

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Тверской государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Блинова
Алиса Владимировна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПАССИВНОЙ НАНОИМПРЕГНАЦИИ КОРНЯ ЗУБА
ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМ АПИКАЛЬНЫМ ПЕРИОДОНТИТОМ**

3.1.7. Стоматология

Диссертация
на соискание степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Румянцев Виталий Анатольевич

Тверь — 2022

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ВОЗМОЖНОСТИ НАНОПРЕПАРАТОВ И НАНОТЕХНОЛОГИЙ В ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ (обзор литературы).....	17
1.1 Полость рта как микробная экосистема.....	17
1.2 Наноматериалы и нанотехнологии в реставрационной и хирургической стоматологии.....	19
1.2.1 Нанонаполненные композиционные материалы.....	19
1.2.2 Наноструктурированные покрытия дентальных имплантатов	23
1.3 Применение нанопрепаратов в эндодонтической практике	28
1.3.1 Растворы для ирригации корневых каналов	30
1.3.2 Наночастицы в материалах для временного пломбирования корневых каналов зубов.....	34
1.3.3 Электрофорез с применением гидроксида меди-кальция	40
1.3.4 Наночастицы в материалах для постоянного пломбирования корневых каналов зубов.....	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	52
2.1 Дизайн и планирование исследований.....	52
2.2 Материал исследований.....	55
2.2.1 Материал лабораторного исследования.....	55
2.2.2 Материал клинико-лабораторных исследований.....	60
2.3 Методы исследований.....	65
2.3.1 Методы лабораторных исследований	65
2.3.2 Методы клинико-лабораторных исследований.....	66
2.4 Методы эндодонтического лечения зубов у больных.....	73
2.5 Методы математической и статистической обработки результатов исследований	77

ГЛАВА 3. ОБОСНОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА НОВЫХ НАНОПРЕПАРАТОВ И ТЕХНОЛОГИЙ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЭНДОДОНТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЗУБОВ	78
3.1 Обоснование и разработка новых препаратов и технологий их применения при эндодонтическом лечении зубов	78
3.2 Характеристика гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра	79
3.3 Результаты электронной микроскопии водной суспензии ГМК, смеси ГМК и гидрозолей наночастиц металлов	84
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	95
4.1 Результаты рентгенофлуоресцентного элементного микроанализа поперечных спилов корней зубов (первый этап клинико- лабораторного исследования)	95
4.2 Результаты молекулярно-генетического анализа биологического материала из корневых каналов зубов больных хроническим апикальным периодонтитом до и после проведенного эндодонтического лечения (второй этап клинико-лабораторного исследования)	102
4.2.1 Антибактериальный эффект по отношению к <i>P. gingivalis</i>	103
4.2.2 Антибактериальный эффект по отношению к <i>P. intermedia</i> ...	105
4.2.3 Антибактериальный эффект по отношению к <i>T. forsythia</i>	108
4.2.4 Антибактериальный эффект по отношению к <i>T. denticola</i>	109
4.2.5 Антибактериальный эффект по отношению к <i>F. nucleatum</i> ...	112
4.2.6 Антибактериальный эффект по отношению к <i>A. actinomy- cetem-comitans</i>	114
4.3 Результаты объективных клинических и рентгенологических методов обследования больных хроническим апикальным периодонтитом до и после проведенного эндодонтического лечения (третий этап клинико-лабораторного исследования)	117

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	140
ВЫВОДЫ	141
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	142
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	144
СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ	144
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	145
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	181
Приложение А. Диплом I степени 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием «Молодёжь, наука, медицина», Тверь, 17–18 04.2019 г.....	186
Приложение Б. Диплом I степени II Международного пародонтологического конвента «Пародонтология: от науки к практике», Тверь, 27–29.11.2019 г.....	187
Приложение В. Диплом III степени Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания медицинского вуза в Крыму «Теоретические и практические аспекты современной медицины», Симферополь, 15.04.2021 г.	188
Приложение Г. Сертификат участника VII Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», Рязань, 7.10.2021 г.....	189
Приложение Д. Диплом III степени Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Инновации в медицине и фармации — 2021», Минск, 2021 г.	190
Приложение Е. Сертификат участника The 5th International Conference on Wound Care, Tissue Repair and Regenerative Medicine, Paris, France, 15–16.04.2022.....	191
Приложение Ж. Диплом I степени VII международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения», Екатеринбург, 17–18.05.2022 г.....	192

Приложение И. Патент на изобретение «Способ противомикробной обработки дентина корня зуба при эндодонтическом лечении пульпита и периодонтита»	193
Приложение К. Патент на изобретение «Способ ингибирования микробной биоплёнки зубного налёта»	194
Приложение Л. Патент на изобретение «Способ консервативного лечения деструктивных форм апикального периодонтита»	195

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Анализируя данные трёхмерных методов рентгенологического исследования с целью оценки результатов эндодонтического лечения, врачи-стоматологи сообщают о 70,8 % положительно завершившихся клинических случаев при сроке наблюдения, составляющем 4 года, и 53,6 % — после наблюдения в течение более 10 лет [247]. По некоторым данным, эффективность эндодонтического лечения зубов в отдалённые сроки наблюдения не превышает 53–64 % для однокорневых и 39–40 % для многокорневых зубов. Отечественные исследователи сообщают, что потребность в перелечивании зубов превышает потребность в их первичном эндодонтическом лечении в 2,5 раза [5]. При этом после проведения повторного эндодонтического лечения заживления костной ткани удаётся добиться лишь в 65,2 % случаев [256].

Причиной осложнений являются микробные ассоциации, персистирующие в системе корневых каналов, включающей латеральные ответвления, область апикальной дельты и, что особенно важно, — многочисленные дентинные трубочки. Они являются резервуаром микроорганизмов, недоступным для полноценной механической и плохо доступным для медикаментозной обработки. Бактериальную биоплёнку обнаруживают в дентине корня зуба на глубине 300–1000 мкм от поверхности стенки корневого канала [2]. Хроническая инфекция является причиной деструктивных поражений периодонта и эндо-пародонтального синдрома, ведёт к ранней потере зубов. Кроме того, исследования последних лет указывают на наличие связи между местными воспалительными реакциями, в том числе в челюстно-лицевой области, и процессом атерогенеза [4].

Для решения проблемы необходима разработка способов пролонгированного противомикробного воздействия на все пространства системы корневых каналов корня зуба. Одной из удачных попыток решения этой проблемы явилась методика электрофоретической импрегнации корня зуба комплексным ионным препаратом — гидроксидом меди-кальция (ГМК), частицы которого имеют наноразмеры и потому лег-

ко проникают в дентинные трубочки. Однако этот, предложенный профессором А. Кнаппвостом, метод депофореза ГМК требует дополнительного оборудования (источников электрического тока), предполагает, как минимум, три визита к врачу и длится в среднем 20–30 дней. Для реализации несколько иной технологии гальванофореза ГМК, разработанной профессором В.А. Румянцевым, необходимы специальные гальванические штифты, производство которых на территории Российской Федерации пока не налажено. В зависимости от диагноза и клинической картины, процедура проводится в течение от 7–10 суток до 3 месяцев. Требуются регулярные визиты к стоматологу для контроля процесса лечения и замены штифтов в корневых каналах.

Современная эндодонтия стоит перед проблемой сочетания одно- и двухсеансных методов лечения апикального периодонтита с пролонгированным противомикробным воздействием на персистирующую в системе корневых каналов корня зуба и дентинных трубочках микрофлору. На сегодняшний день нет достаточно эффективных материалов, обладающих длительной противомикробной активностью.

В 2017 году на базе НИТУ МИСиС (г. Москва) была разработана новая методика получения коллоидных нанодисперсных растворов наночастиц металлов и их оксидов. Физико-химические свойства таких коллоидных систем обусловили их выраженную бактерицидную активность в отношении микробной биопленки полости рта [39]. В научной литературе крайне скудны данные о возможности использования в эндодонтической практике нанопрепаратов, в повседневной практике врачей они представлены мало. Исходя из изложенного, представляется актуальной разработка методов наноимпрегнации системы корневых каналов корня зуба при эндодонтическом лечении осложнённого кариеса с одновременным удешевлением, ускорением и упрощением лечебных процедур.

Степень разработанности темы исследования

Исследования, близкие к теме диссертации, связаны с поиском новых и улучшении существующих методов медикаментозной обработки КК зубов. В частности, предлагается модифицировать препараты гидроксида кальция (ГК), используемые для временного пломбирования, диспергировав активные частицы до наноразмерного уровня [149] или добавив в состав пасты наночастицы серебра

[131]. Изучается применение растворов наночастиц: серебра [84], золота [137], оксида цинка [128], переходных металлов [208] – для ирригации КК. Для борьбы с эндодонтической инфекцией рекомендуется использовать силеры с противомикробными свойствами – в состав которых входят нанотрубки с хлоргексидином [74] и частицами ванадата серебра [38]. Активно изучаются методы импрегнации гуттаперчевых штифтов нанопрепаратами серебра [269] или амоксициллина, адсорбированного на частицах наноструктурированного углерода [81].

Цель исследования

Повышение эффективности эндодонтического лечения больных хроническим апикальным периодонтитом с помощью нового метода пассивной наноимпрегнации системы корневых каналов и дентинных трубочек корня зуба.

Задачи исследования

1. Изучить возможность и целесообразность использования препаратов на основе наночастиц металлов при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита.
2. В экспериментальном лабораторном исследовании изучить физико-химические свойства гидроксида меди-кальция и его суспензий в дистиллированной воде, гидрозолях наночастиц меди, оксидов меди (I, II) и серебра.
3. В сравнительном клинико-лабораторном исследовании изучить динамику пассивной импрегнации дентина корня зуба новым материалом для временного пломбирования корневых каналов на основе комбинации гидроксида меди-кальция и наночастиц металлов.
4. В сравнительном клинико-лабораторном исследовании с помощью молекулярно-генетического метода оценить противомикробную активность нового комбинированного препарата.
5. Обосновать и разработать алгоритм клинического применения метода пассивной наноимпрегнации пространств корневого дентина зуба при лечении хронического апикального периодонтита.

6. В клиническом исследовании оценить эффективность применения нового метода пассивной наноимпрегнации пространств корня зуба при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита.

Научная новизна

Впервые в лабораторных электронно-микроскопических исследованиях изучена структура и свойства высокоэффективного противомикробного препарата гидроксида меди-кальция, а также гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра, а также водной суспензии ГМК и её смеси с гидрозолями перечисленных частиц.

Впервые в сравнительном экспериментальном лабораторном исследовании с помощью рентгенофлуоресцентного элементного микроанализа поперечных спилов корней зубов изучена динамика пассивной диффузии нанопрепаратов в микроскопические пространства дентина корней зубов.

Впервые в сравнительном клинико-лабораторном исследовании с помощью молекулярно-генетического метода изучена противомикробная активность нано-препаратов для пассивной наноимпрегнации дентина при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита.

Впервые для лечения больных хроническим апикальным периодонтитом использована новая методика пассивной наноимпрегнации пространств дентина корня, не предполагающая применение физиотерапевтических процедур.

В сравнительном клинико-лабораторном исследовании доказана высокая эффективность новой методики в сравнении с традиционными методами лечения. Определена возможность сочетания новой методики с традиционными методами ирригации корневых каналов зубов. Определено влияние в этом случае традиционной антисептической обработки корневых каналов зубов на конечный результат, прогноз клинического и рентгенологического результатов эндодонтического лечения

Теоретическая и практическая значимость

В ходе разработки метода пассивной наноимпрегнации пространств дентина корня зуба были получены новые научные факты о структурной организации водных суспензий гидроксида меди-кальция, гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I, II) и серебра. Обоснована возможность и целесообразность комбинирования перечисленных препаратов с целью усиления их электрокинетических и противомикробных свойств.

Новый метод пассивной наноимпрегнации пространств дентина корня зуба в сочетании с традиционными, предусмотренными клиническими рекомендациями, методами лечения хронического апикального периодонтита, позволяет существенно повысить их эффективность.

Полученные в ходе исследований новые теоретические факты дают толчок к дальнейшему изучению и внедрению нанотехнологий в практику эндодонтии и стоматологии в целом.

Новая методика пассивной наноимпрегнации должна войти в повседневную практику врача-стоматолога-терапевта, как метод выбора при лечении хронического апикального периодонтита. Она не сопряжена с большими финансовыми затратами и не требует использования дополнительных приборов и оборудования.

Методология и методы исследования

Настоящее диссертационное исследование включало лабораторную и клинико-лабораторную части. Клинико-лабораторная часть, в свою очередь, включала три этапа исследований. Лабораторное исследование проводилось с 2019 по 2021 гг. на базе кафедры физической химии НИТУ «МИСиС» (г. Москва), клинико-лабораторные исследования проводились с 2020 по 2022 гг. на базе стоматологической поликлиники ТГМУ, в клинико-диагностической лаборатории ТГМУ, а также в лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (г. Санкт-Петербург).

В первом этапе клинико-лабораторного исследования участвовали 53 добровольца, которым требовалось удаление 60 однокорневых зубов. Удалённые зубы об-

рабатывались препаратами гидроксокупрата кальция с помощью различных наноимпрегнационных технологий, после чего проводилась регистрация глубины проникновения медьсодержащих частиц в дентин.

На втором и третьем этапах клинико-лабораторного исследования были проанализированы результаты обследования и лечения 29 больных хроническими формами апикального периодонтита, которым было вылечено 55 зубов, имеющих, в общей сложности, 69 корневых каналов. У всех больных проводилась оценка клинических показателей – жалоб на боль в зубе, наличия симптома болезненности при пальпации слизистой оболочки переходной складки в области зуба, наличия симптома болезненности при перкуссии зуба, а также наличия рентгенологических изменений в периапикальных тканях до и после эндодонтического лечения, проведённого с применением метода пассивной наноимпрегнации дентина корня зуба (основная группа) или препаратов гидроксида кальция (группа сравнения). Кроме того, проводилось молекулярно-генетическое исследование содержимого корневых каналов зубов до и после эндодонтического лечения с применением данных методик.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Метод пассивной наноимпрегнации пространств корня зуба комплексным противомикробным и obtурирующим препаратом ГМК и гидрозолей наночастиц меди, оксидов меди (I, II) и серебра позволяет осуществлять транспорт этого препарата в дентин на глубину, сопоставимую с таковой при использовании физиотерапевтических воздействий (депофореза, гальванофореза, апексофореза), что сокращает время лечения и не требует использования дополнительных приборов и оборудования.

2. Дополнительное применение метода пассивной наноимпрегнации в составе протокола традиционного эндодонтического лечения уменьшает микробную контаминацию пространств корня зуба и способствует сокращению сроков лечения хронического апикального периодонтита по клиническим и рентгенологическим показателям.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены на кафедрах терапевтической стоматологии и пародонтологии, а также в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава РФ, стоматологическом кабинете ФГБУЗ МСЧ № 174 ФМБА России (г. Протвино, Московская область), стоматологическом отделении ООО «Центр здоровья «Сибирь» (г. Чехов, Московская область), частной стоматологической клинике ООО «Стоматологическая клиника Доброго Доктора» (г. Серпухов, Московская область). Полученные результаты используются в учебном процессе кафедр стоматологического профиля Тверского ГМУ Минздрава РФ.

Степень достоверности и апробация результатов

Для сбора, обработки и хранения полученной в ходе исследований информации были созданы компьютерные базы данных, одна из которых получила государственную регистрацию. Статистическую обработку результатов проводили с применением компьютерной техники и программного обеспечения. «Microsoft® Office® 2010» (Microsoft Corporation, Tulsa, OK, USA), «IBM® SPSS® Statistics 23.0» (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) и «WinPEPI© 11.39» (J.H. Abramson). Размеры необходимых для получения достоверных статистических результатов выборок были определены с помощью модулей «Sample size» программ «COMPARE2 3.85» и «DESCRIBE 3.18» пакета «WinPEPI© 11.64».

Проверку распределения данных на нормальность проводили с использованием критерия Шапиро-Уилка. Распределения всех значимых количественных переменных были близки к нормальному. Количественные данные, где это возможно, представлены в виде $M \pm SD$. В противном случае использованы медианы, квартили и графические изображения распределений в виде схематичных коробчатых графиков по Тююки. Качественные данные представлены в виде абсолютных значений и долей (%).

Статистическую значимость различий между качественными переменными оценивали при помощи точного критерия Фишера (Fisher's exact test). При сравнении различий в более чем двух группах использовалось апостериорное попарное сравнение категорий с поправкой Сидак. Различия между количественными величи-

нами в двух группах оценивались при помощи теста Стьюдента. При очевидно ненормальных распределениях использовались тест Манна-Уитни для независимых переменных. Для определения силы и статистической значимости взаимосвязей качественных переменных производился анализ четырёхпольных таблиц с определением отношений шансов (ОШ) и их 95%-х доверительных интервалов (ДИ). Во всех случаях в качестве пограничного уровня статистической значимости принимали значение одно- или двустороннего критерия $p = 0,05$.

Материалы диссертационного исследования доложены на:

- 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием «Молодёжь, наука, медицина», Тверь, 17–18.04.2019 г. (приложение А);
- II Международном пародонтологическом конвенте «Пародонтология: от науки к практике», Тверь, 27-29.11.2019 г. (приложение Б);
- этапах конкурса «Умник» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, 11.2019 г.;
- Международной научно-практической конференции «Новое в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии», Тверь, 28.11.2019 г.;
- XII Петербургском международном инновационном форуме, Санкт-Петербург, 13–15.11.2019 г.;
- XIV Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, Казань, 6.04.2020 г.;
- XV Международной (XXIV Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых, Москва, 04.2020 г.;
- Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания медицинского вуза в Крыму «Теоретические и практические аспекты современной медицины», Симферополь, 15.04.2021 г. (приложение В);
- Симпозиуме «Современные аспекты стоматологии» в рамках конференции «Актуальные вопросы стоматологии», Киров, 13.05.2021 г.;

- VII Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», Рязань, 7.10.2021 г. (приложение Г);
- Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Инновации в медицине и фармации — 2021», Минск, 10.2021 г. (приложение Д);
- VIII Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука», Тверь, 12.2021 г.;
- 5th International Conference on Wound Care, Tissue Repair and Regenerative Medicine, Paris, France, 15–16.04.2022 г. (приложение Е);
- VII международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения», Екатеринбург, 17–18.05.2022 г. (приложение Ж).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 6 — в центральной, рекомендованной ВАК печати, и 3 за рубежом. Получены 3 патента РФ (приложения И-Л). В опубликованных научных работах отражены все этапы проведенной работы, недостоверные сведения или заимствования отсутствуют.

Наиболее значимые публикации:

- Блинова А.В., Румянцев В.А. Наноматериалы в практике современной стоматологии (обзор литературы) // Стоматология. — 2021. — Т. 100, № 2. — С. 103–109.
- Румянцев В.А., Фролов Г.А., Блинова А.В., Карасенков Я.Н., Битюкова Е.В. Электронно-микроскопические свойства нового противомикробного нанопрепарата на основе гидроксида меди-кальция // Вестник Авиценны. — 2021. — Т. 23, № 4. — С. 532–41.

- Blinova A. The new antimicrobial medication for endodontic treatment based on calcium hydroxocuprate and copper nanoparticles // Journal of Trauma and Critical Care. — 2022. — Vol. 06. — 5th International Conference on Wound Care, Tissue Repair and Regenerative Medicine (April 05-06, Paris, France)
- Rumiantcev V., Bordina G., Blinova A., Moiseev D. and Iusupova Iu. The Copper-Calcium Hydroxide Nanoparticles Galvanophoresis for Cleaning Spaces of the Root of the Tooth // Advances in Dentistry & Oral Health. — 2021. — Vol. 14, № 4. — P. 555895.
- Блинова А.В., Румянцев В.А. Деструктивные поражения апикального периодонта: достижения фундаментальной и прикладной науки в современных подходах к решению проблемы // Наука молодых (Eruditio Juvenium). — 2021. — Т. 9, № 3. — С. 471–480.
- Блинова А.В., Румянцев В.А. Нанотехнологии — реальность современной стоматологии (обзор литературы) // Эндодонтия Today. — 2020. — Т. 18, №2 — С. 56–61.

Объём и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы (глава 1), 3 глав собственных исследований, их обсуждения и заключения (глава 5), выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель содержит 303 источника, из них — 13 отечественных и 290 зарубежных авторов.

Диссертация изложена на 195 страницах, содержит 48 рисунков и 21 таблицу.

Выражаю благодарность и глубокую признательность оказавшим мне неоценимую помощь в работе над диссертационным исследованием:

- канд. хим. наук, доценту кафедры физической химии НИТУ МИСиС
Геorgию Александровичу Фролову;
- канд. мед. наук, доценту кафедры пародонтологии Тверского ГМУ
Елене Владимировне Битюковой;
- канд. мед. наук, доценту кафедры пародонтологии Тверского ГМУ
Елене Георгиевне Родионовой;
- канд. мед. наук, доценту кафедры общественного здоровья, организации, управления и экономики здравоохранения, руководителю лаборатории доказательной медицины и биостатистики Тверского ГМУ
Андрею Александровичу Родионову;
- аспиранту кафедры пародонтологии Тверского ГМУ
Александрe Романовне Бессудновой;
- канд. мед. наук *Якову Николаевичу Карасенкову.*

ГЛАВА 1. ВОЗМОЖНОСТИ НАНОПРЕПАРАТОВ И НАНОТЕХНОЛОГИЙ В ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ (обзор литературы)

1.1 Полость рта как микробная экосистема

Полость рта имеет собственное специфическое микробное сообщество. По некоторым оценкам, поверхности зубов, протетических конструкций и слизистой оболочки колонизированы более чем 400 видами микроорганизмов [222]. Основной формой организации микробиома полости рта является биоплёнка — ассоциация различных видов, сосуществующих друг с другом и погруженных в многослойный экзополимерный матрикс. В отношениях между бактериальным биоценозом и организмом-хозяином поддерживается баланс, основанный на постоянном обмене биохимическими сигналами. Комменсалы принимают участие в регулировании активности местных иммунных механизмов, инициации процессов пищеварения, предотвращают интервенцию патогенных бактерий и грибов. Однако при нарушении местного гомеостаза и изменении состава микробиоты могут развиваться патологические состояния. Наиболее распространенные инфекционные заболевания органов полости рта — в том числе кариес и его осложнения, заболевания пародонта — вызываются резидентной микрофлорой. Их консервативное лечение часто бывает сопряжено с определенными трудностями, обусловленными особенностями микроструктуры зуба.

Формообразующая ткань зуба — дентин — насквозь пронизана системой многочисленных каналцев, или трубочек. Их средний диаметр — от 1,7 до 3,5 мкм, а количество — до 80 000 на 1 мм² поверхности [294]. Через эти отверстия в условно стерильное пульпарное пространство могут проникать микроорганизмы как со стороны коронки зуба при развитии кариозного процесса, так и со стороны

инфицированных пародонтальных карманов при пародонтите, обуславливая развитие эндо-пародонтального синдрома. Академиком В.К. Леонтьевым с соавт. в ходе электронно-микроскопического и микробиологического исследований было доказано, что при подобных сочетанных поражениях в дентине корня обнаруживаются микроорганизмы, характерные как для хронического воспаления пульпы, так и для пародонтита [12]. Бактериальная биоплёнка, персистирующая в глубине дентинных трубочек (ДТ), практически неуязвима для механической и медикаментозной обработки. Кроме физической защищённости, микроорганизмы формируют молекулярные механизмы устойчивости к антимикробным препаратам [115, 267]. Существование в виде биоплёнки значительно способствует накоплению полезных мутаций и свободному распространению этих генов по всей колонии.

Интерес к использованию наночастиц — высокодисперсных твердофазных объектов размером от 1 до 100 нм (1×10^{-9} м), способных к образованию агрегатов и кластеров величиной до нескольких микрометров (1×10^{-6} м) — обусловлен несколькими ключевыми перспективами. Во-первых, критически важным представляется преодоление проблемы формирующейся резистентности микроорганизмов к большинству известных сегодня высокомолекулярных биоцидных агентов. Наночастицы могут взаимодействовать с бактериальной клеткой с помощью различных механизмов: от электростатического взаимодействия [140] и дисперсионной адгезии [192] до высокоспецифичных реакций типа «рецептор-лиганд» [210], а также ионного транспорта через специализированные каналы. Во-вторых, располагая данными об особенностях микроструктуры дентина, можно предположить, что только наноразмерные препараты способны эффективно импрегнировать систему микроскопических ДТ и обеспечить санацию очагов хронической одонтогенной инфекции. Кроме того, коммерчески выгодным представляется создание новых материалов, обладающих более совершенными физическими, химическими и манипулятивными характеристиками.

1.2 Наноматериалы и нанотехнологии в реставрационной и хирургической стоматологии

1.2.1 Нанонаполненные композиционные материалы

Службы здравоохранения различных стран сообщают, что кариес зубов диагностируется у 65 % детей и 75 % взрослых [101, 244]. По данным профилактических осмотров, более 80 % взрослого населения от 55 до 74 лет имеют как минимум один запломбированный зуб [233]. Однако кариозные поражения обнаруживаются не только при первичном обращении. Так, вторичный кариес подразумевает образование новых очагов на границе реставрации. По статистике, около 3,6 % всех пломб требуют замены по этой причине [261]. При недостаточной механической и медикаментозной обработке кариозной полости под установленной пломбой может развиваться рецидивирующий кариес, способный прогрессировать и пенетрировать пульпарную камеру. По данным метаанализа литературы, его распространенность составляет в среднем 12,5 % [252]. Фактором риска развития вторичного кариеса является нарушение краевого прилегания пломбировочного материала к тканям зуба. Одной из ключевых причин как вторичного инфицирования, так и рецидивов кариозного процесса является деструкция полимерной структуры композитной матрицы под воздействием ферментов бактерий, конечных продуктов их метаболизма, гидролитических энзимов человеческой слюны [94, 293]. Кроме того, низкомолекулярные соединения, образующиеся в ходе фрагментации полимера, впоследствии могут быть использованы бактериальной биоплёнкой некротизированного, но не удаленного дентина в качестве источников углерода и энергии [183]. Оклюзионная нагрузка и усадочные деформации дополнительно способствуют распространению инфекции [95]. Биологически активные вещества и наночастицы металлов, обладающие армирующим эффектом, могут препятствовать деградации пломбировочного материала. Так, в 2018 году был синтезирован и предложен в качестве наполнителя для композитов поликатионный наноалмаз (QND). Благодаря высокой совместимости с полимерной матрицей, эти частицы диспергируются в среде, что позволяет добиться равномерной

фотополимеризации материала [185], а следовательно, низких усадочных напряжений [219]. С 2013 года ведется работа по созданию «бесшовных» композитных материалов на основе нанопористых алюмосиликатных наполнителей. В таких материалах структурное единство композита обеспечивается не за счёт химической связи полимера и наполнителя через силант, а с помощью собственных полимерных «рукавов», проходящих через многочисленные поры частиц наполнителя [288]. Полимерные кремнийорганические соединения с кубической, лестничной или клеткообразной трёхмерной наноструктурой — силсесквиоксаны — также являются перспективными наполнителями для композитных материалов с повышенной прочностью [22].

Особую роль в разработке инновационных материалов играют частицы серебра. Известно, что ионы этого металла взаимодействуют с клеточной мембраной микроорганизмов, ингибируют передачу высокоэнергетических электронов по белкам дыхательной цепи и изменяют конформацию ДНК, ингибируя процесс ее репликации [263, 264]. По другим данным, серебро переводит бактерии в так называемое состояние «non-culturable», при котором клетки сохраняют нормальную метаболическую активность, но теряют способность к митотическому делению [186]. Антибактериальные свойства серебра важны для модификации композитов, используемых в ортодонтической практике, т.к. брекет-замки, дуги, аттачменты и другие ретенционные элементы способствуют задержке пищевого детрита, формированию зубного налёта, а значит, деминерализации твёрдых тканей зуба. В лабораторном исследовании А. Mirhashemi с соавт. введение в матрицу фиксирующего композита наночастиц серебра препятствовало росту стрептококковой биоплёнки в течение 30 дней [143]. А. Bahador с соавт. провели похожее исследование *in vivo*, позиционируя аттачменты на центральных резцах самцов крыс [50]. После анализа биологических образцов ротовой жидкости выяснилось, что количество колониеобразующих единиц в образцах слюны, контактировавшей с наноимпрегнированным композитом, было значительно меньше, чем в слюне контрольной группы крыс, чьи резцы были «запломбированы» обыкновенным композитом.

В то же время опубликованы данные, свидетельствующие о снижении твёрдости композитов, в состав которых были введены наночастицы серебра в чистом виде [59, 159]. Для преодоления этого негативного эффекта S. Chen с соавт. разработали серию полимерных смол, армированных нанокристаллами целлюлозы, образованными в ходе кислотного гидролиза волокон натуральной целлюлозы и привитыми наночастицами серебра [20]. Комбинация наночастиц металла с крупной частицей-носителем позволила сохранить и антибактериальный эффект, и механическую прочность. Наночастицы серебра могут быть иммобилизованы на нанотрубках галлуазита — глинистого алюмосиликата. Наполнение смол BIS-GMA и TEGDMA такими частицами значительно увеличивает их прочность на изгиб и сжатие [58]. Аналогичного эффекта добились учёные медицинского университета Исфахана, которые адсорбировали восстановленное атомарное серебро на наночастицы оксида кремния [272]. Коллективом учёных из Университета им. Сунь Ятсена (Китай) были разработаны частицы графена — двумерной аллотропной модификации углерода с гексагональной кристаллической решеткой — декорированные наночастицами серебра [176]. Их исследование на удаленных зубах показало, что пломбирование кариозных полостей композитным материалом на основе графена и серебра позволяет добиться более гладкой поверхности реставрации, лишенной микротрещин и наслоений. В 2020 году команда исследователей из технологического университета Дунгуань (Китай) начала работу над полимером, содержащим фосфат серебра-циркония [271]. Учёными из Италии изучаются водные коллоидные дисперсии этого комплексного вещества [42]. Все они проявляют бактерицидные свойства, улучшают прочностные характеристики материалов, отличаются высокой биологической совместимостью.

Однако не только частицы серебра имеют клинический потенциал. Наночастицы оксида магния подавляют рост *S. mutans* на агаре с сердечно-мозговой вытяжкой [268]. Стрептококки чувствительны к присутствию частиц оксида титана [291]. В 2018 году опубликовано исследование ученых из Китая, включивших в состав адгезивной системы модифицированные хлоргексидином мезопористые наночастицы кремнезема. Полимеризованные светом галогеновой лампы, экспериментальные об-

разцы располагались на биоплёнке *S. mutans*. Конфокальное лазерное сканирование наглядно продемонстрировало уменьшение количества живых бактерий, флуоресцирующих зелёным цветом, и увеличение массы флуоресцирующих красным цветом мёртвых микроорганизмов [79]. Jowkar Z. с соавт. в своей работе сделали акцент на другом свойстве хлоргексидина — ингибировании матриксных металлопротеиназ (MMPs). Это группа ферментов, активирующихся в кислой среде под воздействием протравочных гелей, разрушающих коллаген в области гибридного слоя дентина, и следовательно, снижающих качество адгезивного соединения [174]. Перспективно включение в матрицу композита белковых репеллентов, препятствующих адсорбции протеинов слюны и адгезии микроорганизмов. Так, 3 % метакрилат с полярной группой фосфолипидов в боковой цепи (MPC) позволил вдвое снизить бактериальную обсемененность тестовых композитных дисков [248].

Помимо протективных свойств, наночастицы способствуют созданию оптимального минерального окружения реставрации. Исследователями синтезируются частицы фосфата и гидрофосфата кальция, тетра- и трикальцийфосфата [117, 135], наностержни из гидроксиапатита [218] и стронций-апатита [250]. Для проверки выносливости модифицированных материалов в лабораториях моделируются суточные колебания pH среды полости рта. В 2018 году было проведено легирование наночастиц фосфата кальция фторид-ионами, способствующими формированию более прочного и устойчивого к кислотным атакам фторапатита [151]. В 2020 году S. Hesaraki включил в состав композита частицы фторида стронция в сочетании с ϵ -полилизинном [160]. Высокий реминерализующий потенциал нанопрепаратов кальция и фтора обусловлен не только химическим сродством с апатитами эмали зуба, но и возможностью пространственной адаптации к микроскопическим структурам дентина. В просвете ДТ, помимо микроорганизмов, располагаются периферические отростки одонтобластов, при упругой деформации которых возникают болевые ощущения, характерные для постпломбировочной чувствительности и гиперестезии дентина. В опубликованном в 2018 году исследовании была показана способность частиц 10 % суспензии синтетического наногидроксиапатита, а также 1 %, 2 % и 3 %-нанофторапатита эффективно

проникать в просвет ДТ и оставаться стабильными даже после четырёхнедельной экспозиции экспериментальных дисков в физиологическом растворе [103]. Материалы на основе биоактивного стекла также перспективны в плане борьбы с гиперчувствительностью дентина [16]. Эти частицы, состоящие в том числе из оксидов кальция и фосфора, являются естественной платформой для потенцирования процессов реминерализации. J.H. Jung с соавт. провели эксперимент на поперечных спилах удалённых зубов, которые обрабатывались раствором наночастиц мезопористого кремнезема, покрытых наночастицами биоактивного стекла [119]. Анализ изображений и оценка площади герметизированных дентинных трубочек проводили с помощью программы «Image J». В результате синтеза положительных свойств обоих видов наночастиц — большой площади поверхности мезопористого кремния и биологического сродства карбонизированного апатита с дентином — удалось добиться стабильной окклюзии просвета ДТ и долгосрочной резистентности обработанной поверхности к воздействию лимонной кислоты.

1.2.2 Наноструктурированные покрытия дентальных имплантатов

По данным метаанализа, опубликованного в 2020 году, от 4,7 до 13,7 % от установленных дентальных имплантатов дезинтегрируются вследствие инфекционных осложнений [102, 220]. Воспалительные явления в слизистой оболочке, не сопровождающиеся потерей имплантата, наблюдаются у 38 % пациентов [153]. В случае, если имплантат позиционируется в зону, где ранее располагался зуб, удалённый по поводу периапикального деструктивного процесса, риск развития периимплантита — воспаления с сопутствующей потерей опорной костной ткани — достигает 50 % [167]. Он возрастает в несколько раз, если процедура проводится одномоментно, непосредственно после удаления инфицированного зуба [232]. Если же была заблаговременно проведена операция резекции верхушки корня с ретроградным пломбированием, риск инфицирования тканей вокруг имплантата составляет от 8 до 10 % [172]. В то время как микрофлора здоровых тканей вокруг имплантата схожа с микробиотой нормальной десневой борозды, при периимплантитах часто обнаруживаются бактерии «красного комплекса», характерные

для пародонтита, — *P. gingivalis*, *T. denticola* и *T. forsythia*, а также условно-патогенные организмы, например, *E. coli* и дрожжи. В связи с тем, что ортопедическая реабилитация пациентов с использованием дентальных имплантатов в качестве опорных элементов становится всё более распространенной, улучшение долгосрочных прогнозов имплантации представляется актуальной задачей.

Важным направлением исследований является разработка имплантатов с топографией, способствующей интеграции мягких и твёрдых тканей. Исследования показали, что различные особенности рельефа имплантата, такие как диаметр пор и межпоровое пространство, преобразуются клеткой в конкретные биохимические сигналы, влияющие на пространственную организацию их цитоскелета и степень экспрессии отдельных генов [188, 296]. В зависимости от состава электролита и условий реакции — величины приложенного напряжения, межэлектродного расстояния — методами электрохимического анодирования может быть получена различная наногометрия поверхности имплантата [223]. Конфокальная микроскопия гистопрепаратов показывает, что клетки, адгезия которых произошла на поверхность, имеющую структуру наносети с крупными ячейками, ориентированы упорядоченно, а клетки, привитые на образцы титана с изолированными нанопорами малого диаметра, демонстрируют хаотичное расположение актиновых волокон.

Однако проведенные *in vivo* и *in vitro* исследования показывают, что увеличение шероховатости поверхности имплантата приводит также к бóльшей адгезии бактерий [55]. Пространственные особенности наносетей открывают широкий диапазон возможностей для их дополнительной функционализации активными частицами и молекулами. В литературе представлены данные о том, что и титановые, и циркониевые имплантаты, позиционированные в костной ткани, подвергаются частичной деградации, что приводит к накоплению в окружающих тканях частиц и оксидов этих металлов [112, 287]. Следовательно, это явление можно использовать для местной доставки в зону операции лекарственных препаратов [98]. Путём электролитического плазменного окисления, магнитронного напыления, лазерной абляции или масштабируемого пиролиза микро- и наноструктурированные поверхности могут быть «заселены» различными видами частиц [54,

170, 221]. Одним из наиболее доступных способов имплантации наночастиц серебра на твёрдые поверхности является химический метод [31]. Активно развиваются и новые методы биологического синтеза — например, способ получения наноразмерных частиц серебра с помощью эндофитных грибов *Fusarium semitectum*, имеющих нитратредуктазные ферментные системы, восстанавливающие катионы металлов, в том числе и в водном растворе нитрата серебра [67]. Модифицированные серебром титановые имплантаты, размещённые в нижних челюстях собак-лабрадоров, демонстрируют повышенное образование костной ткани, высокую минеральную плотность кости и чёткий трабекулярный рисунок [25]. В исследовании V. Matsubara с соавт. подобное покрытие делалось на внутренней поверхности имплантата. После инкубации систем «имплантант-абатмент» в декстрозе Сабуро было выявлено статистически значимое ингибирование роста мицелия *C. albicans* в экспериментальной группе [297]. В другом эксперименте выделение ионов серебра в концентрации $3,27 \pm 0,15$ мкг/л в течение 24 часов обеспечило выраженное биоцидное действие против *S. aureus* [46].

В литературе имеются данные о том, что высокие концентрации ионов металлов могут проявлять токсический эффект по отношению к окружающим тканям [100, 299]. Найти баланс между антибактериальными свойствами и биологической совместимостью возможно при использовании гибридных многослойных покрытий [63, 276]. Наночастицы серебра включаются в полимерные плёнки на основе дофамина — его катехол- и аминоксигруппы инициируют образование хелатных комплексов [162, 240, 249] — и в сердцевину комбинированных мезопористых наночастиц кремния [18]. Аналогом дофаминовых плёнок являются двумерные плёнки лизоцима толщиной $31,8 \pm 4,1$ нм [148] и покрытия из катехол-функционализированного хитозана, который и сам по себе проявляет умеренную антимикробную активность [105, 243]. Они сшиваются также с молекулами флуоресцентных красителей и используются для фотохимической деконтаминации имплантатов [237]. Цинксодержащие плёнки в эксперименте M.H. Lin придавали титановому имплантату не только биологическую резистентность, но и коррозионную стойкость [163]. Профиль высвобождения ионов серебра может быть так-

же дополнительно скорректирован введением в функционализированное покрытие наночастиц других металлов, например, стронция [24]. При этом не следует путать природный стронций с его радиоактивными изотопами, оказывающими токсическое влияние на организм человека [130]. L.C. Chang с соавт. разработали систему местной доставки этого препарата внутри полимерных наночастиц [280]. Экспрессия остеокальцина и щелочной фосфатазы стволовыми клетками костного мозга крыс была оценена путём иммуноблоттинга клеточных лизатов и в экспериментальной группе оказалась в 1,4 раза выше, чем в контрольной.

Особые поверхностные свойства имплантатам придает также покрытие из графена. Антибактериальное действие этих нанопластин, по-видимому, обусловлено наличием у них острых краев, способных извлекать фосфолипиды из липидного бислоя. Отсутствие функциональных групп на двумерной плоскости дополнительно ингибирует адгезию клеток [253]. В эксперименте, проведенном на базе кафедры стоматологии университета Сапиенца в Риме, коллоидные суспензии наночастиц графена распыляли на титановые диски [32]. Затем их инкубировали с культурой *S. aureus* и окрашивали кристаллическим фиолетовым. Для количественной оценки толщины биоплёнки проводилось элюирование и расчёт массы сорбированного красителя. По данным N. Pranno, бактериальная обсемененность экспериментальных образцов была на 40 % меньше по сравнению с негативным контролем.

S. Komasa с соавт. покрывали образцы медицинского титана концентратом MAP — адгезивного белка, выделенного из биссусовой железы мидий [121]. С целью улучшения остеоинтеграции поверхность имплантатов может быть дополнительно функционализирована с помощью биомиметических покрытий из фосфата кальция [66] и наногидроксиапатита [168]. Преостеобласты, в течение 3 недель культивируемые на обычных и «биоактивных» имплантатах, окрашивались ализариновым красным — красителем, образующим хелатные комплексы с ионами двухвалентных металлов. При этом недифференцированные остеобласты были розовыми и преобладали в контрольной группе, а зрелые клетки имели ярко-оранжевый цвет и покрывали практически всю поверхность экспериментальных образцов. По данным ПЦР-анализа, при контакте преостеобластов с ионами

кальция активируется сигнальная система интегринов и киназ, способствующих клеточной адгезии, а также генов, связанных с прогрессией митотического цикла [282]. Коллектив учёных, возглавляемый Н. Xing, изучает клиническое применение малых интерферирующих РНК (миРНК) [161] — путём сайленсинга генов лизосомальных протеиназ остеокластов можно добиться синергической регенерации костной и сосудистой тканей. В 2020 году молекулы РНК были нанесены на поверхность титанового имплантата в составе многослойного покрытия на основе хитозана и желатина [78]. Методом ПЦР в реальном времени было установлено, что позиционирование функционализированного имплантата способствовало экспрессии в аспартате костного мозга крыс как факторов остеогенеза: остеокальцина, щелочной фосфатазы, фактора дифференцировки остеобластов, так и факторов ангиогенеза: фактора роста эндотелия, тромбоцитарного фактора роста.

Говоря о применении наночастиц в имплантологии, нельзя не отметить целый ряд хирургических приёмов, которые применяются для формирования костного ложа для имплантата в сложных клинических ситуациях, когда необходима коррекция особенностей анатомии гайморовой пазухи, возмещение убыли костной ткани, возникшей в результате хронического воспаления тканей пародонта или травматичного удаления зуба. Трансплантационные материалы, содержащие наночастицы гидроксиапатита, полезны для вертикальной аугментации кости [62]. Такие клеточные матрицы могут быть получены в CAD-CAM лаборатории методом 3D-печати. В 2019 году V. Martin с соавт. разработали каркасы, инспирированные молекулами антибиотика моноциклина [139]. В 2021 году E. Bhowmik и D.P.C. Rao провели клиническое исследование графт-материала на основе наногидроксиапатита и гиалуроновой кислоты [61]. В исследовании участвовали 8 пациентов с диагнозом «хронический локализованный пародонтит средней степени тяжести», которых осматривали через 6 и 12 месяцев после оперативного вмешательства. В конце срока наблюдения у пациентов экспериментальной группы наблюдалось статистически значимое уменьшение глубины зондирования и нормализация уровня клинического прикрепления. Конъюгированные волокна с диаметром, исчисляемым в нанометрах, используются при создании ре-

зорбируемых мембран [182]. В травматологии и ортопедии находят применение гидрогелевые матрицы, содержащие наночастицы серебра и облегчающие адаптацию титановых имплантатов трубчатых костей [277].

1.3 Применение наночастиц и нанопрепаратов в эндодонтической практике

В литературе приводятся противоречивые данные об эффективности эндодонтического лечения зубов. Ретроспективное исследование, проведенное в 2018 году в Южной Корее и основанное на анализе 570 случаев пульпита и периодонтита, наблюдаемых в течение 5 лет, показало, что 87 % вмешательств имели клинический успех [225]. Критериями успешности лечения являлись отсутствие болевых симптомов, связанных с причинным зубом, в течение 2 и более лет, а также полное рентгенологически определяемое заживление костной ткани в области периапикального поражения. D. Kim с соавт. сообщают о показателе успеха эндодонтического лечения, проведенного с применением биоиндуктивных пломбировочных материалов, равном 85 % [129]. При увеличении срока наблюдений до 20 и более лет количество благополучно завершившихся случаев уменьшалось до 80,9 % [193]. В исследовании P. Bhagavatula с соавт. учитывался факт сохранения зуба без коннотации с его функциональным статусом. При следовании стандартным протоколам лечения количество благополучных исходов составило 82,8 % [205]. Интересно, что при анализе данных трёхмерных методов рентгенологического исследования (конусно-лучевой компьютерной томографии) процент успеха резко снижался — F.A. Restrepo-Restrepo с соавт. сообщают о 70,8 % положительно завершившихся случаев при сроке наблюдения, составляющем 4 года, и 53,6 % — после наблюдения в течение 12 лет [247]. В исследовании S.Q. Liu, опубликованном в мае 2021 года, показатель успеха консервативного лечения апикального периодонтита составил 70,7 % [226]. При проведении повторного эндодонтического лечения заживления удаётся добиться в 65,20 % случаев [256]. По данным отечественных специалистов, в нашей стране эффективность консер-

вативного лечения пульпита и апикального периодонтита не превышает 53–64 % для однокорневых и 39–40 % для многокорневых зубов [5].

Анализируя причины клинических неудач, исследователи проводили микроскопию срезов депульпированных зубов, удаленных по поводу апикального периодонтита, и регистрировали наличие пропущенных каналов, фрактур и трещин корня, дефекты пломбировки [274]. В 18 % случаев явных причин неудачи консервативного лечения вовсе не было обнаружено. Неадекватная механическая обработка и недостаточная медикаментозная обработка корневых каналов (КК), отсутствие апикального, латерального и коронального герметизма при постоянной obturации — факторы, наиболее часто компрометирующие результаты эндодонтического лечения. Но фундаментальная причина всех перечисленных явлений — персистенция бактерий в системе КК. По данным R. S. Pereira с соавт., в экссудате из периапикальных поражений чаще всего обнаруживаются *F. nucleatum* (71,6 % описанных случаев), *D. pneumosintes* (58,3 %) и *T. forsythia* (48,3 %) [196]. Персистирующая в просвете ДТ патогенная микрофлора практически неуязвима для механико-медикаментозной обработки. Даже при использовании передового инструментария — протейперов, профайлов высокой конусности, самоадаптирующихся систем, файлов из сплавов с памятью формы — от 2 до 5 % инфицированного дентина остаются не обработанными [73, 190, 236]. Хотя считается, что основная цель механической обработки — не удалить все микроорганизмы из пространств эндодонта, а обеспечить оптимальные условия для последующей медикаментозной дезинфекции, в литературе описаны случаи, когда даже после активной ирригации на внутренней поверхности КК оставались участки, заселенные зрелой бактериальной биоплёнкой [91, 203]. Некоторые из микроорганизмов, формирующие конгломераты в глубине ДТ, проявляют устойчивость к большому спектру используемых ирригационных растворов [77]. Большинство исследователей признается ключевая роль микроорганизмов вида *Enterococcus faecalis* — анаэробных грамположительных кокков, имеющих широкий спектр резистентности к антисептикам благодаря особому протеиновому насосу, обеспечивающему регуляцию рН внутри микробной клетки при неблагоприятных условиях [26].

