

**В.А. Румянцев, О.С. Полунина**  
**ОЦЕНКА НАНОИМПРЕГНАЦИИ ДЕНТИНА ЗУБОВ**  
**С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ**  
**ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ КАРИЕСА**  
*ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава России, Тверь*

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 продолжаться 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 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**  
**Rumjantsev V.A., Polunina O.S.**

*Tver State Medical University*

Antiseptic cavity, dentine adhesives, laser light and others methods are used in 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.

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. 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. Эти эффекты позволяют значительно повысить эффективность лечения, предупредить прогрессирование инфекции в апикальной зоне. Используя в качестве источника тока не специальный прибор, как при «депофорезе», а гальваническую пару, мы получили еще более выраженный эффект при лечении осложненных форм кариеса зубов.

Кариес зуба сопровождается проникновением патогенной микрофлоры в ДТ, вызывая за счет собственной кислотопродукции деминерализацию дентина, со временем приводящую к его пигментации и нарушению адгезии пломбы. На  $1 \text{ мм}^2$  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. Для предотвращения этого нежелательного эффекта предлагаются разные способы obturации ДТ – с помощью наночастиц гидроксиапатита, дентинных адгезивов, лазерного излучения и др. Однако эти способы не обеспечивают достаточно выраженного и пролонгированного противомикробного и obturирующего 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 «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).

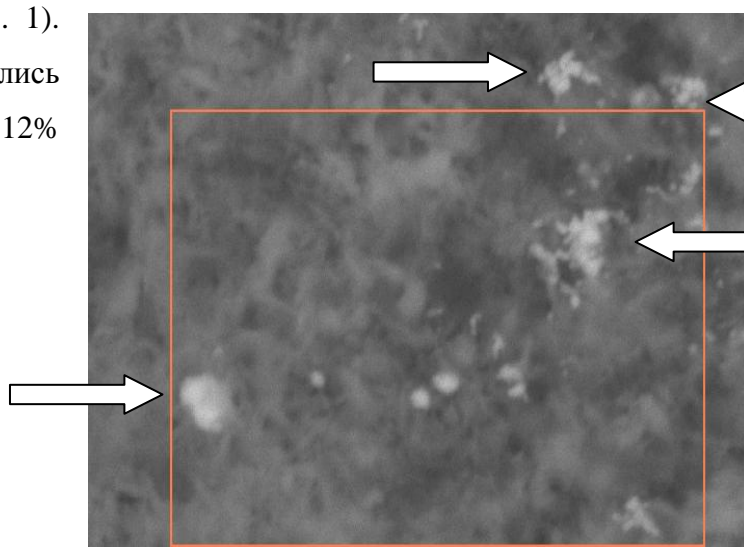
Через 3, 7 и 14 суток (всего 3 серии по 5 зубов в каждой) зубы вынимали из раствора, удаляли временные пломбы, полости промывали от остатков ГМК дистиллированной водой. Затем зубы раскалывали так, чтобы линия раскола проходила перпендикулярно дну полости (поперечный скол). Поверхности сколов и дна полостей тщательно шлифовали с помощью 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 суток наноимпрегнации) показало obturацию единичных ДТ на глубину до 25 мкм (рис. 1).

ния оказались  
ными 10-12%



В среднем в полях зрения  
обтурирован-  
ДТ.

Рис. 1. Поверхностный и интертубулярный дентин 1-ой серии зубов через 3 суток наноимпрегнации ГМК. Поверхность полости, СЭМ, ув.  $\times 8\ 000$ . Стрелками показаны участки obturation ДТ ГМК.

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

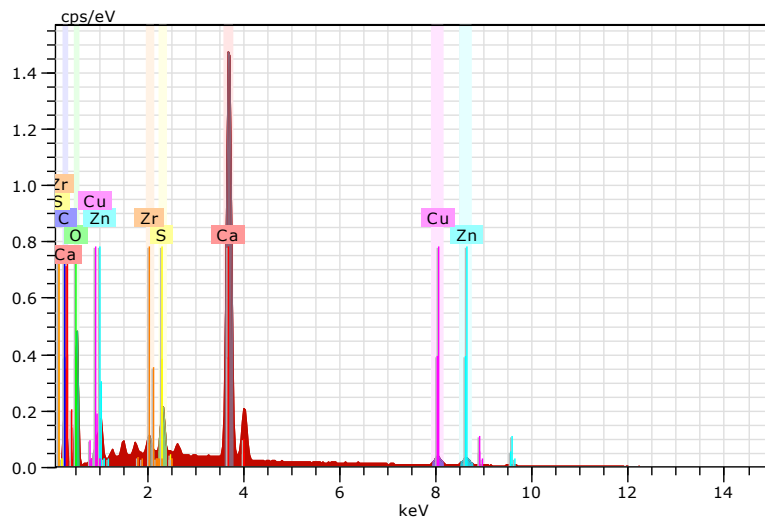
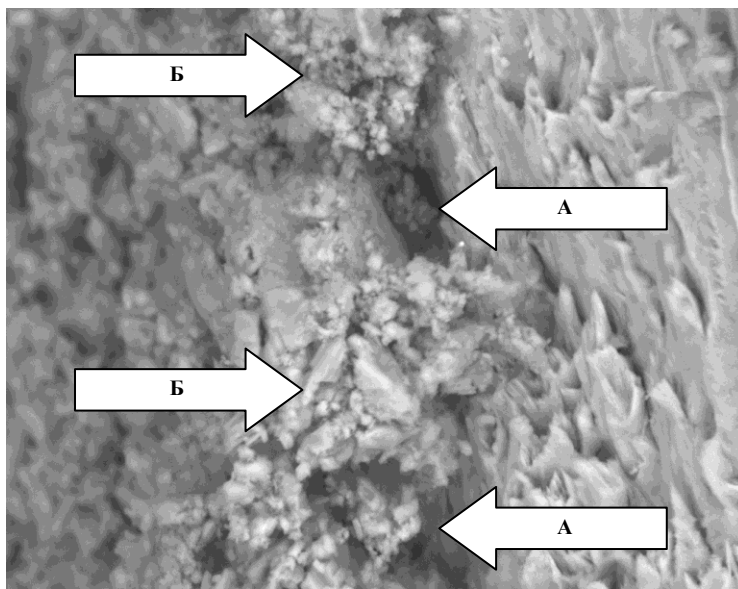


