

Наноимпрегнация дентина зубов при экспериментальном лечении кариеса: оценка с помощью электронной микроскопии

В.А. РУМЯНЦЕВ, д.м.н., проф., зав. кафедрой
О.С. ПОЛУНИНА,
В.В. ОПЕШКО,
Д.А. МОИСЕЕВ

Кафедра пародонтологии
ГБОУ ВПО «Тверской государственной медицинский университет» Минздрава России

Evaluation nanoimpregnation dentin of the teeth with an electron microscope in experimental treatment of caries

V.A. RUMYANTSEV, O.S. POLUNINA, V.V. OPESHKO, D.A. MOISEEV

Резюме

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 obturation дентинных трубочек, в которых может продолжать персистировать патогенная 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 суток. За этот срок происходит obturation 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 гидроксидами меди-кальция снижается с увеличением возраста зубов, а также при наличии кариозной полости.

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

Abstract

In dentistry, for the prevention of recurrent and secondary caries and pulpitis used antiseptic cavity, dentine adhesives, laser light, and others. However, these methods do not allow up-beat effective decontamination and obturation of dentinal tubules, which may continue to persist pathogenic microflora.

For the first time in the experimental treatment dentine caries by electron microscopy studied the effectiveness of a new method of targeted galvanoforetic nano impregnation dentin complex by nanoparticles of copper-calcium hydroxide. Galvanoforez performed with aluminum foil in contact with the copper-containing drug.

It is found that after the tooling cavity nano impregnation dentin is advantageously carried out within 14 days. During this period, it takes place obturation 85–90% of the dentinal tubules to a depth of 800 nm and an average saturation of the dentine with calcium, which contributes to the restoration of its mineral composition, disturbed because of microbial demineralizing. Efficacy nano impregnation dentin of copper-calcium hydroxide declines with increasing age of the teeth, and in the presence of cavities.

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

Кариес зубов остается основной причиной раннего удаления зубов у населения России. Распространенность и интенсивность его не снижаются. Несмотря на внедрение в практику стоматологии новых технологий и материалов, эффективность лечения кариеса зубов остается недостаточной. Виной тому — рециди-

вирующий 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 не только осуществлять их эффективную деконтаминацию, но и obturацию [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, которая за счет собственной кислотопродукции вызывает деминерализацию дентина [10], приводящую со временем к его пигментации и нарушению адгезии пломбы. На 1 мм² поверхности дентина приходится до 60 000 ДТ с диаметром каждой в среднем 800 нм. Под пломбой микробная биопленка может размножиться 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 obturации ДТ: с помощью наночастиц гидроксипатита [13, 14], дентинных адгезивов [3, 12], лазерного излучения [15] и др. Однако эти способы не обладают достаточно выраженными и пролонгированными противомикробным и obturирующим действиями 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.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Электронно-микроскопическая оценка управляемой наноимпрегнации дентина зубов *in vitro* препаратом гидроксида меди-кальция, используемой в перспективе для профилактики рецидивирующего кариеса и пульпита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

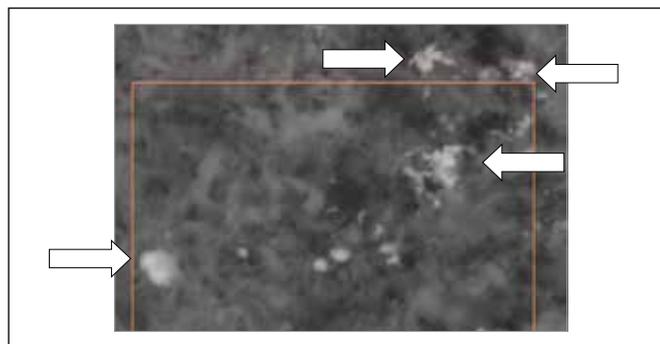


Рис. 1. Поверхностный и интERTУбулярный дентин 1 серии зубов через 3 суток наноимпрегнации ГМК. Поверхность полости, СЭМ, увел. х8000. Стрелками показаны участки obturации ДТ ГМК

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 Septorack 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 суток (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 шлифмашины. 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 ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ 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.