1.3.1 Растворы для ирригации корневых каналов, содержащие наночастицы

Использование наноразмерных частиц в составе ирригантов — передовая стратегия дезинфекции КК. На сегодняшний день новые препараты не могут полностью заменить гипохлорит натрия, ценный своей способностью не только уничтожать бактерии, но и растворять органический детрит. Однако они могут служить «финишными» ирригационными растворами, обеспечивающими пролонгированное антибактериальное действие и защиту КК от реинфекции микроорганизмами, персистирующими в просвете ДТ. В ряде исследований было показано, что антибактериальная активность наночастиц хитозана сопоставима с таковой у 2,5 %-го гипохлорита натрия [258]. Статистически значимых различий не наблюдалось и между 6 %-м раствором гипохлорита натрия, раствором частиц хитозана и наночастиц меди [40]. При этом отсутствие протеолитической активности, характерной для соли хлорноватистой кислоты, компенсировалось дополнительным прижигающим воздействием диодного лазера. С целью формирования финишной защитной плёнки в состав ирригационных растворов на основе наночастиц хитозана вводятся экстракты прополиса [127]. Содержащиеся в нём органические дубильные вещества — производные фенола с большим количеством гидроксильных групп — могут образовывать прочные химические связи с функциональными группами белков органической матрицы дентина [123, 229]. Водные растворы наночастиц серебра в настоящий момент также не могут полностью вытеснить препараты гипохлорита натрия. Так, ирригация дентина корня зуба 3,8 %-м раствором диаминфтористого серебра несмотря на то, что в лабораторном исследовании привела к гибели 57,39 % микробных клеток, оказалась менее эффективной по сравнению с 5,25 %-м гипохлоритом натрия, уничтожившем 62,26 % микроорганизмов [41]. При этом важно понимать, что хоть такая концентрация гипохлорита натрия и является допустимой, но, по мнению некоторых исследователей, высокая протеолитическая активность состава может привести к истощению коллагеновой матрицы дентина и повысить риск фрактуры корня [30, 270, 289]. В свою очередь, ирригация гидрозолеми наночастиц серебра не оказывает влияния на микротвердость ден-

тина [175, 281]. Учёные медицинского университета Тимишоары (Румыния), используя метод оптической когерентной томографии, рассчитали распределение наночастиц серебра и золота внутри просвета КК после его ирригации инновационными препаратами [137]. Оба исследуемых раствора на основе наночастиц — «NanoCare Plus Silver Gold» и «NanoCare Gold» — уже внедрены в повседневную эндодонтическую практику на территории Польши. Несмотря на то, что в рекомендованном производителем протоколе гипохлорит натрия всё ещё использовался в качестве основного ирриганта, финишная медикаментозная обработка растворами наночастиц драгоценных металлов создала защитный слой на поверхности дентина. Важно и то, что наноимпрегнация поверхности КК не требовала коррекции адгезивного протокола при планировании дальнейшей ортопедической реабилитации зуба путём фиксации стекловолоконного штифта [113].

Систематический обзор, подготовленный S. Bhandi с соавт. в 2021 году, продемонстрировал, что результаты ряда исследований, проведенных в период с 2014 по 2018 год, подтверждают антибактериальную эффективность наночастиц серебра с размерами от 5 до 20 нм [49]. P. Parvekar с соавт. методом серийных разведений была определена минимальная ингибирующая концентрация наночастиц серебра, при которой наблюдалось отсутствие помутнения сердечно-мозгового бульона, инокулированного *S. aureus*, — она составила 625 мг/л [283]. В эксперименте В.М. Marín-Correa, где использовался не водный раствор, а серебрясодержащий гель, минимальная ингибирующая концентрация против *E. faecalis* оказалась равна 300 мкг/л, в то время как минимальная бактерицидная концентрация — 900 мг/л [194]. В другом исследовании были получены данные, согласно которым даже концентрация наночастиц серебра 94 мг/л способна вызвать лизис биоплёнки *E. faecalis* на дентинных блоках [45]. В исследованиях 2018 года растворы наночастиц серебра, полученных описанным выше методом восстановления нитрата серебра нитратредуктазой грибов вида *F. semitectum*, проявили против недельной биоплёнки *E. faecalis* активность, сопоставимую с эффектом 2 % раствора хлоргексидина биглюконата [128, 142, 292].

Значительное снижение общего объёма биоплёнки, сформированной внутри КК удаленных зубов, продемонстрировали и частицы серебра, синтезированные путем восстановления нитрата серебра на водной матрице оксида графена [286], который и сам по себе проявляет биоцидные свойства [184]. Кроме того, оксид графена, функционализированный такими природными красителями, как куркумин, по некоторым данным, может стать перспективным фотосенсибилизирующим агентом. С конца XX века фотодинамическая терапия является популярным дополнительным методом дезинфекции в эндодонтии. Для осуществления этой процедуры КК окрашивается фотосенситайзером и облучается низкоэнергетическим лазером. В связи с наличием в молекулах красителей хромофорных групп, в присутствии света определенной длины волны индуцируются химические реакции, переводящие молекулы кислорода окружающей среды в возбужденное (синглетное) состояние, губительное для бактерий. Хотя планктонные формы бактерий уничтожаются фотоактивируемыми системами с высокой степенью эффективности, сложная структура биоплёнки, включающая многочисленные слои бактериальных полимеров, не позволяет красителям достичь её внутренних слоев. Упоминаемые ранее свойства нанопластинок графена, способных трепанировать матрикс биоплёнки, обуславливают потенциальную клиническую ценность подобного комплексного фотосенситайзера. В 2020 году в эксперименте, проведенном R. Ghorbanzadeh с соавт., культуру *E. faecalis* обрабатывали суспензией наночастиц графена-куркумина с концентрацией 250 мкг/мл и облучали диодным лазером с длиной волны 450 нм [204]. Количество внутриклеточных активных форм кислорода измеряли методом спектрофотометрии — в фотосенсиблированных бактериальных клетках он в 8,3 раза превышал таковой в контрольной группе. По данным V. Kushwaha, воздействие ниодидного Nd: YAG лазера потенцирует антибактериальный эффект водного раствора наночастиц серебра — количество колониеобразующих единиц *E. faecalis* в КК уменьшилось на 97 % по сравнению с контрольной группой и на 89 % по сравнению с группой, где КК обрабатывались препаратом серебра без дополнительного воздействия лазером [84].

Наряду с растворами наночастиц серебра, в роли перспективных ирригантов выступают также суспензии оксида цинка [128]. Используя технологии, применяемые при синтезе многослойных полифункциональных покрытий имплантатов, исследователи включают в состав ирригационных растворов полимерные частицы метилметакрилатов, легированные металлическим цинком [114, 241]. Антибиоплёночную активность проявляет оксид трёхвалентного железа [211]. Интересно, что наночастицы, в состав которых входят ионы переходных металлов, обладают внутренней пероксидазоподобной активностью, которая позволяет им катализировать реакцию диспропорционирования перекиси водорода с образованием молекулярного кислорода и усиливать её антибактериальную активность [209]. Применительно к клинической практике, эту гипотезу апробировал S. Bukhari [216]. В поставленном им эксперименте на продольных спилах корней зубов, инокулированных *E. faecalis*, по данным конфокальной микроскопии, даже после однократного кратковременного контакта препарата перекиси водорода с оксидом трёхвалентного железа в роли катализатора глубина, на которой обнаруживались погибшие бактерии, достигала 2 мм от внутренней поверхности КК. В то же время, уровень максимального пространственного распределения микроорганизмов, уничтоженных 3 % раствором гипохлорита натрия, составил лишь 0,8 мм.

Активный транспорт частиц в глубину дентина может быть обеспечен также воздействием ряда других физических факторов [118]. Преимущества динамического воздействия перед болюсной доставкой были оценены еще в начале 2010-х годов, когда среди клиницистов распространилась методика ультразвуковой активации препаратов гипохлорита натрия. Предполагается, что вихревые потоки жидкости, возникающие вокруг активирующего файла, вызывают деструкцию матрикса бактериальной биоплёнки, тем самым переводя микроорганизмы в планктонную форму, в которой они становятся более восприимчивыми к дезинфицирующим агентам [122, 150, 181]. S. Vorkar и F.C. Li показали, что активное перемешивание ирриганта напрямую влияет на распределение наночастиц хитозана в структурах радикулярного дентина [213]. С другой стороны, хитозан — катионный полисахарид, т.к. содержит в себе большое количество свободных ами-

ногрупп, способных связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд. Известно, что направленное движение заряженных коллоидных частиц и их последующее осаждение может быть достигнуто в ходе применения методики электрофореза. А. Ionescu с соавт. на платформе «COMSOL Multiphysics» была создана компьютерная модель распределения плотности тока в зубе с одним КК. Относительная диэлектрическая проницаемость дентина, альвеолярной кости и связочного аппарата периодонта задавались на основе значений, ранее описанных в литературе. Полученные данные показали, что под действием электрического поля напряженностью от 5 до 50 В/см наблюдается быстрый и контролируемый транспорт наночастиц хитозана с последующим распределением и отложением в области апикальной дельты [134]. На изображениях стенок дентина, полученных методом сканирующей электронной микроскопии лабораторных образцов дентина, также были обнаружены агломераты частиц.

1.3.2 Наночастицы в материалах для временного пломбирования корневых каналов зубов

В настоящее время продолжается дискуссия об оптимальных сроках эндодонтического лечения. Считается, что число посещений, необходимых для успешного завершения лечебных мероприятий, зависит от специфики симптомов, предъявляемых пациентом, и клинических проявлений заболевания пульпы и периапикальных тканей. У пациентов с полностью или частично витальной пульпой возможно однокурсное лечение в связи с тем, что основным источником микробных агентов — инфицированные ткани дентина — удаляется в ходе механической и медикаментозной обработки кариозной полости [260]. Кроме того, obturation КК в течение первого визита позволяет предотвратить микроподтекание ротовой жидкости под временную пломбу в период между посещениями. В отличие от зубов с витальной пульпой, зубы с некротизированными тканями часто демонстрируют выраженную бактериальную контаминацию и требуют иного подхода к лечению [242]. Наличие активной экссудации при острых формах апикального периодонтита, не купируемой в ходе медикаментозной обработки КК, является ка-

тегорическим противопоказанием к немедленному пломбированию. После появления концепции биоплёнки необходимость применения временной антибактериальной повязки стала еще более очевидной. Уже в конце XX века стали публиковаться исследования, согласно которым, в инструментально обработанных, но оставленных не заполненными КК бактерии могут активно размножаться и достигать количества, которое было до вмешательства, на 2–4 сутки [70].

К препаратам, используемым для изготовления лечебных повязок, относятся гормоны глюкокортикостероидного ряда, полусинтетические антибиотики, производные формокрезола и сульфата железа. «Золотым стандартом» на протяжении многих лет являются препараты гидроксида кальция (ГК) [138]. Главным образом, его используют в виде водных суспензий, но в настоящее время существует множество коммерческих продуктов, представляющих собой однокомпонентные пасты с различной формой упаковки — от шприц-тюбиков до одноразовых компюл. ГК обладает широким спектром противомикробного действия, т.к. создает высокий локальный уровень рН, который инициирует денатурацию компонентов клеточной стенки бактерий. Систематические обзоры и метаанализы показывают, что заполнение КК пастой ГК на 7–14 дней обеспечивает достаточный временной диапазон для наблюдения за процессами регенерации костной ткани при сомнительном прогнозе лечения [126, 303]. Возможна повторная замена препарата до момента достижения необходимого терапевтического эффекта. Однако с течением времени, особенно в ходе подтекания воспалительного экссудата, суспензия ГК теряет свою активность. Кроме того, из-за низкой растворимости антибактериальный потенциал препарата ограничен лишь непосредственной областью контакта со стенкой КК. Вследствие низкой способности к диссоциации в водных растворах и слабой диффузии этот тип антисептика недостаточно эффективен в отношении микроорганизмов, персистирующих в щелевидных участках КК и глубине ДТ. В 2009 году Т. Komabayashi охарактеризовал структуру коммерческого образца ГК с помощью автоматизированной системы анализа динамических изображений потока частиц «Sysmex FPIA-3000» [228]. Согласно полученным данным, 63 % частиц в суспензии имели диаметр от 0,5 до 2,0 мкм,

25 % — более 2,5 мкм. Учитывая факт, что средний диаметр ДТ в дентине корня зуба составляет в среднем $3,45 \pm 0,30$ мкм [93] и уменьшается с возрастом по мере отложения перитубулярного дентина, можно предположить, что уменьшение размеров частиц способствовало бы увеличению их проникающей способности. Это предположение было доказано экспериментально В. Farzaneh [149]. Для этого КК 16-ти премоляров, удаленных по ортодонтическим показаниям, заполняли либо коммерческой пастой ГК, либо препаратом с наночастицами ГК. Затем 144 поперечных и косых среза было приготовлено и изучено с помощью флуоресцентного анализатора. В другой работе было изучено 180 поперечных спилов зубов, обработанных микро- и наноразмерными препаратами ГК [89]. На электронных микрофотографиях было видно, что микрочастицы закрывали входное отверстие ДТ, но из-за прямоугольной формы и большого размера оказались не в состоянии проникнуть в их просвет. Наноразмерные частицы ГК, в свою очередь, осаждались на внутренних стенках ДТ и формировали агломераты на глубине от 110 до 450 микрометров от поверхности дентина. Антибактериальный потенциал таких частиц был подтвержден Р. Louwakul в 2017 году [191]. Он может быть усилен с помощью таких антисептических агентов, как йодоформ и хитозан [44, 71]. Путём введения в состав интраканального медикамента определенного количества кристаллов ГК, абсорбированных на биоразлагаемых полилактидных частицах, можно пролонгировать высвобождение активного компонента [72]. Важно, что в лабораторном эксперименте четырехнедельная экспозиция наноструктурированной пасты ГК не оказала негативного влияния на микротвердость дентина, в то время как слишком длительное нахождение водной суспензии ГК в КК, по мнению ряда авторов, может не только создавать условия для размножения бактерий, но и отрицательно сказаться на прочностных характеристиках зуба [227, 278, 301]. Кроме того, О. Dianat и S. Azadnia, оценив прямое воздействие обоих препаратов на клеточную линию мышечных фибробластов, пришли к выводу, что разница цитотоксического эффекта «традиционной» прописи ГК и его нанодисперсии не является статистически значимой [107].

Помимо модификации структуры кальцийсодержащих пломбирочных паст, изучаются их комбинации с другими противомикробными агентами. Так,

пилотное лабораторное исследование М. Javidi (2014) продемонстрировало потенциал использования смеси пасты ГК и наносеребра для внутриканального медикаментозного лечения [131]. Несколько исследовательских групп из Ирана и Китая получили похожие результаты [47, 145]. И если в этих исследованиях использовался метод подсчёта колониеобразующих единиц, то в 2020 году в журнале «Journal of Endodontics» была опубликована статья Н. Valto с соавт., которые использовали возможности современных высокоточных методов микроскопии и искусственного интеллекта [82]. Группа исследователей работала над комплексным препаратом на основе внутриканального медикамента «UltraCal» на основе ГК и 0,02 %-й водной суспензии наночастиц серебра диаметром 10 нм. Непосредственно перед началом эксперимента компоненты смешивались в соотношении 1:1. Оценку противомикробной эффективности экспериментальной смеси проводили на модели монокультурной биоплёнки *E. Faecalis* — затем образцы обрабатывались аналитическим зондом «BacLight», включающим ДНК-тропный краситель SYTO-9, окрашивающий как живые, так и мёртвые микроорганизмы, и йодид пропидия, проникающий исключительно в бактерии с поврежденным мембранным комплексом. В результате на двухканальном изображении визуализировались как живые клетки — зелёного цвета, так и погибшие в ходе медикаментозной обработки — флуоресцирующие в красном спектре. Последующий компьютерный анализ показал, что от 90,85 % до 98,49 % клеток на образцах, обработанный смесью ГК и наночастиц серебра, погибли в результате обработки комплексным препаратом. При этом инкубация в чистом растворе наночастиц серебра привела к уничтожению 88,07 % микроорганизмов, а в присутствии только пасты ГК произошла дезинтеграция 76,14 % бактерий. Аналогичные результаты были получены и на модели многовидовой биоплёнки, включающей, помимо *E. Faecalis*, *S. Mutans*, *L. Acidophilus* и *A. naeslundii* [38]. В другом исследовании комбинация ГК марки «Metapaste» с наночастицами серебра оказалась эффективнее против *E. Faecalis*, чем её смесь с 2 %-м гелем хлоргексидина [47]. В то же время, сочетание данного геля с ГК и серебром на порядок увеличивало зону ингибирования роста бактерий на тестовых культурах [37]. Иногда в ходе академической

дискуссии у клиницистов вызывает опасения эстетический аспект применения внутриканальных медикаментов на основе серебра — риск формирования дисколоритов. Известно, что позиционирование серебряных пинов в качестве анкерных элементов при реставрации или металлических штифтов в качестве филлера для пломбирования КК часто приводило к окрашиванию коронок зубов в серый оттенок. Однако в эксперименте F. Afkhami и S. Elahy добавление наночастиц серебра к пасте ГК не вызвало существенного изменения цвета запломбированных зубов, что было подтверждено данными спектрофотометрии [23].

Предпринимаются попытки модифицировать наночастицами серебра и другой препарат — МТА (минералтриагрегат) — активно использующийся в повседневной эндодонтической практике с 1998 года [171, 302]. С химической точки зрения он представляет собой смесь силикатов, алюмината и алюмоферрита кальция. В процессе гидратации (в том числе, при наличии воспалительного экссудата или крови), эти частицы образуют коллоидный гель. Таким образом, значительное практическое преимущество МТА заключается в том, что процесс его отверждения происходит во влажной среде. Более того, в качестве продукта химической трансформации оксидных форм кальция выступает его гидроксид — а значит, в точке контакта МТА с дентином или костью формируется щелочная среда, губительная для микроорганизмов. МТА обеспечивает предсказуемые результаты в клинических ситуациях, когда требуется стимуляция апексофикации при резорбтивных дефектах корня зуба, заживление поражений области фуркации, прямое и непрямое покрытие пульпы, ретроградное пломбирование КК в ходе операций резекции верхушек корней. В лабораторном исследовании антибактериальные свойства препарата на основе МТА и 1 % суспензии наночастиц серебра оценивались методом диффузии в агар, на котором культивировались *E. Faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. Aureus* и *C. Albicans* [48]. Диаметр зон ингибирования роста отдельных микроорганизмов для стандартного состава варьировал от 15,6 мм до 22,7 мм, в то время как для модифицированного — от 17,6 мм до 37,6 мм. Расчёты U-критерия Манна-Уитни показали, что эти различия являлись статистически значимыми. Кроме того, по результатам поставленного V. Zand и M. Lotfi экспери-

мента на самцах крыс можно сделать вывод, что модифицированные составы не оказывают альтерирующего действия на окружающие ткани [290]. В гистологических препаратах эпителия животных, в подкожную клетчатку которых были имплантированы стерильные полиэтиленовые трубки, заполненные серебросодержащими препаратами МТА, не было обнаружено клеток, участвующих в развитии воспалительной реакции.

Одним из недостатков МТА считается длительное время схватывания материала — для достижения максимальной прочности на сжатие требуется до нескольких дней. Коррекция времени схватывания позволила бы снизить вероятность смещения материала под действием окклюзионных сил [15]. Результаты научного поиска не всегда бывают положительными: так, добавление наночастиц гидроксиапатита в состав смеси МТА привело к значительному снижению его прочности [120], аналогичный эффект наблюдался и при введении в состав порошка МТА цеолита — смеси алюмосиликатов щелочных металлов [125]. Возможно, имело место конкурентное ингибирование процессов гидратации и кристаллизации основных компонентов МТА, т.к. щелочные металлы, являющиеся основными катионами в кристаллической решетке цеолитов, обладают еще более выраженной сорбционной способностью. Добиться сокращения времени схватывания удалось, используя частицы, имеющие химическое сродство к компонентам «оригинального» МТА, а также путём уменьшения размеров частиц препарата. По всей видимости, это связано с тем, что при увеличении площади взаимодействующих поверхностей усиливается и реакционная способность. Так, в исследовании V.A. Zanjani добавление наноразмерных оксидов кремния и алюминия сократило время схватывания препарата «МТА Angelus» в 1,6 раза по сравнению с оригинальной прописью, а экспериментальный цемент, состоящий только из наноразмерных частиц, застывал в 2,6 раза быстрее [239].

В связи с особенностями клинических ситуаций, в которых рекомендовано применение МТА, имеют первостепенное значение не только механические, но и биоиндуктивные свойства материала. Механизмы, благодаря которым МТА стимулирует пролиферацию и дифференцировку одонтобластов, разнообразны и ак-

тивно изучаются. По-видимому, они не обусловлены одним только созданием благоприятного ионного окружения для минерализации органического матрикса дентина, а связаны со сложным каскадом рецептор-опосредованных транскрипционных реакций [53]. В эксперименте, проведенном в 2021 году, Y.J. Kim с соавт. показали, что в культурах стволовых клеток, выращенных в присутствии МТА, наблюдалась повышенная экспрессия генов, кодирующих одонтогенные маркеры — фосфопротеины, сиалопротеины дентина, остеокальцин [201]. Одной из перспективных стратегий усиления регенеративного потенциала МТА является включение в его состав антиоксидантов, ограничивающих выработку внутриклеточных активных форм кислорода, неизбежно образующихся в ходе энергетического обмена клетки. Одним из высокоэффективных неорганических антиоксидантов является диоксид церия [65]. Изучается его применение как для медикаментозной протекции процесса нейрогенеза [155], так и для лечения миофасциального болевого синдрома [80], улучшения метаболической активности хондроцитов [60]. S.K. Jun с соавт. Доказали, что сочетание наночастиц оксида церия с МТА может положительно влиять на состояние пульпо-дентинного комплекса [76].

1.3.3 Электрофорез с применением наночастиц гидроксида меди-кальция

Гидроксид меди-кальция (ГМК), имеющий формулу $\text{Ca}[\text{Cu}(\text{OH})_4]$, представляет собой гетерогенную равновесную систему, компонентами которой являются частицы гидроксида меди $\text{Cu}(\text{OH})_2$, гидроксипрат-анионы $[\text{Cu}(\text{OH})_4]^{2-}$, ионы кальция Ca^{2+} и гидроксид-ионы OH^- . В состоянии водной пасты это комплексное соединение существует в виде коллоидного раствора частиц. Это комплексное соединение является поливалентным противомикробным агентом. Вследствие генерации гидроксид-ионов обеспечивается сильнощелочной рН среды, губительный для большинства бактерий, вызывающих воспаление пульпы и апикального периодонта. С другой стороны, микроорганизмы, компрометирующие результаты эндодонтического лечения, в первую очередь, *E. faecalis*, часто проявляют резистентность к колебаниям водородного показателя [179]. Но в от-

личие от препаратов ГК, биоцидное действие комплексного ГМК реализуется за счёт нескольких молекулярных механизмов. Так, гидроксипупрат-анионы способны вступать в реакцию связывания с серой, входящей в состав серосодержащих аминокислот и сероводорода, образующегося в ходе метаболизма сульфатредуцирующих прокариот. Окислительно-восстановительные реакции приводят к образованию плохо растворимого в воде сульфида меди CuS , который формирует конгломераты в просвете ДТ. Это явление обеспечивает герметизацию ДТ и таким образом блокирует миграцию бактерий и микроподтекание дентинной жидкости в просвет КК. Кроме того, наночастицы меди и оксидов меди сами по себе проявляют пролонгированные антибактериальные свойства [273]. Они являются компонентом ортодонтических цементов [279] и материалов для пломбирования КК [43], активность которых подтверждается экспериментами по методу «диффузии в агар». Наночастицами меди прививаются поверхности титановых дентальных имплантатов, что обеспечивает их резистентность к колонизации *P. gingivalis*, *P. melaninogenica* и *S. mutans* [34]. В работе V. Korniienko с соавт. эти частицы использовали для модификации имплантатов из цирконий-ниобиевого сплава [152]. Бактериологический анализ инокуляционных аликвот образцов, в которые были погружены экспериментальные имплантаты, выявил значительное уменьшение бактериальной нагрузки. За пределами медицины противомикробный потенциал наночастиц меди используют на водоочистных сооружениях [298] — *in vitro* они демонстрируют эффективность против культур *E. coli* и *S. aureus* [36].

Существует несколько методик применения ГМК в стоматологической практике. Профессор Адольф Кнаппвост первым предложил использовать его на терапевтическом приёме для лечения апикального периодонтита. Он разработал метод депофореза коммерческой пасты «Купрал[®]» на основе ГМК, заключающийся в транспорте и депонировании вещества в системе КК зуба с помощью постоянного электрического тока. Под действием электрического поля заряженные частицы способны перемещаться по системе дополнительных каналов и ДТ. Для введения «Купрала[®]» в корневую систему были разработаны аппараты «Оригинал II», «Комфорт», «ЭНДО 1.0» и др. Лицензию на производство приборов и препа-

ратов А. Кнаппвоста на сегодняшний день имеет немецкая фирма «Humanchemie GmbH». Главный недостаток метода депофореза ГМК заключается в том, что он предполагает, как минимум, три визита к врачу и длится в среднем 20–30 дней. Во многом поэтому технология не нашла широкого применения. Однако несмотря на необходимость дорогостоящего оборудования и многосеансность лечения, метод дозированного трансканального депофореза до сих пор интересует стоматологов [3, 7, 13]. Исследования 2019 года подтверждают снижение интенсивности и видового разнообразия микробного пейзажа после подобного лечебного мероприятия [10]. Предпринимаются успешные попытки его сочетания с воздействием прямого и рассеянного пучков холодной аргоновой плазмы [1].

Развивая идеи А. Кнаппвоста, профессор В.А. Румянцев с соавт. обосновал и усовершенствовал метод гальванофореза ГМК [80]. В качестве источников тока в этом случае использовались внутриканальные штифтовые элементы, выполненные из двух металлов, составляющих гальваническую пару, например, меди и цинка. При этом на границе раздела возникает разность потенциалов величиной 0,2–0,4 В, за счет которой заряженные частицы постепенно перемещаются из просвета КК зуба в глубину дентина. Величина гальванического тока составляет около 0,1 мА. В зависимости от диагноза и клинической картины, процедура проводится в течение от 7–10 суток до 3 месяцев. Требуются регулярные визиты к стоматологу для рентгенологического контроля процесса заживления и замены штифтов в КК. В 2018 году В.А. Румянцев с соавт. обосновал новый способ комплексного лечения эндо-пародонтальных поражений методами гальванофоретической наноимпрегнации и «купрал-кюретажа» [8]. У пациентов с хроническим апикальным периодонтитом на фоне хронического генерализованного пародонтита легкой и средней степени тяжести одновременно проводились трансканальный гальванофорез «Купрала[®]» и позиционирование ГМК в пародонтальных карманах на хлопчатобумажных нитях. После проведенного комплексного лечения эта методика продемонстрировала положительное влияние на клинические, рентгенологические и биохимические показатели спустя 1, 2 и 4 года после завершения терапии [9]. Из числа биохимических показателей для анализа был выбран неопте-

рин ротовой жидкости и плазмы крови, характеризующий выраженность воспалительной и аутоиммунной реакции в организме. Это вещество является метаболитом нуклеиновых оснований и синтезируется клетками макрофагально-моноцитарной линии под действием гамма-интерферона. У пациентов основной группы этот показатель был в среднем в 2 раза ниже, чем в контрольной группе.

Таким образом, все существующие сегодня методы применения суспензии ГМК на клиническом приёме требуют дополнительного оборудования (источников электрического тока, гальванических штифтов, нитей), предполагают несколько регулярных визитов в клинику, а лечение, в зависимости от клинической ситуации, может продолжаться до нескольких месяцев. Поэтому несмотря на эффективность медикаментозной обработки КК и пародонтальных карманов препаратами ГМК, большинство клиницистов делают выбор в пользу менее трудоёмких методик. Адекватный баланс между высоким антибактериальным потенциалом препарата и временными затратами, связанными с его применением, до сих пор не найден. При этом актуальные сведения о структурной организации и физико-химических свойствах ГМК в научной литературе отсутствуют. Это ограничивает возможности дальнейшего изучения, совершенствования и внедрения в протоколы эндодонтического и пародонтологического лечения наноимпрегнационных технологий, основанных на уникальных свойствах водной суспензии ГМК.

1.3.4 Наночастицы в материалах для постоянного пломбирования корневых каналов зубов

После тщательной механической и многоступенчатой медикаментозной обработки КК следует заключительный этап эндодонтического лечения — постоянное пломбирование. Герметичная obturation предотвращает как повторное инфицирование обработанных КК из пространств периодонта и пародонта через систему ДТ, так и миграцию микроорганизмов в периапикальную область. Считается, что источником микроподтекания являются, главным образом, пространства между стенкой КК и корневой пломбой [27, 206]. Однако встречаются сообщения о дефектах контакта между гуттаперчевыми штифтами и силером, а также порис-

тости самого силера [88]. Наблюдаемый рентгенологически апикальный, латеральный и корональный «герметизм» являются важным фактором долгосрочного успеха проведенного лечения.

Придание эндодонтическим силерам противомикробных свойств может играть важную роль в профилактике рецидивов эндодонтической инфекции. Исследования показывают, что большинство герметиков способны проникать в просвет ДТ корня зуба, что обеспечивает как формирование монолитного соединения с твердыми тканями, так и потенциал для реализации антибактериального эффекта [19, 104]. Считается, что материалы на основе эпоксидных смол — наиболее популярные силеры, используемые в настоящее время, — в определенной степени обладают собственными биоцидными свойствами, что связано с выделением в ходе реакции полимеризации тепла и свободных альдегидов. В качестве дополнительного активного компонента новых материалов рассматривается диметиламиногексадецилметакрилат (DMAHDM). Положительно заряженные аммониевые группы и длинные алкильные радикалы этого соединения разрушают мембраны бактериальных клеток [189]. В исследовании *in vitro* концентрация вещества, равная 2,5 %, придала эпоксидному силеру «АН Plus» биоцидный потенциал, достаточный для ингибирования роста биоплёнки *E. faecalis* [17]. В комбинации с наночастицами фосфата кальция или гексаметафосфата натрия силеры, модифицированные молекулами поверхностно-активных веществ, оказались способны обеспечивать не только контроль микробного состава пространств КК, но и регенерацию дентинной раны после инструментации [35, 214, 215, 295]. К смеси четвертичных аммониевых соединений и гидроортофосфата кальция добавляют также наночастицы серебра [33, 217]. Исследования J. Seung показали, что такой материал способен проявлять антибактериальную активность в течение 7 дней [17]. Добиться более длительного высвобождения биоцидных агентов возможно путём применения наноструктурированных систем доставки. Одной из активно изучаемых платформ являются углеродные нанотрубки — в их просвете A. Marica с соавт. инкапсулировали наночастицы серебра и молекулы хлоргексидина [74]. Импрегнированные нанотрубки не вступали в непосредственное химическое взаимодействие с си-

лером и равномерно диспергировались в эпоксидной матрице. Энергодисперсионная спектроскопия продемонстрировала диффузию молекул хлоргексидина и серебра в дентин — это явление регистрировалось на протяжении 14 дней.

Интересно, что в литературе практически отсутствуют факты о включении состав эндодонтических герметиков наночастиц серебра в чистом виде. С другой стороны, в ряде публикаций фигурируют наночастицы ванадата (Ag_3VO_4) и метаванадата (AgVO_3) серебра. Изменение условий реакции синтеза этих соединений приводит к формированию их стехиометрических изомеров, структур кристаллической решетки, частиц различной формы [207]. Наиболее важными типами частиц, с точки зрения их механических свойств, являются стержни, ленты и волокна, способные к самосборке. В лабораторных исследованиях этот потенциал частиц ванадатов серебра проявлялся в уменьшении времени схватывания материала «АН Plus» [136]. Антибактериальный эффект, в свою очередь был исследован и подтверждён на планктонном материале *E. faecalis*, *P. aeruginosa* и *E. coli*. Бицидный потенциал ванадат-ионов в настоящее время является предметом научной дискуссии [164, 300]. Интересно, что в эксперименте A.V.V. Teixeira, по данным масс-спектрометрии, из модифицированного герметика «АН Plus» высвобождалось больше ионов серебра, в то время как эндометазон-содержащий силер демонстрировал высокие концентрации ванадия [99]. Таким образом, по отношению к ванадатам серебра как к новым потенциальным антимикробным агентам, необходимы как дальнейшие исследования на моделях биоплёнок, так и оценка цитотоксических эффектов и профиля экологического риска [96, 284].

Помимо антимикробных, актуальны также биоиндуктивные свойства силеров — формирование кальцинированной ткани в апикальной зоне обеспечивает дополнительный герметизм, стимулирует процесс заживления дентина и obturацию ДТ на всём протяжении КК, а также гарантирует безопасность при непреднамеренном выведении материала за верхушку корня. Для достижения описанных эффектов в прописи герметиков на основе эпоксидных смол включаются наночастицы биоактивного стекла, гидрокси- и фторапатита. В эксперименте V.A. Jerri Al-Bakhsh наночастицы фторапатита и биоактивного стекла индуцировали формиро-

вание непрерывного слоя фосфата кальция на границе раздела образцов смолы «АН26» и SBF-раствора, в который они были погружены [169]. Для усиления индуктивного эффекта и исключения негативных явлений, связанных с реакцией полимеризации эпоксидных смол, был разработан новый вид герметиков для КК. Биокерамические силеры — общее название для группы материалов, основой которых являются частицы диоксида циркония, силикаты, дигидроортофосфат и гидроксид кальция. Процесс химического отверждения, как и химический состав, похож на таковой у препаратов МТА — герметик затвердевает при взаимодействии с водой через стадию высокощелочного геля. Существуют однокомпонентные коммерческие образцы, не требующие замешивания и застывающие при контакте со слегка увлажненными стенками КК [166]. Вследствие особенностей механизма отверждения, биокерамические силеры дают малые усадочные деформации и поэтому рекомендуются клиницистами для пломбирования КК методом моноштифта [21]. С распространением никель-титановых инструментов высокой конусности, оптимизировавших процесс подбора гуттаперчевого штифта, данная методика позволяет обеспечить максимальную герметизацию апикальной трети КК. Кроме того, до сих пор не выявлено разницы между прочностными свойствами стеклокерамических силеров и эпоксидных смол [173]. Добавление упоминаемых выше углеродных нанотрубчатых структур дополнительно способствует улучшению прочности на сжатие и формированию более низкого профиля растворимости материала [124, 180, 238]. Имеются данные, подтверждающие потенцирование бактерицидного эффекта наночастиц хитозана, оксида цинка и серебра при включении их в биостеклокерамику [85]. В качестве резервуара наночастиц серебра в исследовании D. Leng с соавт. использовались многократно упоминаемые в настоящем обзоре частицы мезопористого кремния, функционализированные методом темплатного синтеза [275]. На микрофотографиях удалось зарегистрировать момент эндоцитоза наночастиц и последующий лизис мембран отдельных бактерий *E. faecalis*.

Биокерамические силеры рекомендуется использовать с гуттаперчевыми штифтами, импрегнированными слоем кремнийсодержащих наночастиц [257]. Электронные микрофотографии поперечных спилов запломбированных корней

зубов демонстрируют, что такая комбинация филера и силера приводит к формированию «моноблока» [146]. Связь модифицированных гуттаперчевых штифтов и биокерамического силлера обеспечивает максимальное уплотнение корневой пломбы, таким образом, минимизируя риск развития потенциального микроподтекания. Для создания биологически активного слоя на поверхности гуттаперчи используется также ниобий-фосфатное стекло [97]. Конфокальное лазерное сканирование показало, что такие гуттаперчевые штифты способны поддерживать щелочной уровень pH и проявлять антибиоплёночную активность [83].

Наряду с антибактериальной активностью, стерильность — ключевое из предъявляемых к филлеру требований [108]. Т.е. идеальный гуттаперчевый штифт должен если не обладать бактерицидными свойствами, то, по крайней мере, не являться источником патогенной микрофлоры. Коммерческие гуттаперчевые штифты изготавливаются в заводских условиях, подвергаются тщательному инфекционному контролю и поступают в клинику в стерильной упаковке, поэтому опасность контаминации возникает при её вскрытии и контакте с воздухом [156]. Споры о необходимости предварительной обработки штифтов ведутся до сих пор. Очевидно, что методы стерилизации, подразумевающие воздействие сухого тепла или пара под давлением, не могут быть применены без риска повреждения структуры гуттаперчи. Альтернативой является химическая обработка, связанная с поиском оптимального дезинфицирующего агента, чтобы либо время выдерживания штифта в нём было минимальным, либо они могли бы длительно храниться непосредственно в растворе, не изменяя своих физических и манипуляционных свойств. Известна процедура быстрой обработки гуттаперчевых штифтов 5,25 % раствором гипохлорита натрия [56, 157], в присутствии сурфактантов — таких как цетримид — может быть эффективен 1 %-й раствор [29, 75, 109]. Уменьшение активной концентрации важно в контексте того, что гипохлорит натрия является относительно неустойчивым соединением и быстро распадается с образованием кристаллов хлорида натрия [262]. Осаждение кристаллов из более концентрированного раствора на поверхность гуттаперчевых конусов может повлиять на связь штифта и силера, а значит, на герметичность obturации.

Кроме того, имеются данные атомно-силовой микроскопии, подтверждающие, что обработка 5,25 % раствором гипохлорита натрия приводит к образованию микроповреждений на поверхности гуттаперчевого конуса [202]. Избежать деградации рельефа возможно, если заменить дезинфектант гидрозолем, содержащим 70 мкг наночастиц серебра в 1 мл препарата, или раствором наночастиц хитозана с концентрацией 1,5 мг/мл [144]. Высока также эффективность МТАD — смеси 4,25 % лимонной кислоты и детергентов [51, 111].

В 1982 году учёными было высказано предположение, что гуттаперчевые конусы обладают собственным антибактериальным действием, хотя слабым и медленно развивающимся [86]. По-видимому, оно связано с присутствием в их составе оксида цинка. Разработка усовершенствованных гуттаперчевых штифтов, обладающих более выраженными и пролонгированными бактерицидными свойствами, — перспективное направление стоматологического материаловедения.

Пристальное внимание научного сообщества уделяется исследованиям, связанным с включением частиц серебра в структуру гуттаперчи [269]. Предпринимаются попытки программировать свойства гуттаперчи и с помощью неметаллических наполнителей. Наноалмаз — это углеродные частицы с кубической кристаллической решеткой и размером 4–6 нм, проявляющие умеренное биоцидное действие даже в отсутствии лигандов [57]. В исследовании на приматах после внутривенного введения таких частиц в моче и сыворотке крови не было выявлено изменений уровней биомаркеров альтерации [64]. В работе исследовательской группы D.K. Lee использовались смесь частиц наноалмаза, 70 % из которых были конъюгированы с амоксициллином — антибиотиком широкого спектра действия [209]. Экспериментальные гуттаперчевые штифты были созданы путём дисперсии частиц модифицированного наноалмаза в изопрене и последующей формовке конусов. Кумулятивные профили высвобождения амоксициллина, полученные методом спектрометрии, показали, что в течение 7 дней с поверхности таких конусов высвобождается до $274,58 \pm 6,29$ мкг амоксициллина. В процентном соотношении это количество составляет около 13,1 % от массы антибиотика, содержащегося в одном гуттаперчевом штифте, т.е. выделение активного компонента

происходит не форсированно, а постепенно. Для оценки антибактериальных свойств материала штифты были инокулированы 20 мкл суспензии *S. aureus*. Конфокальное лазерное сканирование показало, что спустя 70 часов на поверхности нано-модифицированной гуттаперчи визуализировались преимущественно мёртвые бактерии, в то время как стандартные штифты не проявляли выраженной биоцидной активности. Этот эффект может быть обусловлен как блокированием молекулами амоксициллина процессов синтеза бактериальных пептидогликанов, так и контактным лизисом клеток при взаимодействии с гранями наноалмаза.

Механические свойства obturационных материалов, наполненных наноструктурированными кристаллами углерода, могут не только обеспечить санацию КК, но и компенсировать ослабление прочности корня зуба, прошедшего эндодонтическое лечение. Структурные особенности депульпированных зубов обусловлены, в первую очередь, потерей твердых тканей в ходе препарирования КК. Протеолиз длинных цепей коллагена концентрированными ирригационными растворами также может снижать прочность дентина на изгиб [246]. Эти факторы значительно влияют на устойчивость зуба под окклюзионными нагрузками. Исследователями из Университета Калифорнии наночастицы алмаза использовались применительно к системам инъекционного введения гуттаперчи для разработки гибридной техники пломбирования, обеспечивающей дополнительное армирование корня [81]. В рандомизированном исследовании участвовало 30 пациентов с диагнозом «хронический апикальный периодонтит». В причинных зубах апикальная треть КК была запломбирована откалиброванным моноштифтом, а модифицированная углеродными наночастицами термопластическая гуттаперча нагнеталась и конденсировалась в средней трети КК в зоне его наибольшего изгиба. Т.к. в лабораторных условиях obturационный материал, содержащий наноалмаз, демонстрировал повышенную прочность на растяжение и модуль упругости, пломбирование «сэндвич-техникой» способствовало укреплению структур депульпированного зуба. Впрочем, важно понимать, что ни один современный пломбировочный материал не способен полностью заменить потерянные ткани, а значит, для достижения долгосрочного прогноза выживаемости эндодонтически пролеченного зуба необходимо адекватное препарирование как КК, так и полости доступа.

РЕЗЮМЕ

Проведенный анализ информационных источников позволяет сделать несколько итоговых выводов, имеющих значение для оценки актуальности темы исследования и формулирования задач исследования.

1. Эффективность эндодонтического лечения пульпита и апикального периодонтита не превышает 70–85 %. Основной причиной клинических неудач является бактериальная биоплёнка, персистирующая в системе дополнительных КК и микроскопических ДТ корня зуба и неуязвимая для механической и медикаментозной обработки известными сегодня методами.

2. Основываясь на международном опыте лечения пациентов с диагнозом «пульпит», в связи с отсутствием бактериальной контаминации тканей пульпы и асептическим характером воспаления при данном заболевании, был принят тезис об отсутствии необходимости временного пломбирования КК противомикробным препаратом в зубах с острыми и хроническими формами пульпита. Принято решение включить в исследование пациентов с диагнозом «хронический апикальный периодонтит».

3. В настоящее время имеются убедительные данные о противомикробной эффективности коллоидных водных дисперсий гидроксида меди-кальция (ГМК). В составе препаратов для трансканального электрофореза ГМК ингибирует микрофлору инфицированных КК не только на поверхности, но и в глубине дентина. Актуальные сведения о структурной организации дисперсий ГМК в литературе отсутствуют.

4. Предлагаемые рядом авторов технологии работы с ГМК требуют дополнительного оборудования, лечение описанными методами может продолжаться до нескольких месяцев. Поэтому большинство клиницистов делают выбор в пользу менее трудоёмких и времязатратных методик.

5. Наночастицы меди, оксида меди, серебра и других металлов обладают выраженным бактерицидным эффектом и используются для создания новых биологически активных композиционных пломбировочных материалов, функционализированных покрытий дентальных имплантатов, растворов для ирригации КК, препаратов для их временной и постоянной obturation. В экспериментах *in vivo* и

in vitro модифицированные наночастицами материалы не оказывают цито- и генотоксического эффекта, не вызывают изменения цвета зуба, ослабления его прочностных свойств. Имеется опыт комбинирования различных видов частиц друг с другом, образования комплексов с крупными частицами-носителями.

6. Современная эндодонтия стоит перед проблемой сочетания односеансных методов лечения пульпита и апикального периодонтита с пролонгированным противомикробным воздействием на микробную биоплёнку, персистирующую в системе КК корня зуба и глубине ДТ. Разработка новой методики применения ГМК, применимой в практическом здравоохранении, основанной на его комбинации с наночастицами металлов, не требующей дополнительных электрокинетических воздействий, специального оборудования и многократных визитов в клинику, могла бы быть полезной для решения этой проблемы.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Дизайн и планирование исследований

Настоящее диссертационное исследование включает лабораторную и клинко-лабораторную части (рисунок 2.1).

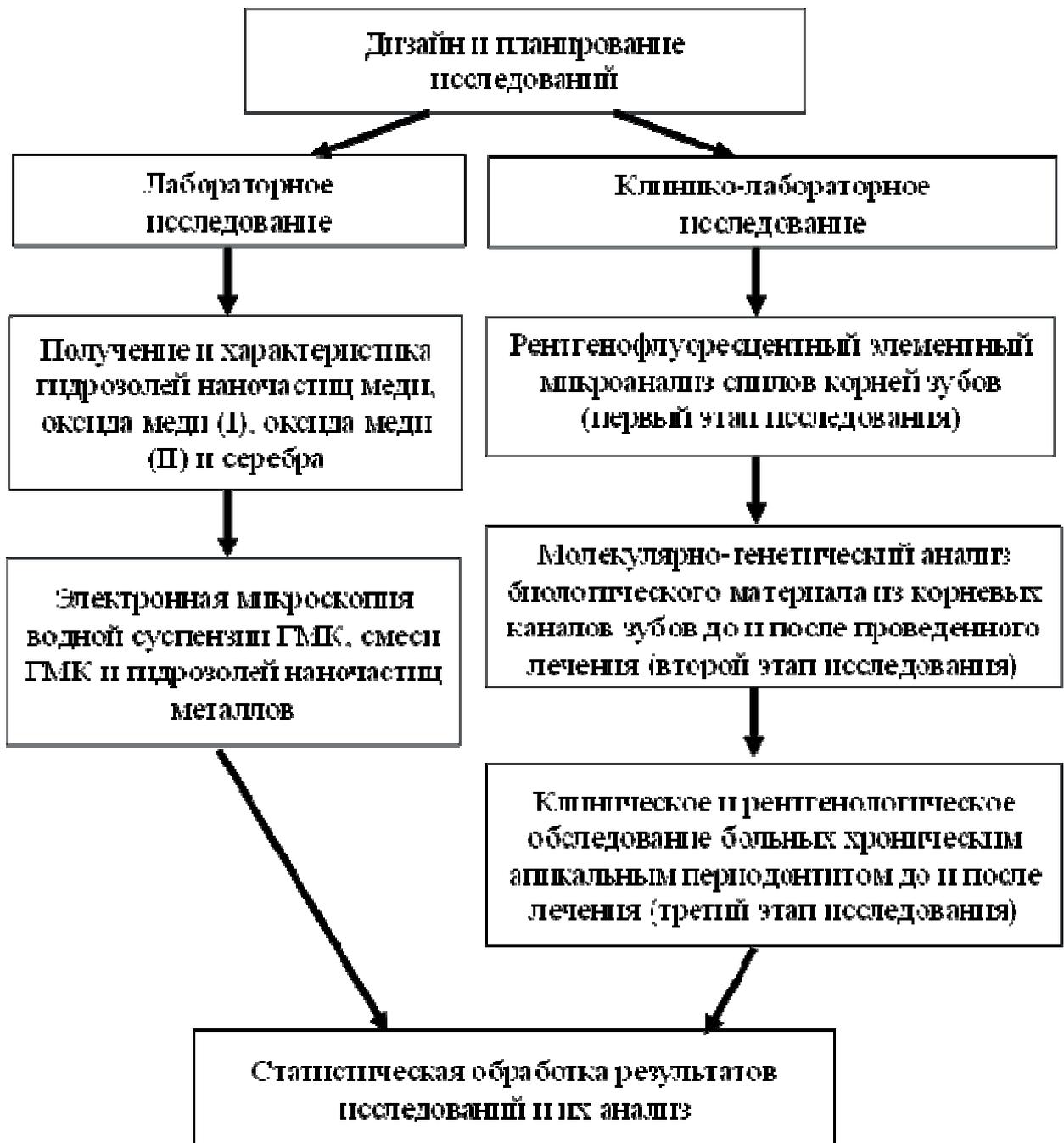


Рисунок 2.1 — Блок-схема дизайна исследований

Лабораторное исследование носило описательный характер и включало в себя изучение физико-химических характеристик гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра, а также водной суспензии ГМК и её смеси с гидрозольными перенесёнными частицами. Проводилась регистрация следующих признаков: размер и форма частиц, пространственное взаимодействие частиц друг с другом и характер контакта между ними, наличие кристаллической фазы в исследуемом препарате.