Рис. 2. Состав 1-ой серии рез 3 суток наноимпрегнации ГМК по данным СЭМ.

Элементный состав поверхностей 1-скосов зубов ченаноимпрегна-

Во второй серии исследований (спустя 7 суток наноимпрегнации) также наблюдалась единичная, но obturation ДТ 80-100 мкм число obturir- составило 35-



более интенсивная ГМК на глубину (рис. 3). В среднем рованных трубочек 40%.

Рис. 3. Поверхностный и интертубулярный дентин 2-ой серии зубов через 7 суток наноимпрегнации ГМК. Стрелками «А» показаны участки obtурации ДТ ГМК, стрелками «Б» – отложения ГМК на поверхности дентина. Поверхность полости, СЭМ, ув.  $\times 10\,000$ .

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

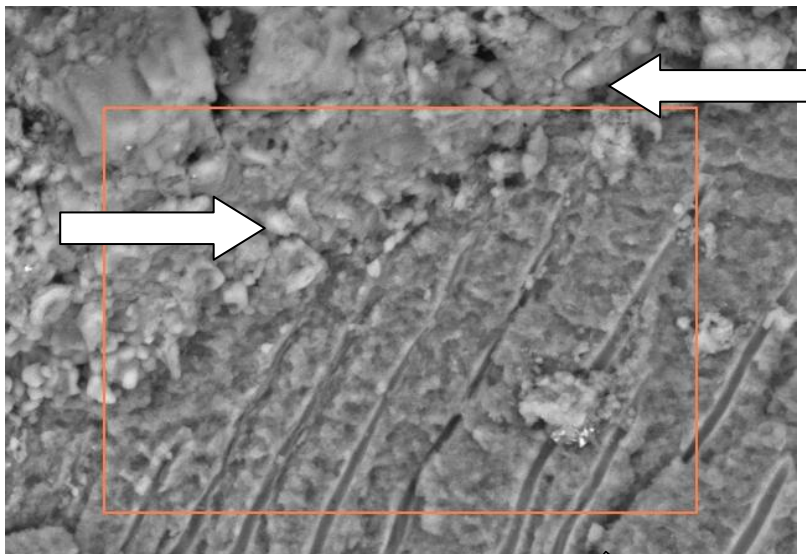
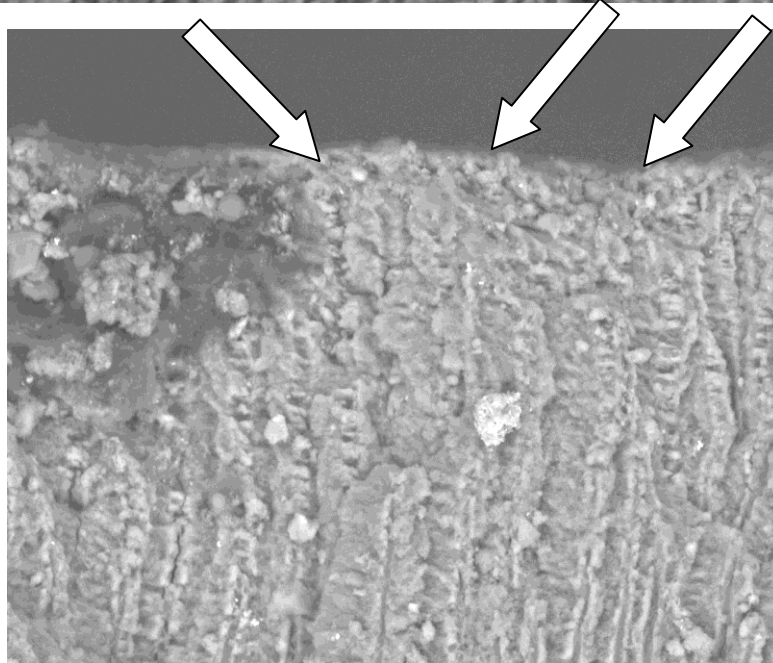


Рис. 4. Поверх-  
тертубулярный  
зубов через 14  
прегнации  
показаны уча-  
ДТ ГМК. Попе-  
СЭМ, ув.  $\times 2$



ностный и ин-  
дентин 3-й серии  
суток наноим-  
ГМК. Стрелками  
стки obtурации  
речный скол,  
000.