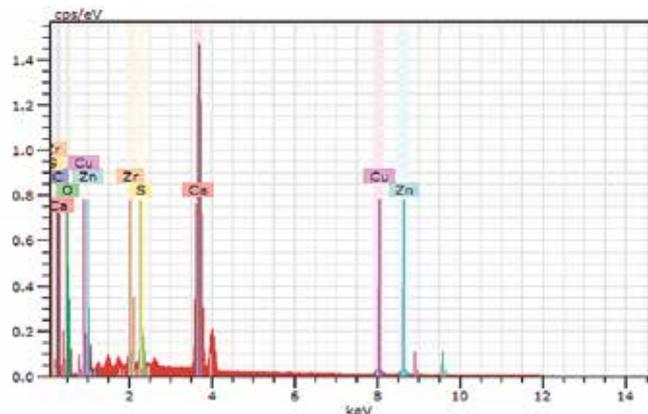


Рис. 2. Элементный состав поверхностей 1 серии сколов зубов через 3 суток наноимпрегнации ГМК по данным СЭМ

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

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 суток наноимпрегнации) также наблюдалась единичная, но более интенсивная obturation ДТ ГМК на глубину 80–100 мкм (рис. 3). В среднем число obturated трубочек составило 35–40%.

При изучении третьей серии образцов зубов (на 14 сутки эксперимента) было выявлено значительное увеличение числа obturated ГМК ДТ 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 возраст зубов и наличие на их коронках кариозных поражений. Так,

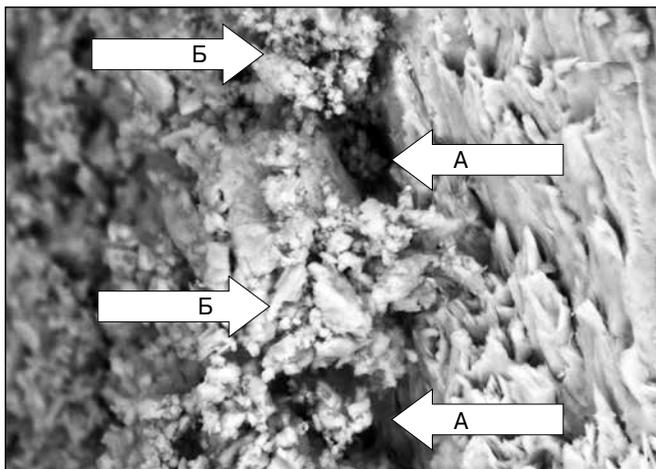


Рис. 3. Поверхностный и интертубулярный дентин 2 серии зубов через 7 суток наноимпрегнации ГМК. Стрелками «А» показаны участки obturation ДТ ГМК. Стрелками «Б» — отложения ГМК на поверхности дентина. Поверхность полости, СЭМ, увел. x10 000

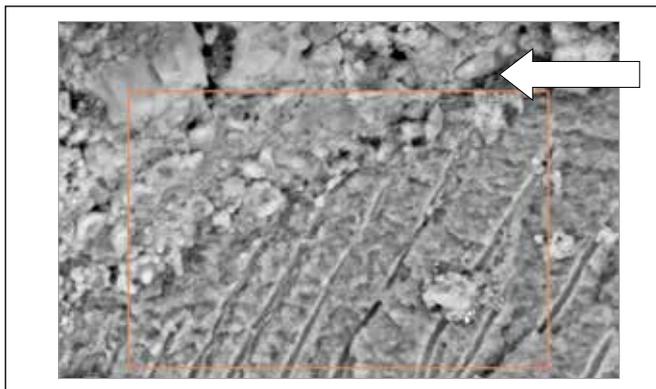


Рис. 4. Поверхностный и интертубулярный дентин 3 серии зубов через 14 суток наноимпрегнации ГМК. Стрелками показаны участки obturation ДТ ГМК. Поперечный скол, СЭМ, увел. x2000