Клинико-лабораторное исследование представляло собой комплексное открытое проспективное рандомизированное контролируемое исследование. Выборка пациентов осуществлялась неслучайным путём, а именно методом типичного представителя: в исследовании участвовали пациенты хирургического (на первом этапе исследования) и терапевтического (на втором и третьем этапах исследования) отделения стоматологической поликлиники ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (главный врач — к.м.н., доцент В.В. Зобачева). Данное лечебное учреждение по структуре обращаемости может быть отнесено к типичным, т.к. оказывает стоматологическую помощь как по системам ОМС, ДМС, так и на платной основе пациентам всех возрастных групп, проживающим на территории г. Твери и Тверской области, вне зависимости от пола, национальности, служебного положения и других факторов, которые могли бы повлиять на репрезентативность выборки. На основании требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и Приказа от 19.06.2013 № 266 Министерства здравоохранения Российской Федерации «Правила клинической практики в Российской Федерации» все исследования были проведены с согласия Этического Комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 27.02.2021).

Дальнейшее распределение единиц наблюдения по группам проводилось случайным образом. На первом этапе клинико-лабораторного исследования в качестве единиц наблюдения выступали спилы удалённых зубов, проводилось слепо-слепление исследователя путём условного кодирования образцов. Проводилась регистрация следующих учётных признаков: наличие или отсутствие химического

элемента — меди — на глубине 10, 50, 200 и 500 мкм от внутренней поверхности корневого канала.

На втором этапе клинико-лабораторного исследования в качестве единиц наблюдения выступали отдельные корневые каналы, в которых проводилась регистрация генетического материала патогенных бактерий.

На третьем этапе клинико-лабораторного исследования в качестве единиц наблюдения выступали отдельные зубы, для которых регистрировали ряд клинических показателей до и после проведенного лечения. На втором и третьем этапах клинико-лабораторного исследования предварительного ослепления исследователя не проводилось.

Расчет необходимого объема каждой выборки для формирования групп в клинико-лабораторном исследовании был проведен в соответствии с принципами медицинской статистики. Для **первого этапа** клинико-лабораторного исследования объем необходимой выборки для изучения качественных показателей был рассчитан по формуле 2.1 [11]:

$$n = \frac{t^2 P^2}{\Delta^2}, \quad (2.1)$$

где n — необходимый объем выборки;

t — доверительный коэффициент, показывающий, какова вероятность того, что размеры показателя не будут выходить за границы предельной ошибки (взяты $t = 1,96$, что обеспечивает 95 % вероятность безошибочного прогноза);

P — величина показателя изучаемого явления в процентах (на основании пилотного исследования взята $P = 20$ [7]);

Δ — предельная ошибка показателя, на основании предельной ошибки выборки (взята $\Delta = 5$).

Для **второго этапа** клинико-лабораторного исследования объем необходимой выборки был рассчитан по таблице К.К. Отдельновой для исследования с целью ориентировочного знакомства с предметом исследования и уровня значимо-

сти $p = 0,05$, в связи с временными и ресурсными ограничениями настоящего исследования [4].

Рабочая гипотеза исследования

Рабочая гипотеза диссертационного исследования базируется на трех основных положениях:

1. С учетом известных электронно-микроскопических исследований, зуб представляет из себя микро- и наноструктурированный орган.

2. В глубине дентина зуба при кариесе и его осложнениях персистирует микробная биопленка, демонстрирующая устойчивость к противомикробным препаратам и проявляющая резистентность к существующим методам механической и медикаментозной антисептической обработки.

3. Современные нанотехнологии позволяют добиться дозированной доставки противомикробных препаратов в глубину дентина и их депонирования в нем с целью предупреждения рецидива инфекционного процесса. Мы предположили, что методы депо- и гальванофореза, требующие дополнительного оборудования и предполагающие несколько регулярных визитов в клинику, могут быть усовершенствованы путём комбинации ГМК и суспензий наночастиц металлов. Такая комбинация может привести к созданию новых препаратов и технологий их применения, позволяющих существенно упростить процесс эндодонтического лечения зубов и повысить их эффективность.

2.2 Материал исследований

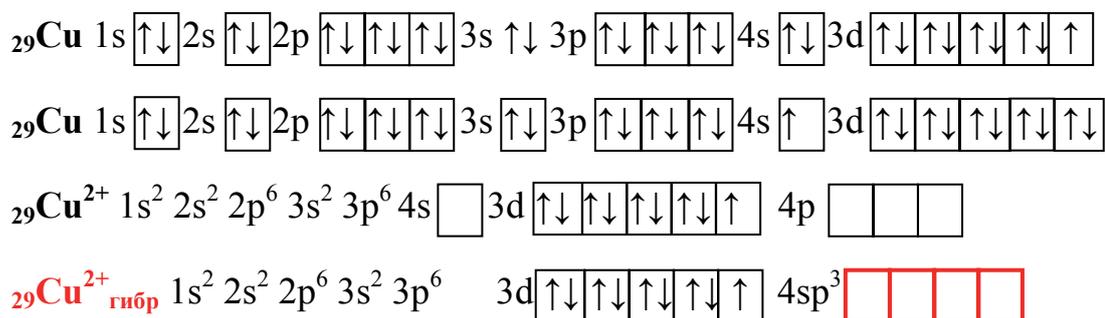
2.2.1 Материал лабораторного исследования.

Характеристика препарата гидроксида меди-кальция

В лабораторном исследовании участвовал препарат гидроксида меди-кальция (Купрал[®], «Humanchemie GmbH», Германия). С химической точки зрения ГМК представляет собой гидроксокупрат кальция с формулой $\text{Ca}[\text{Cu}(\text{OH})_4]$. Для того, чтобы проанализировать химическую природу этого соединения, необходимо иметь представление о строении атома меди. Медь — d-элемент, имеющий

электронную формулу $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^9$. В реальности, атом меди существует в состоянии, при котором происходит «проскок» электрона для полного заполнения более энергетически стабильного d-подуровня, и имеет следующий электронный состав: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^1 3d^{10}$. Таким образом, на внешнем энергетическом уровне атома меди находятся электроны $4s^1 3d^{10}$, внешняя оболочка представлена $4s^1$ электроном.

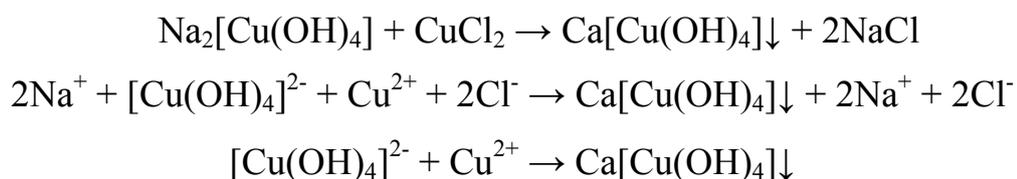
Наиболее стабильной степенью окисления меди является степень окисления II. Катион меди (II) имеет конфигурацию $4s^0 3d^9$. Важно, что в пределах валентного слоя у иона меди имеются пустые p-, d- и f — орбитали, которые играют роль потенциальных акцепторов электронов. Таким образом, наиболее полная электронная формула катиона Cu^{2+} выглядит следующим образом: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^0 3d^9 4p^0 4d^0 4f^0$. Вакантные 4s- и 4p-орбитали иона меди (II) образуют четыре sp^3 -гибридные орбитали. Поэтому в растворах Cu^{2+} способен образовывать ярко окрашенные комплексные ионы с координационным числом 4.



Так, растворимый гидроксокупрат натрия получают путём взаимодействия между амфотерным гидроксидом меди (II) с концентрированным раствором гидроксида натрия. Вследствие электростатического притяжения, четыре OH^- группы образуют координационные связи с центральным атомом меди — гидроксокупрат-анион $[\text{Cu}(\text{OH})_4]^{2-}$ имеет тетраэдрическую конфигурацию.



С учетом данных о растворимости соединений в воде, гидроксокупрат меди, в свою очередь, может быть получен в ходе химической реакции ионного обмена между гидроксокупратом натрия и хлоридом кальция.



Непосредственно перед исследованием ГМК разводили дистиллированной водой в соотношении 1 : 1. В следующей экспериментальной серии новый препарат на основе ГМК создали путем его разведения до состояния суспензии гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) с концентрацией 15–30 мг/л в том же соотношении. Гидрозоль наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) получали в лаборатории кафедры физической химии Национального исследовательского технологического университета «МИСиС» (Москва) методом конденсации низкотемпературной плазмы в дистиллированной воде при температуре окружающей среды 295 ± 1 К.

Получение гидрозолей наночастиц металлов методом конденсации низкотемпературной плазмы в искровом разряде

Прототипом способа получения жидких нанодисперсных систем металлов и оксидов металлов с помощью лабораторной установки для конденсации низкотемпературной плазмы является способ, основанный на электрогидравлическом эффекте (ЭГЭ). ЭГЭ — это способ преобразования электрической энергии в механическую работу ударно-гидравлического разрушения поверхности электродов путем диспергирования электропроводящих материалов под действием электрического разряда. Сущность этого способа получения наночастиц металлов и оксидов металлов состоит в том, что, при осуществлении внутри объема жидкости специально сформированного импульсного электрического разряда, вокруг зоны его образования возникают сверхвысокие гидравлические давления, способные совершать полезную механическую работу над материалом электродов. В результате возникновения ЭГЭ происходит диспергирование электродов и образование жидких нанодисперсных систем с полидисперсным распределением частиц дисперсной фазы и размерами частиц металлов и соединений металлов от единиц до сотен нанометров.

При возникновении искрового разряда в жидкой среде, наряду с ЭГЭ, непосредственно в искровом и дуговом разрядах кратковременно образуется зона низкотемпературной плазмы. В этой зоне имеет место преобразование электрической энергии в тепловую, и в результате нагрева поверхности электродов происходит:

- испарение атомов материала электродов;
- электролиз молекул определенного объема дисперсионной среды;
- образование зоны низкотемпературной плазмы, состоящей из атомов электродов и дисперсионной среды;
- возможно образование сложных химических соединений, состоящих из атомов, находящихся в зоне низкотемпературной плазмы.

На границе зоны низкотемпературной плазмы и дисперсионной среды за счет перепада температуры в несколько тысяч градусов, происходит конденсация вещества плазмы и образование наиболее мелких нанодисперсных частиц, образующих жидкий коллоидный раствор. В целом, данное явление можно назвать электроконденсационным эффектом. В результате концентрирования избыточного электрического заряда на поверхности наночастиц дисперсной фазы происходит поляризация связей в диполях воды, непосредственно окружающих наночастицу дисперсной фазы. Образовывается двойной электрический слой, состоящий из некоторого избыточного количества электронов (отрицательный заряд) или, в случае термоэлектронной и электростатической эмиссии электронов с поверхности наночастиц дисперсной фазы, положительно заряженных поверхностных атомов наночастиц, ионов и диполей дисперсионной среды. Двойной электрический слой обеспечивает стабильность наночастицы дисперсной фазы. Ориентировочные технические и эксплуатационные параметры прототипа лабораторной установки для конденсации низкотемпературной плазмы в жидких конденсированных средах:

- напряжение, подаваемое на металлические электроды от 3 до 9 кВ;
- амплитуда первой полуволны тока до 3000 А;
- продолжительность электрического импульса до 15 мкс;
- остаточное напряжение на конденсаторе ~ 100 В;
- время повторной зарядки конденсаторов $\sim 0,2-0,3$ мс;

- частота рабочих разрядов ~ 300–500 Гц;
- скорость вращения подвижного электрода — 60 об./мин;
- производительность перистальтического насоса — до 12 л/ч;
- давление перистальтического насоса — 1 бар;
- длина искры — от 100 до 500 мкм;
- емкость блока конденсаторов — от 2200 до 10200 пФ.

Такая лабораторная установка для конденсации низкотемпературной плазмы позволяет получать коллоидные растворы металлов и их оксидов при разных режимах электрического разряда: жесткого — $U = 9$ кВ; $C = 2200$ пФ; среднего — $U = 6–7$ кВ; $C = 4700–5500$ пФ; мягкого — $U = 4$ кВ, $C = 10200$ пФ.

Синтез наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра происходил в результате испарения поверхности металлических медных и серебряных электродов под действием электрического дугового разряда и последующей конденсации в жидкой конденсированной фазе. Разряд возникал при создании на электродах переменной импульсной разности потенциалов от 5 кВт до 9 кВт. В результате образовывались коллоидные частицы дисперсной фазы. Основное количество получаемых частиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра находились в размерном интервале от 0,5 нм до 3,0 нм, Устойчивость дисперсной системы к агрегированию обеспечивалась потенциалом частиц на границе скольжения (дзета-потенциалом).

Наряду с препаратами меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), было принято решение провести также электронно-микроскопическое исследование суспензии ГМК в гидрозоле наночастиц серебра с концентрацией 3 мг/л в соотношении 1:1, т.к. биологически-активные добавки на основе наночастиц серебра зарегистрированы под несколькими торговыми марками, активно применяются как в клинической, так и в исследовательской практике. Кроме того, серебро, как и медь, относится к группе металлов первой группы побочной подгруппы периодической системы химических элементов Д.И. Менделеева и имеет похожее строение внешних электронных облаков.

Порядок заполнения орбиталей электронами в атомах меди и серебра является исключением из правила Клечковского. Электронная формула меди: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^9$ — серебра: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^2 4d^9$. В реальности у обоих атомов происходит проскок одного электрона с орбитали s внешнего слоя на орбиталь d пред-внешнего слоя, что связано с более высокой устойчивостью полностью заполненного d-уровня. Таким образом, электронная формула атомов меди и серебра в порядке возрастания энергий орбиталей выглядят следующим образом: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^1 3d^{10}$ и $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^1 4d^{10}$ соответственно — электронная оболочка атома меди представлена следующими электронами: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^1$, а электронная оболочка атома серебра: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^{10} 5s^1$. Валентными как у атома меди, так и у атома серебра являются s-электроны пред-внешнего слоя с различным химическим сродством к электронным оболочкам атомов кислорода и серы. Таким образом, было сделано предположение, что гидрозоль наночастиц серебра, так же, как и гидрозоль наночастиц меди, будет обладать определенным химическим сродством к гидроксиду меди (II), входящему в состав ГМК, тем самым обеспечивая его клинически значимую модификацию.

2.2.2 Материал клиничко-лабораторных исследований

Было запланировано проведение трёх этапов клиничко-лабораторного исследования. На первом этапе было необходимо изучить динамику пассивной импрегнации дентина корня зуба наночастицами металлов и ГМК. На втором и третьем этапах проводилась оценка антибактериальной эффективности и клинического эффекта применения нового метода пролонгированной наноимпрегнации системы корневых каналов и дентинных трубочек корня зуба комплексным препаратом ГМК и гидрозоля наночастиц серебра при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита.

2.2.2.1 Материал первого этапа клинико-лабораторных исследований

В исследовании участвовали 53 добровольца (32 мужчины и 21 женщина) в возрасте от 42 до 65 лет, которым требовалось удаление 60 однокорневых зубов, не лечившихся ранее эндодонтически, на базе хирургического отделения стоматологической поликлиники ТГМУ (таблица 2.1).

Таблица 2.1 — Распределение обследованных пациентов по группам на первом этапе клинико-лабораторного исследования (абс.)

Группы пациентов		Число пациентов (N)		Число удалённых зубов (n)
		мужчины	женщины	
1	Контроль 1	6	8	15
2	Контроль 2	9	6	15
3	Экспериментальная 1	10	3	15
4	Экспериментальная 2	7	4	15
Всего		32	21	60

При формировании групп пациентов для первого этапа клинико-лабораторного исследования пользовались рядом критериев включения, невключения в исследование и исключения из исследования.

Критерии включения в основные и контрольные группы:

В экспериментальные и контрольные группы были включены добровольцы в возрасте от 42 до 65 лет обоего пола, которым требовалось удаление однокорневых зубов по хирургическим, терапевтическим или ортодонтическим показаниям. Всем пациентам была предоставлена для ознакомления полная информация о проводимом исследовании в устной и письменной форме, после чего ими подписывалась форма информированного согласия на участие в исследовании. Диагноз ставили на основании клинической картины и рентгенологического исследования.

Критерии невключения пациентов в исследование:

- необходимость удаления многокорневого зуба, в т.ч. ретенированных третьих моляров;
- облитерация корневых каналов в зубе, подлежащем удалению, по данным рентгенологического исследования;

- патологическая резорбция корня зуба, подлежащего удалению;
- фрагментация и перелом корня зуба в ходе операции экстракции;
- другие состояния и заболевания, которые могут воспрепятствовать участию пациента в исследовании или могут повлиять на оценку исследуемых параметров по данным анамнеза и медицинской документации;
- беременность и грудное вскармливание по данным анамнеза;
- отсутствие добровольного информированного согласия на проведение операции удаления зуба;

Критерии исключения пациентов из исследования:

- отказ добровольца от дальнейшего участия в исследовании на любом его этапе;
- возникновение в ходе операции удаления зуба ситуаций, угрожающих безопасности добровольца (например, реакции гиперчувствительности, серьезные жизнеугрожающие нежелательные явления, связанные с лечением);
- возникновение в ходе операции удаления зуба иных причин, препятствующих проведению исследования согласно протоколу.

2.2.2.2 Материал второго и третьего этапов клинико-лабораторных исследований

В исследовании были проанализированы результаты обследования и лечения 29 больных хроническими формами апикального периодонтита, реализованные в стоматологической поликлинике ТГМУ на протяжении 2020–2022 гг (таблица 2.2). Клинические исследования были проведены на кафедре пародонтологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, а лабораторные — в клинико-диагностической лаборатории ТГМУ, а также в лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург).

При формировании групп пациентов для второго и третьего этапов клинико-лабораторного исследования пользовались рядом критериев включения, невключения в исследование и исключения из исследования.

Таблица 2.2 — Распределение обследованных пациентов по группам на втором и третьем этапах клинико-лабораторного исследования (абс.)

Группы пациентов	Число пациентов (n1)		Число зубов (n2)	Число корневых каналов (n3)
	мужчины	женщины		
Основная	6	10	35	44
Сравнения	5	8	20	25
Всего	11	18	55	69

Критерии включения в основную и группу сравнения:

В основную и контрольную группы были включены добровольцы в возрасте от 18 до 65 лет обоего пола, которым требовалось лечение хронического апикального периодонтита с последующей реабилитацией с помощью ортопедических конструкций (вкладка, полукоронка, штифтовая культевая вкладка и полная коронка, в т.ч. временная коронка) или путём пломбирования полости доступа композитными материалами светового отверждения. Всем пациентам была предоставлена для ознакомления полная информация о проводимом исследовании в устной и письменной форме, после чего ими подписывалась форма информированного согласия на участие в исследовании. Диагноз ставили на основании клинической картины и рентгенологического исследования.

Критерии невключения пациентов в исследование:

- приём лекарственных средств из группы бифосфонатов;
- наличие в анамнезе генетически обусловленных системных заболеваний, острых и хронических соматических заболеваний в стадии декомпенсации (декомпенсированная форма сахарного диабета и другие заболевания эндокринной системы, хронические болезни дыхательной и сердечно-сосудистой систем); аутоиммунных заболеваний; острых и хронических инфекционных заболеваний, включая COVID-19; онкологических заболеваний в любой фазе; психических расстройств; системных заболеваний крови;
- химиотерапия, лучевая терапия или цитокиноterapia менее чем за 5 лет до включения в исследование по данным анамнеза и медицинской документации;

- гепатит В или С, ВИЧ-инфекция по данным анамнеза и медицинской документации;
- наличие в подлежащем лечению зубе облитерированных или непроходимых КК;
- III степень подвижности зуба, подлежащего лечению;
- гиперчувствительность к компонентам используемых для лечения препаратов, в т.ч. препаратам меди и серебра;
- другие состояния и заболевания, которые могут воспрепятствовать участию пациента в исследовании или могут повлиять на оценку исследуемых параметров по данным анамнеза и медицинской документации;
- беременность и грудное вскармливание по данным анамнеза;
- отсутствие добровольного информированного согласия на проведение исследования.

Критерии исключения пациентов из исследования

- отказ добровольца от дальнейшего участия в исследовании на любом его этапе;
- возникновение в ходе исследования ситуаций, угрожающих безопасности добровольца (например, реакции гиперчувствительности, серьезные жизнеугрожающие нежелательные явления, связанные с лечением, наступление беременности у пациентки);
- развитие у добровольца заболеваний, описанных в критериях невключения добровольцев в исследование;
- возникновение необходимости применения лекарственных препаратов и/или процедур, описанных в критериях невключения;
- возникновение в ходе исследования иных причин, препятствующих проведению исследования согласно протоколу.

2.3 Методы исследований

2.3.1 Методы лабораторных исследований

Электронно-микроскопическое исследование суспензий ГМК

Для описания наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра в их гидрозолях, построения распределения частиц по размерам, а также для анализа дзета-потенциала исследуемых частиц использовали высокоэффективный двухуголовой анализатор размеров частиц и молекул «Malvern Zetasizer Nano ZS» (рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 — Анализатор «Malvern Zetasizer Nano ZS»

Проба исследуемого коллоидного раствора объемом 1 см^3 помещалась в специальную прямоугольную одноразовую кювету из полистирола, после чего проводились исследования. Измерение размера частиц проводили по методу динамического светорассеяния, в основе которого лежит анализ флуктуаций интенсивности света, рассеянного частицами, находящимися в состоянии Броуновского движения. В результате анализа флуктуаций определялся характерный размер частиц.

Измерения дзета-потенциала частиц проводились методом электрофореза: коллоидный раствор частиц металла или оксида металла помещали в электрическое поле, под воздействием которого частицы перемещались с определяемой анализатором скоростью, зависящей от их дзета-потенциала.

Для электронно-микроскопического исследования дисперсных систем использовали просвечивающий электронный микроскоп «LEO 912 ABOMEGA» (KarlZeiss) с энергетическим фильтром и системой Келлера (ускоряющее напряжение: 60, 80, 100, 120 кВ, область освещения: 1–75 мкм, апертура освещения

0,02–5 миллирадиан, разрешение по энергии упругого рассеивания — 1,5 эВ, область измерения энергии неупругого рассеивания: 0–2500 эВ). Одна капля полученной водной дисперсной системы помещалась на никелевую сетку с пленкой-подложкой из поливинилформалия, и после полного высыхания проводилась просвечивающая электронная микроскопия и микроскопия в «тёмном поле».

Исследование проводилось на базе кафедры физической химии НИТУ «МИСиС» (г. Москва). Всего было сделано 32 снимка суспензии ГМК в дистиллированной воде, 48 снимков образцов суспензии ГМК в гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), 13 снимков суспензии ГМК в гидрозолу наночастиц серебра. Исследование носило описательный характер.

2.3.2 Методы клинико-лабораторных исследований

В работе использовали Международную классификацию заболеваний пульпы и периапикальных тканей зуба на основе МКБ-10, в частности, K04.5 — хронический апикальный периодонтит, K04.6 — периапикальный абсцесс со свищом; а также классификацию поражений тканей периодонта по И.Г. Лукомскому (фиброзный, гранулематозный, гранулирующий хронический апикальный периодонтит, кистогранулема).

2.3.2.1 Рентгенофлуоресцентный элементный микроанализ поперечных спилов корней зубов (первый этап клинико-лабораторного исследования)

На данном этапе исследования провели изучение поперечных спилов корней зубов, удаленных у 53 добровольцев (см. раздел 2.2.2.1). После удаления зубы не обрабатывались какими-либо антисептическими препаратами и хранились в стерильном 0,9 % растворе хлорида натрия при температуре +4°C. Затем после создания полости доступа при помощи ручных инструментов проводилась механическая обработка корневых каналов (КК). Медикаментозная обработка осуществлялась с помощью 3 % раствора гипохлорита натрия. Затем было проведено 4 серии исследований с применением трёх разных методик (по 15 зубов в каждой серии):

- *Первая методика.* Корневые каналы зубов заполняли пастой на основе водной суспензии ГМК. Срок позиционирования пасты в КК — 7 дней (контроль 1);
- *Вторая методика.* Корневые каналы зубов заполняли пастой на основе водной суспензии ГМК и затем осуществляли гальванофорез заряженных частиц препарата с помощью внутриканальных гальванических штифтов, внекорневая часть которых выполнена из цинка, а внутрикорневая — из меди. Гальванофорез проводили в течение 7 дней (контроль 2);
- *Третья методика.* Корневые каналы зубов заполняли пастой на основе суспензии ГМК, разведенного гидрозолем меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) с массовой концентрацией дисперсной фазы 15–30 мг/л. Срок позиционирования пасты в КК — 7 дней (экспериментальная группа 1);
- *Четвёртая методика.* Корневые каналы зубов заполняли пастой на основе суспензии ГМК, разведенного гидрозолем меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) с массовой концентрацией дисперсной фазы 15–30 мг/л. Срок позиционирования пасты в КК — 14 дней (экспериментальная группа 2);

Полости в зубах закрывали временными пломбами из стеклополиалкена-ного цемента, при второй методике использовали также дренаж из хлопчатобумажной нити для обеспечения работы гальванического элемента. На протяжении срока позиционирования препаратов зубы находились в 0,9 % растворе хлорида натрия, чтобы обеспечить осмотическое постоянство капиллярной системы дентина удалённых зубов. Поперечные спилы корней зубов толщиной 2 мм готовили с помощью алмазных дисков.

Дальнейшее исследование проводили на базе кафедры физической химии НИТУ «МИСиС» (г. Москва). Для оценки диффузии частиц ГМК и наночастиц меди использовали рентгеновский аналитический микронд — микроскоп «РАМ 30-µ» и растровый электронный микроскоп «Tescan» (Vega 3SB) (рисунок 2.3) с энергодисперсионным анализатором «10 mm² SDD Detector — X-Act» (рисунок 2.4). Он предназначен для исследования объектов методами оптической микроскопии, рентгенографии и локального рентгеноспектрального элементного микроанализа с возможностью элементного микрокартирования атомов кальция и

меди. Рентгеноспектральный микроанализ с электронным зондом представляет собой метод химического анализа небольшой области твёрдого образца (в данном случае, дентина корня зуба), в котором сфокусированным пучком электронов возбуждается рентгеновское излучение. Рентгеновский спектр содержит характеристические линии присутствующих элементов, и качественный анализ проводится идентификацией линий по длинам волн. Сравнение интенсивностей линий образца с интенсивностями тех же линий в стандарте позволяет количественно определить содержание элементов. С помощью данного прибора была проведена оценка диффузии микрочастиц и наночастиц дисперсной фазы ГМК, содержащей химический элемент — медь — в дентин корней удаленных зубов в четырёх точках: в маргинальном слое дентина корневого канала, непосредственно контактирующем с внутриканальными медикаментами (10 мкм), а также на глубине 50, 200 и 500 мкм от внутренней поверхности корневого канала (рисунок 2.5).



Рисунок 2.3 — Сканирующий электронный микроскоп «Тескан» «Vega 3SB»

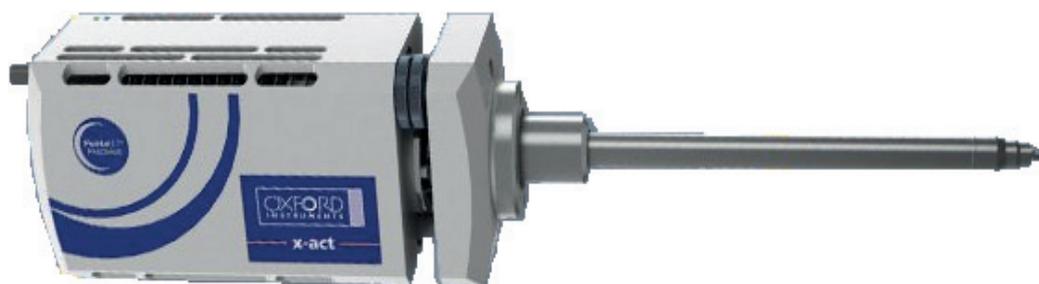


Рисунок 2.4 — Внешний вид энергодисперсионного анализатора
«10mm² SDD Detector — X-Act»

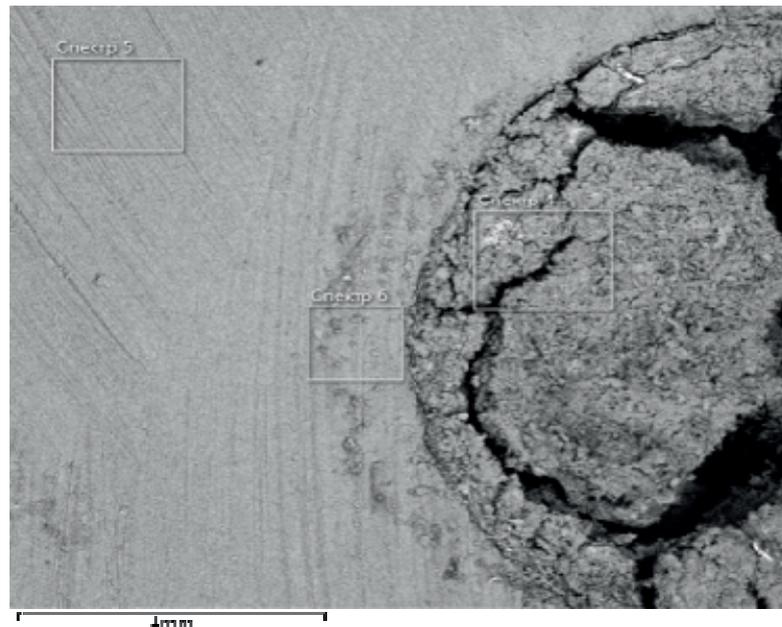


Рисунок 2.5 — Поперечный спил корня зуба с зонами регистрации химических элементов

2.3.2.2 Клинико-лабораторная оценка эффективности эндодонтического лечения пациентов с хроническим апикальным периодонтитом (второй и третий этапы клинико-лабораторного исследования)

На данных этапах исследования провели комплексный анализ результатов лечения 29 больных хроническими формами апикального периодонтита (см. раздел 2.2.3.2). На втором этапе в качестве единиц наблюдения выступали 69 пролеченных корневых каналов зубов, на третьем этапе — 55 одно- и многокорневых зубов, подвергшихся эндодонтическому лечению. Методы лечения описаны в разделе 2.4. Распределение единиц наблюдения проводилось произвольно, в зависимости от того, какой интраканальный антисептический препарат применялся для временного пломбирования корневых каналов:

- В *основной группе* проводили пассивную наноимпрегнацию дентина корня зуба с помощью нового препарата на основе ГМК и гидрозоля наночастиц серебра в течение 7 дней;
- В *группе сравнения* использовали препараты гидроксида кальция, срок экспозиции составлял 14 дней.

Молекулярно-генетический метод (второй этап клинико-лабораторного исследования)

На данном этапе исследования провели изучение биологического материала, взятого из 69 корневых каналов зубов, пролеченных эндодонтически с применением описанных выше методик. Для выявления и идентификации микрофлоры в системе корневых каналов зубов на втором этапе клинико-лабораторного исследования использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. В связи с отсутствием на рынке специализированных тест-систем для определения патогенов, вызывающих заболевания пульпы и периодонта, молекулярно-генетическое определение состава микробиоты корневых каналов проводили с использованием доступной на российском рынке тест-системы «Дентоскрин» (ООО Научно Производственной Фирмы «Литех», Россия), в комплектации OneStep-PB-96, согласно инструкции по применению.

С помощью тест-системы «Дентоскрин» возможно провести детекцию следующих микроорганизмов: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*. По данным К.М. Hargreaves и L.H. Berman с соавт. [2], в дентинных трубочках при апикальном периодонтите обнаруживаются *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*. G. Bergenholtz с соавт. [156] отмечают, что в состав эндодонтической микрофлоры некротизированной пульпы входит также *P. intermedia*. Кроме того, в образцах, взятых из корневых каналов зубов с подтвержденным диагнозом апикального периодонтита, часто обнаруживаются спирохеты — в том числе, *T. denticola* и *T. socranskii* [265]. Реже при периапикальных воспалительных процессах в дентине корня зуба встречаются грамотрицательные организмы вида *A. actinomycetemcomitans*, однако подобные сведения также встречаются в научной литературе [87]. Таким образом, выбранная тест-система является репрезентативной в плане видовой принадлежности детектируемых микроорганизмов. При этом существенным недостатком набора «Дентоскрин» является отсутствие реагентов для детекции различных видов стрептококков и *E. faecalis*.

Таблица 2.3 — Техника забора материала из корневых каналов зубов

Последовательность действий		Описание
1 посещение	1	Изоляция зуба с помощью системы «Коффердам». Создание полости доступа, прохождение и минимальное расширение КК без ирригации антисептическими растворами. Н-файлом размера №10 по ISO совершается несколько скребущих движений для снятия поверхностного слоя дентинных опилок.
	2	С помощью 2-3 бумажных абсорберов забирается проба №1 содержимого корневого канала. В отсутствие экссудации допускается предварительная ирригация КК стерильным 0,9 % раствором хлорида натрия. Абсорберы помещаются в пробирку с транспортной средой, крышка пробирки плотно закрывается, совершается 5-10 вращательных движений.
	3	Продолжение механической обработки и ирригация КК 3 %-м раствором гипохлорита натрия, 17 % ЭДТА, 0,9 %-м раствором хлорида натрия.
	4	Заполнение КК лечебной пастой
2 посещение	5	Лечебная паста удаляется из КК путём вымывания 17 % раствором ЭДТА (группа сравнения) или стерильным 0,9 %-м раствором натрия хлорида (экспериментальная группа). Затем Н-файлом размера №15 по ISO совершается несколько скребущих движений для снятия поверхностного слоя дентина
	6	С помощью бумажных абсорберов забирается проба №2 содержимого КК. Абсорберы помещаются в пробирку с транспортной средой, крышка пробирки плотно закрывается, совершается 5-10 вращательных движений

В случаях, когда биологический материал не удавалось доставить в лабораторию немедленно, он хранился не более, чем 14 дней, в транспортной среде при температуре -20°C . Использовались транспортные среды с муколитиком ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в пробирках по 500 мкл.

В лаборатории взятые образцы биологического материала помещались в пробирки с реагентом «ДНК-ЭКСПРЕСС». Процесс выделения ДНК занимал около 20 мин и состоял из чередования трех этапов: перемешивание содержимого пробирки с реактивом «ДНК-ЭКСПРЕСС» и анализируемым материалом в течение 10 секунд, прогревание пробирки в твердотельном термостате при 98°C в течение 20 минут и отделение супернатанта, содержащего ДНК, с помощью цен-

трифугирования при 8000–14000 об/мин в течение 20-30 секунд. Амплификацию видоспецифических фрагментов ДНК исследуемых бактерий проводили с использованием специфических праймеров из набора OneStep P02 OneStep-PB-96, включающего пробирки 0,2 мл с амплификационной смесью под слоем минерального масла на детектирующем амплификаторе «ДТ-Лайт» (ООО «ДНК-Технология», Россия) (таблица 2.4).

Таблица 2.4 — Амплификация фрагментов ДНК исследуемых бактерий

Амплификационная смесь	Детектируемый возбудитель
КОМИТАНС	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
ГИНГИПОЛ	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
ДЕНТИКОЛА	<i>Treponema denticola</i>
ТАНЕРЕЛЛА	<i>Tannerella forsythia</i>
ПРЕВОТЕЛЛА-intermedia	<i>Prevotella intermedia</i>
НУКЛЕОПОЛ	<i>Fusobacterium nucleatum</i>

Положительным считался результат превышения концентрации искомого патогена выше значений клинически значимого титра. Аналитическая чувствительность реагентов «Гингипол», «Дентикола», «Танерелла», «Превотелла-intermedia», «Нуклеопол» составляет 10000 и более геном-эквивалентов/мл, реагентов «Комитанс» — 1000 и более геном-эквивалентов/мл. В наборе имелась пробирка с разбавителем, используемая в качестве отрицательного контроля, и пробирки со стандартными образцами каждого возбудителя с концентрацией в пределах 10^3 – 10^7 геном-эквивалентов/мл.

Клинические и рентгенологические методы обследования больных хроническим апикальным периодонтитом (третий этап клинико-лабораторного исследования)

Перечень клинических методов исследований пациентов включал в себя методы субъективного обследования (выяснение жалоб и сбор анамнеза), а также объективные методов исследования: стоматологический осмотр и рентгенологические методы исследования.

Беседу с больными с целью выяснения жалоб и анамнеза проводили традиционно. При оценке анамнестических данных учитывали сформулированные критерии включения и невключения пациентов в исследование.

Стоматологический осмотр проводили с использованием основных стоматологических инструментов и аппаратов. Определяли индекс КПУ, учитывали число отсутствующих зубов и замещенных ортопедическими конструкциями. Проводили перкуссию зубов, пальпацию слизистой оболочки по переходной складке в области проекции апексов корней зубов. Определяли наличие свищевого хода. Температурная проба применялась с целью верификации диагноза «хронический апикальный периодонтит» и определения отсутствия жизнеспособной пульпы в системе корневых каналов. Холодовой тест проводился с помощью ватного тампона и препарата «ENDO-FROST».

Рентгенологические методы исследования проводили каждому пациенту по ходу эндодонтического лечения: выполнялись диагностические рентгенограммы, рентгенограммы контроля рабочей длины в процессе механической обработки, контрольная рентгенограмма после постоянного пломбирования корневых каналов. Рентгенологический контроль регенеративных процессов проводился через 6 и 12 месяцев после завершения эндодонтического лечения. В большинстве случаев использовали внутриворотную рентгенографию зубов, в ряде случаев применялся метод трёхмерной компьютерной томографии. С помощью рентгенологического исследования оценивали состояние зубов и периапикальных тканей, степень выраженности и распространенность деструкции альвеолярной кости. Всего в ходе рентгенологического исследования было выполнено и изучено 68 рентгенограмм.

2.4 Методы эндодонтического лечения зубов у больных

Вне зависимости от принадлежности к основной группе или группе сравнения, всем испытуемым проводили адекватную клиническому случаю анестезию препаратами артикаина 4 % с содержанием эпинефрина 1:100000 или 1:200000, изоляцию рабочего поля при помощи системы «Коффердам», препарирование кариоз-

ной полости, раскрытие полости зуба, создавали прямой доступ к устьям корневых каналов. Проводили удаление некротического распада тканей пульпы, длину корневого канала измеряли при помощи апекслокатора до физиологического апекса, фиксируя ручным инструментом «K-file» размером № 15 с силиконовым фиксатором, проводили механическую обработку корневых каналов машинным инструментом системы «Reciproc» и «MTwo». Минимальный порог расширения КК соответствовал размеру файла №30 по ISO, максимальный — размеру файла № 40 по ISO. Медикаментозную обработку каждого корневого канала проводили с помощью 5 мл водного раствора гипохлорита натрия (3,25 %) в течение 10 минут с заменой препарата через каждые 2 минуты, 5 мл водного раствора ЭДТА (17 %) в течение 1 минуты и 5 мл раствора хлорида натрия (0,9 %) в течение 30 секунд. Затем в основной группе в течение 7 дней проводили пассивную наноимпрегнацию дентина корня путём временного пломбирования корневых каналов новым препаратом на основе ГМК и гидрозоля наночастиц серебра. В группе сравнения для временного пломбирования корневых каналов использовали препараты гидроксида кальция в течение 14 дней. Устья корневых каналов изолировались тефлоновой лентой, полость доступа закрывалась временной повязкой «Парасепт».

По истечении срока экспозиции антисептических препаратов, во время второго посещения проводилось удаление временной повязки. Лечебные пасты удалялись из корневых каналов, каналы высушивались бумажными абсорберами соответствующего диаметра и пломбировались с помощью сертифицированных гуттаперчевых штифтов (ООО «Медента», Россия), системы термопластической гуттаперчи «BeeFill 2in1» (VDW GmbH, Германия) и силера на основе эпоксидных смол (Dentsply Sirona, Германия) комбинированным методом: для герметизации апикальной трети корневого канала использовали методику латеральной конденсации, для пломбирования средней и коронковой трети — метод горячей вертикальной конденсации гуттаперчи.

Используемые в лечении препараты

«Купрал[®]» — это препарат ГМК, выпускаемый немецкой корпорацией «Humanchemie GmbH» (Германия, Hinter Dem Krug 5, D-31061, Alfeld, Deutschland). Регистрационное удостоверение на медицинское изделие № ФСЗ 2008/01778 от

30.05.2008. Декларация соответствия РОСС RU Д-ДЕ.МП18.В.03487/20. Состав: гетерогенная равновесная система, компонентами которой являются частицы гидроксида меди $\text{Cu}(\text{OH})_2$, ионы гидроксипупрата $[\text{Cu}(\text{OH})_4]^{2-}$, ионы кальция Ca^{2+} и гидроксид-ионы OH^- . В инструкции к препарату основными показаниями к его применению являются: прямая и непрямая изоляция пульпы, лечение корневых каналов методом депфореза, аугментативное лечение хронического пародонтита. Срок годности — 2 года. Противопоказания: индивидуальная непереносимость компонентов препарата.

«НанАргол[®]» — это препарат, разработанный в лаборатории функциональных наносистем Национального исследовательского технологического университета «МИСиС» (Москва). Препарат представляет собой водный раствор безионного коллоидного серебра. Номер свидетельства: RU.77.99.11.003.Е.001609.03.13. Дата регистрации и переоформления: 01.03.2013. Декларация о соответствии: ТС RU Д-RU.ПК04.В.00234. Состав: коллоидное наноразмерное серебро — 3 мг/л, вода, натрий лимоннокислый. В инструкции к препарату основными показаниями к его применению являются: пародонтит, неспецифические воспалительные заболевания, установка брекет-системы, стоматит. После чистки зубов 3 мл концентрата разводят на 200 мл воды. Срок годности концентрата — 3 года. Препарат обладает бактерицидным эффектом в отношении штаммов микрофлоры наддесневого и поддесневого зубного налета. Противопоказания: индивидуальная непереносимость компонентов препарата, беременность, кормление грудью.

«UltraCal[®]» — это рентгеноконтрастная паста на основе 35 % водного раствора гидроксида кальция, поставляемая на рынок компанией «Ultradent» (США). Регистрационное удостоверение на медицинское изделие № ФСЗ 2011/11293 от 27.12.2011. Декларация соответствия РОСС US.МП18.Д02521. В инструкции к препарату основными показаниями к его применению являются: прямая и непрямая изоляция пульпы, временное пломбирование инфицированных корневых каналов при периодонтитах, а также в корнях с несформированным апексом для стимуляции апексофикации и апекогенеза. Срок годности препарата — 2 года. Противопоказания: индивидуальная непереносимость компонентов препарата.

Клиническая методика пассивной наноимпрегнации дентина корня зуба

Протокол консервативного лечения деструктивных форм апикального периодонтита методом наноимпрегнации включает в себя два этапа и требует двух визитов в клинику. В первое посещение проводится выбор адекватной клиническому случаю анестезии, изоляция рабочего поля при помощи системы «Коффердам». Создание доступа к устьям КК осуществляется по ходу препарирования и раскрытия кариозной полости, удаления несостоятельных реставраций, с тщательной некрэктомией пораженных твёрдых тканей зуба. Антисептическая обработка полости доступа проводится с помощью 3 % раствора гипохлорита натрия. Затем с помощью ручных инструментов типа «K-file» размером №10-15 проводится ревизия КК, длина КК измеряется при помощи апекслокатора (до физиологического апекса), фиксируется силиконовым фиксатором. Дальнейшая механическая обработка КК проводится ручными инструментами и машинными файлами системы «Reciproc». Для медикаментозной обработки КК используются 3 % раствор гипохлорита натрия, 17 % раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и 0,9 % раствор хлорида натрия.

Для реализации технологии наноимпрегнации необходимо смешать пластиковым шпателем на бумажном блоке пасту «Купрал» и гидрозоль наночастиц серебра «НанАргол» в объемном соотношении 1:1. На каналонаполнителе или «K-file» размера № 15 по ISO комплексный препарат вносится в КК на всю рабочую длину и распределяется по стенкам корневого канала. В апикальную треть КК препарат может быть доставлен на кончике откалиброванного гуттаперчевого штифта. Устья КК изолируются тефлоновой лентой, полость доступа закрывается временной повязкой «Парасепт».

Во время второго посещения проводится удаление временной повязки, тефлоновой ленты. Лечебный комплексный препарат удаляется из КК путём вымывания стерильным 0,9 %-м раствором натрия хлорида. Повторной ирригации КК антисептическими растворами не требуется. КК высушивается с помощью бумажных абсорберов соответствующего размера и пломбируется гуттаперчей и силером на основе эпоксидных смол с помощью комбинированного метода.

2.5 Методы математической и статистической обработки результатов исследований

Создание базы данных и статистическая обработка собранного материала проводились с использованием сертифицированных пакетов программ «Microsoft® Office® 2010» (Microsoft Corporation, Tulsa, OK, USA), «IBM® SPSS® Statistics 23.0» (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) и «WinPEPI© 11.39» (J.H. Abramson). Размеры необходимых для получения достоверных статистических результатов выборок были определены с помощью модулей «Sample size» программ «COMPARE2 3.85» и «DESCRIBE 3.18» пакета «WinPEPI© 11.64».

Проверку распределения данных на нормальность проводили с использованием критерия Шапиро — Уилка. Распределения всех значимых количественных переменных были близки к нормальному. Количественные данные, где это возможно, представлены в виде $M \pm SD$. В противном случае использованы медианы, квартили и графические изображения распределений в виде схематичных коробчатых графиков по Тюки. Качественные данные представлены в виде абсолютных значений и долей (%).

Статистическую значимость различий между качественными переменными оценивали при помощи точного критерия Фишера (Fisher's exact test). При сравнении различий в более чем двух группах использовалось апостериорное попарное сравнение категорий с поправкой Сидак. Различия между количественными величинами в двух группах оценивались при помощи теста Стьюдента. При очевидно ненормальных распределениях использовались тест Манна-Уитни для независимых переменных. Для определения силы и статистической значимости взаимосвязей качественных переменных производился анализ четырёхпольных таблиц с определением отношений шансов (ОШ) и их 95 %-х доверительных интервалов (ДИ). Во всех случаях в качестве пограничного уровня статистической значимости принимали значение одно- или двустороннего критерия $p=0,05$.

ГЛАВА 3. ОБОСНОВАНИЕ, РАЗРАБОТКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА НОВЫХ НАНОПРЕПАРАТОВ И ТЕХНОЛОГИЙ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЭНДОДОНТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ЗУБОВ

3.1 Обоснование и разработка новых препаратов и технологий их применения при эндодонтическом лечении зубов

Знание о свойствах наночастиц металлов открывает широкий диапазон возможностей для разработки новых лекарственных препаратов, используемых в ходе эндодонтического лечения, а также для модификации существующих материалов с целью улучшения их противомикробных свойств. Наиболее перспективным и интересным представляется изучение гидрозолей наночастиц металлов в следующих областях:

1. Гидрозоли наночастиц серебра, меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), препараты гидроксокупрата кальция могут использоваться в качестве ирригационных растворов для медикаментозной обработки КК.

Существенным недостатком может стать отсутствие протеолитического действия, характерного для гипохлорита натрия и обеспечивающего ликвидацию остатков распада пульпы. Однако возможно использование перечисленных препаратов в качестве «финишных» ирригантов с пролонгированным антибактериальным эффектом. Для этого необходимо предварительное изучение взаимодействия обоих типов ирригационных растворов.

2. Смеси ГМК с гидrozолями наночастиц металлов, в первую очередь, меди и серебра, могут представлять собой модифицированный субстрат для процедур депони и гальванофореза. Их применение, по сравнению с использованием водных паст ГМК, потенциально позволило бы уменьшить количество необходимых для реализации процедур посещений и сократить временные промежутки между ними.

Однако при этом не решается проблема необходимости использования дополнительного электрокинетического оборудования, обучения специалистов-стоматологов работе с этим оборудованием (источниками электрического тока, гальваническими штифтами различных конфигураций).

