эти величины меньше порога чувствительности пульпы зуба при кариесе.

Изучение на электронном микроскопе первой серии сколов и поверхностей полостей зубов (спустя 3 сут наноимпрегнации) показало обтурацию единичных ДТ на глубину до 25 мкм (рис. 1). В среднем в полях зрения оказались обтурированными 10–12% ДТ.

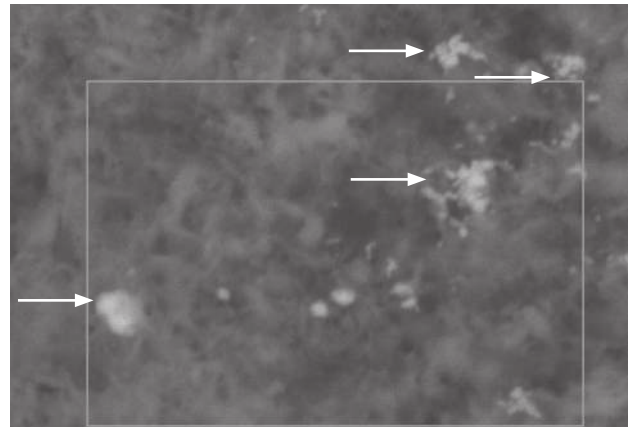


Рис. 1. Поверхностный и интертубулярный дентин 1-й серии зубов через 3 сут наноимпрегнации ГМК. Поверхность полости, СЭМ. ×8000. Стрелками показаны участки обтурации ДТГМК

Как следует из рис. 2, в дентине зубов после наноимпрегнации ГМК преобладает кальций, в меньшей степени – такие элементы, как медь, цинк, сера и др.

Во второй серии исследований (спустя 7 сут наноимпрегнации) также наблюдалась единичная, но более интенсивная обтурация ДТГМК на глубину 80–100 мкм (рис. 3). В среднем число обтурированных трубочек составило 35–40%.

При изучении третьей серии образцов зубов (на 14-е сут эксперимента) было выявлено значительное увеличение числа обтурированных ГМКДТ на глубину до 800 мкм (рис. 4, 5). Их среднее число в полях зрения составило 85–90%.

Нами также отмечено, что на эффективность наноимпрегнации влияет не только ее длительность, но

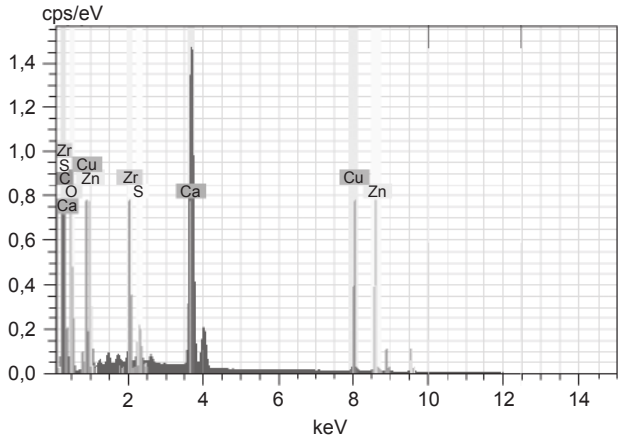


Рис. 2. Элементный состав поверхностей 1-й серии сколов зубов через 3 сут наноимпрегнации ГМК по данным СЭМ

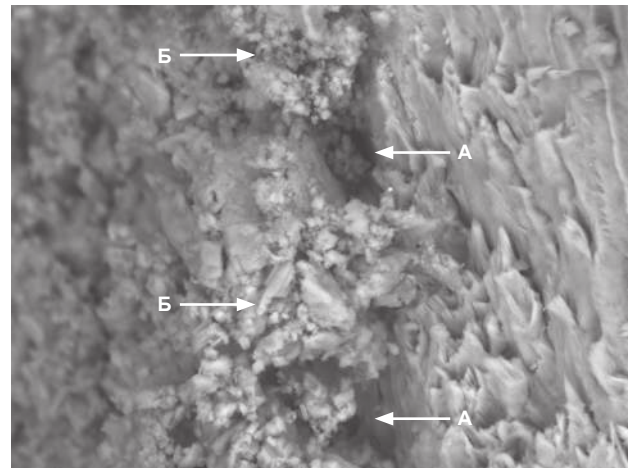


Рис. 3. Поверхностный и интертубулярный дентин 2-й серии зубов через 7 сут наноимпрегнации ГМК. Стрелками «А» показаны участки обтурации ДТГМК, стрелками «Б» − отложения ГМК на поверхности дентина. Поверхность полости, СЭМ. ×10 000