Рис. 5. Поверхностный и интертубулярный дентин 3-й серии зубов через 14 суток наноимпрегнации ГМК. Стрелками показаны участки obturации ДТ ГМК. Поперечный скол, СЭМ, ув.  $\times 8000$ .

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

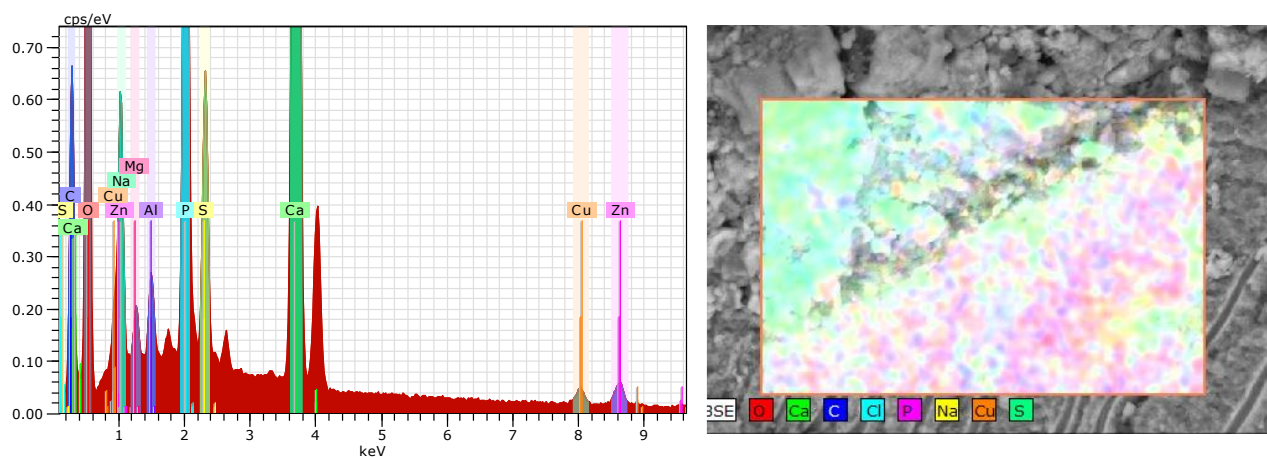


Рис. 6. Элементный состав и распределение элементов в области поверхностей полостей 3-й серии зубов через 14 суток nanoимпрегнации ГМК по данным СЭМ. Поперечный скол, СЭМ, ув.  $\times 8\ 000$ .

Таким образом, проведенное исследование показало, что гальванофорез препарата ГМК с целью nanoимпрегнации ДТ следует осуществлять в сроки не менее 14 суток. При этом удается obturировать наночастицами препарата 85-90% ДТ, что в дальнейшем может предупреждать 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, их nanoимпрегнация 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, способствующий восстановлению его минерального состава, нарушенного в результате микробной деминерализации.

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

### Выводы:

1. После инструментальной обработки кариозной полости nanoимпрегнацию дентина путем гальванофореза гидроксида меди-кальция для профилактики рецидивирующего кариеса зубов и пульпита целесообразно проводить в течение 14 суток. За этот срок



- происходит obturation 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.

### **Литература/References**

1. Полунина О.С., Румянцев В.А. Способ локального колориметрического определения критического снижения рН на поверхностях зубов / О.С. Полунина, В.А. Румянцев // Патент РФ № 2438588, 10.01.2012. А61В 10/00. Публикация 10.01.2012. – бюл. № 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 root caries 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.
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.
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.
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. – Том 94. – № 1. – С. 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.
9. Румянцев В.А., Родионова Е.Г., Денис А.Г. и др. Электронно-микроскопическая оценка эффективности гальванофореза // Стоматология. – 2013. – № 2. – С. 4-8.
10. Фаустов Л.А., Леонтьев В.К., Попков В.Л. и др. Ультроструктурная характеристика



- твердых тканей корней зуба при пульпитах. Феномен формирования в дентине инфицированных очагов деструкции // Научные ведомости БелГУ. Серия «Медицина. Фармация». – 2011. – № 16 (111). – Выпуск 15/1. – С. 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. Намана Н.Н., Yiu C.K., Burrow M.F., King N.M. Chemical, morphological and micro-hardness 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. – № 153284.
  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., Heyselaer 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](mailto:stomatology@tvergma.ru)*