3. Наиболее интересным представляется использование паст ГМК на основе гидрозолей наночастиц меди, серебра и их оксидов в качестве самостоятельных материалов для временных антисептических повязок, применяемых в ходе лечения деструктивных форм периодонтитов, экссудативных форм пульпита. Применение подобных коллоидных систем могло бы стать альтернативой как процедурам депо- и гальванофореза, так и широко используемым сегодня на терапевтическом приёме пастам на основе гидроксида кальция, обеспечивая пролонгированный противомикробный эффект по отношению к резистентной бактериальной биоплёнке в глубине дентинных трубочек корня зуба.

4. Обработка гуттаперчевых штифтов гидрозолями наночастиц серебра, меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), а также новыми препаратами гидроксокупрата кальция представляет научно-практический интерес как с точки зрения элиминации микрофлоры на поверхности самих штифтов, так и с целью создания постоянного пломбирочного материала для КК, являющегося депо эффективным антисептического препарата, способного к пролонгированной активности.

Нуждается в исследовании вопрос взаимодействия импрегнированных гуттаперчевых штифтов с эпоксидными, керамическими и другими видами силеров, а также эффективности диффузии активных частиц в дентин корня зуба после отверждения силера.

3.2 Характеристика гидрозолей наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра

На рисунке 3.1 представлены результаты просвечивающей микроскопии гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II). На рисунке 3.1-А показано распределение частиц оксидов меди на поверхности подложки из поливинилформала. На микрофотографии видно, что при высыхании капли гидрозоля

наночастицы дисперсной фазы концентрируются, в соответствии с законом Юнга, в местах нарушения целостности подложки, на границе трёх фаз (фаза подложки, твёрдая фаза частиц и фаза вакуума). Поэтому на границе трех фаз наиболее наглядно видны частицы дисперсной фазы меди, оксида меди (I), оксида меди (II).

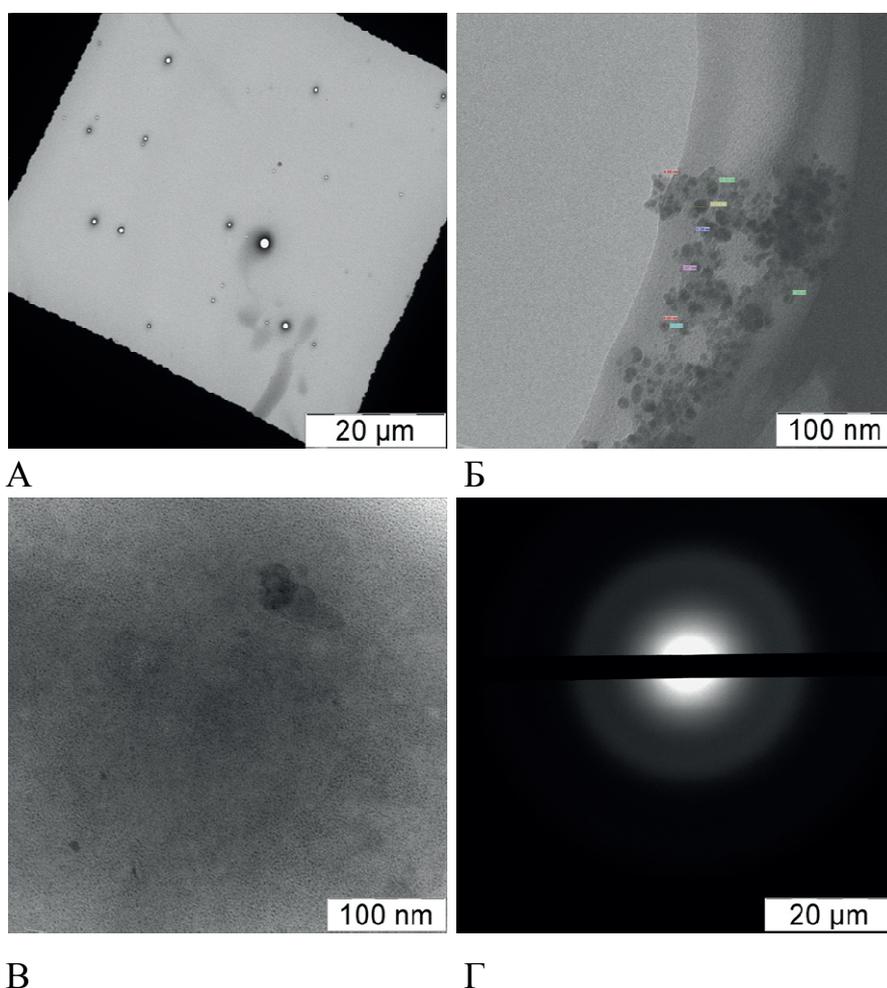


Рисунок 3.1 — Просвечивающая электронная микроскопия гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II):

- А — распределение частиц на подложке из поливинилформалия;
- Б — агломераты частиц меди и её оксидов на границе подложки;
- В — гидрозоль наночастиц меди и её оксидов, светлопольное изображение;
- Г — гидрозоль наночастиц меди и её оксидов, темнопольное изображение

На рисунке 3.1-Б и рисунке 3.2 видно, что размеры большинства частиц находятся в интервале от 2,6 нм до 10,1 нм. На рисунке 3.1-В видно, что большая часть частиц находится в интервале размеров от 0,5 нм до 2 нм. В то же время, на гистограмме, представленной на рисунке 3.2, видно, что большинство частиц

имеют диаметр от 3,12 до 5,61 нм. С учетом этого несоответствия, можно сказать, что наночастицы меди, оксида меди (I), оксида меди (II) в растворе находятся в агрегированном состоянии. Агрегаты частиц включают в себя от единиц до нескольких десятков более мелких частиц.

На рисунке 3.1-Г представлена электронограмма одной из зон скопления наночастиц меди и её оксидов. Размытость светлых колец, а также отсутствие строгой фиксации их положения также подтверждает, что частицы, регистрируемые в этой зоне, находятся в нанодисперсном состоянии.

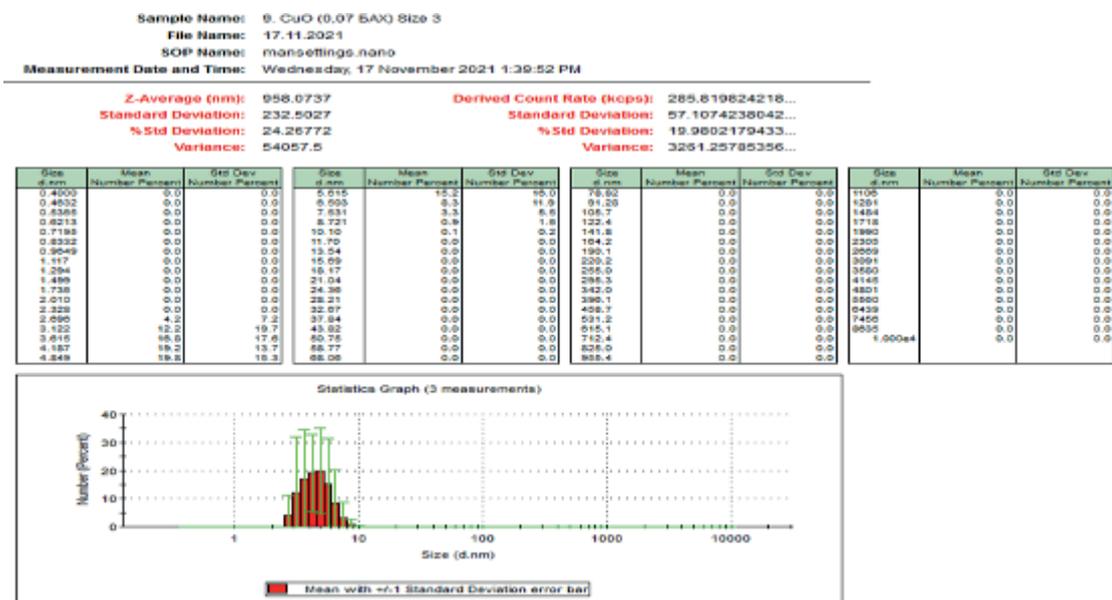


Рисунок 3.2 — Распределение размеров частиц гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II)

На рисунке 3.3 представлены графики, иллюстрирующие значения дзета-потенциала агрегатов частиц оксидов меди (I, II) на диффузионно-подвижной границе. Согласно полученным данным, дзета-потенциал 65,5 % всех частиц составляет +102 мВ, 19,3 % частиц имеет потенциал поверхности скольжения, равный +67,7 мВ, 15 % частиц — +41,7 мВ.

Принято считать, что, если дзета-потенциал в нанодисперсной системе составляет больше ± 30 мВ, то такая система считается агрегативно устойчивой. В описываемом случае, для всего спектра наблюдаемых агрегатов частиц система является высоко агрегативно устойчивой. Такие частицы имеют высокий потенциал

удельной поверхностной энергии, что говорит о том, что при разведении суспензии ГМК данным гидрозоле, препарат становится «высокоэнергетическим». При дополнительном разведении такой системы водой, являющейся ключевым компонентом дентинной жидкости, будет происходить разрушение адсорбционной оболочки, и высвобождение активных частиц в просвет дентинных трубочек. Тем самым может быть обеспечен высокий антибактериальный эффект нового препарата на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II).

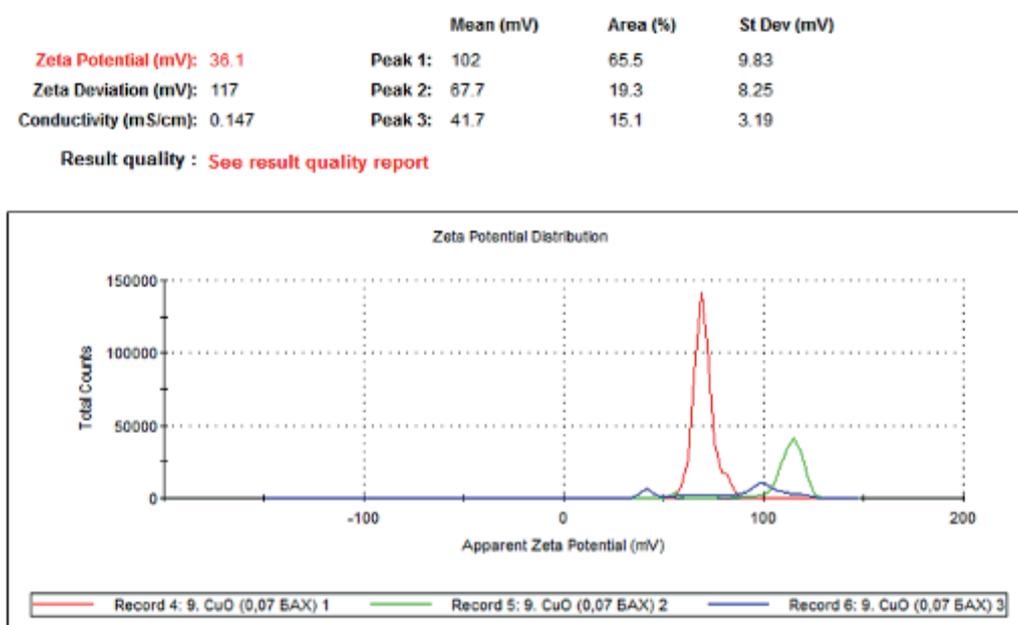


Рисунок 3.3 — Дзета-потенциал наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) в их гидрозоле в дистиллированной воде

На рисунке 3.4 представлены результаты просвечивающей микроскопии гидрозоля наночастиц серебра. На рисунке 3.4-А видно, что при испарении дистиллированной воды из гидрозоля, частицы дисперсной фазы концентрируются на подложке из поливинилформаль в определенных зонах, где происходила агрегация частиц. Определить размеры отдельных частиц на рисунке 6-А визуально не представляется возможным. Наблюдать размеры частиц серебра можно на рисунках 3.4-Б и 3.4-В, а также на графике распределения размеров частиц, изображенном на рисунке 3.5. После проведения статистического анализа данных видно, что 67 % всех частиц серебра имеют диаметр от 1,7 нм до 7,5 нм. В исследуемом образце были обнаружены также отдельные агломераты частиц размером от 10,1 нм до 37,8 нм.

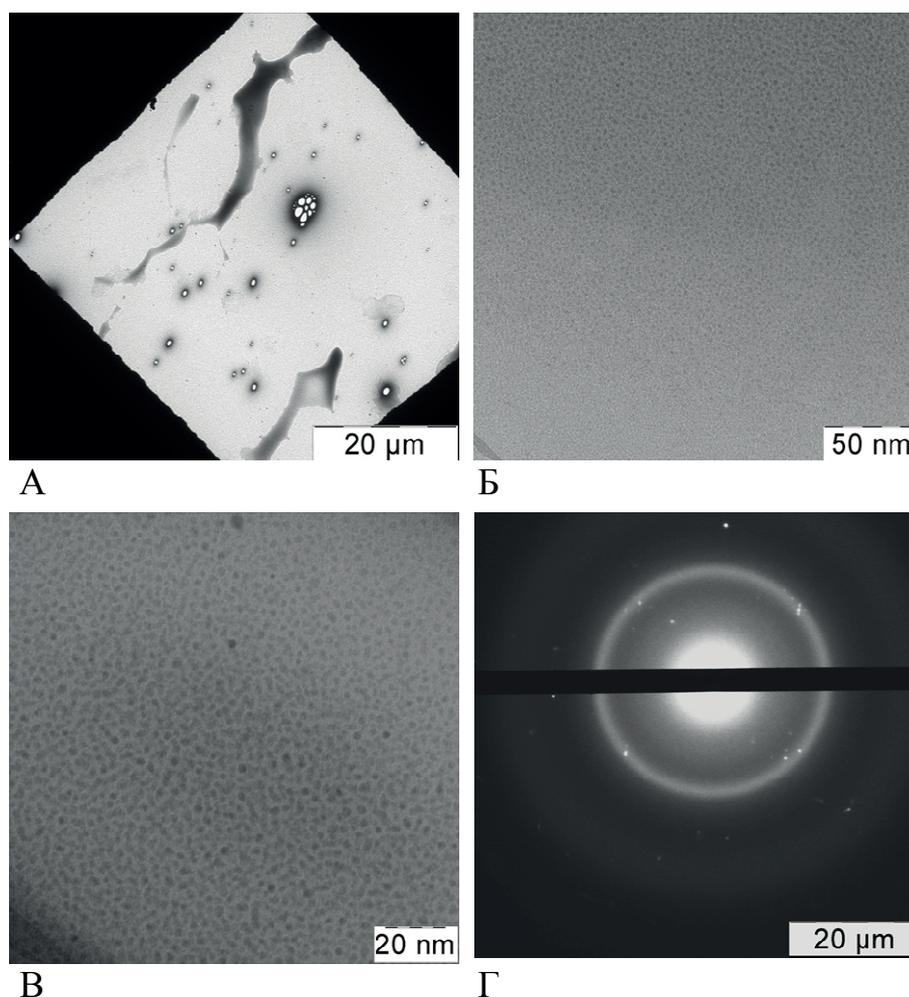


Рисунок 3.4 — Просвечивающая электронная микроскопия гидрозоля наночастиц серебра:

А — распределение частиц серебра на подложке из поливинилформалия;

Б, В — гидрозоль наночастиц серебра, светлопольное изображение;

Г — гидрозоль наночастиц серебра, темнопольное изображение

На рисунке 3.4-Г представлена электронограмма одной из зон агрегирования наночастиц серебра. При этом при прохождении электронного пучка визуализируется несколько более контрастная картина светлых и тёмных колец, чем на рисунке 3.1-Г. Тем не менее, это означает, что в исследуемом гидрозоле частицы серебра, так же, как и частицы меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), находятся в нанодисперсном состоянии.

На рисунке 3.6 представлены графики, иллюстрирующие значения дзета-потенциала агрегатов частиц серебра на диффузионной подвижной границе. Согласно полученным данным, 100 % частиц в исследуемом образце имели дзета-потенциал, равный $-39,8$ мВ, что подтверждает его дисперсную стабильность.

Sample Name: Ag 1A3
 File Name: 06.12.2021
 SOP Name: mansettings.nano
 Measurement Date and Time: Monday, 6 December 2021 3:03:50 PM

Z-Average (nm): 110.298 Derived Count Rate (kcps): 34783.2913309...
 Standard Deviation: 15.95306 Standard Deviation: 2772.08685429...
 %Std Deviation: 14.4636 %Std Deviation: 7.96959329675...
 Variance: 254.5 Variance: 7684465.52777...

Size d.nm	Mean Number Percent	Std Dev Number Percent	Size d.nm	Mean Number Percent	Std Dev Number Percent	Size d.nm	Mean Number Percent	Std Dev Number Percent	Size d.nm	Mean Number Percent	Std Dev Number Percent
0.4000	0.0	0.0	5.615	1.7	2.8	78.82	0.0	0.0	1106	0.0	0.0
0.4632	0.0	0.0	6.503	0.6	0.5	91.28	0.0	0.0	1281	0.0	0.0
0.5305	0.0	0.0	7.531	0.2	0.2	105.7	0.0	0.0	1484	0.0	0.0
0.6213	0.0	0.0	8.721	0.0	0.0	122.4	0.0	0.0	1718	0.0	0.0
0.7195	0.0	0.0	10.10	1.5	2.6	141.8	0.0	0.0	1990	0.0	0.0
0.8332	0.0	0.0	11.70	5.4	9.4	164.2	0.0	0.0	2305	0.0	0.0
0.9649	0.0	0.0	13.54	8.4	14.6	190.1	0.0	0.0	2659	0.0	0.0
1.117	0.0	0.0	15.69	7.9	13.6	220.2	0.0	0.0	3091	0.0	0.0
1.294	0.0	0.0	18.17	5.3	9.1	266.0	0.0	0.0	3680	0.0	0.0
1.499	0.0	0.0	21.04	2.8	4.5	295.3	0.0	0.0	4145	0.0	0.0
1.736	1.1	2.0	24.36	1.3	2.2	342.0	0.0	0.0	4801	0.0	0.0
2.010	5.4	9.3	28.21	0.5	0.9	396.1	0.0	0.0	5580	0.0	0.0
2.328	9.7	16.8	32.67	0.2	0.3	458.7	0.0	0.0	6439	0.0	0.0
2.696	11.5	14.1	37.84	0.1	0.1	531.2	0.0	0.0	7456	0.0	0.0
3.122	12.7	11.5	43.82	0.0	0.0	615.1	0.0	0.0	8635	0.0	0.0
3.615	11.8	15.5	50.75	0.0	0.0	712.4	0.0	0.0	1,000e4	0.0	0.0
4.187	7.9	12.3	58.77	0.0	0.0	825.0	0.0	0.0			
4.849	4.1	6.7	68.06	0.0	0.0	955.4	0.0	0.0			

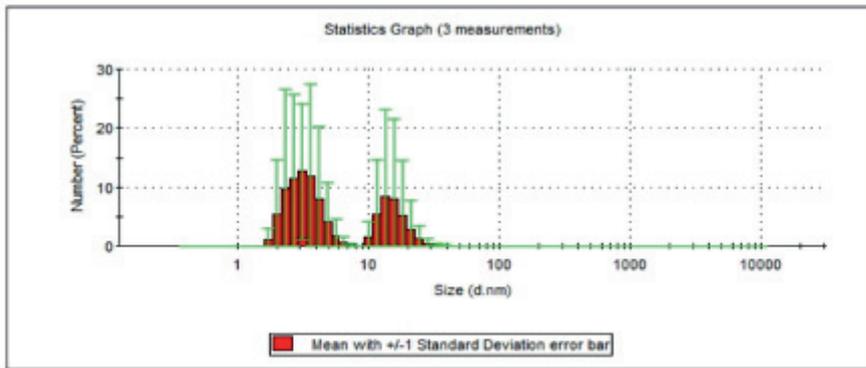


Рисунок 3.5 — Распределение размеров частиц гидрозоля наночастиц серебра

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -39,8	Peak 1: -39,8	100,0	7,19
Zeta Deviation (mV): 7,19	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0324	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality Good

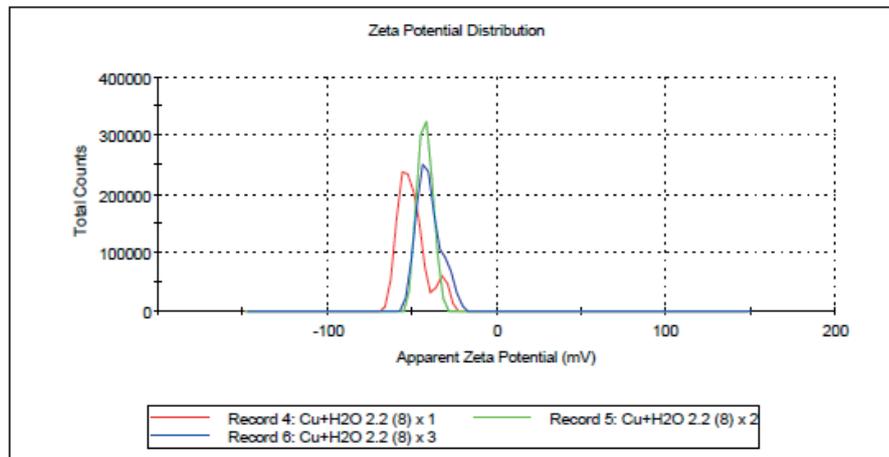


Рисунок 3.6 — Дзета-потенциал наночастиц серебра в их гидрозоле в дистиллированной воде

3.3 Результаты электронной микроскопии водной суспензии ГМК, смеси ГМК и гидрозолей наночастиц металлов

На рисунке 3.7-А видно, что на поверхности плёнки из поливинилформала после нанесения суспензии ГМК, приготовленной на дистиллированной воде, произошла адгезия двух агрегатов частиц. Каждый такой агрегат состоит из нескольких десятков сферических частиц ГМК размером от 200 до 900 нм. Основное количество частиц имеет размеры $287 \pm 23,4$ нм. Они представлены линейными цепочками, между которыми устанавливается диффузионный контакт с разной степенью слияния наночастиц, характеризующийся образованием в месте контакта совместно построенной кристаллической решеткой.

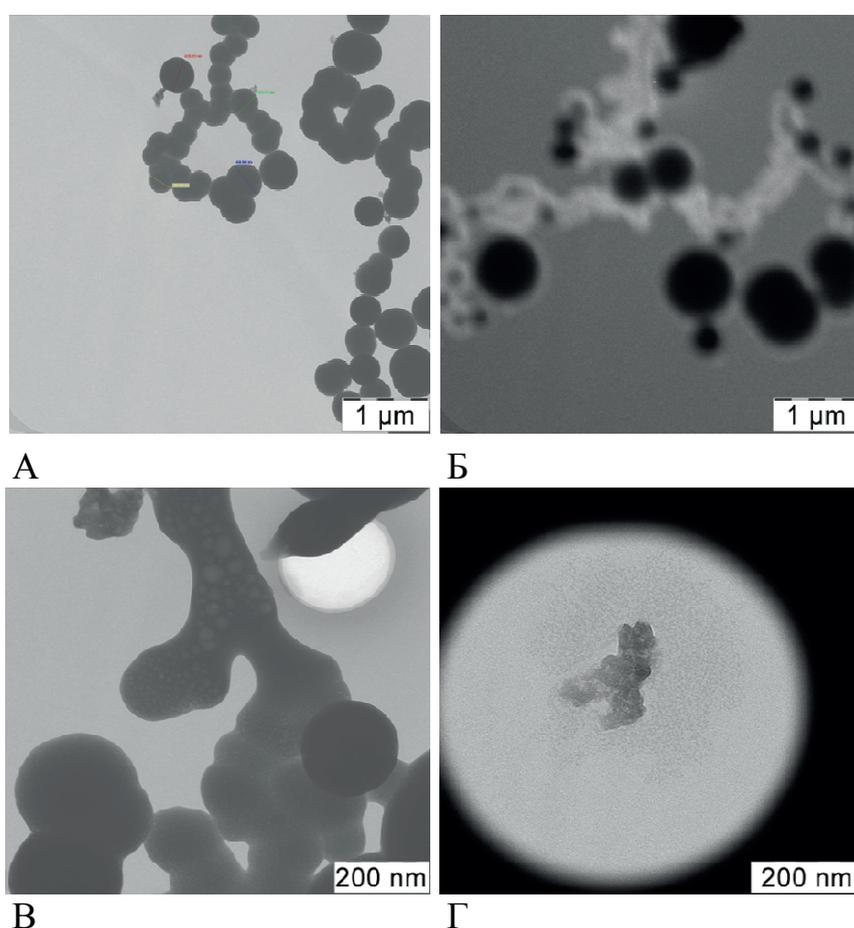


Рисунок 3.7 — Водная суспензия ГМК:

- А — агрегаты частиц ГМК, светлопольное изображение;
- Б — агрегаты частиц ГМК, темнопольное изображение;
- В — кристаллическая фаза оксидов меди (I, II) и кальция, светлопольное изображение;
- Г — аморфная фаза оксидов меди (II) и кальция, темнопольное изображение

В ходе исследования установлено, что вид и площадь контакта напрямую зависит от времени, прошедшего от момента получения суспензии ГМК: чем большее время прошло от этого момента, тем больше площадь контакта между частицами и коагуляционный контакт может переходить в диффузионный, образуя агрегаты частиц ГМК размером от 300 до 400 нм, в среднем 362 ± 14 нм (рисунок 3.8).

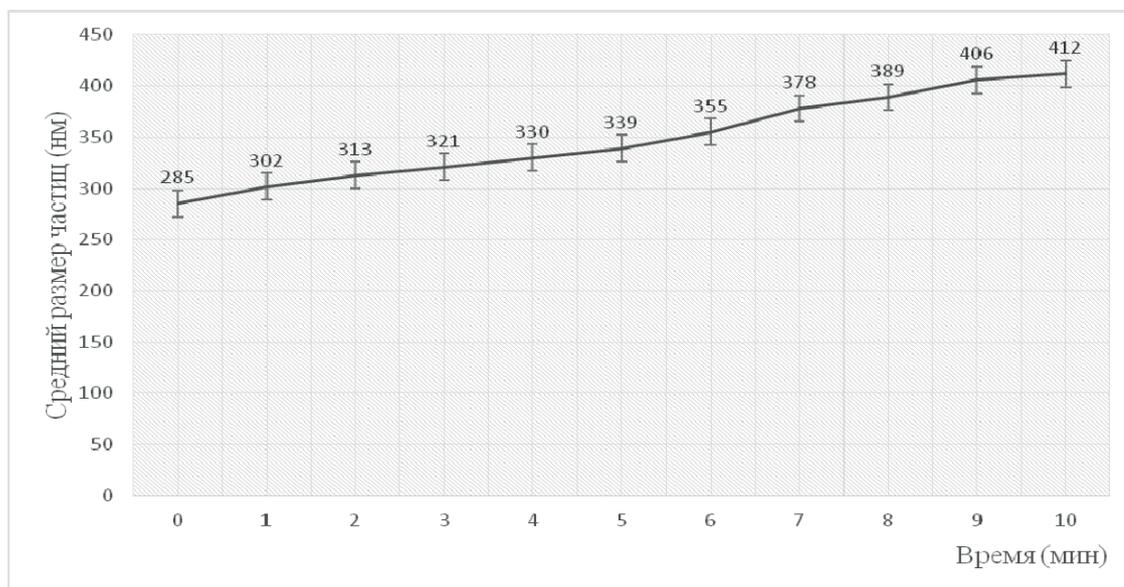


Рисунок 3.8 — Зависимость средних размеров частиц ГМК от времени, прошедшего от момента приготовления суспензии

В темнопольном изображении на рисунке 3.7-Б видно, что частицы ГМК имеют светлый ободок. Это связано с тем, что они представляют собой кристаллогидраты оксида меди (II) и оксида кальция. Кроме того, на рисунке 3.9 визуализируются светлые включения различных размеров, которые исчезают при увеличении времени экспозиции электронного пучка. Это объясняется тем, что при нагревании фаза кристаллизованной воды испаряется.

На рисунке 3.7-В, где определяется, что частицы ГМК состоят из более мелких частиц кристаллогидратов гидроксида меди (II) и гидроксида кальция, со средним размером 12 ± 3 нм. На рисунке 3.7-Г видно, что в суспензии ГМК также встречаются отдельные агрегированные частицы, не содержащие кристаллогидраты гидроксида меди (II) и гидроксида кальция и представленные аморфными фазами оксидов этих металлов. Такие агрегаты состоят из более мелких частиц со средним размером $4 \pm 1,6$ нм.

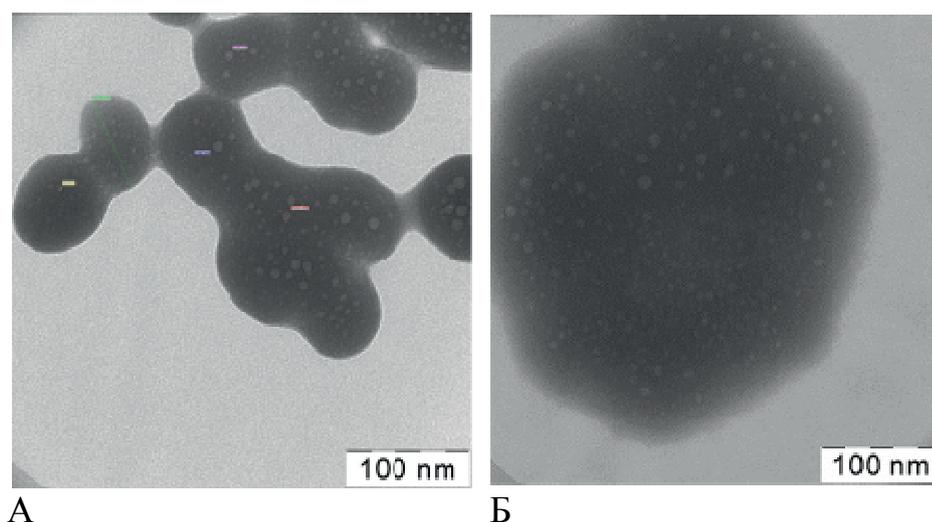


Рисунок 3.9 — Включения кристаллизованной воды в структуре частиц гидроксида меди-кальция (ГМК) на различных увеличениях (А, Б), светлопольное изображение

В ходе исследования было обнаружено, что воздействие электронного пучка на суспензию ГМК приводило к росту кристаллогидратов оксида меди (II) и оксида кальция в несколько раз: с $12 \pm 3,2$ нм до $61 \pm 7,3$ нм (рисунок 3.10-А). Этот эффект обусловлен электронным нагревом кристаллогидратов, способствующим коалесценции соседних кристаллогидратов с образованием более крупных частиц (рисунок 3.10-Б). В дальнейшем такие промежуточные частицы могут продолжать сливаться, образуя еще более крупные. Нагрев приводит также к исчезновению светлых областей, что связано с испарением кристаллов воды.

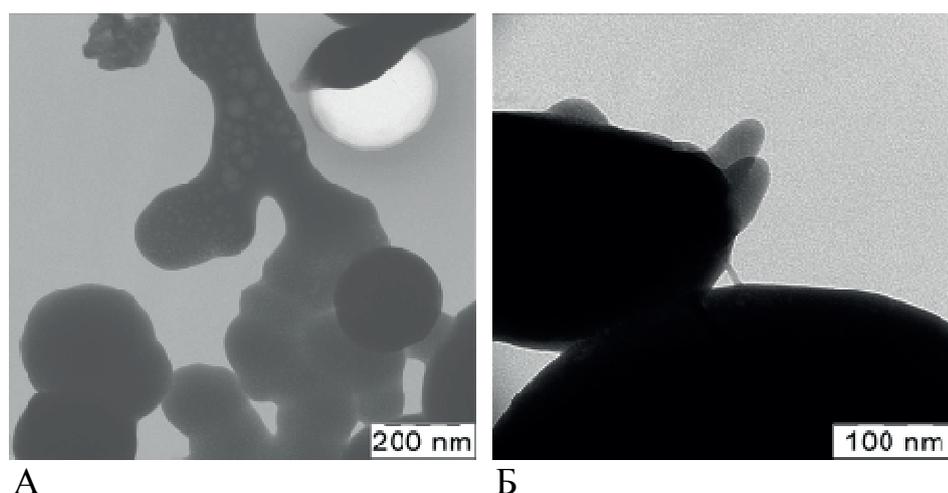


Рисунок 3.10 — Структура частиц ГМК после воздействия электронного пучка в светлопольном изображении на различных увеличениях (А, Б)

На рисунках 3.11-А и 3.11-Б видно, что при добавлении вместо дистиллированной воды гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II) количество частиц ГМК в одной флоккуле увеличивалось, как и степень контакта между ними. На рисунке 3.11-В зафиксировано, что наночастицы меди и оксида меди (II) проникали внутрь кристаллогидратов гидроксидов меди (II) и гидроксида кальция в поверхностных слоях частиц ГМК. Причем отмечено, что воздействие электронного пучка уже не приводило к слиянию кристаллогидратов, как в случае с разведением ГМК дистиллированной водой. Важным является факт, что наночастицы меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) концентрировались на поверхности частиц ГМК, и последние при этом практически не укрупнялись. Не менее важным является наличие «свободных», не участвовавших в агрегации меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) (рисунок 3.11-Г).

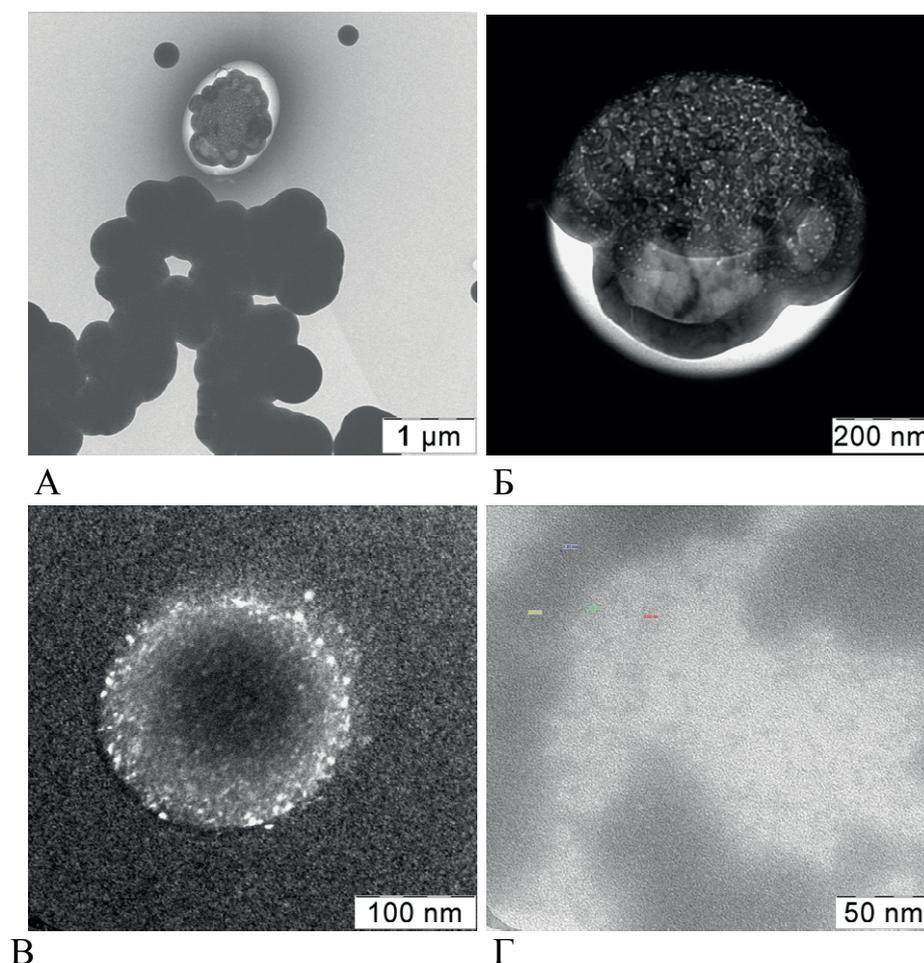
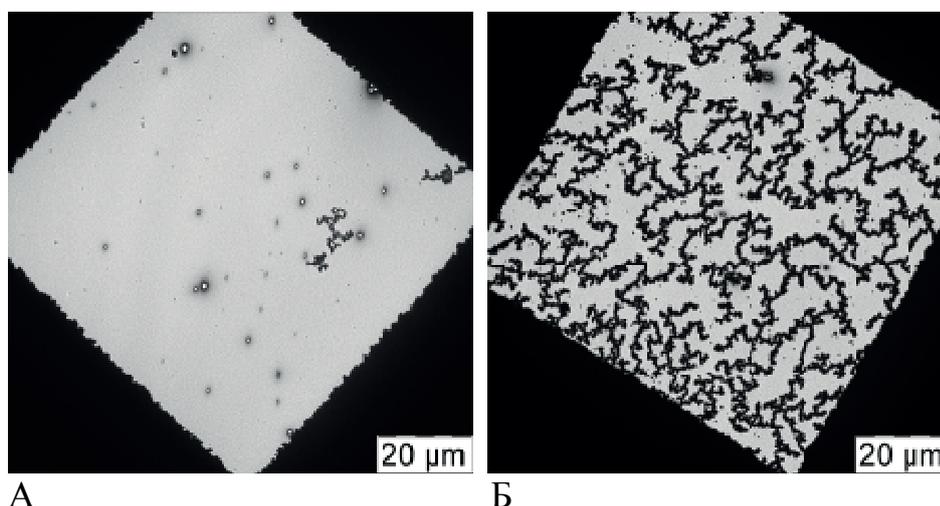


Рисунок 3.11 — Суспензия ГМК и гидрозоля наночастиц меди и оксидов меди (I, II):
 А, Б — флоккулы ГМК в смеси с гидрозолем наночастиц меди и оксидов меди (I, II);
 В — флоккула ГМК с наночастицами меди, агрегировавшимися в её поверхностном слое;
 Г — наночастицы меди и оксидов меди (I, II), не вступившие в агрегацию с частицами ГМК

Кроме того, при добавлении к ГМК вместо дистиллированной воды гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) кардинально менялась картина осаждения частиц на поверхность пленки из поливинилформала — количество осажденных на полимерную плёнку частиц увеличилось на несколько порядков (рисунки 3.12-А и 3.12-Б).

Повышение адгезивных характеристик частиц гидроксида меди (II) и оксида кальция можно объяснить активной адагуляцией наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) со значительно более крупными частицами гидроксидов. При этом высокоэнергетические частицы дисперсной фазы гидрозоля создают поверхностный слой вокруг крупных частиц, проявляя, по сути, свойства поверхностно-активных веществ.



А

Б

Рисунок 3.12 — Электронная микрофотография пасты ГМК:

А — в дистиллированной воде;

Б — в гидрозоле наночастиц меди, оксидов меди (I, II)

Сравнение дисперсных систем ГМК, разведенного гидрозолями наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) и гидрозолем серебра представлено на рисунке 3.13. На рисунках 3.13-Б и 3.13-В видно, что разведение суспензии ГМК обоими типами гидрозолей приводит к пептизации агломератов частиц ГМК, по сравнению с частицами ГМК, растворенным в дистиллированной воде (рисунок 3.13-А). Причем в случае применения наночастиц серебра, конечная дисперсность отдельно наблюдаемых частиц гидроксидов меди (II) и кальция была больше, чем при разведении гидрозолем наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II).

Эффект разрушения агрегатов частиц ГМК свидетельствует о том, что при разведении ГМК гидрозолями наночастиц металлов и их оксидов между наночастицами гидроксидов меди (II) и кальция, входящими в состав агрегатов ГМК, устанавливаются коагуляционные контакты, а не диффузионные, как при разведении дистиллированной водой. Отметим, что при формировании контакта диффузионного типа происходит «срастание» двух атомарных решеток и образуется одна частица гантелеобразной формы. В случае коагуляционного контакта срастания атомарных решеток не происходит, контакт осуществляется посредством взаимодействия двух частиц через их поверхностные слои, и при определенных условиях такой контакт может быть разрушен. Сама коагуляция между наночастицами ГМК в обоих случаях носила характер образования линейных цепочек. Такую коагуляцию называют флокуляцией.

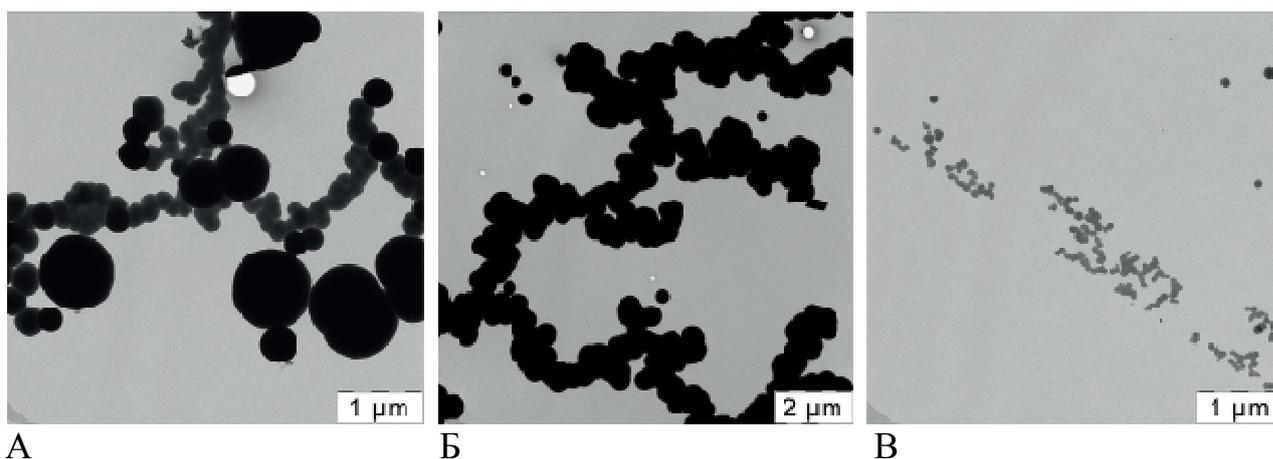
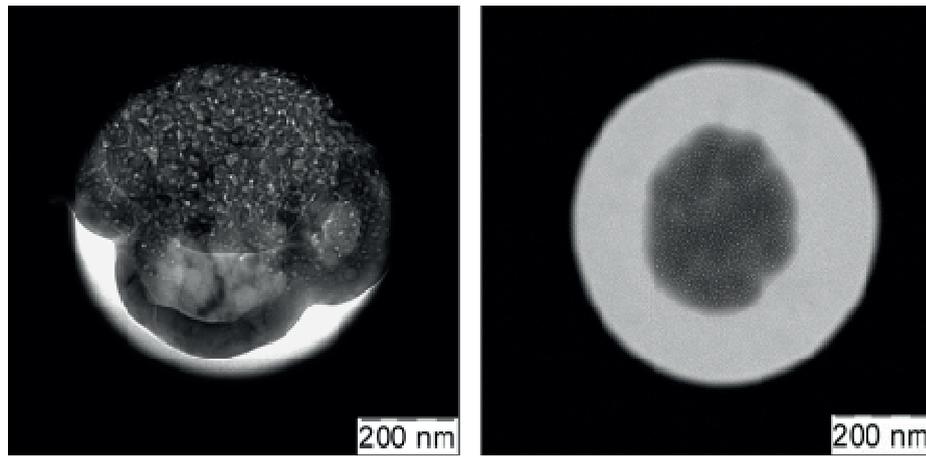


Рисунок 3.13 — Суспензия ГМК:

- А — дистиллированной воде,
- Б — гидрозоле наночастиц меди, оксидов меди (I, II),
- В — гидрозоле наночастиц серебра

Наиболее интересным с научно-практической точки зрения фактом является образование сложных нанодисперсных композиций как при разведении ГМК гидрозолями наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) (рисунок 3.14-А), так и при разведении гидрозолем наночастиц серебра (рисунок 3.14-Б).



А

Б

Рисунок 3.14 — Флоккулы ГМК в смеси:

А — с гидрозолем наночастиц меди, оксидов меди (I, II);

Б — гидрозолем наночастиц серебра

Важно отметить, что при разведении ГМК гидрозолем наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) с массовой концентрацией 15–30 мг/л сначала происходит образование агрегатов частиц меди и оксидов меди размером несколько десятков нанометров. Именно эти агрегаты, а не отдельные наночастицы меди и её оксидов, адсорбируются на частицах гидроксидов меди (II) и кальция, составляющих ГМК. Это обуславливает более грубую текстуру комплексной частицы, наблюдаемую на электронной микрофотографии (рисунок 3.14-А). В случае разведения ГМК гидрозолем наночастиц серебра, в связи с более низкой, по сравнению с гидрозолем наночастиц меди и оксидов меди, массовой концентрацией частиц, равной 3 мг/л, промежуточные агрегаты наночастиц серебра не образуются. На поверхности частиц ГМК адсорбируются наночастицы серебра размером 0,5–3 нм.

Темнопольное изображение отдельных скоплений наночастиц ГМК, разведенного гидрозолем меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), показывает наличие кристаллической фазы наночастиц, входящих в сложную композицию, — она визуализируется в виде светлых пятен на рисунке 3.15-А и чётких светлых колец на рисунке 3.15-Б. В случае разведения ГМК гидрозолем серебра темнопольное изображение демонстрирует отсутствие кристаллической фазы или её ультрадисперсное состояние, о чём свидетельствует отсутствие светлых включений на рисунке 3.16-А и размытость рисунка светлых колец на рисунке 3.16-Б.

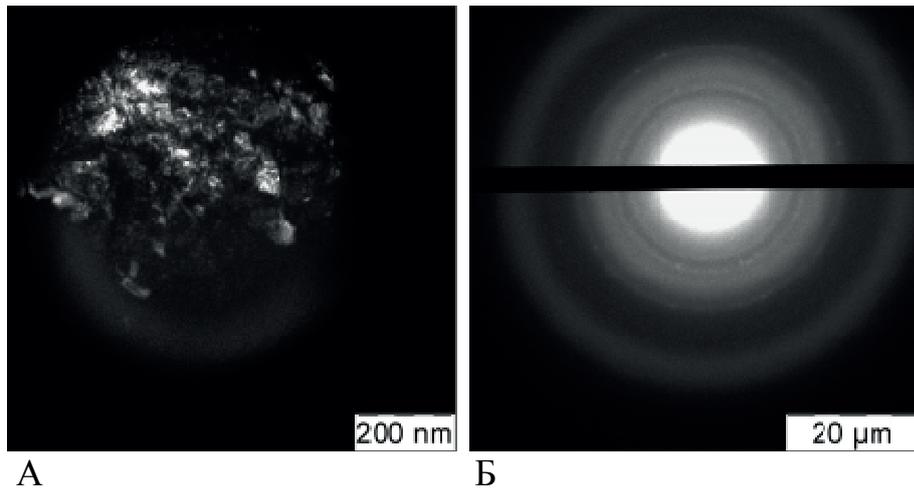


Рисунок 3.15 — А, Б — Темнопольное изображение частиц ГМК в гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II)

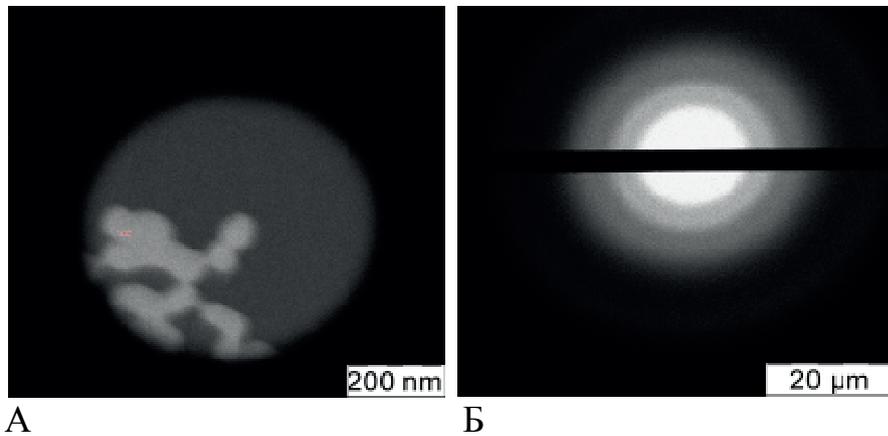


Рисунок 3.16 — А, Б — Темнопольное изображение частиц ГМК в гидрозоле наночастиц серебра

РЕЗЮМЕ

Результаты проведенного электронно-микроскопического исследования суспензий ГМК в дистиллированной воде, гидрозолях наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра позволяют сделать несколько итоговых выводов, имеющих значение для планирования и прогнозирования результатов дальнейших клинических исследований нового препарата ГМК и гидрозолей наночастиц металлов.