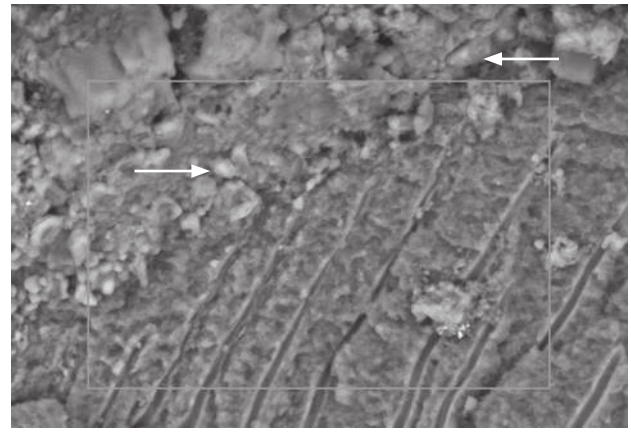


Рис. 4. Поверхностный и интертубулярный дентин 3-й серии зубов через 14 сут наноимпрегнации ГМК. Стрелками показаны участки обтурации ДТГМК. Поперечный скол, СЭМ. ×2000

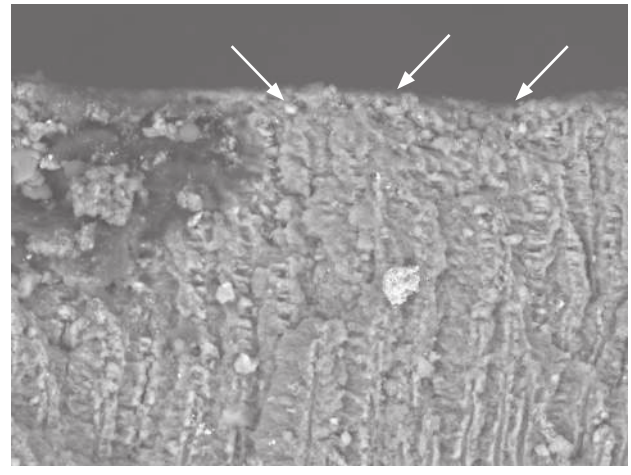


Рис. 5. Поверхностный и интертубулярный дентин 3-й серии зубов через 14 сут наноимпрегнации ГМК. Стрелками показаны участки обтурации ДТГМК. Поперечный скол, СЭМ. ×8000

и возраст зубов и наличие на их коронках кариозных поражений. Так, в зубах, удаленных у 16–20-летних пациентов, по результатам СЭМ, при одной и той же длительности наноимпрегнации в дентине в среднем на 17% больше содержалось таких элементов, как медь, кальций и сера в сравнении с зубами, удаленными у пациентов в возрасте 30–35 лет. В дентине зубов, имеющих кариозные поражения, этих элементов было обнаружено в среднем на 22% меньше, чем в исходно интактных зубах. Это может объясняться как уменьшением диаметра ДТ с возрастом, так и отложением иррегулярного вторичного дентина. При кариозных поражениях имеет место выработка заместительного дентина одонтобластами в зоне, прилежащей к кариозному поражению, что также может затруднять процесс проникновения наночастиц ГМК в ДТ.

Представленные на рис. 6 результаты анализа элементного состава и топографического распределения элементов в дентине свидетельствуют о том, что спустя 14 сут наноимпрегнации в дентине наиболее заметно увеличивается количество кальция и фосфора. При этом количество меди, серы, магния и других элементов существенно не меняется. В то же время в этом спектре появляется алюминий.

Таким образом, проведенное исследование показало, что гальванофорез препарата ГМК с целью наноимпрегнации ДТ следует осуществлять в сроки не менее 14 сут. При этом удается обтурировать наночастицами препарата 85–90% ДТ, что в дальнейшем может предупреждать развитие рецидивирующего кариеса и пульпита. Этому может способствовать длительная деконтаминация и обтурация ДТ наночастицами ГМК, то есть предупреждение роста микробной биопленки в пораженном дентине. В указанный срок глубина проникновения наночастиц ГМК в ДТ составляет в среднем 800 мкм. Учитывая, что патогенная микрофлора обнаруживается в ДТ на глубине 300 нм, их наноимпрегнация способна обеспечить надежную деконтаминацию дентина, но в то же время наночастицы ГМК не доходят до пульпы и не провоцируют ее раздражения.