в зубах, удаленных у 16–20-летних пациентов при одной и той же длительности наноимпрегнации, по результатам СЭМ, 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 первоначально intactных зубах. Это может объясняться как уменьшением с возрастом диаметра ДТ, так и отложением иррегулярного вторичного дентина. При кариозных поражениях имеет место выработка заместительного дентина

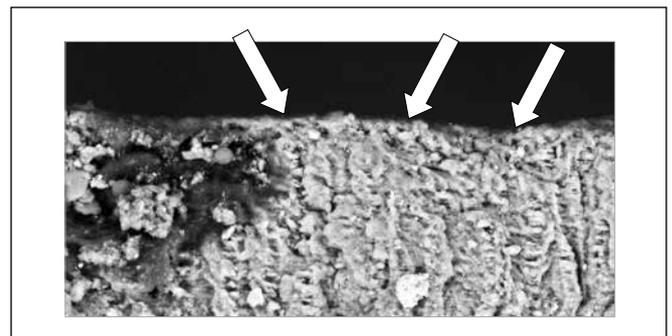


Рис. 5. Поверхностный и интертубулярный дентин 3 серии зубов через 14 суток наноимпрегнации ГМК. Стрелками показаны участки obturation ДТ ГМК. Поперечный скол, СЭМ, увел. x8000

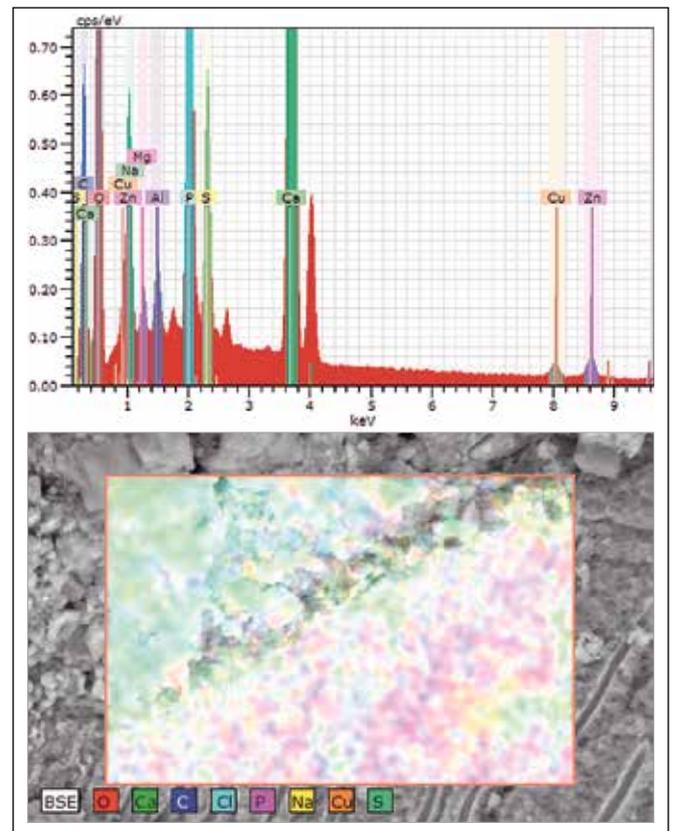


Рис. 6. Элементный состав и распределение элементов в области поверхностей полостей 3 серии зубов через 14 суток наноимпрегнации ГМК по данным СЭМ. Поперечный скол, СЭМ, увел. x8000

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 топо-графического распределения элементов в дентине свидетельствуют о том, что спустя 14 суток 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 суток. При этом удается obturировать наночастицами препарата 85–90% ДТ, что в дальнейшем может предупредить развитие рецидивирующего кариеса и пульпита. Этому может способствовать длительная деконтаминация и obturация 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, это способно 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, что под влиянием гальванофореза ГМК дентин зубов насыщается кальцием, что также можно рассматривать как положительный эффект, 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. Для профилактики рецидивирующего кариеса зубов и пульпита после инструментальной обработки кариозной полости наноимпрегнацию дентина путем гальванофореза гидроксида меди-кальция целесообразно проводить в течение 14 суток. За этот срок происходит obturация 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 суток обеспечивает его насыщение кальцием, что способствует восстановлению его минерального состава, нарушенного в результате микробной деминерализации.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Полунина О. С., Румянцев В. А. Способ локального колориметрического определения критического снижения pH на поверхностях зубов // Патент РФ №2438588, 10.01.2012. А61В 10/00. Публикация 10.01.2012. Бюл. №1.