1. Противомикробный препарат ГМК в водной суспензии представлен агрегатами микрочастиц размерами 40–60 мкм. Такие агрегаты, в свою очередь, образованы сферическими частицами размерами $287 \pm 23,4$ нм. Эти частицы образуются путем коалесценции кристаллогидратов оксида меди (II) и оксида кальция, имею-

щих средний размер $12 \pm 3,2$ нм. Помимо кристаллогидратов, наночастицы представлены аморфными формами оксидов металлов со средним размером $4 \pm 1,6$ нм.

2. Локальный нагрев суспензии ГМК в дистиллированной воде пучком электронов во время электронно-микроскопического исследования способствует коагрегации кристаллогидратов с образованием более крупных частиц размерами $61 \pm 7,3$ нм. Можно предположить, что нагрев частиц ГМК в водном растворе, который неизбежно происходит во время депофореза под влиянием достаточно сильного электрического тока (1 мА), способствует разрушению гидратных оболочек, ускоренной агрегации кристаллогидратов, возникновению диффузных контактов между микрочастицами. Такие большие частицы не всегда могут проникать в дентинные трубочки корня зуба и перемещаться в них под действием электрического поля.

3. Впервые при электронно-микроскопическом изучении нового противомикробного препарата, представляющего собой суспензию ГМК в гидрозоль наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) размерами 0,5–3 нм, открыто явление образования сложной наноразмерной структуры. Наночастицы дисперсной фазы, вследствие своих малых размеров и высокой удельной поверхностной энергии, проникают внутрь поверхностного слоя сферических частиц ГМК, проявляя свойства поверхностно-активного вещества. Это приводит к снижению когезии в агрегатах ГМК. Поэтому адгезия и смачиваемость ГМК на плёнке значительно возрастают. Замечено также сохранение дисперсности суспензии ГМК в гидрозоль наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) и отсутствие коалесценции кристаллогидратов при нагреве электронным пучком.

4. Разведение ГМК водными растворами, содержащими нанодисперсную фазу, состоящую из металлов первой группы побочной подгруппы химической таблицы Д.И. Менделеева, в первую очередь, серебра, способно обеспечивать аналогичную модификацию частиц ГМК. Таким образом, в клиническом исследовании гидрозоль наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) может быть заменён на сертифицированный препарат «Нанаргол» — раствор коллоидного серебра с концентрацией 3 мг/л.

5. Обнаруженные в ходе исследования феномены позволяют предположить, что применение пасты ГМК в сочетании с гидрозолями наночастиц меди, оксидов меди (I, II) или серебра может стать альтернативной использования ГМК с аппаратами и приборами для депо- и гальванофореза. Если при реализации процедур депо- и гальванофореза движение частиц ГМК в дентин корня зуба достигается за счёт электрокинетического воздействия, то в случае с применением препаратов ГМК, комбинированных с наночастицами металлов и их оксидов, основной движущей силой является осмотическое давление в капиллярной системе дентинных трубочек. При разведении ГМК гидрозолями наночастиц крупные частицы ГМК аккумулируют удельную поверхностную энергию более мелких частиц меди, оксидов меди (I, II) или серебра и становятся способны по градиенту концентрации проникать в глубину дентина более глубоко и интенсивно.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Результаты рентгенофлуоресцентного элементного микроанализа поперечных спилов корней зубов (первый этап клинико-лабораторного исследования)

В ходе рентгенофлуоресцентного анализа спилов корней зубов было изучено распределение химических элементов — в первую очередь, меди — в образцах дентина. Помимо меди, в ходе анализа были зарегистрированы такие элементы, как кальций (Ca), фосфор (P), кислород (O), что связано с химическим составом неорганического матрикса дентина, представленного, в первую очередь, кристаллами гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Присутствие углерода (C), серы (S) и магния (Mg) объясняется составом органического компонента дентина корня зуба — структурой волокон коллагена и связанных с ними молекул. Кроме того, включения магния могут быть обусловлены качеством кальцийсодержащего исходного сырья исходного препарата ГМК.

В таблице 4.1 представлены результаты оценки присутствия меди в маргинальных слоях дентина, на глубине 10 мкм от стенки корневого канала зубов, обработанных препаратами ГМК согласно различным методикам. Анализ таблицы показывает, что статистически значимые различия частоты присутствия меди в исследуемой зоне между группами отсутствовали ($p > 0,05$).

Таблица 4.1 — Результаты элементного микроанализа дентина корней зубов на глубине 10 мкм от стенки КК (абс., %)

Группы	n	Медь обнаружена:	
		нет	да
1	15	2 (13,3 %)	13 (86,7 %)
2	15	0 (0,0 %)	15 (100 %)
3	15	0 (0,0 %)	15 (100 %)
4	15	0 (0,0 %)	15 (100 %)
p-value		0,237	

В таблице 4.2 приведены результаты оценки присутствия меди на глубине 50 мкм от стенки корневого канала зубов. Важно обратить внимание на тот факт, что при перемещении зоны регистрации в глубину дентина регистрируются статистически значимые различия между группами 2, 3 и 4, в которых аппликация препаратов ГМК сопровождалась электрофоретическими или химическими воздействиями, и группой № 1, где диффузия меди из водной суспензии ГМК не была дополнительно стимулирована ($p < 0,001$). В группе № 1 процент случаев, в которых на заданной глубине был зарегистрирован искомый элемент, резко снижался. При этом попарные сравнения данных, полученных для групп № 2, 3 и 4, не продемонстрировали наличия статистически значимых различий между этими группами ($p > 0,05$).

Таблица 4.2 — Результаты элементного микроанализа дентина корней зубов на глубине 50 мкм от стенки КК (абс., %)

Группы	n	Медь обнаружена:	
		нет	да
1	15	10 (66,7 %)	5 _a (33,3 %)
2	15	2 (13,3 %)	13 _b (86,7 %)
3	15	0 (0,0 %)	15 _b (100 %)
4	15	0 (0,0 %)	15 _b (100 %)
p-value		<0,001	
Sidak correction		Наличие одинаковых буквенных индексов (a, b) в столбце означает отсутствие статистически значимых различий между ячейками ($p > 0,05$)	

Аналогичные результаты были получены и при изучении дентина корней зубов на глубине 200 мкм от стенки корневого канала (таблица 4.3). Важно отметить, что следовое присутствие меди, отмеченное в группе № 1 на глубине 50 мкм, на глубине 200 мкм полностью исчезает. По всей видимости, перемещение активных частиц меди на данную глубину труднодостижимо в ходе свободной, не индуцированной диффузии препарата ГМК на водной основе.

Таблица 4.3 — Результаты элементного микроанализа дентина корней зубов на глубине 200 мкм от стенки КК (абс., %)

Группы	n	Медь обнаружена:	
		нет	да
1	15	15 (100 %)	0 _a (0,0 %)
2	15	4 (26,7 %)	11 _b (73,3 %)
3	15	2 (13,3 %)	13 _b (86,7 %)
4	15	3 (20,0 %)	12 _b (80,0 %)
p-value		<0,001	
Sidak correction		Наличие одинаковых буквенных индексов (a, b) в столбце означает отсутствие статистически значимых различий между ячейками ($p > 0,05$)	

Наиболее важными с точки зрения планирования следующих этапов исследования были результаты элементного анализа дентина корней зубов в точке максимального удаления от стенки корневого канала — на глубине 500 мкм (таблица 4.4). Здесь медь наиболее часто регистрировали в экспериментальных группах № 3 и № 4 — различия с контрольной группой № 2 были выраженными и статистически значимыми ($p < 0,001$). В то же время, между самими группами № 3 и 4, где в обоих случаях для временной аппликации использовали новый препарат на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) и которые отличались друг о друга лишь сроком позиционирования экспериментального препарата, статистически значимой разницы обнаружено не было.

Таким образом, можно заключить, что максимальная концентрация химических элементов — кальция и меди — в образцах, обработанных по первой методике водной суспензией ГМК, имела место только в участках соприкосновения

поверхностного слоя дентина с водной пастой ГМК, а также в приграничном слое дентина на глубине, не превышающей 10 мкм (рисунок 4.1).

Таблица 4.4 — Результаты элементного микроанализа дентина корней зубов на глубине 500 мкм от стенки КК (абс., %)

Группы	n	Медь обнаружена:	
		нет	да
1	15	15 (100 %)	0 _a (0,0 %)
2	15	13 (86,7 %)	2 _b (13,3 %)
3	15	5 (33,3 %)	10 _c (66,7 %)
4	15	6 (40,0 %)	9 _c (60,0 %)
p-value		<0,001	
Sidak correction		Наличие одинаковых буквенных индексов (a, b, c) в столбце означает отсутствие статистически значимых различий между ячейками (p>0,05)	

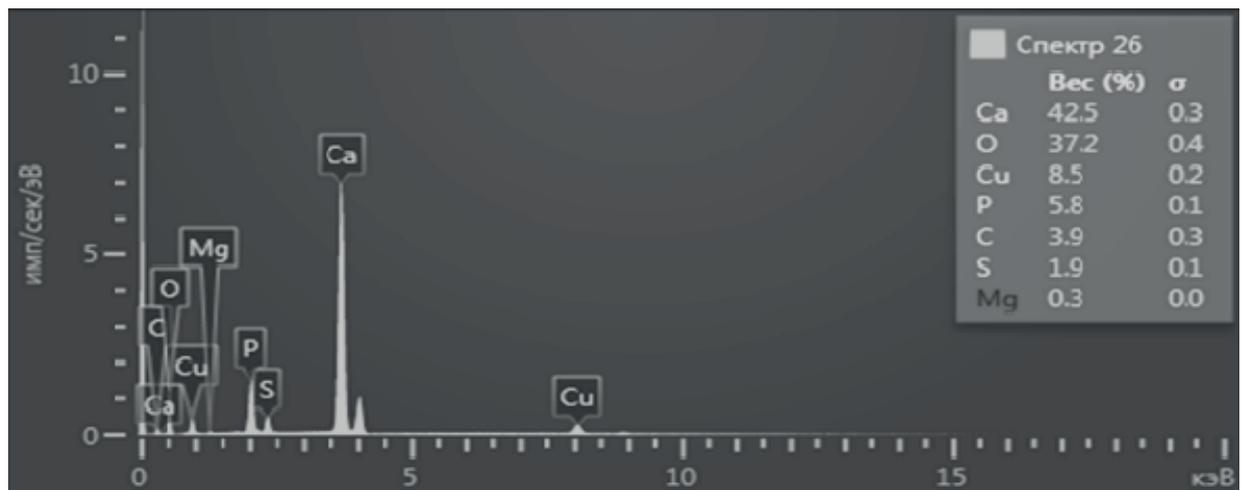


Рисунок 4.1 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по первой методике, в наиболее близкой к стенке КК

Распределение меди во фрагментах дентина, обработанного методом гальванофореза, было иным: с максимальной концентрацией элемента также, как и при первой методике, в области поверхностного слоя. Наиболее отдалённые участки дентина, в которых обнаруживалась медь, располагались на расстоянии до 200 мкм от стенки корневого канала (рисунок 4.2).

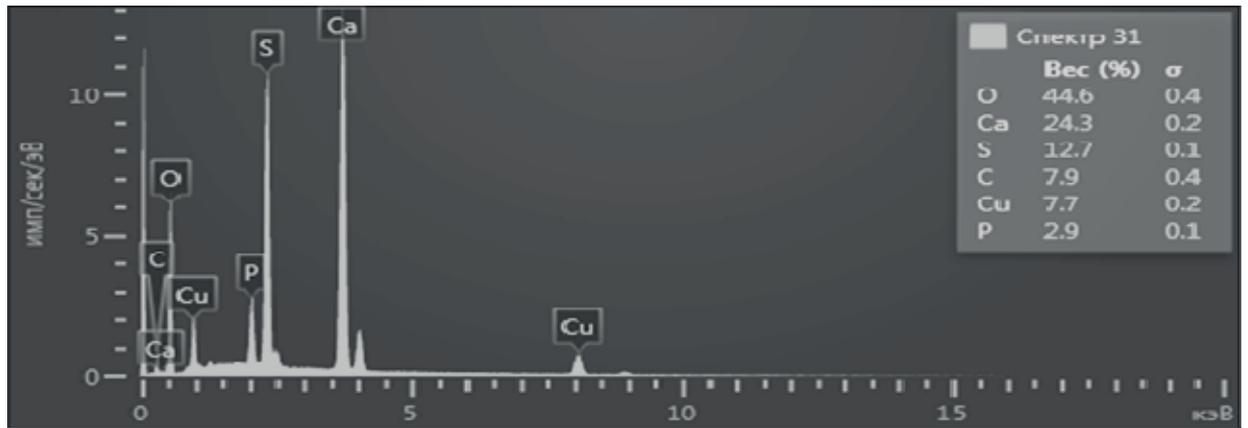


Рисунок 4.2 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по второй методике, на расстоянии 200 мкм от стенки КК

При использовании третьей и четвёртой методик, когда применяли пасту на основе суспензии ГМК в гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II), в сравнении с предыдущими методиками проникновение частиц меди в дентин корня зуба было существенно бóльшим. Временное пломбирование корневого канала новым препаратом позволило добиться импрегнации дентина корня зуба на максимальную глубину. Анализ графиков, представленных на рисунке 4.3, показывает, что количество меди в дентине корня зуба постепенно уменьшалось при отдалении от стенки корневого канала. Тем не менее, на расстоянии 500 мкм медь в дентине всё ещё обнаруживалась.

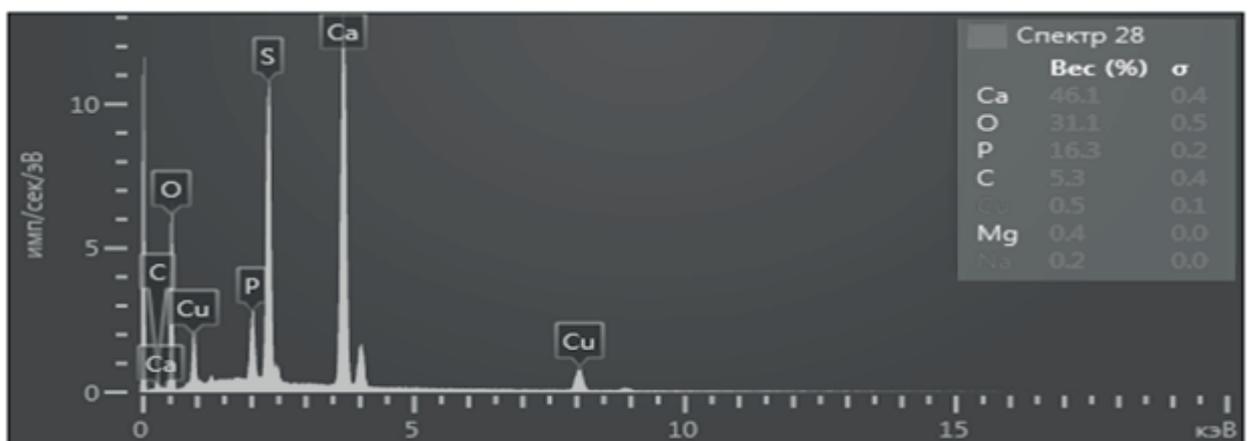


Рисунок 4.3 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по третьей методике, на расстоянии 500 мкм от стенки КК

Для построения графика распределения частиц нового препарата на основе ГМК в системе ДТ корня зуба провели дополнительную серию исследований. Было использовано 5 удаленных зубов, соответствующих критериям включения, невключения и исключения, описанным в главе 2.2.2.1. При этом КК исследуемых зубов заполнялись пастой ГМК в гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) на 1, 3, 5, 7 и 14 дней соответственно. В соответствии с методикой, описанной в главе 2.3.2.1, оценивали глубину, на которой обнаруживался химический элемент — медь. Результаты исследования представлены на графике (рисунок 4.4).

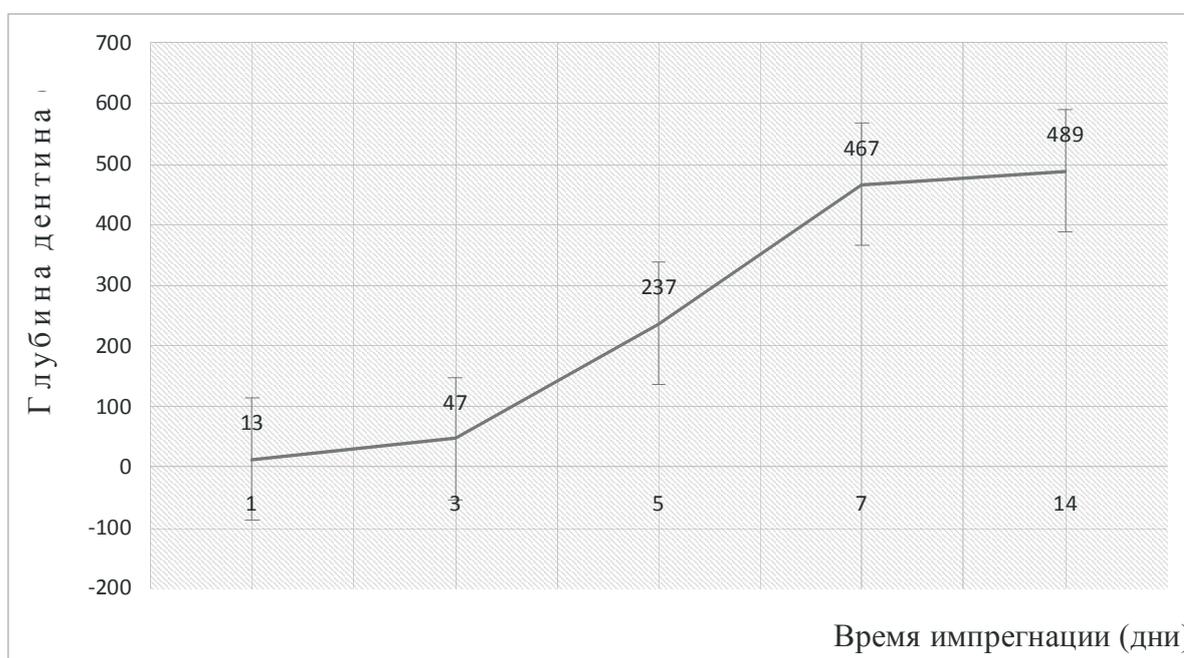


Рисунок 4.4 — График диффузии частиц меди в дентин удаленных зубов с течением времени

Как видно на графике, дополнительная серия исследований подтвердила результаты, полученные в ходе первого этапа клинико-лабораторного исследования. После 7 дней импрегнации значения глубины проникновения частиц в дентин выходят на «плато», что соответствует зарегистрированному ранее отсутствию статистически значимой разницы между образцами, в которых новый препарат ГМК позиционировался в течение 7 дней, и группой, в которой аппликация проводилась в течение 14 дней. При этом важно отметить, что более

короткая экспозиция препарата (в течение 3 и 5 дней) не приводила к полноценной импрегнации системы корневых каналов (СКК) корня зуба.

РЕЗЮМЕ

1. После экспозиции в КК в течение 7 дней пасты ГМК на водной основе без дополнительных физиотерапевтических воздействий при последующем рентгенофлуоресцентном анализе дентина на глубине 50, 200 и 500 мкм от стенки КК медь, как химический элемент, не была зарегистрирована.

2. В дентине корней зубов, обработанный методом гальванофореза ГМК, медь обнаруживалась в точке, максимальное удаление которой от стенки КК составило 200 мкм.

3. В точке максимального удаления от просвета КК (на расстоянии 500 мкм) медь наиболее часто была зарегистрирована в образцах, обработанных новым препаратом на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) с массовой концентрацией дисперсной фазы 15–30 мг/л.

4. При обработке СКК корня зуба новым препаратом на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) в течение 3 и 5 дней достигнуть максимальной глубины импрегнации дентина не удалось.

5. Статистически значимых различий между группой, в которой новый препарат ГМК позиционировался в течение 7 дней, и группой, в которой аппликация проводилась в течение 14 дней, обнаружено не было. Следовательно, при планировании дальнейших этапов клинико-лабораторного исследования целесообразно использовать 7-дневную экспозицию нового препарата ГМК в КК.

4.2 Результаты молекулярно-генетического анализа биологического материала из корневых каналов зубов больных хроническим апикальным периодонтитом до и после проведенного эндодонтического лечения (второй этап клинко-лабораторного исследования)

Первым этапом обработки полученных данных стала проверка выборок для основной группы и группы сравнения на сопоставимость по ряду признаков, регистрируемых среди единиц наблюдения. Данные приведены в таблицах 4.5 и 4.6. Как видно в таблицах, в основной группе и группе сравнения распределение единиц наблюдения по полу и характеру обращения за стоматологической помощью (первичное или повторное эндодонтическое лечение) было сопоставимо — статистически значимых различий между единицами наблюдения в разных группах зарегистрировано не было ($p > 0,05$).

Таблица 4.5 — Распределение единиц наблюдения в группах пациентов по полу (абс., %)

Пол	Группы		Всего
	сравнения	основная	
Женский	18 (72,0 %)	30 (68,2 %)	48 (69,6 %)
Мужской	7 (28,0 %)	14 (31,8 %)	21 (30,4 %)
Всего	25 (100 %)	44 (100 %)	69 (100 %)
	$p=0,792$		

Таблица 4.6 — Распределение единиц наблюдения в основной группе и группе сравнения по характеру обращения (абс., %)

Характер обращения	Группы		Всего
	сравнения	основная	
Первичный	14 (56,0 %)	26 (59,1 %)	40 (58,0 %)
Повторный	11 (44,0 %)	18 (40,9 %)	29 (42,0 %)
Всего	25 (100 %)	44 (100 %)	69 (100 %)
	$p=0,806$		

Затем провели статистический анализ антибактериального эффекта исследуемых противомикробных интраканальных препаратов по отношению к каждой из бактерий, идентифицируемых методом ПЦР в реальном времени. Отметим, что здесь и далее результаты ПЦР-анализа (единицы измерения — геном-эквиваленты на миллилитр биологического материала) приводятся в логарифмическом виде — \lg_{10} (ГЭ/мл).

Так как распределение данных в большинстве случаев было нормальным, для их описания использовали среднее арифметическое и среднее квадратичное отклонение — данные представлены в формате $M \pm m$. Случаи, когда распределение данных было ненормальным, оговариваются в тексте. При описании данных по всей выборке строили коробчатые графики, на которых изображались медианные значения, верхний и нижний квартили, минимальные и максимальные значения, а также графики средних значений с доверительным интервалом, равным 95 %.

4.2.1 Антибактериальный эффект по отношению к *P. gingivalis*

До проведенного лечения количество ДНК микроорганизмов вида *P. gingivalis* во всей выборке пациентов составляло $3,92 \pm 1,57$ ГЭ/мл (3,49; 4,35). После проведенного лечения — как с применением нового препарата ГМК, так и при использовании препаратов ГК — оно уменьшилось, достигнув значения $2,80 \pm 1,46$ ГЭ/мл (2,36; 3,23). Средние значения представлены на графиках (рисунки 4.5 и 4.6). В ходе сравнения средних для связанных выборок было обнаружено, что уменьшение количества бактериальной ДНК в КК после эндодонтического лечения, проведенного с применением обоих препаратов, было статистически значимым ($p < 0,001$).

Дальнейший статистический анализ несвязанных основной группы и группы сравнения продемонстрировал, что до лечения количество ДНК бактерий вида *P. gingivalis* в обеих группах статистически значимо не отличалось ($p = 0,074$) и составило в основной группе $3,65 \pm 1,60$ ГЭ/мл, а в группе сравнения — $4,44 \pm 1,40$ ГЭ/мл. Данные представлены на рисунке 4.7-А. После проведенного лечения с применением двух разных интраканальных препаратов наблюдались статистически значимые различия в количестве ДНК *P. gingivalis* в основной

группе и группе сравнения ($p=0,005$). В основной группе биологический материал, взятый из КК после экспозиции препарата, содержал $1,94 \pm 1,55$ ГЭ/мл нуклеиновой кислоты исследуемых бактерий, в то время как в группе сравнения её количество составило $3,26 \pm 1,70$ ГЭ/мл (рисунок 4.7-Б).

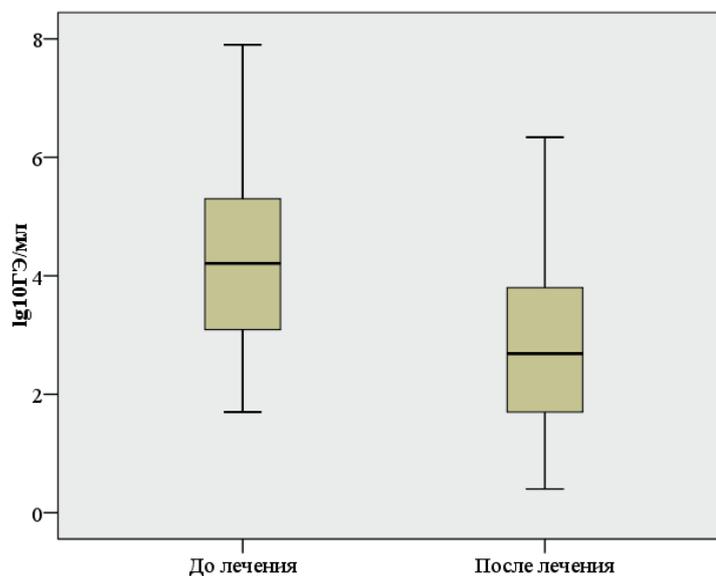


Рисунок 4.5 — Содержание ДНК *P. gingivalis* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

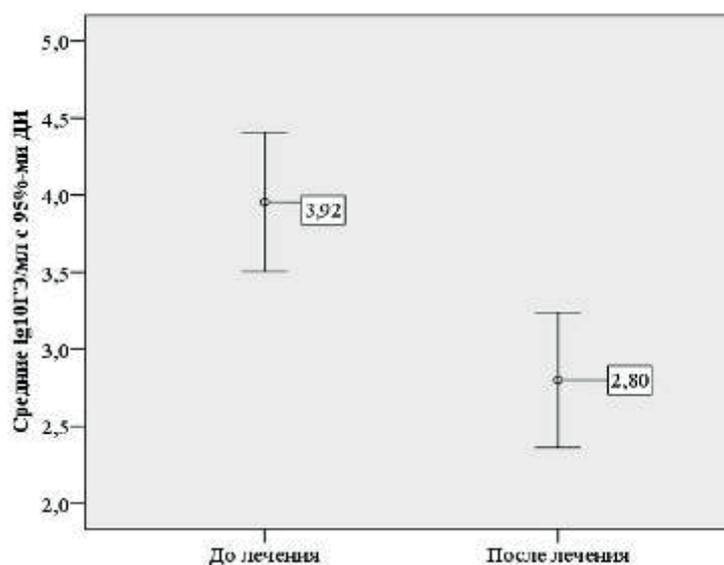


Рисунок 4.6 — Средние значения содержания ДНК *P. gingivalis* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

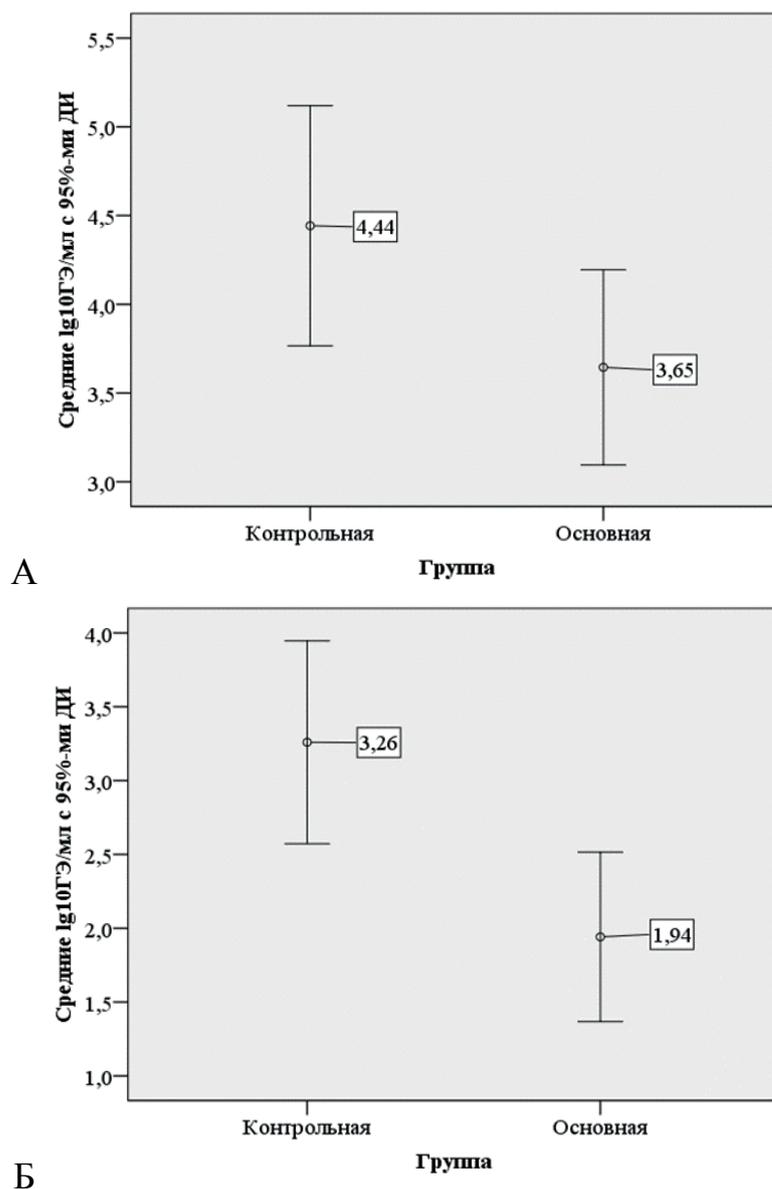


Рисунок 4.7 — Средние значения содержания ДНК *P. gingivalis* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения

4.2.2 Антибактериальный эффект по отношению к *P. intermedia*

До проведенного лечения количество ДНК микроорганизмов вида *P. intermedia* во всей выборке составляло $2,51 \pm 1,61$ ГЭ/мл (1,98; 3,04). После проведенного лечения количество генетического материала микроорганизмов уменьшилось до $1,15 \pm 1,33$ ГЭ/мл (0,71; 1,58). Средние значения представлены на рисунках 4.8 и 4.9. В ходе сравнения средних для связанных выборок было обнаружено, что уменьшение бактериальной контаминации КК после проведенного

эндодонтического лечения с применением любой из методик было статистически значимым ($p < 0,001$).

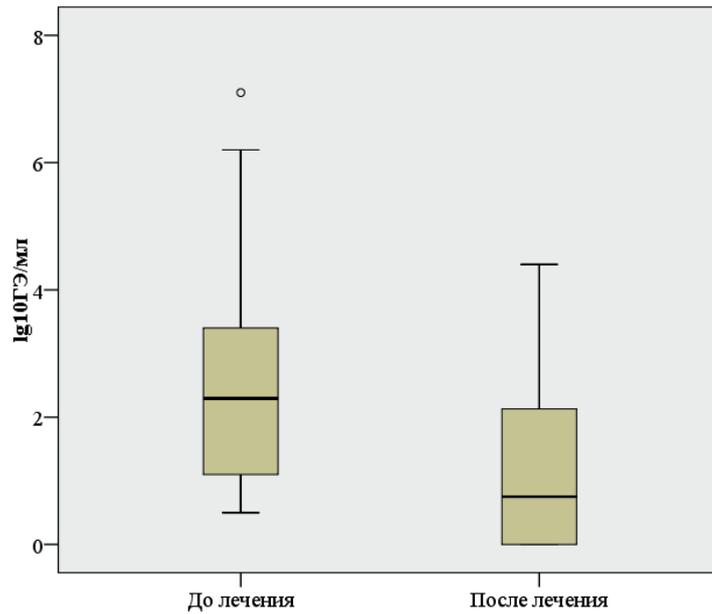


Рисунок 4.8 — Содержание ДНК *P. intermedia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

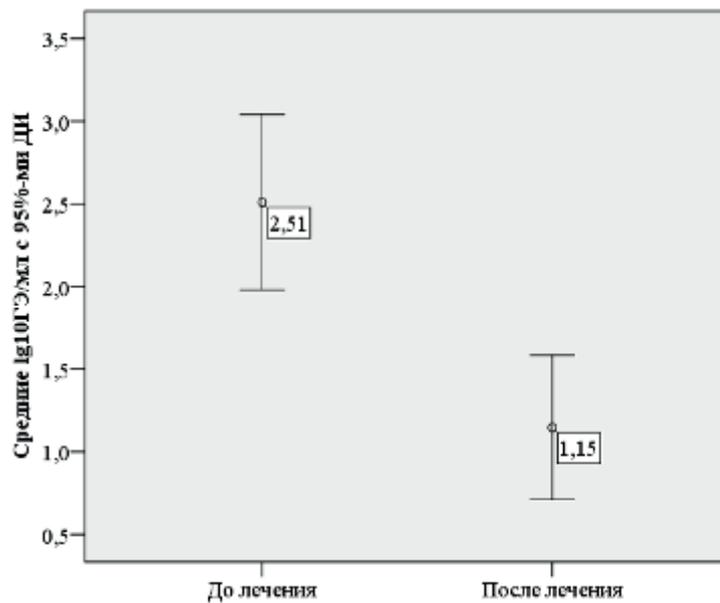


Рисунок 4.9 — Средние значения содержания ДНК *P. intermedia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

До лечения количество ДНК бактерий вида *P. intermedia* в группах статистически значимо не отличалось ($p=0,174$) и составило в основной группе $2,75 \pm 0,75$ ГЭ/мл, а в группе сравнения — $1,98 \pm 0,62$ ГЭ/мл (рисунок 4.10-А). После повторного забора биологического материала в основной группе было обнаружено $1,06 \pm 1,54$ ГЭ/мл ДНК исследуемых бактерий, в группе сравнения её количество составило $1,34 \pm 0,76$ ГЭ/мл (рисунок 4.10-Б). Статистически значимых различий между группами зафиксировано не было ($p=0,543$).

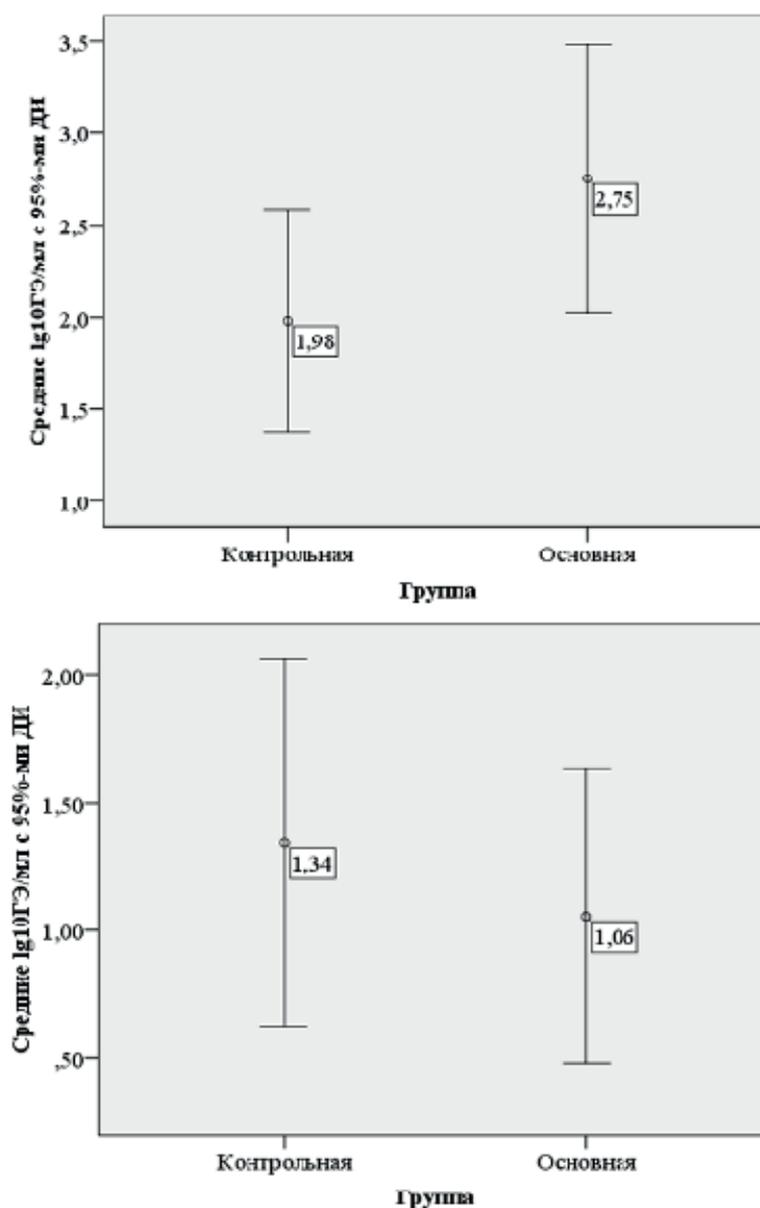


Рисунок 4.10 — Средние значения содержания ДНК *P. intermedia* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения

4.2.3 Антибактериальный эффект по отношению к *T. forsythia*

До проведенного лечения биологический материал из корневых каналов зубов во всей выборке содержал ДНК микроорганизмов вида *T. forsythia* в количестве $3,14 \pm 1,49$ ГЭ/мл (2,63; 3,64). После лечения количество генетического материала микроорганизмов сократилось до $1,19 \pm 1,46$ ГЭ/мл (0,70; 1,68). Средние значения представлены на графиках на рисунках 4.11 и 4.12. Обнаруженные различия между двумя связанными группами были статистически значимыми ($p < 0,001$).

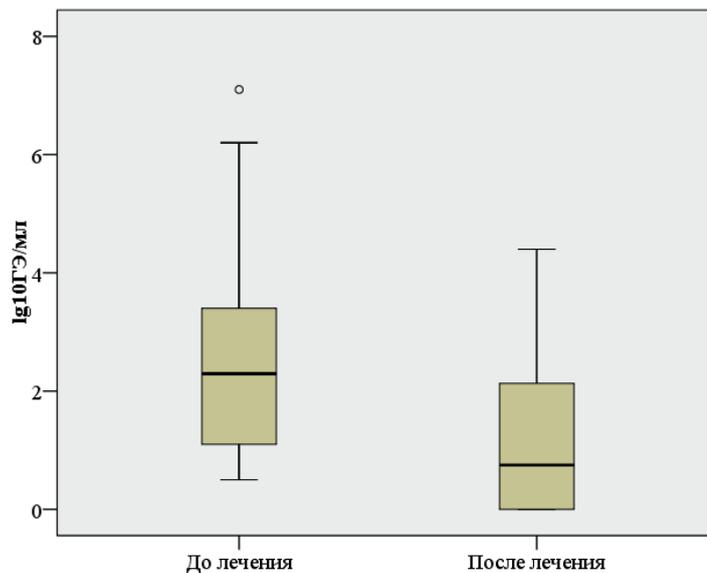


Рисунок 4.11 — Содержание ДНК *T. forsythia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

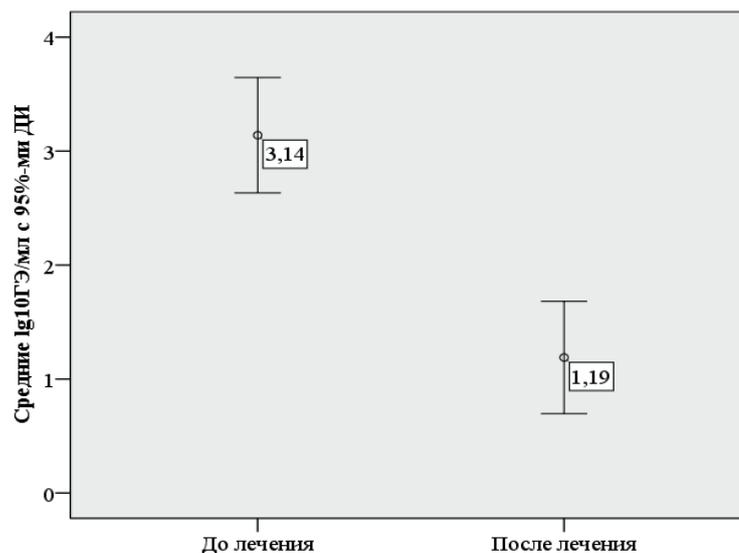
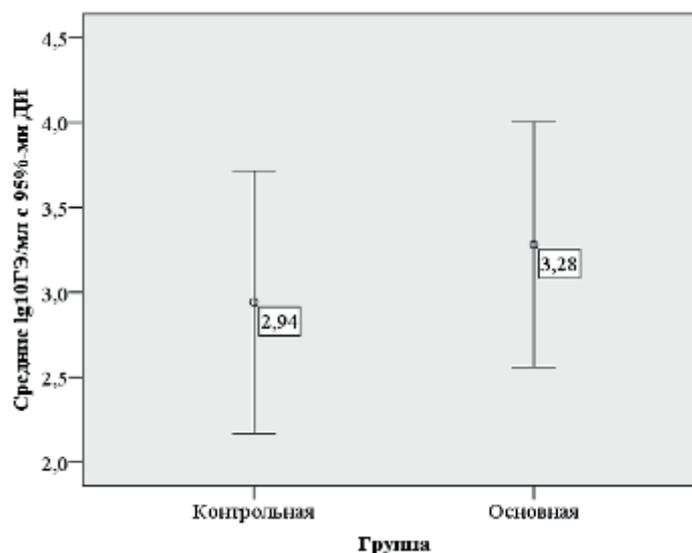
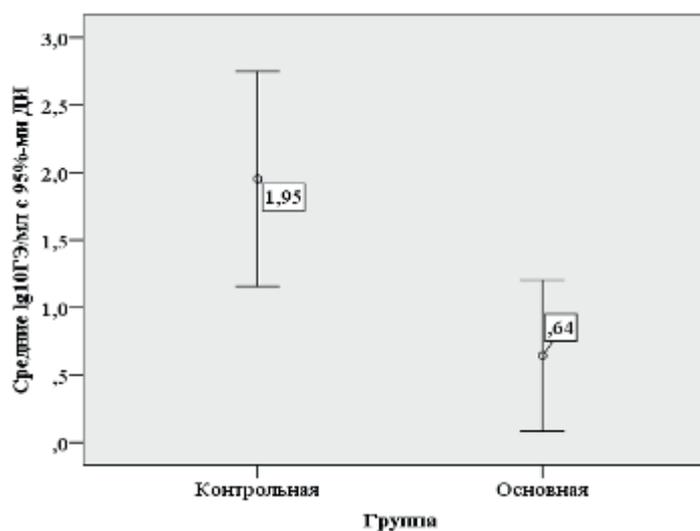


Рисунок 4.12 — Средние значения содержания ДНК *T. forsythia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

До лечения количество бактерий вида *T. forsythia* в несвязанных основной группе и группе сравнения статистически значимо не различалось ($p=0,511$) и составило в основной группе $3,28 \pm 1,45$ ГЭ/мл, в группе сравнения — $2,94 \pm 1,50$ ГЭ/мл (рисунок 4.13-А). После лечения в биологическом материале из КК в основной группе было обнаружено $0,64 \pm 0,50$ ГЭ/мл ДНК бактерий данного вида, в группе сравнения количество нуклеиновой кислоты составило $1,95 \pm 1,35$ ГЭ/мл (рисунок 4.13-Б). Различия между группами были статистически значимыми ($p = 0,006$).



А



Б

Рисунок 4.13 — Средние значения содержания ДНК *T. forsythia* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения

4.2.4 Антибактериальный эффект по отношению к *T. denticola*

До проведенного лечения количество ДНК микроорганизмов вида *T. denticola* в пробах биологического материала, взятых до лечения во всей выборке, составило $4,53 \pm 1,54$ ГЭ/мл (4,09; 4,97). После проведенного лечения количество генетического материала микроорганизмов данного вида сократилось до $3,27 \pm 1,47$ ГЭ/мл (2,85; 3,69). Средние значения представлены на графиках на рисунках 4.14 и 4.15. Уменьшение бактериальной обсемененности КК после эндодонтического лечения было статистически значимым ($p < 0,001$).

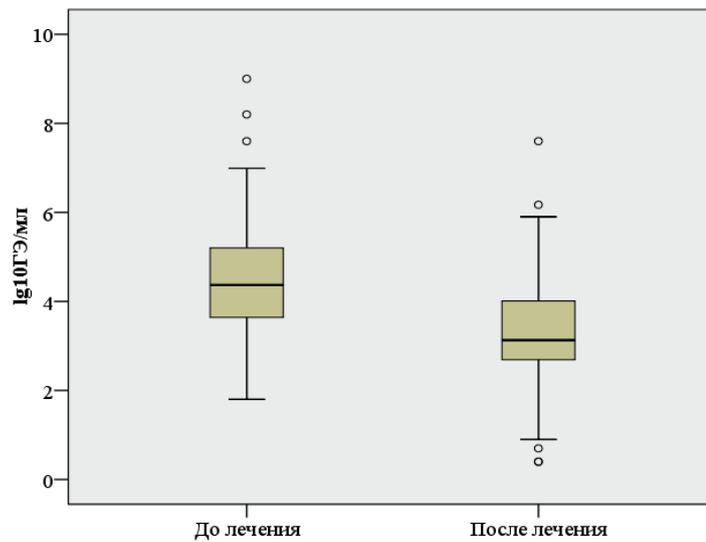


Рисунок 4.14 — Содержание ДНК *T. denticola* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

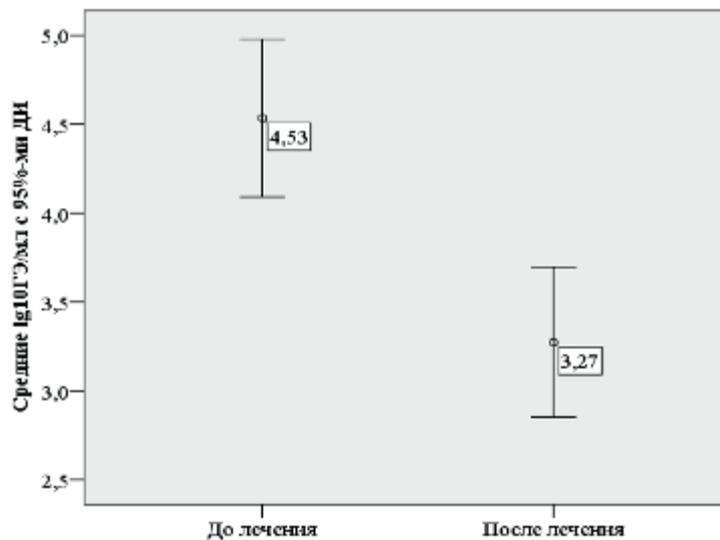


Рисунок 4.15 — Средние значения содержания ДНК *T. denticola* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

До лечения количество бактерий вида *T. denticola* в несвязанных основной группе и группе сравнения не отличалось ($p=0,069$) и составило в основной группе $3,79 \pm 1,52$ ГЭ/мл, в группе сравнения — $4,55 \pm 1,46$ ГЭ/мл (рисунок 4.16-А). После лечения в биологическом материале из КК в основной группе была обнаружена ДНК, характерная для *T. denticola*, в количестве $2,67 \pm 1,78$ ГЭ/мл, в группе сравнения количество искомой нуклеиновой кислоты составило $3,90 \pm 1,55$ ГЭ/мл (рисунок 4.16-Б). Различия между группами были статистически значимыми ($p=0,003$).