Проведенный анализ элементного состава дентина показал, насыщение дентина зубов кальцием под влиянием гальванофореза ГМК, что также можно рассматривать как положительный эффект,

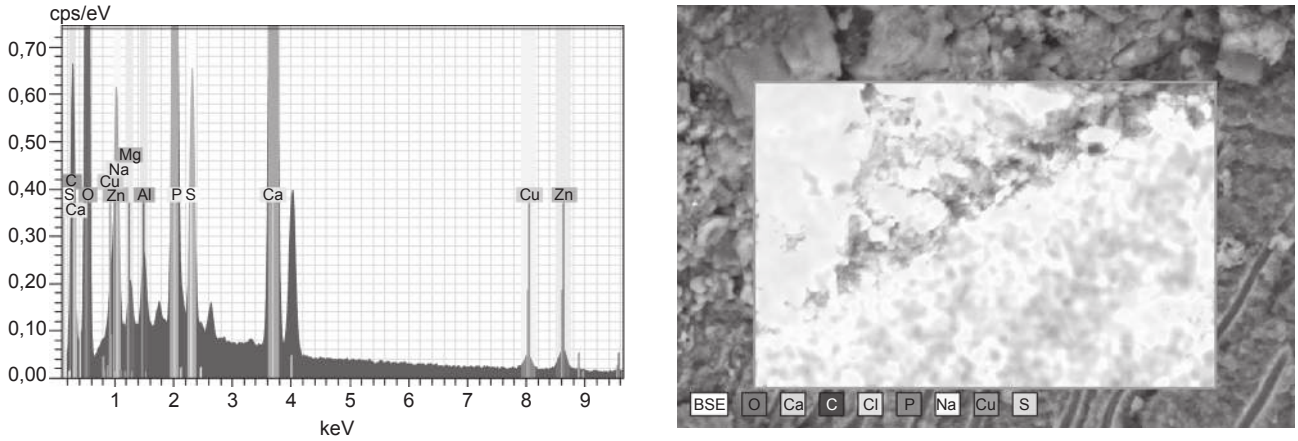


Рис. 6. Элементный состав и распределение элементов в области поверхностей полостей 3-й серии зубов через 14 сут наноимпрегнации ГМК по данным СЭМ. Поперечный скол, СЭМ. ×8000

способствующий восстановлению его минерального состава, нарушенного в результате микробной деминерализации.

Представленные данные экспериментального исследования позволяют предположить, что предложенная методика таргетной гальванофоретической наноимпрегнации дентина может оказаться высокоэффективной при лечении кариеса зубов, однако требует еще детальной клинической оценки.

Выводы

1. После инструментальной обработки кариозной полости наноимпрегнацию дентина путем гальванофореза гидроксида меди-кальция для профилактики рецидивирующего кариеса зубов и пульпита целесообразно проводить в течение 14 сут. За этот срок происходит обтурация 85–90% дентинных трубочек на глубину до 800 мкм.
2. Эффективность наноимпрегнации дентина гидроксидом меди-кальция снижается с увеличением возраста зубов.
3. Наноимпрегнация дентина зубов гидроксидом меди-кальция в течение 14 сут обеспечивает его насыщение кальцием, что способствует восстановлению его минерального состава, нарушенного в результате микробной деминерализации.

Литература/References

1. *Полунина О.С., Румянцев В.А.* Способ локального колориметрического определения критического снижения pH на поверхностях зубов / О.С. Полунина, В.А. Румянцев // Патент РФ № 2438588, 10.01.2012. A61B 10/00. Публикация 10.01.2012. – бюл. № 1.

Polunina O.S., Rumjancev V.A. Sposob lokal'nogo kolorimetricheskogo opredelenija kriticheskogo snizhenija rN na poverhnostjah zubov / O.S. Polunina, V.A. Rumjancev // Patent RF № 2438588, 10.01.2012. A61V 10/00. Publikacija 10.01.2012. – bjul. № 1.

2. *Arora R., Goswami M., Chaudhary S. et al.* Comparative evaluation of effects of chemo-mechanical and conventional caries removal on dentinal morphology and its bonding characteristics – an SEM study // Eur. Arch. Paediatr. Dent. – 2012. – V. 13. – № 4. – P. 179–184.

3. *Zhang N., Melo M.A., Chen C. et al.* Development of a multifunctional adhesive system for prevention of rootcaries and secondary caries // Dent. Mater. – 2015. – V. 31. – № 9. – P. 1119–1131.

4. *Румянцев В.А.* Наностоматология / В.А. Румянцев. – М.: МИА, 2010. – 192 с.

Rumjancev V.A. Nanostomatologija / V.A. Rumjancev. – M.: MIA, 2010. – 192 s.

5. *Румянцев В.А., Ольховская А.В., Задорожный Д.В. и др.* Способ эндодонтического наноимпрегнационного лечения пульпита, апикального и краевого периодонтита зубов // Патент РФ № 2481803, 20.03.2012. Публикация 20.05.2013. – бюл. № 14.