Polunina O. S., Rumjantsev V. A. Sposob lokalnogo kolorimetricheskogo opredelenia kriticheskogo snizhenia pH na poverhnostah zubov // Patent RF № 2438588, 10.01.2012. A61B 10/00. Publicacia 10.01.2012. Bul. №1.

2. Arora R., Goswami M., Chaudhary S., Chaitra T.R., Kishor A., Rallan M. 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. Vol. 13. №4. P. 179–184.

3. Zhang N., Melo M.A., Chen C., Liu J., Weir M.D., Bai Y., Xu H.H. Development of a multifunctional adhesive system for prevention of root caries and secondary caries // Dent. Mater. 2015. Vol. 31. №9. P. 1119–1131.

4. Румянцев В. А. Наностоматология. — М.: МИА, 2010. — 192 с. Rumjantsev V. A. Nanostomatologia. — М.: MIA, 2010. — 192 s.

5. Румянцев В. А., Ольховская А. В., Задорожный Д. В., Родионова Е. Г., Панкин П. И. Способ эндодонтического наноимпрегнационного лечения пульпита, апикального и краевого периодонтита зубов // Патент РФ № 2481803. 20.03.2012. Публикация 20.05.2013. Бюл. №14.

Rumjantsev V. A., Olhovskaja A. V., Zadorojnyj D. V., Rodionova E. G., Pankin P. I. Sposob endodonticheskogo nanoimpregnatsionnogo lechenia pulpita, apikalnogo i kraevogo periodontita zubov // Patent RF №2481803. 20.03.2012. Publikazia 20.05.2013. Bul. №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.

Rumjantsev V. A., Opeshko V. V. Galvanicheskiy shiftit dla nanoimpregnatsii tkaney zubov // Patent na poleznuu model RF № 129800, Publikazia 10.07.2013. Bul. №19.

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

Rumjantsev V. A., Bordina G. E., Olhovskaja A. V., Opeshko V. V. Kliniko-laboratornaja ozenka i obosnovanie sposoba galvanoforeza gidroksida medikaltsia pri endodonticheskom lechenii apikalnogo periodontita // Stomatologija. 2015. T. 94. №1. С. 14–19.

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

Rumjantsev V. A., Olhovskaja A. V., Zadorojnyj D. V., Nikolajen E. A., Zamotaev S. A. Nanoimpregnatsionnie tehnologii v povishenii kachestva endodonticheskogo lechenia // Endodontia today. 2010. №3. С. 46–49.

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

Rumjantsev V. A., Rodionova E. G., Denis A. G., Olhovskaja A. V., Tsaturova U. V. Elektronno-mikroskopicheskaja otsenka effektivnosti galvanoforeza // Stomatologija. 2013. №2. S. 4–8.

10. Фаустов Л. А., Леонтьев В. К., Попков В. Л., Гречишников В. В., Сычева Н. Л. Ультроструктурная характеристика твердых тканей корневых зубов 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., Leontiev V. K., Popkov V. L., Grechishnikov V. V., Sicheva N. L. Ultrastrukturnaja harakteristika tverdih tkaney korney zubov pri pulpitah. Fenomen formirovanija v dentine infitsirovannih ochagov destruktssii // Nauchnie vedomosty BelGU. Serija «Medicina. Farmatsia». 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. Vol. 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. Vol. 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. Vol. 2015. №153284.

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

15. Umana M., Heyselaer D., Tielemans M., Compere P., Zeinoun T., Nam-mour S. Dentine tubules sealing by means of diode lasers (810 and 980 nm): a preliminary in vitro study // Photomed. Laser Surg. 2013. Vol. 31. №7. P. 307–314.

Поступила 06.06.2016

Координаты для связи с авторами:
170006, г. Тверь, Беляковский пер., д. 21
ГБОУ ВПО «Тверской ГМУ»
Кафедра пародонтологии