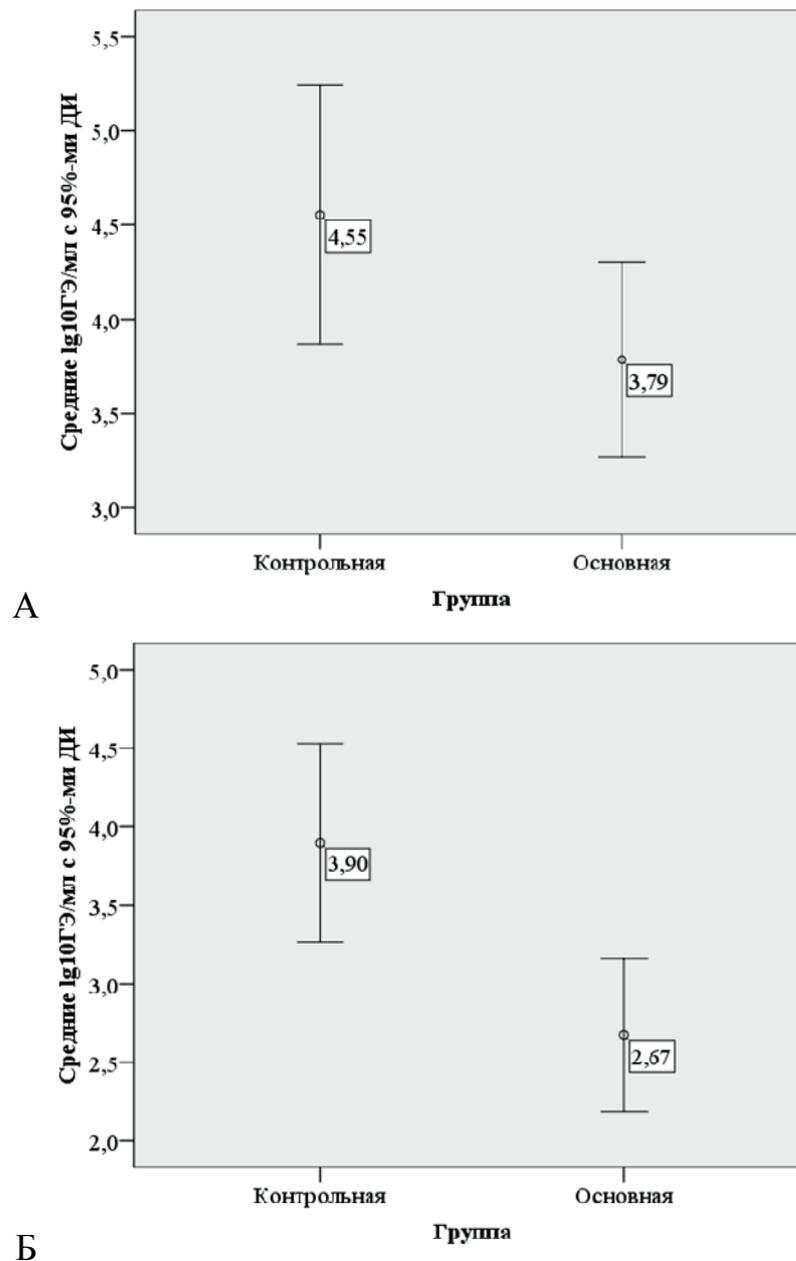


Рисунок 4.16 — Средние значения содержания ДНК *T. denticola* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения

4.2.5 Антибактериальный эффект по отношению к *F. nucleatum*

До проведенного лечения количество ДНК микроорганизмов вида *F. nucleatum* во всей выборке составило $2,85 \pm 1,60$ ГЭ/мл (2,31; 3,41). После проведенного лечения оно уменьшилось до $1,33 \pm 1,69$ ГЭ/мл (0,75; 1,91). Данные представлены на графиках (рисунки 4.17 и 4.18). Обнаруженные различия между двумя связанными группами были статистически значимыми ($p < 0,001$).

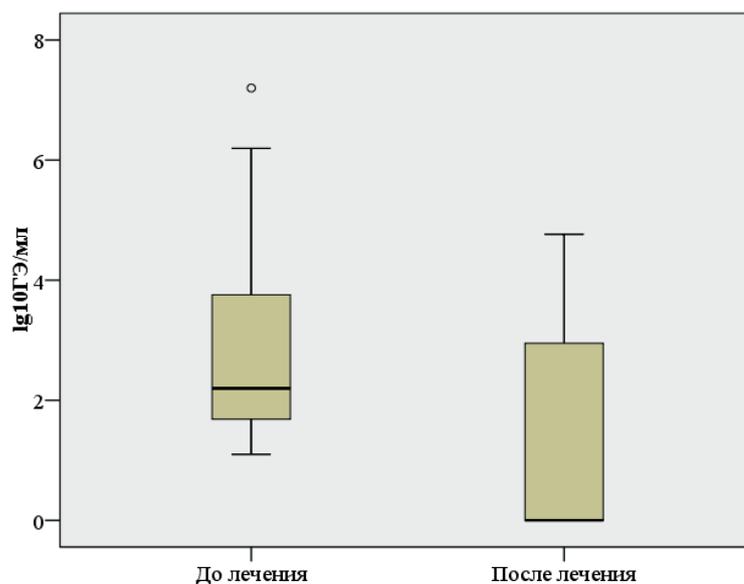


Рисунок 4.17 — Содержание ДНК *F. nucleatum* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

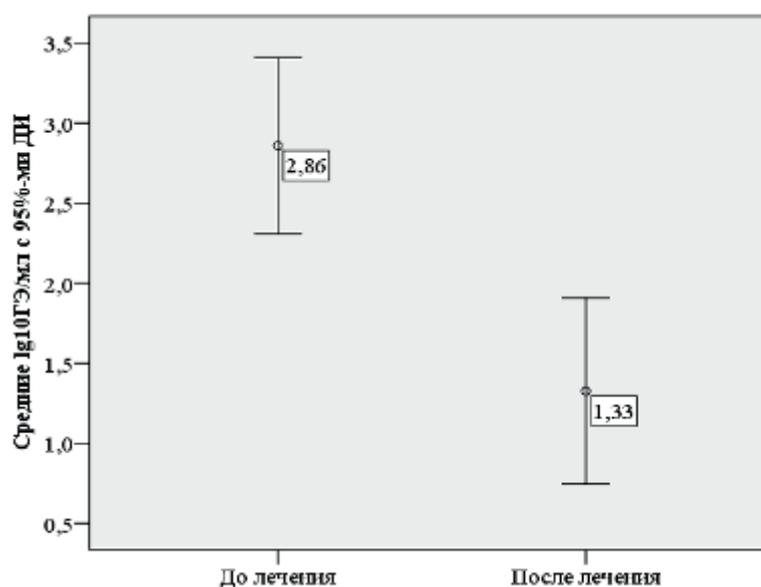


Рисунок 4.18 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

До лечения количество ДНК бактерий вида *F. nucleatum* составило в основной группе $3,18 \pm 1,26$ ГЭ/мл, а в группе сравнения — $1,92 \pm 0,95$ ГЭ/мл (рисунок 4.19). Важно отметить, что в данном случае между группами обнаружилась статистически значимая разница ($p=0,04$). В связи с тем, что в группе сравнения количество ДНК микроорганизмов изучаемого вида было меньше, чем в основной группе, было принято решение сохранить выборки без дополнительной корректировки. После проведенного лечения статистически значимых различий между несвязанными основной и группой сравнения обнаружить не удалось ($p=0,554$). В основной группе биологический материал содержал $1,43 \pm 0,96$ ГЭ/мл ДНК исследуемых бактерий, в то время как в группе сравнения — это количество составило $1,03 \pm 0,79$ ГЭ/мл (рисунок 4.20).

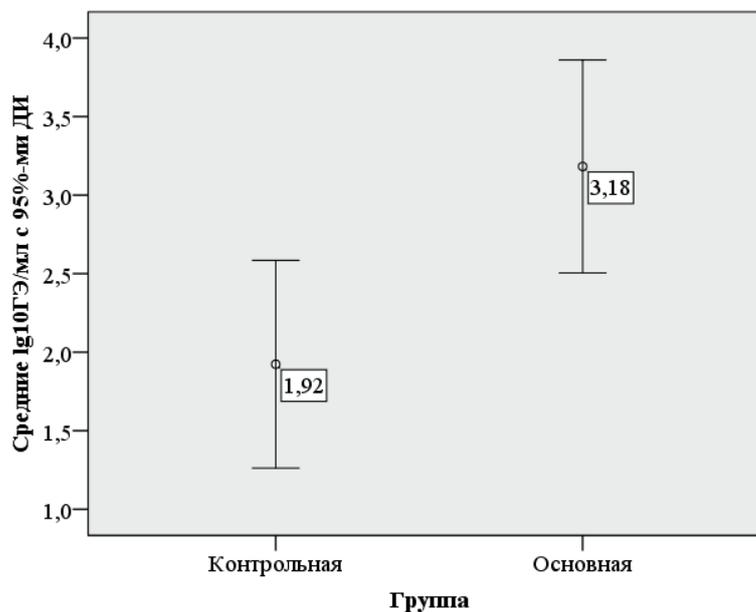


Рисунок 4.19 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до лечения

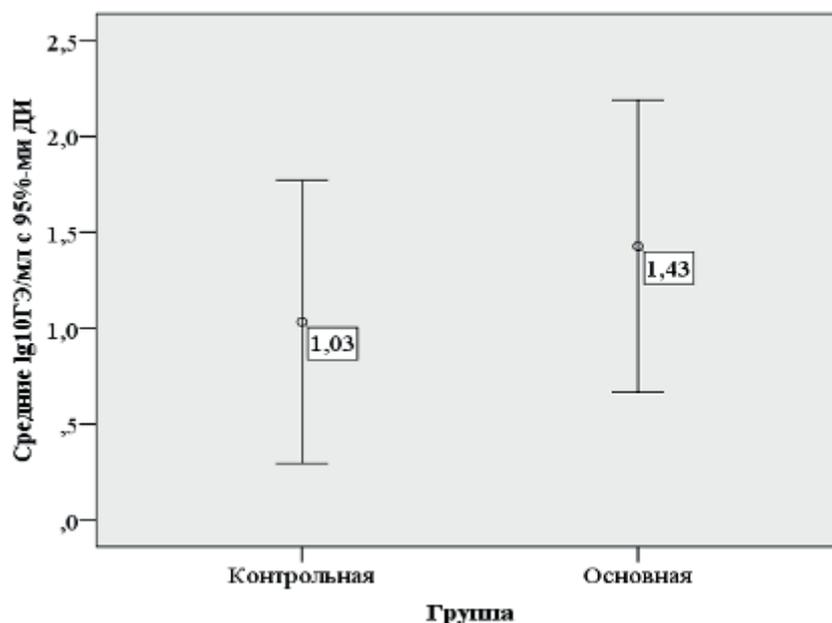


Рисунок 4.20 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) после проведенного эндодонтического лечения

4.2.6 Антибактериальный эффект по отношению к *A. actinomycetemcomitans*

ДНК микроорганизма *A. actinomycetemcomitans* была обнаружена в пяти изученных образцах. Распределение этих данных не соответствовало закону нормального распределения. До лечения количество ДНК *A. actinomycetemcomitans* в обеих группах статистически значимо не отличалось ($p=0,526$) и составило в основной группе $2,57 \pm 1,30$ ГЭ/мл, а в контрольной группе — $1,25 \pm 0,96$ ГЭ/мл (рисунок 4.21). Несмотря на то, что в ходе эндодонтического лечения присутствие изучаемого микроорганизма удалось сократить до нулевых значений (рисунок 4.22), статистически значимых различий в связанных выборках до и после лечения, обнаружено не было ($p=0,073$). Следовательно, дальнейший сравнительный анализ средних значений несвязанных основной группы и группы сравнения проведен не был.

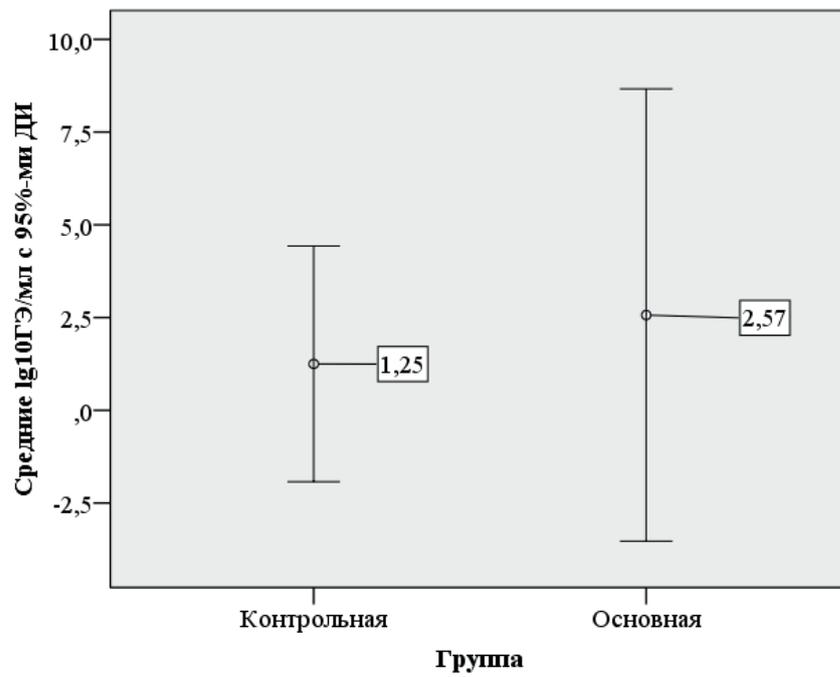


Рисунок 4.21 — Средние значения содержания ДНК микроорганизма *A. actinomycetemcomitans* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до лечения

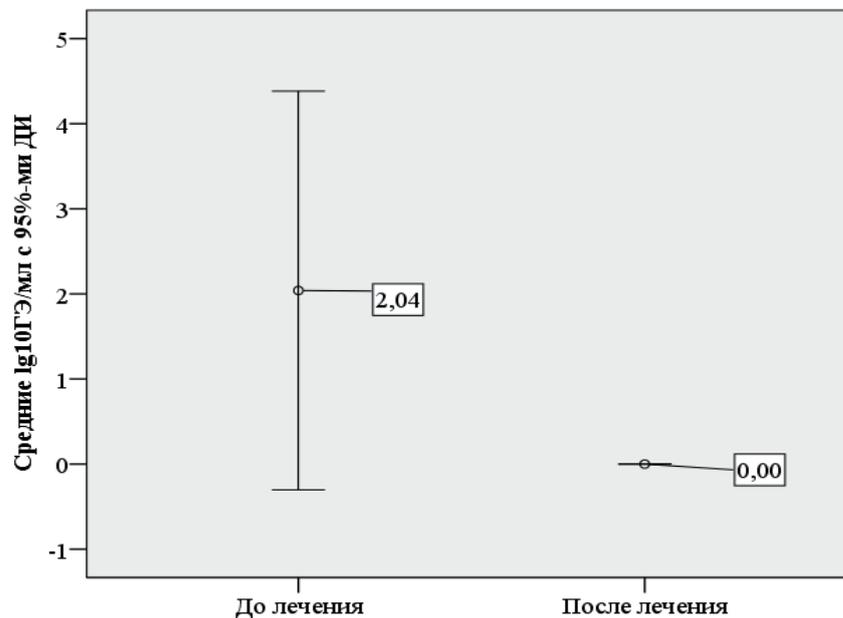


Рисунок 4.22 — Средние значения содержания ДНК микроорганизма *A. actinomycetemcomitans* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов

РЕЗЮМЕ

1. Наиболее выраженный бактерицидный эффект новый препарат на основе ГМК и гидрозоля наночастиц серебра продемонстрировал против бактерий, входящих в «красный комплекс» пародонтопатогенов: *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*. Важно отметить, что *P. gingivalis* и *T. denticola*, по данным литературы (см. главу 5) часто ассоциируются с присутствием в микробной биоплёнке ещё одного микроорганизма, инфицирующего систему корневых каналов, микроскопические дентинные трубочки и провоцирующего хронический воспалительный процесс в тканях периодонта — *E. faecalis*.

2. В основной группе, где использовался новый комплексный препарат, было обнаружено меньшее количество бактериальной ДНК *P. intermedia*, по сравнению с контрольной группой, однако эти различия не были статистически значимыми.

3. Несмотря на то, что количество генетического материала, характерного для микроорганизма *F. nucleatum*, после позиционирования нового препарата ГМК сократилось на порядок (с $10^{3,18}$ до $10^{1,43}$ ГЭ/мл), статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения обнаружено не было

4. Статистически значимых различий в представительстве *A. actinomycetemcomitans* до и после эндодонтического лечения у всех пациентов, вне зависимости от принадлежности к основной группе или группе сравнения, установить не удалось в связи с малым объемом выборки единиц наблюдения, у которых был обнаружен данный микроорганизм.

4.3 Результаты объективных клинических и рентгенологических методов обследования больных хроническим апикальным периодонтитом до и после проведенного эндодонтического лечения (третий этап клинико-лабораторного исследования)

Как было показано ранее, основная группа и группа сравнения не отличались друг от друга по гендерному представительству и характеру обращения за стоматологической помощью (первичное/повторное обращение). На данном этапе исследования дополнительно провели оценку сопоставимости основной группы и группы сравнения по параметрам, которые могли бы повлиять на исход лечения. Как видно в таблице 4.7, зубы с диагнозом K04.6 — периапикальный абсцесс со свищом (соответствует более ранней нозологической форме «хронический гранулирующий апикальный периодонтит») — встречались одинаково часто как в основной группе, так и в группе сравнения ($p = 0,696$).

Таблица 4.7 — Наличие свищевого хода в области зубов до их лечения у больных основной группы и группы сравнения (абс., %)

Группы	Число наблюдений	Свищевой ход	
		нет	есть
Основная	35	29 (82,9 %)	6 (17,1 %)
Сравнения	20	18 (90,0 %)	2 (10,0 %)
Всего	55	47 (85,5 %)	8 (14,5 %)
p-value	$p = 0,696$		

Влияние на долгосрочный прогноз лечения имеет также то, каким образом была восстановлена анатомическая целостность эндодонтически пролеченного зуба. Пациенты, включенные в исследование, проходили реабилитацию либо путём пломбирования полости доступа композитным материалом с соблюдением адгезивного протокола, либо с применением ортопедических методов лечения: протезирования искусственной коронкой, в т.ч. с применением внутриканальных ретенционных элементов (стекловолоконных штифтов и штифтовых культевых вкладок). Данные, приведенные в таблице 4.8, свидетельствуют о том, что по

этому параметру статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения не наблюдалось ($p = 0,088$).

Таблица 4.8 — Реабилитация пациентов в основной группе и группе сравнения (абс., %)

Группы	Число наблюдений	Реабилитация	
		пломбирование полости	протезирование искусственной коронкой
Основная	35	17 (48,6 %)	18 (51,4 %)
Сравнения	20	15 (75,0 %)	5 (25,0 %)
Всего	55	32 (58,2 %)	23 (41,8 %)
p-value	$p = 0,088$		

Как и на предыдущем этапе, когда проводился анализ результатов молекулярно-генетического исследования, интерпретация результатов клинических и рентгенологических исследований включала в себя два этапа: оценку эффективности эндодонтического лечения в целом, вне зависимости от того, в какую группу была включена та или иная единица наблюдения, и сравнительная оценка методов лечения, применяемых в основной группе и группе сравнения. Результаты анализа представлены в виде таблиц.

Как видно в таблице 4.9, после завершения эндодонтического лечения наблюдалось статистически значимое ($p < 0,001$) уменьшение числа жалоб пациентов на болезненные ощущения в причинном зубе: до лечения среди всех пациентов данный симптом встречался в 61,82 % случаев, в то время как после лечения — в 10,91 % случаев.

Таблица 4.9 — Наличие у больных жалоб на боль до и после лечения во всей выборке пациентов (абс., %)

До лечения		После лечения	
абс.	%	абс.	%
34	61,82	6	10,91
$p < 0,001$			

В несвязанных основной группе и группе сравнения до лечения частота встречаемости жалобы на боль не отличалась ($p = 0,529$). При этом после лечения статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения, в которых применяли различные интраканальные противомикробные препараты, также не наблюдалось ($p = 0,657$) (таблица 4.10).

Таблица 4.10 — Число пациентов, предъявлявших жалобы на боль до и после лечения в основной группе и группе сравнения (абс., %)

Группы	До лечения		После лечения	
	абс.	%	абс.	%
Основная	22	62,9	3	15,0
Сравнения	12	60,0	3	8,6
p-value	p=0,529		p=0,657	

В таблице 4.11 приведены данные, иллюстрирующие наличие симптома болезненности при пальпации слизистой оболочки переходной складки в области причинных зубов и его динамику в ходе проведенной терапии. Как видно в таблице, в результате эндодонтического лечения происходило статистически значимое ($p < 0,001$) уменьшение количества положительных тестов: с уровня 36,36 % до 1,82 %.

Таблица 4.11 — Наличие симптома болезненности при пальпации слизистой оболочки переходной складки в области зубов до и после их лечения во всей выборке пациентов (абс., %)

До лечения		После лечения	
абс.	%	абс.	%
20	36,36	1	1,82
p<0,001			

В несвязанных основной группе и группе сравнения до лечения разница в частоте встречаемости симптома болезненности при пальпации была статистически не значима ($p = 0,248$). После лечения статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения не наблюдалось ($p = 0,636$) (таблица 4.12).

Таблица 4.12 — Наличие симптома болезненности при пальпации слизистой оболочки переходной складки в области зубов до и после их лечения у больных основной группы и группы сравнения (абс., %)

Группы	До лечения		После лечения	
	абс.	%	абс.	%
Основная	15	42,9	1	2,9
Сравнения	5	25,0	0	0
p-value	p = 0,248		p = 0,636	

Симптом болезненности при перкуссии зубов был зарегистрирован у 83,64 % всех пациентов, включенных в исследование. Как видно в таблице 4.13, в результате проведенного эндодонтического лечения наблюдалось статистически значимое ($p < 0,001$) уменьшение числа случаев болезненной перкуссии — она сохранялась у 18,18 % всех пациентов.

Таблица 4.13 — Наличие симптома болезненности при перкуссии зубов до и после их лечения во всей выборке пациентов (абс., %)

До лечения		После лечения	
абс.	%	абс.	%
46	83,64	10	18,18
$p < 0,001$			

В несвязанных основной группе и группе сравнения до лечения частота встречаемости данного симптома не отличалась ($p = 0,709$). После лечения с применением разных методик статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения также не наблюдалось ($p = 0,731$) (таблица 4.14).

Динамика заживления периапикальных радиолюцентных очагов представлена в таблице 4.15. При анализе всей выборки пациентов, по сравнению с рентгенологической картиной до лечения (100 % встречаемость изменений на рентгенограммах) — через 6 и 12 месяцев после проведенного эндодонтического лечения наблюдалось статистически значимое ($p < 0,001$) уменьшение количества рентгенологических признаков хронического воспалительного процесса. При

этом значимых различий при наблюдении через 6 и 12 месяцев после постоянного пломбирования корневых каналов обнаружено не было ($p = 0,089$).

Таблица 4.14 — Наличие симптома болезненности при перкуссии зубов до и после их лечения у больных основной группы и группы сравнения (абс., %)

Группы	До лечения		После лечения	
	абс.	%	абс.	%
Основная	30	85,7	7	20,0
Сравнения	16	80,0	3	15,0
p-value	p = 0,709		p = 0,731	

Таблица 4.15 — Наличие рентгенологических изменений в периапикальных тканях зубов: до лечения, через 6 и 12 месяцев после его завершения во всей выборке пациентов (абс., %)

До лечения		Через 6 мес		Через 12 мес	
абс.	%	абс.	%	абс.	%
55 _a	100,0	25 _b	45,5	11 _b	27,5
Наличие одинаковых буквенных индексов (a, b) в строке означает отсутствие статистически значимых различий между ячейками ($p > 0,05$)					

При сравнении результатов основной группы и группы сравнения были зафиксированы следующие факты (таблица 4.16). В ходе статистической обработки данных было обнаружено, что при проведении контрольного рентгенологического исследования через 6 месяцев разница между основной группой и группой сравнения отсутствовала ($p = 0,159$). Однако при проведении рентгенографии через 12 месяцев после завершения лечения различия между группами увеличивались, и р-критерий значимости этих различий был равен 0,047. Таким образом, преимущество методики антимикробной наноимпрегнации корня зуба с применением нового препарата на основе ГМК может быть зарегистрировано, начиная с 12 месяцев после постоянного пломбирования КК. Данная гипотеза может быть проверена при продолжении наблюдений за пациентами, включенными в обе группы, на протяжении 24 и 48 месяцев после завершения эндодонтического лечения.

Таблица 4.16 — Наличие рентгенологических изменений в периапикальных тканях зубов: до лечения, через 6 и 12 месяцев после его завершения у больных основной группы и группы сравнения (абс., %)

Симптомы	Основная группа		Группа сравнения	
	абс.	%	абс.	%
Рентгенологические изменения до лечения	35	100,0	20	100,0
Рентгенологические изменения через 6 месяцев	13	31,7	12	60,0
p-value	p = 0,159			
Рентгенологические изменения через 12 месяцев	5	17,9	6	50,0
p-value	p = 0,047			

Сводные данные, иллюстрирующие динамику клинических и рентгенологических показателей в основной группе и группе сравнения приведены в таблице 4.17 и показаны на графике типа forest-plot (рисунок 4.23). Исходя из представленных данных, отражающих шанс устранения того или иного симптома после проведенного лечения, вероятность исчезновения жалоб на боль в причинном зубе в 1,91 раза выше в основной группе, по сравнению с группой сравнения. Через 6 месяцев в основной группе в 2,47 раза чаще наблюдались рентгенологические признаки заживления периапикальных воспалительных очагов и регенерация костной ткани челюстей. В свою очередь, вероятность исчезновения болезненности при пальпации и перкуссии выше в группе сравнения в 4,76 и 1,38 раза, соответственно. Однако стоит принять во внимание, что статистическая значимость отношения шансов оценивалась, исходя из значений 95 %-го доверительного интервала. Учитывая этот факт, можно заметить, что для всех перечисленных выше объективных клинических критериев (жалобы на боль, болезненность при пальпации и перкуссии) доверительный интервал включал значение 1,0, т.е. статистическая разница между основной группой и группой сравнения по данным показателям отсутствовала. В то же время, при анализе данных рентгенологического обследования уже через 6 месяцев нижняя граница доверительного интервала при-

ближалась к единице, однако пересечение этого значения было зафиксировано только при повторном контрольном обследовании через 12 месяцев после завершения лечения. Таким образом, через 12 месяцев вероятность заживления радиолуцентного очага была в 4,82 раза выше в основной группе, где применялся новый интраканальный противомикробный препарат, — и эти различия были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Таблица 4.17 — Отношение шансов (ОШ) исчезновения симптомов и рентгенологических признаков периапикального воспалительного процесса у пациентов основной группы, по сравнению с группой сравнения

Симптомы		ОШ	L 95 % ДИ*	U 95 % ДИ**
Жалобы на боль		1,91	0,33	10,97
Болезненность при пальпации		0,21	0,01	12,22
Болезненность при перкуссии		0,72	0,18	2,95
Рентгенологические изменения	через 6 месяцев	2,47	0,83	7,38
	через 12 месяцев	4,82	1,08	21,48

* L 95 % ДИ — нижняя граница доверительного интервала
 ** U 95 % ДИ — верхняя граница доверительного интервала

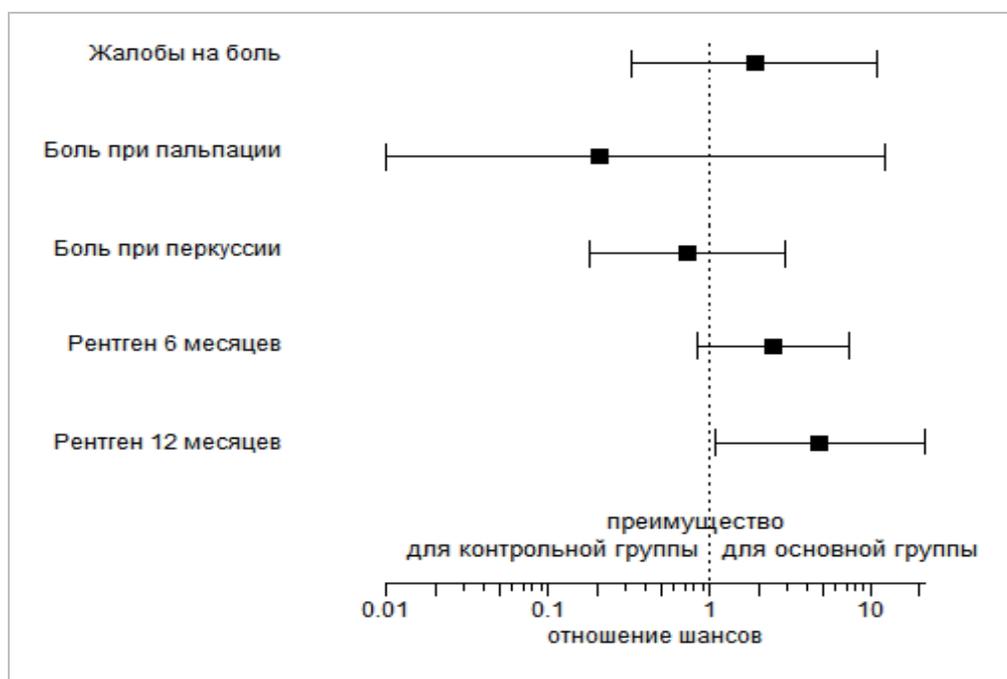


Рисунок 4.23 — Отношение шансов исчезновения симптомов и рентгенологических признаков периапикального воспалительного процесса у пациентов основной группы, по сравнению с группой сравнения

Клинические примеры

Пример 1. Больной Н.И.Е., 56 лет обратился с целью санации полости рта и подготовки к ортопедическому лечению. При обследовании: генерализованная повышенная стираемость зубов в переднем отделе обеих челюстей, перкуссия зубов 2.1, 2.2, 2.3 слабо болезненна. ЭОД этих зубов >100 мка. На внутриротовой рентгенограмме в области вершущек зубов 2.1, 2.2. и 2.3 имеются очаги разрежения костной ткани размерами до 3 мм в диаметре. Поставлен диагноз: К04.5 хронический апикальный периодонтит (гранулематозный) зубов 2.1, 2.2, 2.3. В первое посещение была осуществлена изоляция рабочего поля с помощью системы «Opti Dam», созданы полости доступа, проведена инструментальная обработка КК зубов 2.1, 2.2, 2.3 с их расширением до диаметров 035, 035 и 040 по ISO, соответственно. Проведена медикаментозная обработка КК 3 % раствором гипохлорита натрия (тремякратно с чередующимся промыванием 17 % раствором ЭДТА и 0,9 %-м раствором натрия хлорида). Измерена длина КК, которая составила 17, 18 и 19 мм, соответственно. Для изготовления нового комплексного противомикробного препарата *ex tempore* на бумажном блоке пластиковым шпателем смешали в соотношении 1 : 1 пасту гидроксокупрата кальция «Купрал»[®] и гидрозоль наночастиц серебра «НанАргол»[®]. С помощью К-файла размера № 25 по ISO препарат внесли в КК на всю рабочую длину и распределили по стенкам каналов. В каждом зубе устье КК было изолировано тефлоновой плёнкой, полость доступа закрывали временной повязкой «Парасепт» (рисунок 4.24-А, Б, В, Г).



А



Б



В



Г



Д

Рисунок 4.24 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зубов 2.1, 2.2 и 2.3 у больного Н.И.Е.:

А — КК подготовлены к лечению;

Б — КК заполнены комплексным противомикробным препаратом;

В — временная повязка на зубах;

Г — во второе посещение, КК запломбированы материалом «АН+» и гуттаперчевыми штифтами методом горячей конденсации;

Д — внутриротовая прицельная рентгенограмма зубов 2.1, 2.2, 2.3 через 6 месяцев после лечения

Через 7 дней, во время второго посещения, временные повязки были удалены, лечебный препарат был вымыт из КК стерильным 0,9 %-м раствором натрия хлорида. Затем КК высушивали и пломбировали с использованием в качестве силера «АН+» и гуттаперчевых штифтов методом латеральной конденсации. В конце лечения зубы пломбировали стеклополиалкенадным цементом светового отверждения «Кемфил». Через 6 месяцев провели контрольное рентгенографическое исследование, которое показало отсутствие дефектов костной ткани в периапикальной зоне (рисунок 4.24-Д).

Пример 2. Больная А.А.А., 48 лет обратилась с жалобами на периодически возникающие боли в области зуба 4.6 при накусывании, припухлость десны в этом месте. При обследовании: зуб 4.6 под обширной пломбой, краевое прилегание нарушено, перкуссия умеренно болезненна, пальпация по переходной складке в области зуба слабо болезненна, флюктуации нет. На конусно-лучевой компьютерной томограмме зуб 4.6 ранее депульпирован, КК запломбированы некачественно: в мезиальном корне пломбировочный материал в средней трети прослеживается неравномерно. В области верхушки мезиального корня имеется очаг деструкции костной ткани размерами около 8 мм в диаметре (рисунок 4.25-А). На основании клинической и рентгенологической картины поставлен диагноз: K04.5 хронический апикальный периодонтит (кистогранулема) зуба 4.6.

В первое посещение была осуществлена изоляция рабочего поля с помощью системы «Opti Dam», была удалена пломба, распломбированы КК в мезиальном и дистальном корнях: мезиально-щечный, мезиально-язычный, дистальный КК были расширены до диаметров 035, 035 и 040 по ISO, соответственно. Проведена медикаментозная обработка КК 3 % раствором гипохлорита натрия (тремякратно с чередующимся промыванием 17 % раствором ЭДТА и 0,9 %-м раствором натрия хлорида). Измерена длина КК, которая составила 16, 15 и 16 мм соответственно. Для приготовления комплексного противомикробного препарата *ex tempore* на бумажном блоке пластиковым шпателем смешали в соотношении 1:1 пасту гидроксокупрата кальция «Купрал»[®] и гидрозоль наночастиц серебра

«НанАргол»[®]. С помощью ручного инструмента «K-file» размера № 15 по ISO препарат внесли в КК на всю рабочую длину и распределили по стенкам канала. Устья КК были изолированы тефлоновой плёнкой, полость доступа закрывали временной повязкой «Парасепт» (рисунок 4.26).

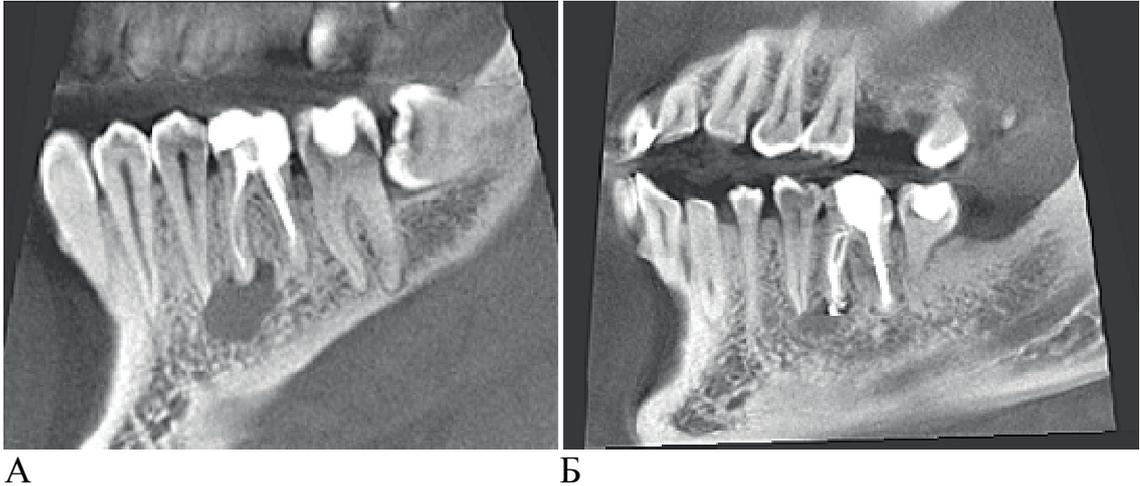


Рисунок 4.25 — Конусно-лучевая компьютерная томограмма нижней челюсти больной А.А.А. до (А) и после (Б) лечения (через 12 месяцев)

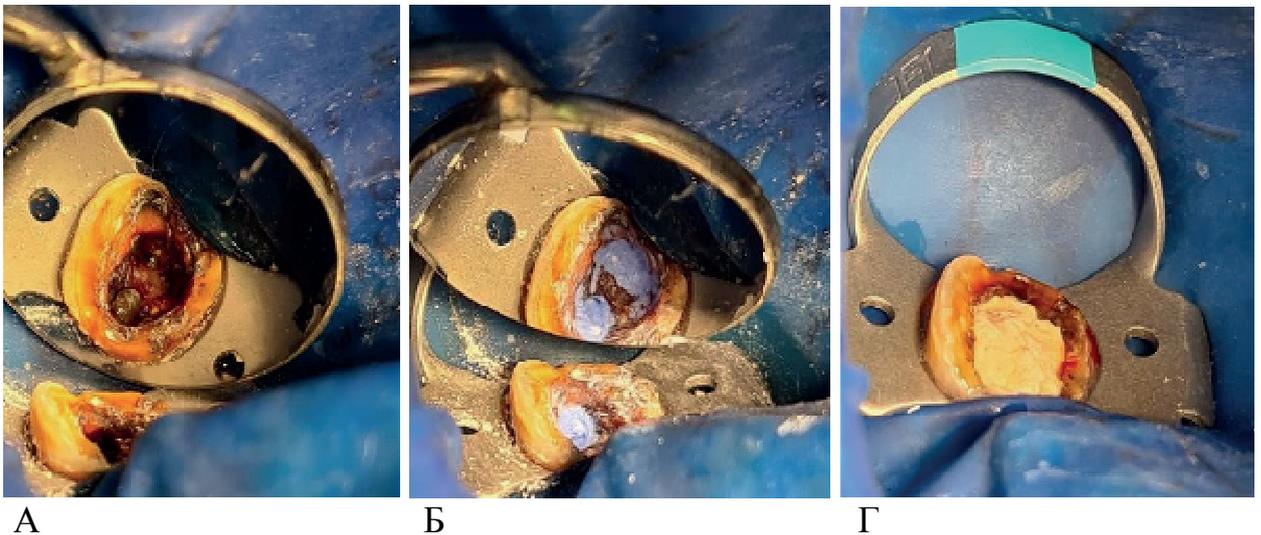


Рисунок 4.26 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зуба 4.6 у больной А.А.А.:

А — открыт доступ к КК зуба 4.6;

Б — КК зуба 4.6 заполнены комплексным противомикробным препаратом;

В — временная повязка на зубе 4.6.

Через 7 дней временная повязка была удалена, лечебный препарат вымыт из КК стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. КК высушивали и пломбировали с использованием силера «АН+» и гуттаперчевых штифтов комбинированным методом латеральной и вертикальной горячей конденсации. В конце лечения зубы пломбировали светотвердеющим композитным материалом «Filtec supreme». Через 12 месяцев провели контрольное рентгенографическое исследование, которое показало уменьшение диаметра дефекта костной ткани в периапикальной зоне (рисунок 4.25-Б).

Пример 3. Больная А.А.В., 33 лет обратилась с жалобами на дискомфорт в области зуба 2.6 при пережевывании твердой пищи. При обследовании: зуб 2.6 под пломбой, краевое прилегание не нарушено, перкуссия умеренно болезненна, пальпация по переходной складке безболезненна. На конусно-лучевой компьютерной томограмме зуб 2.6 ранее депульпирован, КК запломбированы до физиологического апекса. В области верхушки щечно-мезиального корня имеется очаг деструкции костной ткани размерами около 4 мм в диаметре (рисунок 4.27-А). На основании клинической и рентгенологической картины поставлен диагноз: К04.5 хронический апикальный периодонтит (гранулематозный) зуба 2.6.

В первое посещение была осуществлена изоляция рабочего поля с помощью системы «Коффердам», была удалена пломба, распломбированы КК, обнаружен не обработанный ранее дополнительный канал в медиальном щечном корне. Каналы МБ1, МБ2, дистальный щечный и небный каналы были расширены до диаметров 035, 030, 035 и 040 по ISO, соответственно. Проведена медикаментозная обработка КК 3 % раствором гипохлорита натрия (тремякратно с чередующимся промыванием 17 % раствором ЭДТА и 0,9 %-м раствором натрия хлорида). Измерена длина КК, которая составила 19, 15, 18 и 20 мм соответственно. Для приготовления комплексного противомикробного препарата *ex tempore* на бумажном блоке пластиковым шпателем смешали в соотношении 1:1 пасту гидроксиду кальция «Купрал»[®] и гидрозоль наночастиц серебра «НанАргол»[®]. С помощью ручного инструмента «K-file» размера № 15 по ISO препарат внесли в КК на всю рабочую длину и распределили по стенкам канала. Устья КК были изолированы тефлоновой плёнкой, полость доступа закрывали временной повязкой «Парасепт» (рисунок 4.28).



А

Б

Рисунок 4.27 — Конусно-лучевая компьютерная томограмма верхней челюсти больной А.А.В. до (А) и после (Б) лечения (через 12 месяцев)



А

Б

Рисунок 4.28 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зуба 2.6 у больной А.А.В.:

А — проведена механическая и медикаментозная обработка КК зуба 2.6;

Б — изоляция устьев КК зуба 2.6 тефлоновой лентой

Через 7 дней временная повязка была удалена, лечебный препарат вымыт из КК стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. КК высушивали и пломбировали с использованием силера «АН+» и гуттаперчевых комбинированным методом латеральной и вертикальной горячей конденсации. В конце лечения зубы пломбировали светотвердеющим композитным материалом «Filtec supreme». Контрольное рентгенографическое исследование, проведенное через 12 месяцев, показало отсутствие дефектов костной ткани в периапикальной зоне (рисунок 4.27-Б).

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Приступая к исследованию, мы основывались на знаниях о том, что эффективность современных методов эндодонтического лечения зубов, несмотря на множество разработанных для этого инструментов, приборов и приспособлений, остаётся невысокой и может быть увеличена. В ходе работы над обзором литературы, эта гипотеза была подтверждена опытом коллег в России и за рубежом. Анализируя источники, мы обратили внимание на то, что многие учёные и практикующие врачи указывают на то, что основной причиной неудач эндодонтического лечения хронического апикального периодонтита является резистентная микрофлора, персистирующая в труднодоступных участках системы корневых каналов (СКК) корня зуба [26]. Наиболее часто устойчивость к антисептикам проявляют микроорганизмы видов *E. faecalis* [285], *F. nucleatum*, *T. forsythia* [196]. При этом стоит помнить, что около 16 % случаев неудачи эндодонтического лечения связываются не с рецидивом перирадикулярной или внутрикорневой инфекции, а с потерей коронального герметизма и последующей колонизацией пространств корня зуба микроорганизмами ротовой жидкости, особенно в тех случаях, когда депульпированный зуб не был в плановом порядке покрыт искусственной коронкой [147]. В отдельных публикациях отмечается роль *Actinomyces israelii* — микроорганизма, присутствующего в составе зубного налёта [197].

На сегодняшний день существует множество исследований, в которых для медикаментозной обработки КК активно используются нанопрепараты металлов — серебра, меди, золота и др. — в связи с рядом особенностей, связанных с размером активных частиц, которые могут иметь позитивное клиническое значение. Характеристики и ключевые особенности изучаемых в настоящей диссертационной работе водных коллоидных растворов наночастиц серебра, меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) были описаны нами в ходе лабораторного электронно-микроскопического исследования, в то время как осмотические и диффузионные свойства нанопрепара-

тов на основе этих наночастиц были изучены на первом этапе клинико-лабораторного исследования на удалённых зубах. Многочисленные проведённые ранее в различных университетах мира испытания демонстрировали, что медикаментозная обработка с использованием наноструктурированных агентов является наиболее физиологичной, так как учитывает особенности гистологического строения дентина корня зуба, пронизанного системой микроскопических канальцев — дентинных трубочек. Даже «традиционные» препараты, приведённые в нанодисперсное состояние, например, гидроксид кальция, в эксперименте более активно проникали в дентин вследствие меньшего диаметра частиц [89]. Препарат гидроксокупрата кальция (гидроксида меди-кальция, ГМК) «Купрал»[®], выбранный нами для проведения лабораторных и клинических испытаний, изначально представлял собой нанодисперсную систему, включающую агломераты частиц размером несколько сотен нанометров. Однако в нашем исследовании была показана значительно бóльшая глубина проникновения в дентин частиц ГМК в случае разведения его суспензии гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II) вместо дистиллированной воды. При этом данный эффект достигался не только за счёт дополнительной пептизации агрегатов ГМК с формированием частиц меньшего диаметра, но и благодаря аккумуляции более крупными частицами ГМК высокой поверхностной энергии нанодисперсных частиц металлов. Это, по-видимому, способствовало более активному перемещению частиц препарата по ДТ, в соответствии с градиентом концентрации. Таким образом, на первом этапе клинико-лабораторного исследования максимальная глубина, на которой обнаруживалось следовое присутствие меди, составила 500 мкм.

Эти данные согласуются с результатами, полученными рядом других исследователей, чья область научных интересов распространяется на разработку новых эндодонтических антисептиков и эффективную стерилизацию СКК корня зуба. Так, для анализа доступны данные, утверждающие, что в ходе аппликации в КК водной пасты гидроксида кальция, её компоненты могут проникать в дентин на глубину до 400 мкм [187]. В 2021 году F. Elmsari с соавт. опубликовали исследование, в котором участвовал препарат, содержащий сложные частицы диаметром 140 нм, со-

стоящие из гидроокиси кальция, адсорбированной на полилактидном полимере PLGA [72]. Частицы такого препарата проникали в дентин на глубину до 1000 мкм. После биологической деградации полилактидного носителя происходило «освобождение» активного компонента. Преимущества модифицированного препарата гидрооксипрата кальция, предлагаемого в настоящем исследовании, над препаратами ГК заключаются не только в сопоставимой глубине импрегнации ДТ, но и, в первую очередь, в использовании антибактериального потенциала ионов меди, механизмы которого были подробно описаны в обзоре литературы (п. 1.3.3). Кроме того, согласно результатам первого этапа клинико-лабораторного исследования, для эффективной обработки ДТ новым препаратом ГМК, гидрозоля меди и её оксидов достаточно позиционирования суспензии в КК в течение 7 дней. В то же время, рекомендуемые производителями сроки аппликации препаратов ГК составляют от 14 до 21 суток и более, с возможной заменой препарата.