Rumjancev V.A., Ol'hovskaja A.V., Zadorozhnyj D.V. i dr. Sposob jendodonticheskogo nanoimpregnacionnogo lechenija pul'pita, apikal'nogo i kraevogo periodontita zubov // Patent RF № 2481803, 20.03.2012. Publikacija 20.05.2013. – bjul. № 14.

6. *Румянцев В.А., Опешко В.В.* Гальванический штифт для наноимпрегнации тканей зубов // Патент на полезную модель РФ № 129800, приоритет 22.06.2012. Публикация 10.07.2013. – бюл. № 19.

Rumjancev V.A., Opeshko V.V. Gal'vanicheskij shtift dlja nanoimpregnacii tkanej zubov // Patent na poleznuju model' RF № 129800, prioritet 22.06.2012. Publikacija 10.07.2013. – bjul. № 19.

7. *Румянцев В.А., Бордина Г.Е., Ольховская А.В. и др.* Клинико-лабораторная оценка и обоснование способа гальванофореза гидроксида меди-кальция при эндодонтическом лечении апикального периодонтита // Стоматология. – 2015. – Т. 94. – № 1. – С. 14–19.

Rumjancev V.A., Bordina G.E., Ol'hovskaja A.V. i dr. Kliniko-laboratornaja ocenka i obosnovanie sposoba gal'vanoforeza gidroksida medi-kal'cija pri jendodonticheskom lechenii apikal'nogo periodontita // Stomatologija. – 2015. – T. 94. – № 1. – S. 14–19.

8. *Румянцев В.А., Ольховская А.В., Задорожный Д.В. и др.* Наноимпрегнационные технологии в повышении качества эндодонтического лечения // Эндодонтия today. – 2010. – № 3. – С. 46–49.

Rumjancev V.A., Ol'hovskaja A.V., Zadorozhnyj D.V. i dr. Nanoimpregnacionnye tehnologii v povyshenii kachestva jendodonticheskogo lechenija // Jendodontija today. – 2010. – № 3. – S. 46–49.

9. *Румянцев В.А., Родионова Е.Г., Денис А.Г. и др.* Электронно-микроскопическая оценка эффективности гальванофореза // Стоматология. – 2013. – № 2. – С. 4–8.

Rumjancev V.A., Rodionova E.G., Denis A.G. i dr. Jelektronno-mikroskopicheskaja ocenka jeffektivnosti gal'vanoforeza // Stomatologija. – 2013. – № 2. – S. 4–8.

10. *Фаустов Л.А., Леонтьев В.К., Попков В.Л. и др.* Ультраструктурная характеристика твердых тканей корней зуба при пульпитах. Феномен формирования в дентине инфицированных очагов деструкции // Научные ведомости БелГУ. Серия «Медицина. Фармация». – 2011. – № 16 (111). – Вып. 15/1. – С. 93–99.

Faustov L.A., Leont'ev V.K., Popkov V.L. i dr. Ul'trastrukturnaja harakteristika tverdyh tkanej kornej zuba pri pul'pitah. Fenomen formirovanija v dentine in-ficirovannyh ochagov destrukcii // Nauchnye vedomosti BelGU. Serija «Medicina. Farmacija». – 2011. – № 16 (111). – Vyp. 15/1. – S. 93–99.

11. *Dige I., Gronkjaer L., Nyvad B.* Molecular studies of the structural ecology of natural occlusal caries // Caries Res. – 2014. –V. 48. – № 5. – P. 451–460.

12. *Hamama H.H., Yiu C.K., Burrow M.F., King N.M.* Chemical, morphological and microhardness changes of dentine after chemomechanical caries removal // Aust. Dent. J. – 2013. – V. 58. – № 3. – P. 283–292.

13. *Hill R.G., Chen X., Gillam D.G. In vitro* ability of a novel nanohydroxyapatite oral rinse to occlude dentine tubules // Int. J. Dent. – 2015. – V. 2015. – № 153 284.

14. *Olley R.C., Parkinson C.R., Wilson R. et al.* A novel method to quantify dentine tubule occlusion applied to in situ model samples // Caries Res. – 2014. – V. 48. – № 1. – P. 69–72.

15. *Umana M., Heysselaer D., Tielemans M. et al.* Dentinal tubules sealing by means of diode lasers (810 and 980 nm): a preliminary *in vitro* study // Photomed. Laser Surg. – 2013. – V. 31. – № 7. – P. 307–314.

Румянцев Виталий Анатольевич (контактное лицо) – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой пародонтологии ГБОУ ВПО «Тверской ГМУ» Минздрава России. Рабочий адрес: Россия, 170006, г. Тверь, Беляковский пер., 21. Тел. +7 (4822) 42-21-48, доб. 217; e-mail: stomatology@tvergma.ru.