Отдельно стоит отметить преимущества выбранного способа синтеза гидрозолей наночастиц металлов. Метод конденсации низкотемпературной плазмы, предполагающий диспергирование металлических электродов под действием электрического разряда, позволил нам получить агрегативно устойчивые гидрозоли (что было подтверждено измерениями дзета-потенциала частиц дисперсной фазы), содержащие сферические частицы серебра, меди и её оксидов с диаметром 1,7-7,5 нм и 0,5-2 нм соответственно. Методы синтеза наночастиц металлов, при которых используются мощные разряды в жидкости, известны учёным. Так, А. Hamdan и X. Glad воздействовали на медные электроды импульсным электрическим полем и получили в водном растворе отдельные наночастицы меди и оксида меди (II) диаметром 5–20 нм [158]. Т. Hesabizadeh с соавт. показали, что с помощью импульсной лазерной абляции можно синтезировать наночастицы соединений меди размером до 20 нм, причём чем больше было прикладываемое напряжение, тем более продолговатую форму имели частицы [133]. Химические методы синтеза металлических частиц, основанные на проведении окислительно-восстановительных реакций, успешно применяются для имплантации наночастиц на твёрдые поверхности (в первую очередь, титановые имплантаты), но, по наше-

му мнению, оказываются недостаточно эффективными для получения стабильных водных нанодисперсных систем. Например, наночастицы оксида меди (II), полученные A. Abbasi с соавт. путём восстановления сульфата меди в боргидриде натрия, после центрифугирования имели размеры 30–60 нм и представляли собой агломераты трудно дифференцируемых частиц, плотно связанных друг с другом диффузионными контактами [266]. Данная проблема не решается и при использовании метода электролиза. При использовании в качестве анода и катода платиновой и вольфрамовой пластины соответственно, а в роли раствора электролита — раствора нитрата серебра, в тлеющем разряде M. Shepida с соавт. получили агломераты частиц серебра размером около 70–90 нм [200]. Многочисленные способы синтеза наночастиц серебра, позиционируемые как более экологичные, по сути своей являются вариантами «восстановительного» химического синтеза, отличающимися лишь используемыми субстратами, выделенными из различных видов организмов — растений, бактерий или грибов. Так, частицы, синтезированные путём взаимодействия между водным раствором нитрата серебра и бесклеточными филтрататами почвенных бактерий, имеют размеры от 10–12 до 60 нм [69, 259]. Другой «зелёный» способ синтеза, предполагающий использование экстракта листьев *M. parviflora*, позволяет получить сферические частицы серебра со средним диаметром 50,6 нм [68]. Суспензии, полученные любым из описанных способов, уступают гидрозолям, используемым в настоящем исследовании, как по степени дисперсности, так и по коллоидной устойчивости, а также с точки зрения наличия посторонних примесей.

Следующей задачей, которую мы решали в ходе научного поиска, было сравнение антибактериальной и клинической эффективности новой методики работы с модифицированным препаратом ГМК, по сравнению с традиционными методами лечения, а именно с методиками, основанными на применении препаратов ГК, в соответствии с клиническими рекомендациями. Описанию результатов посвящена 4 глава. Для наиболее объективного анализа полученных результатов стоит принять во внимание следующие ограничения, с которыми мы столкнулись при планировании и осуществлении данного этапа исследования:

- В большинстве случаев, нами был проведен анализ двухмерных рентгенограмм, а не данных трёхмерных методов рентгенологического исследования, т.к. не все пациенты располагали финансовой возможностью осуществить двукратную КЛКТ (до и после лечения);
- Вследствие короткого срока наблюдения за пациентами (6 и 12 месяцев) некоторые результаты заживления периапикальных тканей, как в основной группе, так и в группе сравнения, могли быть ложно идентифицированы как отрицательные. По данным D. Orstavik, пики регенерации костной ткани челюстей могут быть зарегистрированы также через 24 и 48 месяцев после завершения лечения [224]. С другой стороны, при увеличении сроков наблюдения, могла бы быть отмечена и отрицательная динамика;
- В ходе исследования не удалось сформировать группы, в которые были бы включены исключительно пациенты, реабилитация которых проводилась бы ортопедическими методами (в первую очередь, путём протезирования искусственной коронкой). Как уже было отмечено ранее, по данным исследователей, прогноз эндодонтического лечения зависит не только от надёжного апикального герметизма, но и от адекватности коронального герметизма, который может быть достигнут, в большинстве случаев, только с помощью изготовления ортопедической конструкции.

Кроме того, в разделе 2.3.2.2. уже были упомянуты некоторые ограничения, связанные с реализацией молекулярно-генетического исследования биологического материала из КК, взятого до и после проведенного лечения. Специализированные тест-системы для определения патогенов, вызывающих заболевания пульпы и периодонта, в настоящее время отсутствуют, причём не только в РФ и странах СНГ, но и в принципе. Ранее уже было отмечено, что в используемой в настоящем исследовании тест-системе «Дентокрин» отсутствуют реагенты для детекции *E. faecalis* — микроорганизма, считающегося наиболее устойчивым к противомикробному лечебному воздействию. Однако последние молекулярно-генетические исследования указывают на то, что существует определенная корреляция между присутствием в КК и перирадикулярных тканях бактерий вида *E.*

faecalis и микроорганизмов, составляющих «красный комплекс» пародонтопатогенов, в первую очередь, *T. denticola*, *P. gingivalis*, и *T. forsythia* [52]. При первичной эндодонтической инфекции — т.е. в случае, когда микроорганизмы колонизируют некротизированную пульпу — наиболее распространенными инфекционными агентами изначально являются виды *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Bacteroides forsythii* [251]. Причём, согласно полученным данным, *T. denticola* обнаруживается чаще остальных — в 44 % случаев. Из гнойного экссудата, полученного при вскрытии перирадикулярных абсцессов, спирохетальная ДНК выделяется в 89 % случаев — при этом генетический материал *T. denticola* регистрируется у 79 % пациентов [265]. X. Sun с соавт. отмечают, что родовое представительство *Treponema* значительно возрастает в случае хронического гранулирующего периодонтита, т.е. процесса, сопровождающегося формированием свищевого хода [198]. В ПЦР-исследовании, проведенном в 2005 году, F. Foschi с соавт. показали, что несмотря на то, что хронический апикальный периодонтит статистически значимо ассоциируется с присутствием *E. faecalis*, при его обострении резко доминирующими становятся именно микроорганизмы *T. denticola* [106]. D. Cogulu с соавт. также отмечают связь между этими видами микроорганизмов, причём как в случае хронической инфекции постоянных зубов, так и в случае периодонтита временных зубов [231]. Более слабая синергия отмечается между *E. faecalis* и *P. gingivalis* [195, 230]. Однако несмотря на это, *P. gingivalis* часто выбирается в качестве «контрольного» микроорганизма при оценке противомикробного эффекта различных внутриканальных медикаментов [245]. Таким образом, применение тест-системы «Дентоскрин», позволяющей идентифицировать, в том числе, ДНК микроорганизмов *T. denticola*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* и др. является обоснованным и репрезентативным для сравнительной оценки антибактериальной активности интраканальных препаратов ГК и ГМК. Основываясь на зарегистрированном в нашем исследовании статистически значимом уменьшении количества бактериальной ДНК, характерной для видов *T. denticola*, *P. gingivalis* и *T. forsythia*, в группе, где применяли новый препарат на основе ГМК и гидрозоля наночастиц серебра, можно предположить аналогичный эффект данно-

го препарата по отношению к *E. faecalis* и другим микроорганизмам, связанным с развитием хронического периапикального воспалительного процесса и неудачами эндодонтического лечения.

Выбранный для оценки антибактериальных свойств нового препарата метод ПЦР в реальном времени достаточно широко применяется в исследовательской практике, в том числе и в сфере терапевтической стоматологии и эндодонтии, при сравнении различных методов антисептической обработки СКК зубов. Так, в публикации 2011 года отмечается, что, несмотря на значительную редукцию количества микроорганизмов после хемомеханической обработки (до 67 %), в КК оставалась устойчивая разнообразная бактериальная флора [255]. Эти данные согласуются с данными настоящей диссертационной работы. Несмотря на то, что в ходе клинико-лабораторного исследования не было взято дополнительного пула проб после механической и медикаментозной обработки КК, сохранение бактериальной контаминации даже после позиционирования интраканальных медикаментов (как в основной группе, так и в группе сравнения) подтверждает высокую резистентность эндодонтической микрофлоры, провоцирующей периапикальный воспалительный процесс.

Выбор препарата, применяемого в группе сравнения, был обусловлен широкой популярностью гидроксида кальция среди практикующих врачей-стоматологов. Преимущества, недостатки и механизм бактерицидного действия ГК были описаны в главе 1.3.2. В настоящее время продолжается дискуссия о том, какой антисептик лучше применять при повторном эндодонтическом лечении. Формируется консенсус, заключающийся в том, что в случаях рецидивирующей инфекции, чаще всего ассоциированной чаще всего с микроорганизмами вида *E. faecalis*, более рационально использовать для медикаментозной обработки СКК не ГК, а препараты хлоргексидина (ХГ) [110]. Для временного позиционирования в КК этот препарат используется в виде 2 % гелей. Его эффективность подтверждается как бактериологическими исследованиями [14], так и молекулярно-генетическими методами [28]. Однако в публикации 2022 года S. Ersahan и Y.E. Nersenoglu указывают на то, что, по данным ПЦР в реальном времени, по отно-

шению к *E. faecalis* препараты ГК и ХГ демонстрируют сопоставимый эффект — без статистически значимых различий [141]. Отметим, что S. Ersahan и Y.E. Nersenoglu проводили свой эксперимент с участием добровольцев — пациентов с хроническим апикальным периодонтитом — в то время как в упомянутых выше исследованиях материалом являлись удаленные зубы, искусственно контаминированные штаммами *E. faecalis* в лабораторных условиях. Важно, что при оценке редукции общего количества бактерий различных видов ГК был даже более эффективен, чем ХГ. Это коррелирует с данными, полученными другими учёными. Так, T.M. Duque с соавт., в ходе молекулярно-генетического исследования биологического материала из КК подтвердили эффект водной пасты ГК по отношению к *F. nucleatum* [89], N. Stojanović с соавт. — по отношению к *P. gingivalis* [245], Barbosa-Ribeiro M с соавт. — к бактериям вида *T. denticola* [199], а I.N. Rôças с соавт. — к различным видам стрептококков [254]. Таким образом, выбор водной пасты ГК в качестве препарата, используемого для аппликации в КК в группе сравнения — как в случаях первичного эндодонтического лечения, так и при повторном вмешательстве — соответствовал как биологическим свойствам данного материала, так и международному исследовательскому опыту его применения.

Клинические результаты, полученные в ходе лечения пациентов, включенных в настоящее диссертационное исследование, не вступают в противоречие с данными проведенных ранее исследований. Как было показано в главе 4.3, улучшение объективных показателей наблюдалось у всех больных: как в основной группе, где использовался новый препарат на основе ГМК, так и в группе сравнения. В первую очередь, это связано с тем, что протоколы механической и медикаментозной обработки КК, во время которых происходит основная элиминация микроорганизмов, были одинаковы в обеих группах. Новый препарат на основе ГМК и наночастиц серебра продемонстрировал купирование болевого синдрома, а также явлений болезненности при перкуссии зуба и пальпации слизистой оболочки в области переходной складки, аналогичные с препаратом ГК. В проведенных ранее исследованиях отмечалась высокая эффективность ГК как препарата, уменьшающего вероятность сохранения боли в причинном зубе после проведенного ле-

чения и его перкуторной чувствительности [116, 165]. Однако в проспективном плацебо-контролируемом исследовании, в которое были включены 64 пациента с диагнозом хронический апикальный периодонтит, R.D. Singh с соавт. показали, что по сравнению с 2 % гелем на основе хлоргексидина препарат ГК работает более медленно — болевой синдром у пациентов исчезал на 2–3 сутки, в то время как после временного заполнения КК гелем боль купировалась через 24 часа [178]. Эти данные согласуются с результатами ряда других исследований [90, 132].

Одно из главных преимуществ ГК, обуславливающих его широкое применение при консервативном лечении деструктивных форм апикального периодонтита, — высокий остеорегенерирующий потенциал пасты, насыщенной ионами Ca^{2+} [154]. Так, A.Q. Khasawnah с соавт. сообщают о заживлении радиолуцентных очагов диаметром от 4 до 8 мм в течение 75 дней у пациентов, которым было проведено консервативное лечение с применением препаратов ГК [212]. Данные настоящего исследования подтверждают их высокую эффективность: через 6 месяцев после завершения эндодонтического лечения у 40,0 % пациентов группы сравнения наблюдались рентгенологические признаки заживления костной ткани.

В 2021 году A. Meto и E. Droboniku с соавт. провели эксперимент, близкий по дизайну к настоящему исследованию. Было проведено эндодонтическое лечение по поводу хронического апикального периодонтита 132 пациентов. 62 зуба перед постоянным пломбированием на 14 дней заполнялись пастой ГК, в то время как в 80 зубах проводилась процедура депофореза ГМК [92]. При рентгенологическом исследовании, проводимом после лечения, в группе, где применяли ГМК, наблюдалась динамичная регенерация — разница между двумя группами стала статистически значимой через 12 месяцев, что соотносится с данными, полученными на третьем этапе настоящего клинико-лабораторного исследования. Тенденция сохранялась и при более отдаленном сроке наблюдения — через 18 месяцев. При этом преимущество предлагаемой в настоящем исследовании методики работы с новым препаратом ГМК заключается в том, что аналогичные результаты были достигнуты без применения дополнительного электрофоретического воздействия и в более короткий срок.

Таким образом, данные клинических наблюдений и молекулярно-генетических тестов позволяют предположить, что новый препарат на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди, оксидов меди (I, II) и серебра (а также сходного по химическому строению дисперсной фазы гидрозоля наночастиц меди и её оксидов) может быть использован при лечении хронического апикального периодонтита в качестве препарата выбора, наряду с медикаментами на основе ГК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем диссертационном исследовании предпринята попытка обосновать принципы консервативного лечения хронического апикального периодонтита с помощью нового метода наноимпрегнации системы корневых каналов и дентинных трубочек корня зуба комплексным препаратом ГМК и гидрозолей наночастиц металлов (меди, оксида меди (I), оксида меди (II) и серебра). Для этого проведены лабораторное сравнительное электронно-микроскопическое исследование комплексных препаратов, а также три этапа клинико-лабораторных исследований, в ходе которых удалось оценить эффективность этой методики современными высокоинформативными методами. В ходе первого этапа были изучены пространственные характеристики процесса импрегнации СКК; на втором этапе определена противомикробная активность нового комплексного препарата ГМК и наночастиц металлов; на третьем этапе — подтверждена эффективность новой технологии в ходе лечения и наблюдения за больными с помощью клинических и рентгенологических методов. Доказана высокая эффективность метода наноимпрегнации при лечении одно- и многокорневых зубов с хроническим апикальным периодонтитом.

Применение технологии рекомендовано у пациентов с диагнозом хронический апикальный периодонтит в составе традиционного эндодонтического лечения с целью повышения его эффективности.

Перспективы дальнейшего использования результатов исследований

Полученные результаты исследований позволят в дальнейшем обосновать и развивать концепцию лечения зуба как микро- и наноструктурированного органа. Настоящее исследование открывает широкий горизонт возможностей для разработки новых методов дозированной доставки противомикробных препаратов в глубину дентина и их депонирования в нем с целью предупреждения рецидива инфекционного процесса. Такие методы не будут требовать дополнительных физиотерапевтических воздействий и дорогостоящих приборов.

Предложенные методы лечения могут дополняться и совершенствоваться, в частности, в ходе сертификации и государственной регистрации новых лекарственных препаратов, содержащих наночастицы металлов и их оксидов. В частности, в начале 2022 года прошел испытания и получил декларацию о соответствии концентрат коллоидного раствора наночастиц серебра и меди под коммерческим названием «Нанаргол Про».

ВЫВОДЫ

1. По результатам анализа информационных источников установлено, что препараты на основе наночастиц металлов обладают выраженной противомикробной активностью. Водные коллоидные дисперсии гидроксида меди-кальция, обладающего, помимо противомикробного, obtурирующим действием, также обеспечивают эффективную деконтаминацию пространств корневого дентина, что является необходимым условием качественного эндодонтического лечения зубов.

2. В гидрозолях наночастиц меди, оксида меди (I, II) и серебра ГМК образует комплексную наноразмерную структуру: наночастицы дисперсной фазы проникают внутрь поверхностного слоя частиц ГМК, проявляя свойства поверхностно-активного вещества. Это приводит к разрушению коагуляционных контактов между агрегатами частиц ГМК и аккумуляции ими высокой удельной поверхностной энергии наночастиц металлов.

3. Частицы комплексного препарата ГМК и гидрозолей наночастиц меди, её оксидов и серебра, имеющие размеры $287 \pm 23,4$ нм, за счет диффузии проникают в пространства дентина, включая дентинные трубочки, на глубину до 500 мкм без дополнительных физиотерапевтических воздействий, то есть способствуют наноимпрегнации дентина корня зуба.

4. В ходе реализации метода пассивной наноимпрегнации дентина корня зуба комплексным препаратом ГМК и гидрозолей наночастиц металлов происходит более активная, по сравнению с традиционными препаратами на основе ГК, элиминация патогенных бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* в СКК. С учетом корреляции представительства этой микрофлоры в корневых каналах зубов с другими агрессивными эндодонтопатогенами, достигается деконтаминация

СКК. Бактерицидных эффект нового препарата по отношению к микроорганизмам видов *P. intermedia*, *F. nucleatum* и *A. actinomycetemcomitans* выражен, но сопоставим с таковым, характерным для препаратов ГК.

5. Дополнительное применение пассивной наноимпрегнации новым комплексным нанопрепаратом при его экспозиции в корневом канале зуба в течение 7 суток позволяет в дальнейшем использовать традиционный протокол эндодонтического лечения хронического апикального периодонтита.

6. Дополнительное применение нового комплексного нанопрепарата в качестве препарата выбора для временной экспозиции в КК при лечении хронических форм апикального периодонтита в ближайшие сроки наблюдения обеспечивает положительную клиническую и рентгенологическую динамику: в 1,91 раза более высокую вероятность исчезновения болевого синдрома в течение 7 дней после первого посещения; в 2,47 раза более активную регенерацию костной ткани в периапикальной зоне через 6 месяцев, в 4,82 раза более активную — через 12 месяцев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности лечения хронического апикального периодонтита целесообразно включать в протокол эндодонтического лечения предложенный метод пассивной наноимпрегнации системы корневых каналов и дентинных трубочек корня зуба.

2. В качестве источника наночастиц предлагается использовать гидрозоль наночастиц серебра, полученный методом конденсации низкотемпературной плазмы в искровом разряде.

3. При планировании серийного производства препарата для реализации метода пассивной наноимпрегнации системы корневых каналов и дентинных трубочек корня зуба рекомендуется разработка двухкомпонентной системы: пасты гидроксидфосфата кальция и жидкости, содержащей наночастицы серебра. Перед применением компоненты препарата рекомендуется смешивать пластиковым шпателем на бумажном блоке в объемном соотношении 1:1.

4. Алгоритм пассивной наноимпрегнации предполагает 2 визита пациента в клинику и заключается в следующем. Во время первого посещения проводится

изоляция рабочего поля, создание доступа к устьям корневых каналов, механическая обработка каналов ручными и машинными инструментами до минимального диаметра, соответствующего инструментам № 30 по ISO. Для медикаментозной обработки каждого корневого канала рекомендуется применение 5 мл водного раствора гипохлорита натрия (3,25 %) в течение 10 минут с заменой препарата через каждые 2 минуты, 5 мл водного раствора ЭДТА (17 %) в течение 1 минуты и 5 мл раствора хлорида натрия (0,9 %) в течение 30 секунд. Комплексный препарат гидрокоскупрата кальция и гидрозоль наночастиц серебра на каналонаполнителе или ручном инструменте типа «K-file» вносится в канал на всю рабочую длину и распределяется по стенкам. В апикальную треть препарат может быть доставлен на кончике откалиброванного гуттаперчевого штифта. Устья изолируются тефлоновой лентой, полость доступа закрывается временной повязкой. Во время второго посещения через 7 дней проводится удаление временной повязки, тефлоновой ленты. Комплексный препарат удаляется из корневого канала путём вымывания стерильным 0,9 %-м раствором натрия хлорида. Повторной ирригации антисептическими растворами не требуется. Корневой канал высушивается с помощью бумажных абсорберов и рекомендуется его пломбировать гуттаперчей и силером на основе эпоксидных смол комбинированным методом: для герметизации апикальной трети корневого канала использовали методику латеральной конденсации, для пломбирования средней и коронковой трети — метод горячей вертикальной конденсации гуттаперчи.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

СКК — система корневых каналов

КК — корневой канал

ДТ — дентинные трубочки

ГМК — гидроксид меди-кальция (гидроксокупрат кальция)

ГК — гидроксид кальция

ГФ — гальванофорез

ПЦР — полимеразная цепная реакция

ЭГЭ — электрогидравлический эффект

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ

Гальванофорез — введение электрически заряженных частиц лекарственного препарата в ткани с помощью гальванического тока, создаваемого гальваническим элементом.

Наноимпрегнация — пропитывание твердых тканей зуба (главным образом дентина корня) наночастицами лекарственного препарата, которое становится возможным благодаря наличию в зубе разветвленной системы каналов и микроканалов, а также дентинных трубочек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Заблоцкая, М.В. Лечение острого апикального периодонтита с применением метода депофореза и холодной аргоновой плазмы / М.В. Заблоцкая, А.В. Митронин, Н.В. Заблоцкая // Смоленский медицинский альманах. — 2018. — № 1. — С. 109–112.
2. Кеннет М. Харгривз. Эндодонтия / Кеннет М. Харгривз, Луис Г. Берман ; науч. ред. пер. А.В. Митронин. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. — 1040 с.
3. Особенности применения депофореза гидроокиси меди-кальция при различных формах хронического периодонтита / Л.В. Дерябина, А.В. Смирнова, П.В. Дерябин [и др.] // Эндодонтия today. — 2014. — Т. 12, № 3. — С. 68–71.
4. Отдельнова, К.А. Определение необходимого числа наблюдений в социально-гигиенических исследованиях / К.А. Отдельнова // Комплексные социально-гигиенические и клиничко-социальные исследования: тр. 2-го МРГМИ. — Москва, 1980. — № 6. — С. 18–22.
5. Петрикас, А.Ж. Распространенность осложнений кариеса зубов / А.Ж. Петрикас, Е.Л. Захарова, Е.Б. Ольховская // Стоматология. — 2014. — № 1 (93). — С. 19–20.
6. Повышение эффективности эндодонтического лечения зубов с применением новой наноимпрегнационной технологии / В.А. Румянцев, А.В. Блинова, Г.А. Фролов [и др.] // Medicine, science and education: scientific and informational journal. — 2020. — № 30. — С. 108–112.
7. Применение физиотерапевтических методов при эндодонтическом лечении / О.В. Гордеева, А.И. Иваненко, И.В. Старикова [и др.] // Colloquium-journal. — 2018. — № 11–2. — С. 61–63.
8. Румянцев, В.А. Новый метод комплексного лечения эндодонтопародонтальных поражений с помощью наноимпрегнации и купрал-

- кюретажа / В.А. Румянцев, Т.А. Федотова, М.В. Заблоцкая // Тверской медицинский журнал. — 2018. — № 1. — С. 34–45.
9. Румянцев, В.А. Эффективность эндодонтической наноимпрегнации и купрал-кюретажа в комплексном лечении эндодонто-пародонтального синдрома / В.А. Румянцев, Т.А. Федотова, Ю.И. Юсупова // Международный научно-исследовательский журнал. — 2017. — № 10–2 (5). — С. 44–48.
 10. Саидова, Л.А. Микробиологическая оценка эффективности применения депо- и апекс-фореза в комплексном лечении хронического верхушечного периодонтита / Л.А. Саидова, Ш.Ш.К. Рамазонова // Молодой ученый. — 2019. — Т. 265, № 27. — С. 77–79.
 11. Трущелёв, С. Медицинская диссертация: современные требования к содержанию и оформлению: руководство / С. Трущелёв. — 4-е изд. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 496 с.
 12. Ультроструктурная характеристика твердых тканей корня зуба при пульпитах. Феномен формирования в дентине инфицированных очагов деструкции / Л.А. Фаустов, В.К. Леонтьев, В.Л. Попков [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина, фармация. — 2011. — № 16–1. — С. 93–99.
 13. Чепурова, Н.И. Использование депофореза гидроокиси меди кальция при лечении хронического периодонтита с труднопроходимыми корневыми каналами / Н.И. Чепурова, И.Г. Романенко // Вестник физиотерапии и курортологии. — 2018. — № 2 (24). — С. 120–120.
 14. A comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of calcium hydroxide, chlorhexidine gel, and a curcumin-based formulation against *Enterococcus faecalis* / R.K. Yadav, A.P. Tikku, A. Chandra [et al.] // National journal of maxillo-facial surgery. — 2018. — № 1 (9). — P. 52.
 15. A comparative evaluation of the effect of various additives on selected physical properties of white mineral trioxide aggregate / A. Prasad, S. Pushpa, D. Arunagiri [et al.] // Journal of conservative dentistry. — 2015. — № 3 (18). — P. 237–241.

16. A mesoporous silica biomaterial for dental biomimetic crystallization / Y.C. Chiang, H.P. Lin, H.H. Chang [et al.] // *ACS nano*. — 2014. — № 12 (8). — P. 12502–12513.
17. A modified resin sealer: physical and antibacterial properties / J. Seung, M.D. Weir, M.A.S. Melo [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2018. — № 10 (44). — P. 1553–1557.
18. A multifunctional antibacterial and osteogenic nanomedicine: QAS-modified core-shell mesoporous silica containing ag nanoparticles / D. Li, Y. Qiu, S. Zhang [et al.] // *BioMed research international*. — 2020. — № 1 (19). — P. 1–15.
19. A scanning electron microscope analysis of sealing potential and marginal adaptation of different root canal sealers to dentin: an in vitro study / G. Patri, P. Agrawal, N. Anushree [et al.] // *J Contemp dent pract*. — 2020. — № 1 (21). — P. 73–77.
20. A study of 3D-printable reinforced composite resin: PMMA modified with silver nanoparticles loaded cellulose nanocrystal / S. Chen, J. Yang, Y.G. Jia [et al.] // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2018. — № 12 (11). — P. 2444–2444.
21. A 12-month follow-up of primary and secondary root canal treatment in teeth obturated with a hydraulic sealer / G. Bardini, L. Casula, E. Ambu [et al.] // *Clinical oral investigation*. — 2021. — № 5 (25). — P. 2757–2764.
22. Abbasi, M.R. Modified POSS nano-structures as novel co-initiator-crosslinker: Synthesis and characterization / M.R. Abbasi, M. Karimi, M. Atai // *Dental materials: official publication of the academy of dental materials*. — 2021. — № 8 (37). — P. 1283–1294.
23. Afkhami, F. Spectrophotometric analysis of crown discoloration following the use of silver nanoparticles combined with calcium hydroxide as intracanal medicament / F. Afkhami, S. Elahy, A. Mahmoudi-Nahavandi // *Journal of clinical and experimental dentistry*. — 2017. — № 7 (9). — P. 842–847.
24. Ag- and Sr-enriched nanofibrous titanium phosphate phases as potential antimicrobial cement and coating for a biomedical alloy / I. García, C. Trobajo, Z.

- Amghouz [et al.] // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2021. — № 126. — P. 1–13.
25. Ag-plasma modification enhances bone apposition around titanium dental implants: an animal study in Labrador dogs / S. Qiao, H. Cao, X. Zhao [et al.] // *International journal of nanomedicine*. — 2015. — № 10. — P. 653–664.
26. Alghamdi, F. The influence of enterococcus faecalis as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: a systematic review / F. Alghamdi, M. Shakir // *Cureus*. — 2020. — № 3 (12). — P. 7257–7257.
27. Alikhani, A. Effect of intracanal glass-ionomer barrier thickness on microleakage in coronal part of root in endodontically treated teeth: an in vitro study / A. Alikhani, M. Babaahmadi, N. Etemadi // *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*. — 2020. — № 1 (21). — P. 1–5.
28. An in vivo comparative evaluation of antimicrobial efficacy of chitosan, chlorhexidine gluconate gel and their combination as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis* in failed endodontic cases using real time polymerase chain reaction (qPCR) / A. Savitha, A. SriRekha, R. Vijay [et al.] // *The Saudi dental journal*. — 2019. — № 3 (31). — P. 360–366.
29. Analysis of demineralized chemical substances for disinfecting gutta-percha cones / G.T. Candeiro, E. Akisue, F. Campelo Correia [et al.] // *Iranian endodontic journal*. — 2018. — № 3 (13). — P. 318–322.
30. Analysis of sodium hypochlorite effect on dentin structural components / Z.S. Khabadze, J.A. Generalova, V.S. Shubaeva [et al.] // *Endodontics Today*. — 2020. — № 3 (18). — P. 61–66.
31. Anodised TiO₂ nanotubes as a scaffold for antibacterial silver nanoparticles on titanium implants / U.F. Gunpath, H. Le, R.D. Handy, C. Tredwin // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2018. — № 91. — P. 638–644.
32. Antibacterial activity against staphylococcus aureus of titanium surfaces coated with graphene nanoplatelets to prevent peri-implant diseases. An in vitro pilot study

- / N. Pranno, G. La Monaca, A. Polimeni [et al.] // *International journal of environmental research and public health*. — 2020. — № 5 (17). — P. 1568–1568.
33. Antibacterial amorphous calcium phosphate nanocomposites with a quaternary ammonium dimethacrylate and silver nanoparticles / L. Cheng, M.D. Weir, H.H. Xu [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials*. — 2012. — № 5 (28). — P. 561–572.
34. Antibacterial and cytotoxic evaluation of copper and zinc oxide nanoparticles as a potential disinfectant material of connections in implant provisional abutments: an in vitro study / D. Vergara-Llanos, T. Koning, M.F. Pavicic [et al.] // *Archives of oral biology*. — 2021. — № 122. — P. 105031.
35. Antibacterial, biological, and physicochemical properties of root canal sealers containing chlorhexidine-hexametaphosphate nanoparticles / N.K. Carvalho, A.F.A. Barbosa, B.P. Coelho [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials*. — 2021. — № 5 (37). — P. 863–874.
36. Antibacterial copper-hydroxyapatite composite coatings via electrochemical synthesis / R. Ghosh, O. Swart, S. Westgate [et al.] // *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*. — 2019. — № 17 (35). — P. 5957–5966.
37. Antibacterial effect of silver nanoparticle gel as an intracanal medicament in combination with other medicaments against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study / P. Nayyar, A. Sethi, D. Thakur [et al.] // *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. — 2021. — № 1 (13). — P. 408–411.
38. Antibacterial effect of silver nanoparticles mixed with calcium hydroxide or chlorhexidine on multispecies biofilms / G. Tülü, B.Ü. Kaya, E.S. Çetin, M. Köle // *Odontology*. — 2021. — № 4 (109). — P. 802–811.
39. Antibacterial effects of nanoparticles of metals / V.K. Leont'ev, D.V. Kuznetsov, G.A. Frolov [et al.] // *Russian Journal of Dentistry*. — 2017. — № 6 (21). — P. 304–307.
40. Antibacterial efficacy of copper-added chitosan nanoparticles: a confocal laser scanning microscopy analysis / N.B. Keskin, Z.U. Aydın, G. Uslu [et al.] // *Odontology*. — 2021. — № 4 (109). — P. 868–873.

41. Antibacterial efficacy of silver diamine fluoride as a root canal irrigant / E.M. Al-Madi, M.A. Al-Jamie, N.M. Al-Owaid [et al.] // *Clinical and experimental dental research*. — 2019. — № 5 (5). — P. 551–556.
42. Antibacterial properties of a novel zirconium phosphate-glycinediphosphate loaded with either zinc or silver / D. Campoccia, S. Ravaoli, R. Vivani [et al.] // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2019. — № 19 (12). — P. 3184–3184.
43. Antibacterial properties of calcium hydroxide in combination with silver, copper, zinc oxide or magnesium oxide / H. Yousefshahi, M. Aminsobhani, M. Shokri, R. Shahbazi // *European journal of translational myology*. — 2018. — № 3 (28). — P. 274–279.
44. Antibacterial properties of chitosan nanoparticles and propolis associated with calcium hydroxide against single- and multispecies biofilms: an in vitro and in situ study / A. Carpio-Perochena, A. Kishen, R. Felitti [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2017. — № 8 (43). — P. 1332–1336.
45. Antibacterial properties of silver nanoparticles as a root canal irrigant against *Enterococcus faecalis* biofilm and infected dentinal tubules / C.T. Rodrigues, F.B. de Andrade, L.R.S.M. de Vasconcelos [et al.] // *International endodontic journal*. — 2018. — № 8 (51). — P. 901–911.
46. Antibacterial properties of silver nanoparticles grown in situ and anchored to titanium dioxide nanotubes on titanium implant against *staphylococcus aureus* / U.F. Gunpath, H. Le, K. Lawton [et al.] // *Nanotoxicology*. — 2020. — № 1 (14). — P. 97–110.
47. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis* / F. Afkhami, S.J. Pourhashemi, M. Sadegh [et al.] // *Journal of dentistry*. — 2015. — № 43 (12). — P. 1573–1579.
48. Antimicrobial efficacy of mineral trioxide aggregate with and without silver nanoparticles / M. Samiei, M. Aghazadeh, M. Lotfi [et al.] // *Iranian endodontic journal*. — 2013. — № 4 (8). — P. 166–170.
49. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles as root canal irrigants: a systematic review / S. Bhandi, D. Mehta, M. Mashyakhy [et al.] // *Journal of clinical medicine*. — 2021. — № 6 (10). — P. 1–11.

50. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles incorporated in an orthodontic adhesive: an animal study / A. Bahador, B. Ayatollahi, A. Akhavan [et al.] // *Frontiers in dentistry*. — 2020. — № 14 (17). — P. 1–8.
51. Assis, D.F. de Effect of disinfection solutions on the adhesion force of root canal filling materials / D.F. de Assis, M. do Prado, R.A. Simão // *Journal of endodontics*. — 2012. — № 6 (38). — P. 853–855.
52. Association of specific microorganisms with endodontic signs and symptoms. A comparative study / K.K. Singh, P. Kumar, P. Das [et al.] // *Journal of family medicine and primary care*. — 2020. — № 8 (9). — P. 3965.
53. Babaki, D. The effects of mineral trioxide aggregate on osteo/odontogenic potential of mesenchymal stem cells: a comprehensive and systematic literature review / D. Babaki, S. Yaghoubi, M.M. Matin // *Biomaterial investigations in dentistry*. — 2020. — № 1 (7). — P. 175–185.
54. Bacteria exposed to silver nanoparticles synthesized by laser ablation in water: Modelling E. coli Growth and Inactivation / L. Krce, M. Šprung, A. Maravić [et al.] // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2020. — № 3 (13). — P. 653–653.
55. Bacterial adhesion and biofilm formation on textured breast implant shell materials / G.A. James, L. Boegli, J. Hancock [et al.] // *Aesthetic plastic surgery*. — 2019. — № 2 (43). — P. 490–497.
56. Bacterial contamination of gutta-percha points from different brands and the efficacy of a chairside disinfection protocol / F. Bracciale, N. Marino, A. Noronha [et al.] // *European endodontic journal*. — 2020. — № 3 (5). — P. 282–287.
57. Bactericidal activity of partially oxidized nanodiamonds / J. Wehling, R. Dringen, R.N. Zare [et al.] // *ACS nano*. — 2014. — № 6 (8). — P. 6475–6483.
58. Barot, T. Physicochemical and biological assessment of silver nanoparticles immobilized halloysite nanotubes-based resin composite for dental applications / T. Barot, D. Rawtani, P. Kulkarni // *Heliyon*. — 2020. — № 3 (6). — P. 1–10.
59. Barszczewska-Rybarek, I. Studies on the curing efficiency and mechanical properties of Bis-GMA and TEGDMA nanocomposites containing silver nanoparti-

- cles / I. Barszczewska-Rybarek, G. Chladek // International journal of molecular sciences. — 2018. — № 12 (19). — P. 3937–3937.
60. Beneficial effects of cerium oxide nanoparticles in development of chondrocyte-seeded hydrogel constructs and cellular response to interleukin insults / S. Ponnurangam, G.D. O'Connell, I.V. Chernyshova [et al.] // Tissue engineering. Part A. — 2014. — № 21–22 (20). — P. 2908–2919.
61. Bhowmik, E. Clinicoradiographic evaluation of hyaluronan-nano hydroxyapatite composite graft in the management of periodontal infrabony defects / E. Bhowmik, D.P.C. Rao // Journal of Indian society of periodontology. — 2021. — № 3 (25). — P. 220–227.
62. Bi-layered electrospun nanofibrous membrane with osteogenic and antibacterial properties for guided bone regeneration / M. Lian, B. Sun, Z. Qiao [et al.] // Colloids and surfaces. B, Biointerfaces. — 2019. — № 176. — P. 219–229.
63. Bioactive coating on ti alloy with high osseointegration and antibacterial Ag nanoparticles / A. Sobolev, A. Valkov, A. Kossenko [et al.] // ACS applied materials & interfaces. — 2019. — № 43 (11). — P. 39534–39544.
64. Biocompatibility assessment of detonation nanodiamond in non-human primates and rats using histological, hematologic, and urine analysis / L. Moore, J. Yang, T.T. Lan [et al.] // ACS nano. — 2016. — № 8 (10). — P. 7385–7400.
65. Biomedical applications of nanocerium: new roles for an old player / S. Kargozar, F. Baino, S.J. Hoseini [et al.] // Nanomedicine (London, England). — 2018. — № 23 (13). — P. 3051–3069.
66. Biomimetic in situ precipitation of calcium phosphate containing silver nanoparticles on zirconia ceramic materials for surface functionalization in terms of antimicrobial and osteoconductive properties / G.M. Goldschmidt, M. Krok-Borkowicz, R. Zybała [et al.] // Dental materials: official publication of the Academy of dental materials. — 2021. — № 1 (37). — P. 10–18.
67. Biosynthesis, characterization and antibacterial efficacy of silver nanoparticles derived from endophytic fungi against *P. gingivalis* / K.R. Halkai, J.A. Mudda,

- V. Shivanna [et al.] // Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. — 2017. — № 9 (11). — P. 92–96.
68. Biosynthesis of silver nanoparticles using malva parviflora and their antifungal activity / F. Al-Otibi, K. Perveen, N.A. Al-Saif [et al.] // Saudi journal of biological sciences. — 2021. — № 4 (28). — P. 2229–2235.
69. Biosynthesis of silver nanoparticles using penicillium verrucosum and analysis of their antifungal activity / M.A. Yassin, A.M. Elgorban, A.E.M.A. El-Samawaty, B.M.A. Almunqedhi // Saudi journal of biological sciences. — 2021. — № 4 (28). — P. 2123–2127.
70. Byström, A. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy / A. Byström, G. Sundqvist // Scandinavian journal of dental research. — 1981. — № 4 (89). — P. 321–328.
71. Calcium hydroxide/iodoform nanoparticles as an intracanal filling medication: synthesis, characterization, and in vitro study using a bovine primary tooth model / A. Garrocho-Rangel, D.M. Escobar-García, M. Gutiérrez-Sánchez [et al.] // Odontology. — 2021. — № 3 (109). — P. 687–695.
72. Calcium hydroxide-loaded PLGA biodegradable nanoparticles as an intracanal medicament / F. Elmsmari, J.A. González Sánchez, F. Duran-Sindreu [et al.] // International endodontic journal. — 2021. — № 11 (54). — P. 2086–2098.
73. Canal transportation and centering ability of protaper and safe sider in preparation of curved root canals: A CBCT evaluation / N. Delgoshayi, M. Abbasi, H. Bakhtiar [et al.] // Iranian endodontic journal. — 2018. — № 2 (13). — P. 240–245.
74. Carbon nanotubes for Improved performances of endodontic sealer / A. Marica, L. Fritea, F. Banica [et al.] // Materials (Basel, Switzerland). — 2021. — № 15 (14). — P. 4248–4248.
75. Carvalho, C.S. Decontamination of gutta-percha cones employed in endodontics / C.S. Carvalho, M.S. Pinto, S.F. Batista // Acta odontol latinoam. — 2020. — № 1 (33). — P. 45–49.

76. Ceria-incorporated MTA for accelerating odontoblastic differentiation via ROS downregulation / S.K. Jun, J.Y. Yoon, C. Mahapatra [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials.* — 2019. — № 9 (35). — P. 1291–1299.
77. Chemical biofilm removal capacity of endodontic irrigants as a function of biofilm structure: optical coherence tomography, confocal microscopy and viscoelasticity determination as integrated assessment tools / F.H. Busanello, X. Petridis, M.V.R. So [et al.] // *International endodontic journal.* — 2019. — № 4 (52). — P. 461–474.
78. Chitosan-miRNA functionalized microporous titanium oxide surfaces via a layer-by-layer approach with a sustained release profile for enhanced osteogenic activity / K. Wu, M. Liu, N. Li [et al.] // *Journal of nanobiotechnology.* — 2020. — № 1 (18). — P. 127–127.
79. Chlorhexidine-encapsulated mesoporous silica-modified dentin adhesive / H. Yan, S. Wang, L. Han [et al.] // *Journal of dentistry.* — 2018. — № 78. — P. 83–90.
80. Clinical and laboratory rationale for galvanophoresis of hydroxide copper-calcium by root canals treatment / V.A. Rumiantsev, G.E. Bordina, A.V. Ol'khovskaia [et al.] // *Stomatologiya (Mosk).* — 2015. — № 1 (94). — P. 14–19.
81. Clinical validation of a nanodiamond-embedded thermoplastic biomaterial / D.K. Lee, T. Kee, Z. Liang [et al.] // *Proceedings of the National academy of sciences of the United States of America.* — 2017. — № 45 (114). — P. 9445–9454.
82. Combined effect of a mixture of silver nanoparticles and calcium hydroxide against enterococcus faecalis biofilm / H. Balto, S. Bukhary, O. Al-Omran [et al.] // *Journal of endodontics.* — 2020. — № 11 (46). — P. 1689–1694.
83. Comparative analyses of ion release, pH and multispecies biofilm formation between conventional and bioactive gutta-percha / C.N. Carvalho, Z. Wang, Y. Shen [et al.] // *International endodontic journal.* — 2016. — № 11 (49). — P. 1048–1056.

84. Comparative evaluation of antibacterial effect of nanoparticles and lasers against Endodontic Microbiota: an in vitro study / V. Kushwaha, R.K. Yadav, A.P. Tikku [et al.] // *Journal of clinical and experimental dentistry*. — 2018. — № 12 (10). — P. 1155–1160.
85. Comparative evaluation of antibiofilm efficacy of chitosan nanoparticle- and zinc oxide nanoparticle-incorporated calcium hydroxide-based sealer: an in vitro study / N. Nair, B. James, A. Devadathan [et al.] // *Contemporary clinical dentistry*. — 2018. — № 3 (9). — P. 434–439.
86. Comparative evaluation of tensile strength of gutta-percha cones with an herbal disinfectant / R.R. Mahali, B. Dola, R. Tanikonda, S. Peddireddi // *Journal of conservative dentistry*. — 2015. — № 6 (18). — P. 471–473.
87. Comparative molecular analysis of gram-negative bacteria in primary teeth with irreversible pulpitis or periapical pathology / P. Nelson-Filho, D.B. Ruvierre, A.M. de Queiroz [et al.] // *Pediatr dent*. — 2018. — № 4 (40). — P. 259–264.
88. Comparison of bacterial microleakage of three bioactive endodontic sealers in simulated underwater diving and aviation conditions / M. Dastorani, B. Malekpour, M. AminSobhani [et al.] // *BMC oral health*. — 2021. — № 1 (21). — P. 345–345.
89. Comparison of the penetration depth of conventional and nano-particle calcium hydroxide into dentinal tubules / V. Zand, H. Mokhtari, A. Hasani, G. Jabbari // *Iranian endodontic journal*. — 2017. — № 3 (12). — P. 366–370.
90. Comparison of two intra-canal medicaments on the incidence of post-operative endodontic pain / F. Ali, A. Yousaf, Z. Daud [et al.] // *J Ayub med coll abbottabad*. — 2020. — № 3 (32). — P. 299–303.
91. Confocal laser scanning, scanning electron, and transmission electron microscopy investigation of enterococcus faecalis biofilm degradation using passive and active sodium hypochlorite irrigation within a simulated root canal model / S.A. Mohmmed, M.E. Vianna, M.R. Penny [et al.] // *Microbiologyopen*. — 2017. — № 4 (6). — P. 455–455.

92. Copper-calcium hydroxide and permanent electrophoretic current for treatment of apical periodontitis / A. Meto, E. Droboniku, E. Blasi [et al.] // *Materials* (Basel, Switzerland). — 2021. — № 3 (14). — P. 1–14.
93. Costa, B.M. Comparative analysis of root dentin morphology and structure of human versus bovine primary teeth / B.M. Costa, A.S. Iwamoto, R.M. Puppini-Rontani // *Microscopy and microanalysis: the official journal of microscopy society of America, microbeam analysis society, microscopical society of Canada*. — 2015. — № 3 (21). — P. 689–694.
94. Current insights into the modulation of oral bacterial degradation of dental polymeric restorative materials / N. Zhang, Y. Ma, M.D. Weir [et al.] // *Materials* (Basel, Switzerland). — 2017. — № 5 (10). — P. 507–507.
95. Cyclic mechanical loading promotes bacterial penetration along composite restoration marginal gaps / D. Khvostenko, S. Salehi, S.E. Naleway [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials*. — 2015. — № 6 (31). — P. 702–710.
96. Cytotoxic and genotoxic effects in human gingival fibroblast and ions re-release of endodontic sealers incorporated with nanostructured silver vanadate / A.B.V. Teixeira, N.C.S. Moreira, C.S. Takahashi [et al.] // *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*. — 2021. — № 9 (109). — P. 1380–1388.
97. Cytotoxic effect of niobium phosphate glass-based gutta-percha points on periodontal ligament fibroblasts in vitro / C.C.B. Meneses, L.T. Olivi, C.N. Carvalho [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2020. — № 9 (46). — P. 1297–1301.
98. Cytotoxic effects of submicron- and nano-scale titanium debris released from dental implants: an integrative review / R. Messous, B. Henriques, H. Bousbaa [et al.] // *Clinical oral investigation*. — 2021. — № 4 (25). — P. 1627–1640.
99. Cytotoxicity and release ions of endodontic sealers incorporated with a silver and vanadium base nanomaterial / A.B.V. Teixeira, D.T. de Castro, M.A. Schiavon, A.C. Dos Reis // *Odontology*. — 2020. — № 4 (108). — P. 661–668.

100. Cytotoxicity, oxidative stress, and autophagy effects of tantalum nanoparticles on MC3T3-E1 mouse osteoblasts / P. Wang, P. Qiao, H. Xing [et al.] // *Journal of nanoscience and nanotechnology*. — 2020. — № 3 (20). — P. 1417–1424.
101. Dental caries experience and associated factors in adults: a cross-sectional community survey within Ethiopia / B. Bogale, F. Engida, C. Hanlon [et al.] // *BMC public health*. — 2021. — № 1 (21). — P. 180–180.
102. Dental implant survival in vascularized bone flaps: a systematic review and meta-analysis / H. Panchal, M.G. Shamsunder, I. Petrovic [et al.] // *Plastic and reconstructive surgery*. — 2020. — № 3 (146). — P. 637–648.
103. Dentinal tubule occluding capability of nano-hydroxyapatite: the in vitro evaluation / S. Baglar, U. Erdem, M. Dogan, M. Turkoz // *Microscopy research and technique*. — 2018. — № 8 (81). — P. 843–854.
104. Dentinal tubule penetration and retreatability of a calcium silicate-based sealer tested in bulk or with different main core material / A. Eymirli, D.D. Sungur, O. Uyanik [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2019. — № 8 (45). — P. 1036–1040.
105. Deposition of catechol-functionalized chitosan and silver nanoparticles on biomedical titanium surfaces for antibacterial application / Y.F. Cheng, J.Y. Zhang, Y.B. Wang [et al.] // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2019. — № 98. — P. 649–656.
106. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients / F. Foschi, F. Cavrini, L. Montebugnoli [et al.] // *Oral microbiology and immunology*. — 2005. — № 5 (20). — P. 289–295.
107. Dianat, O. Toxicity of calcium hydroxide nanoparticles on murine fibroblast cell line / O. Dianat, S. Azadnia, M.A. Mozayeni // *Iranian endodontic journal*. — 2015. — № 1 (10). — P. 49–54.
108. Differentiation of dental pulp stem cells on gutta-percha scaffolds / L. Zhang, Y. Yu, C. Joubert [et al.] // *Polymers*. — 2016. — № 5 (8). — P. 193–193.
109. Disinfection and surface changes of gutta-percha cones after immersion in sodium hypochlorite solution containing surfactant / F.C. Vitali, L.H. Nomura, D.

- Delai [et al.] // *Microscopy research and technique*. — 2019. — № 8 (82). — P. 1290–1296.
110. Disinfection of dentinal tubules with 2 % Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study / A. Vasudeva, D.J. Sinha, S.P. Tyagi [et al.] // *Singapore dental journal*. — 2017. — (38). — P. 39–44.
111. Disinfection of gutta-percha cones using three reagents and their residual effects / M.M. Chandrappa, N. Mundathodu, R. Srinivasan [et al.] // *Journal of conservative dentistry*. — 2014. — № 6 (17). — P. 571–574.
112. Distribution and chemical speciation of exogenous micro- and nanoparticles in inflamed soft tissue adjacent to titanium and ceramic dental implants / K. Nelson, B. Hesse, O. Addison [et al.] // *Analytical chemistry*. — 2020. — № 21 (92). — P. 14432–14443.
113. Do irrigation solutions influence the bond interface between glass fiber posts and dentin? / T.Y.U. Suzuki, M.A. Pereira, J.E. Gomes-Filho [et al.] // *Brazilian dental journal*. — 2019. — № 2 (30). — P. 106–116.
114. Doxycycline-functionalized polymeric nanoparticles inhibit *Enterococcus faecalis* biofilm formation on dentine / M.T. Arias-Moliz, P. Baca, C. Solana [et al.] // *International endodontic journal*. — 2021. — № 3 (54). — P. 413–426.
115. Drug resistance of oral bacteria to new antibacterial dental monomer dimethylaminohexadecyl methacrylate / S. Wang, H. Wang, B. Ren [et al.] // *Scientific reports*. — 2018. — № 1 (8). — P. 5509–5509.
116. Effect of calcium hydroxide mixed with lidocaine hydrochloride on postoperative pain in teeth with irreversible pulpitis and symptomatic apical periodontitis: a preliminary randomized controlled prospective clinical trial / H. Arslan, E. Doğanay Yıldız, H.S. Topçuoğlu [et al.] // *Clinical oral investigation*. — 2021. — № 1 (25). — P. 203–210.
117. Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions / M.D. Weir, J. Ruan, N. Zhang [et al.] // *Dental materials: of-*

- ficial publication of the Academy of dental materials. — 2017. — № 9 (33). — P. 1033–1044.
118. Effect of different activations of silver nanoparticle irrigants on the elimination of *Enterococcus faecalis* / F. Afkhami, P. Ahmadi, N. Chiniforush, A. Sooratgar // *Clinical oral investigations*. — 2021. — № 12 (25). — P. 6893–6899.
119. Effect of different sizes of bioactive glass-coated mesoporous silica nanoparticles on dentinal tubule occlusion and mineralization / J.H. Jung, S.B. Park, K.H. Yoo [et al.] // *Clinical oral investigations*. — 2019. — № 5 (23). — P. 2129–2141.
120. Effect of incorporating hydroxyapatite and zinc oxide nanoparticles on the compressive strength of white mineral trioxide aggregate / M. Eskandarinezhad, M. Ghodrati, F. Pournaghi Azar [et al.] // *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*. — 2020. — № 4 (21). — P. 300–306.
121. Effect of mussel adhesive protein coating on osteogenesis in vitro and osteointegration in vivo to alkali-treated titanium with nanonetwork structures / D. Yin, S. Komasa, S. Yoshimine [et al.] // *International journal of nano-medicine*. — 2019. — № 14. — P. 3831–3843.
122. Effect of passive ultrasonic irrigation on *enterococcus faecalis* from root canals: an ex vivo study / J.M. Guerreiro-Tanomaru, G.M. Chávez-Andrade, N.B. de Faria-Júnior [et al.] // *Brazilian dental journal*. — 2015. — № 4 (26). — P. 342–346.
123. Effect of propolis nanoparticles against *enterococcus faecalis* biofilm in the root canal / A. Parolia, H. Kumar, S. Ramamurthy [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. — 2021. — № 3 (26). — P. 715.
124. Effect of sintering temperature on the physiochemical properties, microstructure, and compressive strength of a bioceramic root canal sealer reinforced with multi-walled carbon nanotubes and titanium carbide / I. Baghdadi, B. AbuTarboush, A. Zaazou [et al.] // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. — 2021. — № 119. — P. 1–11.
125. Effect of the of zeolite containing silver-zinc nanoparticles on the push out bond strength of mineral trioxide aggregate in simulated furcation perforation / N.

- Ghasemi, S. Rahimi, M. Samiei [et al.] // *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*. — 2019. — № 2 (20). — P. 102–106.
126. Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis / M. Barbosa-Ribeiro, R. Arruda-Vasconcelos, A. de-Jesus-Soares [et al.] // *Clinical oral investigations*. — 2019. — № 6 (23). — P. 2759–2766.
127. Effectiveness of chitosan-propolis nanoparticle against *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal / A. Parolia, H. Kumar, S. Ramamurthy [et al.] // *BMC oral health*. — 2020. — № 1 (20). — P. 339–339.
128. Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm / J. Almeida, B.C. Cechella, A.V. Bernardi [et al.] // *Indian journal of dental research: official publication of Indian society for dental research*. — 2018. — № 3 (29). — P. 347–351.
129. Effects of fast- and slow-setting calcium silicate-based root-end filling materials on the outcome of endodontic microsurgery: a retrospective study up to 6 years / D. Kim, H. Lee, M. Chung [et al.] // *Clinical oral investigations*. — 2020. — № 1 (24). — P. 247–255.
130. Effects of strontium ranelate treatment on osteoblasts cultivated onto scaffolds of trabeculae bovine bone / G.A.B. Silva, B.M. Bertassoli, C.A. Sousa [et al.] // *Journal of bone and mineral metabolism*. — 2018. — № 1 (36). — P. 73–86.
131. Efficacy of a combined nanoparticulate/calcium hydroxide root canal medication on elimination of *Enterococcus faecalis* / M. Javidi, F. Afkhami, M. Zarei [et al.] // *Australian endodontic journal: the journal of the Australian society of endodontology Inc.* — 2014. — № 2 (40). — P. 61–65.
132. Ehrmann, E.H. The relationship of intracanal medicaments to postoperative pain in endodontics / E.H. Ehrmann, H.H. Messer, G.G. Adams // *International endodontic journal*. — 2003. — № 12 (36). — P. 868–875.
133. Electric-field-induced phase change in copper oxide nanostructures / T. Hesabi-zadeh, N. Jebari, A. Madouri [et al.] // *ACS omega*. — 2021. — № 48 (6). — P. 33130–33140.

134. Electrokinetic transport and distribution of antibacterial nanoparticles for endodontic disinfection / A. Ionescu, D. Harris, P.R. Selvaganapathy, A. Kishen // *International endodontic journal*. — 2020. — № 8 (53). — P. 1120–1130.
135. Eliaz, N. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications / N. Eliaz, N. Metoki // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2017. — № 4 (10). — P. 334–334.
136. Endodontic sealers modified with silver vanadate: antibacterial, compositional, and setting time evaluation / A.B. Vilela Teixeira, C. de Carvalho Honorato Silva, O.L. Alves, A. Cândido Dos Reis // *BioMed research international*. — 2019. — Vol. 9. — P. 4676354.
137. Enface optical coherence tomography analysis of gold and silver nanoparticles in endodontic irrigating solutions: an in vitro study / F. Topala, L. M.Nica, M. Boariu [et al.] // *Experimental and therapeutic medicine*. — 2021. — № 3 (22). — P. 992–992.
138. Engar, R.C. More on calcium hydroxide in endodontics / R.C. Engar // *Journal of the American dental association (1939)*. — 2020. — № 8 (151). — P. 554.
139. Engineering a multifunctional 3D-printed PLA-collagen-minocycline-nanohydroxyapatite scaffold with combined antimicrobial and osteogenic effects for bone regeneration / V. Martin, I.A. Ribeiro, M.M. Alves [et al.] // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2019. — № 101. — P. 15–26.
140. Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles / H. Li, Q. Chen, J. Zhao, K. Urmila // *Scientific reports*. — 2015. — № 5 (5). — P. 11033.
141. Ersahan, S. Microbial analysis of endodontic infections in teeth with post-treatment apical periodontitis before and after medication / S. Ersahan, Y.E. Hepsenoglu // *Australian endodontic journal: the journal of the Australian society of endontology Inc*. — 2022. — Vol. 3.
142. Evaluation of antibacterial efficacy of fungal-derived silver nanoparticles against enterococcus faecalis / K.R. Halkai, J.A. Mudda, V. Shivanna [et al.] // *Contemporary clinical dentistry*. — 2018. — № 1 (9). — P. 45–48.

143. Evaluation of antimicrobial properties of nano-silver particles used in orthodontics fixed retainer composites: an experimental in-vitro study / A. Mirhashemi, A. Bahador, A. Sodagar [et al.] // *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*. — 2021. — № 2 (15). — P. 87–93.
144. Evaluation of surface analysis of gutta-percha after disinfecting with sodium hypochlorite, silver nanoparticles, and chitosan nanoparticles by atomic force microscopy: an in vitro study / P. Karunakar, M.S. Ranga Reddy, U. Faizuddin [et al.] // *Journal of conservative dentistry*. — 2021. — № 1 (24). — P. 63–66.
145. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm / D. Wu, W. Fan, A. Kishen [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2014. — № 2 (40). — P. 285–290.
146. Evaluation of the interface between gutta-percha and two types of sealers using scanning electron microscopy (SEM) / M. Eltair, V. Pitchika, R. Hickel [et al.] // *Clinical oral investigations*. — 2018. — № 4 (22). — P. 1631–1639.
147. Evaluation of quality of endodontic re-treatment and changes in periapical status / N. Aga, M.K. Thakur, M.A.S. Agwan [et al.] // *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. — 2021. — № 1 (13). — P. 379–382.
148. Fabrication of strontium-incorporated protein supramolecular nanofilm on titanium substrates for promoting osteogenesis / Y. Ding, Z. Yuan, P. Liu [et al.] // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2020. — Vol. 111. — P. 1–10.
149. Farzaneh, B. Comparison of the permeability rate of nanoparticle calcium hydroxide and conventional calcium hydroxide using a fluorescence microscope — PubMed / B. Farzaneh, S. Azadnia, R. Fekrazad // *Dent res J (Isfahan)*. — 2018. — № 6 (15). — P. 385–390.
150. Fluid dynamics and biofilm removal generated by syringe-delivered and 2 ultrasonic-assisted irrigation methods: a novel experimental approach / G. Layton, W.I. Wu, P.R. Selvaganapathy [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2015. — № 6 (41). — P. 884–889.

151. Fluoride-doped amorphous calcium phosphate nanoparticles as a promising bi-mimetic material for dental remineralization / M. Iafisco, L. Degli Esposti, G.B. Ramirez-Rodríguez [et al.] // *Scientific reports*. — 2018. — № 1 (8). — P. 1–9.
152. Formation of a bacteriostatic surface on ZrNb alloy via anodization in a solution containing Cu nanoparticles / V. Korniienko, O. Oleshko, Y. Husak [et al.] // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2020. — № 18 (13). — P. 1–15.
153. French, D. Retrospective cohort study of 4,591 dental implants: analysis of risk indicators for bone loss and prevalence of peri-implant mucositis and peri-implantitis / D. French, H.M. Grandin, R. Ofec // *Journal of periodontology*. — 2019. — № 7 (90). — P. 691–700.
154. Furusawa, M. Effectiveness of Calvital®, a calcium hydroxide formulation, on persistent apical periodontitis caused by over-enlargement of apical foramen / M. Furusawa, H. Hayakawa, A. Ida // *The bulletin of Tokyo dental college*. — 2011. — № 4 (52). — P. 209–213.
155. Gelatin/nanoceria nanocomposite fibers as antioxidant scaffolds for neuronal regeneration / A. Marino, C. Tonda-Turo, D. De Pasquale [et al.] // *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. — 2017. — № 2 (1861). — P. 386–395.
156. Gunnar Bergenholtz. Textbook of endodontology. Second edition / Gunnar Bergenholtz, Preben Horsted-Bindslev, Claes Reit // Blackwell published Ltd. — 2010. — 408 p.
157. Gutta-percha disinfection: A knowledge, attitude, and practice study among endodontic postgraduate students in India / V. Panuganti, V.J. Vivek, C.M. Jayashankara [et al.] // *Saudi endodontic journal*. — 2016. — № 3 (6). — P. 127–130.
158. Hamdan, A. Synthesis of copper and copper oxide nanomaterials by pulsed electric field in water with various electrical conductivities / A. Hamdan, X. Glad, M.S. Cha // *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*. — 2020. — № 7 (10). — P. 1–13.
159. Hanif, A. Mechanical properties of an experimental resin-based composite containing silver nanoparticles and bioactive glass / A. Hanif, F. Ghani // *Pakistan journal of medical sciences*. — 2020. — № 4 (36). — P. 776–781.

160. Hesaraki, S. The synergistic effects of SrF₂ nanoparticles, YSZ nanoparticles, and poly- ϵ -l-lysine on physicochemical, ion release, and antibacterial-cellular behavior of the flowable dental composites / S. Hesaraki, M. Karimi, N. Nezafati // *Materials science & engineering. C, materials for biological applications*. — 2020. — № 109.
161. Hierarchical assembly of nanostructured coating for siRNA-based dual therapy of bone regeneration and revascularization / H. Xing, X. Wang, G. Xiao [et al.] // *Biomaterials*. — 2020. — № 235. — P. 119784.
162. Hierarchically hybrid biocoatings on Ti implants for enhanced antibacterial activity and osteogenesis / Z. Wang, L. Mei, X. Liu, Q. Zhou // *Colloids surf B bio-interfaces*. — 2021. — № 204. — P. 111802.
163. Hybrid ZnO/chitosan antimicrobial coatings with enhanced mechanical and bioactive properties for titanium implants / M.H. Lin, Y.H. Wang, C.H. Kuo [et al.] // *Carbohydrate polymers*. — 2021. — № 1 (257).
164. Hydrolytically stable vanadium (IV) metal-organic framework with photocatalytic bacteriostatic activity for autonomous indoor humidity control / D. Ma, P. Li, X. Duan [et al.] // *Angewandte chemie (International ed. in English)*. — 2020. — № 10 (59). — P. 3905–3909.
165. Ibrahim, A.M. Calcium hydroxide intracanal medication effects on pain and flare-up: a systematic review and meta-analysis / A.M. Ibrahim, S.Y. Zakhary, S.A.W. Amin // *Restorative dentistry & endodontics*. — 2020. — № 3 (45). — P. 26.
166. Immunoinflammatory response and bioactive potential of GuttaFlow bioseal and MTA Fillapex in the rat subcutaneous tissue / M.M. Delfino, J.M. Guerreiro-Tanomaru, M. Tanomaru-Filho [et al.] // *Scientific reports*. — 2020. — № 1 (10). — P. 7173.
167. Implants failures related to endodontic treatment. An observational retrospective study / F. López-Martínez, G. Gómez Moreno, P. Olivares-Ponce [et al.] // *Clinical oral implants research*. — 2015. — № 9 (26). — P. 992–995.

168. In vitro assessment of the functional dynamics of titanium with surface coating of hydroxyapatite nanoparticles / J.H. Cavalcanti, P.C. Matos, C.V. Depes de Gouvêa [et al.] // *Materials* (Basel, Switzerland). — 2019. — № 5 (12). — P. 840–840.
169. In vitro bioactivity evaluation and physical properties of an epoxy-based dental sealer reinforced with synthesized fluorine-substituted hydroxyapatite, hydroxyapatite and bioactive glass nanofillers / B.A. Jerri Al-Bakhsh, F. Shafiei, A. Hashemian [et al.] // *Bioactive materials*. — 2019. — № 4. — P. 322–333.
170. In vitro biological characterization of silver-doped anodic oxide coating on titanium / O. Oleshko, I. Liubchak, Y. Husak [et al.] // *Materials* (Basel, Switzerland). — 2020. — № 19 (13). — P. 1–12.
171. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of nanosilver-mineral trioxide aggregate against frequent anaerobic oral pathogens by a membrane-enclosed immersion test / A. Bahador, B. Pourakbari, B. Bolhari, F.B. Hashemi // *Biomedical journal*. — 2015. — № 1 (38). — P. 77–83.
172. Incidence of retrograde peri-implantitis in sites with previous apical surgeries: a retrospective study / M.H.A. Saleh, H. Khurshid, S. Travan [et al.] // *Journal of periodontology*. — 2021. — № 1 (92). — P. 54–61.
173. Influence of root canal obturation using gutta-percha with three different sealers on root reinforcement of endodontically treated teeth. An in vitro comparative study of mandibular incisors / P. Patil, K.S. Banga, A.M. Pawar [et al.] // *Journal of conservative dentistry*. — 2017. — № 4 (20). — P. 241–244.
174. Influence of silver nanoparticles on resin-dentin bond strength durability in a self-etch and an etch-and-rinse adhesive system / Z. Jowkar, F. Shafiei, E. Asadmanesh, F. Koohpeima // *Restorative dentistry & endodontics*. — 2019. — № 2 (44). — P. 13–13.
175. Influence of silver nanoparticle solution on the mechanical properties of resin cements and intraradicular dentin / T.Y.U. Suzuki, J. Gallego, W.G. Assunção [et al.] // *PloS one*. — 2019. — № 6 (14). — P. 0217750.

176. Inhibitory effect of reduced graphene oxide-silver nanocomposite on progression of artificial enamel caries / R. Wu, Q. Zhao, S. Lu [et al.] // *Journal of applied oral science*. — 2018. — № 27. — P. 20180042.
177. Intra-articular biomaterials-assisted delivery to treat temporomandibular joint disorders / K. Dashnyam, J.H. Lee, N. Mandakhbayar [et al.] // *Journal of tissue engineering*. — 2018. — № 9 (13).
178. Intracanal medications versus placebo in reducing postoperative endodontic pain—a double-blind randomized clinical trial / R.D. Singh, R. Khatter, R.K. Bal, C.S. Bal // *Brazilian dental journal*. — 2013. — № 1 (24). — P. 25–29.
179. Investigation of the effect of rapid and slow external pH increases on *Enterococcus faecalis* biofilm grown on dentine / M. Stenhouse, P. Zilm, J. Ratnayake, P. Cathro // *Australian dental journal*. — 2018. — № 2 (63). — P. 224–230.
180. Investigation of the structure and compressive strength of a bioceramic root canal sealer reinforced with nanomaterials / I. Baghdadi, B.J. AbuTarboush, A. Zaazou [et al.] // *Journal of applied biomaterials & functional materials*. — 2021. — № 19.
181. Irrigation dynamics associated with positive pressure, apical negative pressure and passive ultrasonic irrigations: a computational fluid dynamics analysis / J.E. Chen, B. Nurbakhsh, G. Layton [et al.] // *Australian endodontic journal: the journal of the Australian society of endodontology Inc.* — 2014. — № 2 (40). — P. 54–60.
182. Kaneko, A. Hydroxyapatite nanoparticles as injectable bone substitute material in a vertical bone augmentation model / A. Kaneko, E. Marukawa, H. Harada // *In vivo (Athens, Greece)*. — 2020. — № 3 (34). — P. 1053–1061.
183. Khalichi, P. Effect of composite resin biodegradation products on oral streptococcal growth / P. Khalichi, D.G. Cvitkovitch, J.P. Santerre // *Biomaterials*. — 2004. — № 24 (25). — P. 5467–5472.
184. Killing dental pathogens using antibacterial graphene oxide / J. He, X. Zhu, Z. Qi [et al.] // *ACS applied materials & interfaces*. — 2015. — № 9 (7). — P. 5605–5611.

185. Kim, D.H. Photopolymerization and characterization of dental resin cement containing nano material / D.H. Kim, A.Y. Sung // *Journal of nanoscience and nanotechnology*. — 2018. — № 9 (18). — P. 6122–6126.
186. Königs, A.M. Nanosilver induces a non-culturable but metabolically active state in *pseudomonas aeruginosa* / A.M. Königs, H.C. Flemming, J. Wingender // *Frontiers in microbiology*. — 2015. — № 6. — P. 1–10.
187. Kumar, P.S. Depth of penetration and antimicrobial activity of 5 % and 10 % Bamboo Salt, 2 % Chlorhexidine Gel and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus faecalis* — an in vitro study / P.S. Kumar, S. Vidhya, S. Mahalaxmi // *European endodontic journal*. — 2021. — № 2 (6). — P. 205–210.
188. Lateral spacing of TiO₂ nanotubes modulates osteoblast behavior / M.G. Necula, A. Mazare, R.N. Ion [et al.] // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2019. — № 18 (12). — P. 2956–2956.
189. Li, F. Effects of quaternary ammonium chain length on antibacterial bonding agents / F. Li, M.D. Weir, H.H.K. Xu // *Journal of dental research*. — 2013. — № 10 (92). — P. 932–938.
190. Lokhande, P.R. A mathematical model for root canal preparation using endodontic file / P.R. Lokhande, S. Balaguru // *Journal of oral biology and craniofacial research*. — 2020. — № 1 (10). — P. 396–400.
191. Louwakul, P. Efficacy of calcium oxide and calcium hydroxide nanoparticles on the elimination of *enterococcus faecalis* in human root dentin / P. Louwakul, A. Saelo, S. Khemalelakul // *Clinical oral investigations*. — 2017. — № 3 (21). — P. 865–871.
192. Luan, B. Complete wetting of graphene by biological lipids / B. Luan, T. Huynh, R. Zhou // *Nanoscale*. — 2016. — № 10 (8). — P. 5750–5754.
193. Mareschi, P. Long-term follow-up of nonsurgical endodontic treatments performed by one specialist: a retrospective cohort study about tooth survival and treatment success / P. Mareschi, S. Taschieri, S. Corbella // *International journal of dentistry*. — 2020. — Vol. 22.

194. Marín-Correa, B.M. Nanosilver gel as an endodontic alter-native against *Enterococcus faecalis* in an in vitro root canal system in Mexican dental specimens — PubMed / B.M. Marín-Correa, N. Guzmán-Martínez, M. Gómez-Ramírez // *New Microbiol.* — 2020. — № 4 (43). — P. 166–170.
195. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction / B.P. Gomes, E.T. Pinheiro, R.C. Jacinto [et al.] // *Journal of endodontics.* — 2008. — № 5 (34). — P. 537–540.
196. Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure / R.S. Pereira, V.A.A. Rodrigues, W.T. Furtado [et al.] // *Aerobe.* — 2017. — № 48. — P. 12–18.
197. Microbial association with genus *actinomyces* in primary and secondary endodontic lesions, review / M. Dioguardi, C. Quarta, M. Alovisi [et al.] // *Antibiotics (Basel, Switzerland).* — 2020. — № 8 (9). — P. 1–28.
198. Microbial communities in the extraradicular and intraradicular infections associated with persistent apical periodontitis / X. Sun, Z. Yang, Y. Nie, B. Hou // *Frontiers in cellular and infection microbiology.* — 2022. — № 11.
199. Microbiological investigation in teeth with persistent/secondary endodontic infection in different stages of root canal retreatment / M. Barbosa-Ribeiro, R. Arruda-Vasconcelos, L. Mendes Louzada [et al.] // *European endodontic journal.* — 2020. — № 3 (5). — P. 219–225.
200. Microplasma synthesis of antibacterial active silver nanoparticles in sodium polyacrylate solutions / M. Shepida, O. Kuntiyi, Y. Sukhatskiy [et al.] // *Bioinorganic chemistry and applications.* — 2021. — (19). — P. 4465363.
201. Mineral trioxide aggregate-induced AMPK activation stimulates odontoblastic differentiation of human dental pulp cells / Y.J. Kim, W.J. Kim, S.W. Bae [et al.] // *International endodontic journal.* — 2021. — № 5 (54). — P. 753–767.
202. Mishra, P. Surface analysis of gutta percha after disinfecting with sodium hypochlorite and silver nanoparticles by atomic force microscopy: an in vitro study / P. Mishra, S. Tyagi // *Dent res J (Isfahan).* — 2018. — № 4 (15). — P. 242–247.

203. Model system parameters influence the sodium hypochlorite susceptibility of endodontic biofilms / R.C.D. Swimberghe, A. Crabbé, R.J.G. De Moor [et al.] // *International endodontic journal*. — 2021. — № 9 (54). — P. 1557–1570.
204. Modulation of virulence in enterococcus faecalis cells surviving antimicrobial photodynamic inactivation with reduced graphene oxide-curcumin: an ex vivo biofilm model / R. Ghorbanzadeh, H. Assadian, N. Chiniforush [et al.] // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. — 2020. — Vol. 29.
205. Multi-state outcome analysis of treatment interventions after failure of non-surgical root canal treatment: a 13-year retrospective study / P. Bhagavatula, A. Moore, L. Rein [et al.] // *Journal of applied oral science*. — 2021. — № 3 (29).
206. Muneeb Lone, M. Evaluation of microleakage in single-rooted teeth obturated with thermoplasticized gutta-percha using various endodontic sealers: an in vitro study / M. Muneeb Lone, F. Raza Khan, M. Ahmed Lone // *Journal of the college of physicians and Surgeons-Pakistan: JCPS*. — 2018. — № 5 (28). — P. 339–343.
207. Nano silver vanadate $AgVO_3$: synthesis, new functionalities and applications / A.P. Melo Monteiro, R. Dias Holtz, L. Carneiro Fonseca [et al.] // *Chemical record (New York)*. — 2018. — № 7–8 (18). — P. 973–985.
208. Nanocatalysts promote *Streptococcus mutans* biofilm matrix degradation and enhance bacterial killing to suppress dental caries in vivo / L. Gao, Y. Liu, D. Kim [et al.] // *Biomaterials*. — 2016. — № 101. — P. 272–284.
209. Nanodiamond-Gutta percha composite biomaterials for root canal therapy / D.K. Lee, S.V. Kim, A.N. Limansubroto [et al.] // *ACS nano*. — 2015. — № 11 (9). — P. 11490–11501.
210. Nanoparticle approaches against bacterial infections / W. Gao, S. Thamphiwatana, P. Angsantikul, L. Zhang // *Wiley interdisciplinary re-views. Nanomedicine and nanobiotechnology*. — 2014. — № 6 (6). — P. 532–547.
211. Nanoparticles having amphiphilic silane containing Chlorin e6 with strong anti-biofilm activity against periodontitis-related pathogens / X. Sun, L. Wang, C.D. Lynch [et al.] // *Journal of dentistry*. — 2019. — (81). — P. 70–84.

212. Nonsurgical clinical management of periapical lesions using calcium hydroxide-iodoform-silicon-oil paste / Q. Khasawnah, F. Hassan, D. Malhan [et al.] // *Bio-Med research international*. — 2018. — № 12.
213. Novel activated microbubbles-based strategy to coat nanoparticles on root canal dentin: fluid dynamical characterization / F.C. Li, S. Borkar, A. Ramachandran, A. Kishen // *Journal of endodontics*. — 2019. — № 6 (45). — P. 797–802.
214. Novel bioactive root canal sealer to inhibit endodontic multispecies biofilms with remineralizing calcium phosphate ions / L. Wang, X. Xie, C. Li [et al.] // *Journal of dentistry*. — 2017. — № 60. — P. 25–35.
215. Novel bioactive root canal sealer with antibiofilm and remineralization properties / B.H. Baras, S. Wang, M.A.S. Melo [et al.] // *Journal of dentistry*. — 2019. — № 83. — P. 67–76.
216. Novel endodontic disinfection approach using catalytic nanoparticles / S. Bukhari, D. Kim, Y. Liu [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2018. — № 5 (44). — P. 806–812.
217. Novel endodontic sealer with dual strategies of dimethylaminohexadecyl methacrylate and nanoparticles of silver to inhibit root canal biofilms / B.H. Baras, M.A.S. Melo, J. Sun [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials*. — 2019. — № 8 (35). — P. 1117–1129.
218. Novel hydroxyapatite nanorods improve anti-caries efficacy of enamel infiltrants // D.M. Andrade Neto, E.V. Carvalho, E.A. Rodrigues [et al.] // *Dental materials: official publication of the academy of dental materials*. — 2016. — № 6 (32). — P. 784–793.
219. Novel resin-based dental material with anti-biofilm activity and improved mechanical property by incorporating hydrophilic cationic copolymer functionalized nanodiamond / W. Cao, Y. Zhang, X. Wang [et al.] // *Journal of materials science. Materials in medicine*. — 2018. — № 11 (29). — P. 162.
220. Oh, S.L. Survival of dental implants at sites after implant failure: a systematic review / S.L. Oh, H.J. Shiau, M.A. Reynolds // *The Journal of prosthetic dentistry*. — 2020. — № 1 (123). — P. 54–60.

221. One-step synthesis of versatile antimicrobial nano-architected implant coatings for hard and soft tissue healing / M.T. Matter, L. Maliqi, K. Keevend [et al.] // ACS applied materials & interfaces. — 2021. — № 28 (13). — P. 33300–33310.
222. Oral microbiome and SARS-CoV-2: beware of lung co-infection / L. Bao, C. Zhang, J. Dong [et al.] // Frontiers in microbiology. — 2020. — № 11. — P. 1840–1840.
223. Oriented cell alignment induced by a nanostructured titanium surface enhances expression of cell differentiation markers / M.A. Llopis-Grimalt, A.M. Amengual-Tugores, M. Monjo, J.M. Ramis // Nanomaterials (Basel, Switzerland). — 2019. — № 12 (9). — P. 1661–1661.
224. Orstavik, D. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis / D. Orstavik, K. Kerekes, H.M. Eriksen // Endodontics & dental traumatology. — 1986. — № 1 (2). — P. 20–34.
225. Outcome of endodontic micro-resurgery: a retrospective study based on propensity score-matched survival analysis / D. Kim, S. Kim, M. Song [et al.] // Journal of endodontics. — 2018. — № 11 (44). — P. 1632–1640.
226. Outcomes and prognostic factors of apical periodontitis by root canal treatment and endodontic microsurgery-a retrospective cohort study / S.Q. Liu, X. Chen, X.X. Wang [et al.] // Annals of palliative medicine. — 2021. — № 5 (10). — P. 5027–5045.
227. Parashar, V. Effect of intracanal medicaments (modified triple antibiotic paste, calcium hydroxide, and aloe vera) on microhardness of root dentine: an in vitro study — PubMed / V. Parashar, S.A. Khan, P. Singh // J Contemp dent pract. — 2020. — № 6 (21). — P. 632–635.
228. Particle size and shape of calcium hydroxide / T. Komabayashi, R.N. D'souza, P.C. Dechow [et al.] // Journal of endodontics. — 2009. — № 2 (35). — P. 284–287.
229. Pattanaik, S. In vitro comparative evaluation of antifungal efficacy of three endodontic sealers with and without incorporation of chitosan nanoparticles against *Candida albicans* / S. Pattanaik, A. Jena, G. Shashirekha // Journal of conservative dentistry: JCD. — 2019. — № 6 (22). — P. 564–567.

230. PCR-based detection of three anaerobic bacteria associated with endodontic-periodontic lesions in type-2 diabetic and nondiabetic subjects / R.R. Nair, M. Nayak, L.K. Prasada [et al.] // *Journal of conservative dentistry: JCD*. — 2019. — № 5 (22). — P. 430–435.
231. PCR-based identification of selected pathogens associated with endodontic infections in deciduous and permanent teeth / D. Cogulu, A. Uzel, O. Oncag, C. Ero-nat // *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodon-tics*. — 2008. — № 3 (106). — P. 443–449.
232. Peñarrocha-Oltra, D. Factors associated with early apical peri-implantitis: a retro-spective study covering a 20-year period — PubMed / D. Peñarrocha-Oltra, J.A. Blaya-Tárraga, I. Menéndez-Nieto // *Int J oral implantol (Berl)*. — 2020. — № 1 (13). — P. 65–73.
233. Peres, K.G. Trend and distribution of coronal dental caries in Australians adults / K.G. Peres, D.H. Ha, S. Christofis // *Australian dental journal*. — 2020. — № 1 (65). — P. 32–39.
234. Periodontal and endodontic infectious/inflammatory profile in primary periodon-tal lesions with secondary endodontic involvement after a calcium hydroxide-based intracanal medication / T.M. Duque, M. Prado, D.R. Herrera, B.P.F.A. Gomes // *Clinical oral investigations*. — 2019. — № 1 (23). — P. 53–63.
235. Periodontitis-induced systemic inflammation exacerbates atherosclerosis partly via endothelial-mesenchymal transition in mice / J.S. Suh, S. Kim, K.I. Boström [et al.] // *International journal of oral science*. — 2019. № 3 (11). — P. 21.
236. Peters, O.A. A micro-computed tomographic assessment of root canal prepara-tion with a novel instrument, TRUShape, in mesial roots of mandibular molars / O.A. Peters, A. Arias, F. Paqué // *Journal of endodontics*. — 2015. — № 9 (41). — P. 1545–1550.
237. Photo-sonodynamic antimicrobial chemotherapy via chitosan nanoparticles-indocyanine green against polymicrobial periopathogenic biofilms: ex vivo study on dental implants / M. Pourhajibagher, A.R. Rokn, H.R. Barikani, A. Bahador // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. — 2020. — № 31.

238. Physiochemical properties of a bioceramic-based root canal sealer reinforced with multi-walled carbon nanotubes, titanium carbide and boron nitride biomaterials / I. Baghdadi, A. Zaazou, B.A. Tarboush [et al.] // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. — 2020. — № 110.
239. Physiochemical properties of experimental nano-hybrid MTA / V.A. Zanjani, K. Tabari, S.M. Sheikh-Al-Eslamian, A.N. Abrandabadi // *Journal of medicine and life*. — 2018. — № 1 (11). — P. 51–56.
240. Poly-l-lysine/Sodium alginate coating loading nanosilver for improving the antibacterial effect and inducing mineralization of dental implants / C. Guo, W. Cui, X. Wang [et al.] // *ACS omega*. — 2020. — № 18 (5). — P. 10562–10571.
241. Polymeric nanoparticles protect the resin-dentin bonded interface from cariogenic biofilm degradation / M. Toledano-Osorio, R. Osorio, F.S. Aguilera [et al.] // *Acta biomaterialia*. — 2020. — № 111. — P. 316–326.
242. Postoperative pain of patients with necrotic teeth with apical periodontitis following single visit endodontic treatment versus multiple visit endodontic treatment using triple antibiotic paste: a randomized clinical trial / S. AbdurRahman, S.M. Abdel Aziz, S.I. Gawdat, A.M. AbdalSamad // *F1000Research*. — 2019. — № 26(8). — P. 1203–1203.
243. Preparation and application of chitosan biomaterials in dentistry / C. Zhang, D. Hui, C. Du [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. — 2021. — № 167. — P. 1198–1210.
244. Prevalence of dental caries among children aged 5-15 years from 9 countries in the Eastern mediterranean region: a meta-analysis / S. Kale, P. Kakodkar, S. Shetiya, R. Abdulkader // *Eastern mediterranean health journal*. — 2020. — № 6 (26). — P. 726–735.
245. Prevalence of enterococcus faecalis and porphyromonas gingivalis in infected root canals and their susceptibility to endodontic treatment procedures: a molecular study / N. Stojanović, J. Krunić, B. Popović [et al.] // *Srp arh celok lek*. — 2014. — № 9–10 (142). — P. 535–541.

246. Primum non nocere — the effects of sodium hypochlorite on dentin as used in endodontics / L.S. Gu, X.Q. Huang, B. Griffin [et al.] // *Acta biomaterialia*. — 2017. — № 61. — P. 144–156.
247. Prognosis of root canal treatment in teeth with preoperative apical periodontitis: a study with cone-beam computed tomography and digital periapical radiography / F.A. Restrepo-Restrepo, S.J. Cañas-Jiménez, R.D. Romero-Albarracín [et al.] // *International endodontic journal*. — 2019. — № 11 (52). — P. 1533–1546.
248. Protein-repellent nanocomposite with rechargeable calcium and phosphate for long-term ion release / Y.A. Al-Dulaijan, M.D. Weir, M.A.S. Melo [et al.] // *Dental materials: official publication of the academy of dental materials*. — 2018. — № 12 (34). — P. 1735–1747.
249. Pt@polydopamine nanoparticles as nanozymes for enhanced photodynamic and photothermal therapy / H. Cao, Y. Yang, M. Liang [et al.] // *Chemical communications (Cambridge, England)*. — 2021. — № 2 (57). — P. 255–258.
250. Radiopacity and mechanical properties of dental adhesives with strontium hydroxyapatite nanofillers / E.V. Carvalho, D.M. de Paula, D.M. Andrade Neto [et al.] // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. — 2020. — № 101.
251. «Red complex» (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach / I.N. Rôças, J.F.Jr. Siqueira, K.R. Santos, A.M. Coelho // *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. — 2001. — № 4 (91). — P. 468–471.
252. Restorations in primary teeth: a systematic review on survival and reasons for failures / L.A. Chisini, K. Collares, M.G. Cademartori [et al.] // *International journal of pediatric dentistry*. — 2018. — № 2 (28). — P. 123–139.
253. Review on the antimicrobial properties of carbon nanostructures / A. Al-Jumaili, S. Alancherry, K. Bazaka, M.V. Jacob // *Materials (Basel, Switzerland)*. — 2017. — № 9 (10). — P. 1066–1066.
254. Rôças, I.N. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-

- capture checkerboard approach / I.N. Rôças, J.F. Siqueira // *Journal of endodontics*. — 2010. — № 1 (36). — P. 45–52.
255. Rôças, I.N. In vivo antimicrobial effects of endodontic treatment procedures as assessed by molecular microbiologic techniques / I.N. Rôças, J.F. Siqueira // *Journal of endodontics*. — 2011. — № 3 (37). — P. 304–310.
256. Root canal retreatment: a retrospective investigation using regression and data mining methods for the prediction of technical quality and periapical healing / B. Signor, L.C. Blomberg, P.M.P. Kopper [et al.] // *Journal of applied oral science*. — 2021. — № 19 (29).
257. Root reinforcement after obturation with calcium silicate-based sealer and modified gutta-percha cone / S. Osiri, D. Banomyong, V. Sattabanasuk, K. Yanpiset // *Journal of endodontics*. — 2018. — № 12 (44). — P. 1843–1848.
258. Roshdy, N.N. Assessment of antibacterial activity of 2.5 % NaOCl, chitosan nano-particles against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals with and without diode laser irradiation: an in vitro study / N.N. Roshdy, E.M. Kataia, N.A. Helmy // *Acta odontologica Scandinavica*. — 2019. — № 1 (77). — P. 39–43.
259. Saleem, S. Bacterial mediated silver nanoparticles and their efficacy against MRSA / S. Saleem, A. Iqbal, S. Hasnain // *Trop biomed*. — 2020. — № 2 (37). — P. 482–488.
260. Schwendicke, F. Single-visit or multiple-visit root canal treatment: systematic review, meta-analysis and trial sequential analysis / F. Schwendicke, G. Göstemeier // *BMJ open*. — 2017. — № 2 (7).
261. Secondary caries: prevalence, characteristics, and approach / I. Nedeljkovic, J. De Munck, A. Vanloy [et al.] // *Clinical oral investigations*. — 2020. — № 2 (24). — P. 683–691.
262. Short, R.D. The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: an SEM study / R.D. Short, S.O. Dorn, S. Kuttler // *Journal of endodontics*. — 2003. — № 10 (29). — P. 670–673.

263. Silver nanoparticles: a new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity / N. Durán, M. Durán, M.B. de Jesus [et al.] // *Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine*. — 2016. — № 3 (12). — P. 789–799.
264. Silver nanoparticles in dentistry / V.T. Noronha, A.J. Paula, G. Durán [et al.] // *Dental materials: official publication of the Academy of dental materials*. — 2017. — № 10 (33). — P. 1110–1126.
265. Siqueira, J.F. Treponema species associated with abscesses of endodontic origin / J.F. Siqueira, I.N. Rôças // *Oral microbiology and immunology*. — 2004. — № 5 (19). — P. 336–339.
266. Smaller copper oxide nanoparticles have more biological effects versus breast cancer and nosocomial infections bacteria / A. Abbasi, K. Ghorban, F. Nojoomi, M. Dadmanesh // *Asian pac J cancer prev.* — 2021. — № 3 (22). — C. 893–902.
267. Spectrum and resistance determinants of oral streptococci clinical isolates / N.V. Davidovich, A.S. Galieva, N.G. Davydova [et al.] // *Klin Lab Diagn.* — 2020. — № 10 (65). — C. 632–637.
268. Study on a novel antibacterial light-cured resin composite containing nano-MgO / Z. Wu, H. Xu, W. Xie [et al.] // *Colloids surf B biointerfaces*. — 2020. — № 188. — P. 110774.
269. Subcutaneous reaction of rat tissues to nanosilver coated gutta-percha / M.A. Mozayeni, O. Dianat, S. Tahvildari [et al.] // *Iranian endodontic journal*. — 2017. — № 2 (12). — P. 157–161.
270. Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics / F. Bosaid, H. Aksel, S. Makowka, A.A. Azim // *International endodontic journal*. — 2020. — № 10 (53). — P. 1438–1445.
271. Surface silanization and grafting reaction of nano-silver loaded zirconium phosphate and properties strengthen in 3D-printable dental base composites / W. Liao, S. Zheng, S. Chen [et al.] // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. — 2020. — № 110.

272. Synthesis and characterization of antifungal nanocomposite AgSiO₂ polymethyl methacrylat / M. Sabouhi, M. Amini-Pozveh, F. Bajoghli [et al.] // *European journal of dentistry*. — 2022. — № 1 (16). — P. 109–114.
273. Synthesis and evaluation of the structural and antibacterial properties of doped copper oxide / Y. Lv, L. Li, P. Yin, T. Lei // *Dalton transactions (Cambridge, England)*. — 2020. — № 15 (49). — P. 4699–4709.
274. Tabassum, S. Failure of endodontic treatment: the usual suspects / S. Tabassum, F.R. Khan // *European journal of dentistry*. — 2016. — № 1 (10). — P. 144–147.
275. The antibiofilm activity and mechanism of nanosilver- and nanozinc-incorporated mesoporous calcium-silicate nanoparticles / D. Leng, Y. Li, J. Zhu [et al.] // *International journal of nanomedicine*. — 2020. — № 3 (15). — P. 3921–3936.
276. The biocompatibility of silver and nanohydroxyapatite coatings on titanium dental implants with human primary osteoblast cells / R.N. Salaie, A. Besinis, H. Le [et al.] // *Mater sci eng C mater biol appl*. — 2020. — Vol. 107.
277. The combination of multi-functional ingredients-loaded hydrogels and three-dimensional printed porous titanium alloys for infective bone defect treatment / S. Qiao, D. Wu, Z. Li [et al.] // *Journal of tissue engineering*. — 2020. — № 11 (23).
278. The effect of calcium hydroxide and nano-calcium hydroxide on microhardness and superficial chemical structure of root canal dentin: an ex vivo study / M. Naseri, L. Eftekhar, F. Gholami [et al.] // *Journal of endodontics*. — 2019. — № 9 (45). — P. 1148–1154.
279. The effect of CuO nanoparticles on antimicrobial effects and shear bond strength of orthodontic adhesives / M. Hossein Toodehzaeim, H. Zandi, H. Meshkani, Hosseinzadeh Firouzabadi A. // *Journal of dentistry*. — 2018. — № 1 (19). — P. 1–5.
280. The effect of polybutylcyanoacrylate nanoparticles as a protos delivery vehicle on dental bone formation / L.C. Chang, C.Y. Chung, C.H. Chiu [et al.] // *International journal of molecular sciences*. — 2021. — № 9 (22). — P. 4873–4873.
281. The effect of silver, zinc oxide, and titanium dioxide nanoparticles used as final irrigation solutions on the fracture resistance of root-filled teeth / Z. Jowkar, S.A.

- Hamidi, F. Shafiei, Y. Ghahramani // Clinical, cosmetic and investigational dentistry. — 2020. — № 12. — P. 141–148.
282. The impact of bioactive surfaces in the early stages of osseointegration: an in vitro comparative study evaluating the HAnano® and SLActive® super hydrophilic surfaces / R.A. Silva, G. da Silva Feltran, M.R. Ferreira [et al.] // Bio-Med research international. — 2020. — № 13. — P. 3026893.
283. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against Staphylococcus aureus / P. Parvekar, J. Palaskar, S. Metgud [et al.] // Biomaterial investigations in dentistry. — 2020. — № 1 (7). — P. 105–109.
284. The role of silver and vanadium release in the toxicity of silver vanadate nanowires toward Daphnia similis / M.C Artal., R.D. Holtz, F. Kummrow [et al.] // Environmental toxicology and chemistry. — 2013. — № 4 (32). — P. 908–912.
285. The short-term antibacterial activity of three selected endodontic sealers against enterococcus faecalis bacterial culture / M. Rosa, Y. Morozova, R. Moštěk [et al.] // Life (Basel, Switzerland). — 2022. — № 2 (12). — P. 158.
286. The synthesis of nano silver-graphene oxide system and its efficacy against endodontic biofilms using a novel tooth model / K. Ioannidis, S. Niazi, P. Mylonas [et al.] // Dental material: official publication of the Academy of dental materials. — 2019. — № 11 (35). — P. 1614–1629.
287. The two faces of titanium dioxide nanoparticles bio-camouflage in 3D bone spheroids / W. Souza, S.G. Piperni, P. Laviola [et al.] // Scientific reports. — 2019. — № 1 (9). — P. 9309–9309.
288. Thorat, S.B. In vitro investigation of coupling-agent-free dental restorative composite based on nano-porous alumina fillers / S.B. Thorat, A. Diaspro, M. Salerno // Journal of dentistry. — 2014. — № 3 (42). — P. 279–286.
289. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations / T. Tartari, L. Bachmann, A.G. Maliza [et al.] // Journal of applied oral science. — 2016. — № 3 (24). — P. 291–298.

290. Tissue reaction and biocompatibility of implanted mineral trioxide aggregate with silver nanoparticles in a rat model / V. Zand, M. Lotfi, A. Aghbali [et al.] // Iranian endodontic journal. — 2016. — № 1 (11). — P. 13–16.
291. Titanium dioxide and modified titanium dioxide by silver nanoparticles as an anti-biofilm filler content for composite resins / H.B. Dias, M.I.B. Bernardi, T.M. Bauab [et al.] // Dental materials: official publication of the Academy of dental materials. — 2019. — № 2 (35). — P. 36–46.
292. Tong, Z. The effect of human serum and dentin powder alone or in combination on the antibacterial activity of sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* / Z. Tong, Y. Zhang, X. Wei // Archives of oral biology. — 2019. — № 97. — P. 72–76.
293. Toward dental caries: exploring nanoparticle-based platforms and calcium phosphate compounds for dental restorative materials / A.A. Balhaddad, A.A. Kansara, D. Hidan [et al.] // Bioactive materials. — 2018. — № 1 (4). — P. 43–55.
294. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth / T.L. Lenzi, A. Guglielmi Cde, V.E. Arana-Chavez, D.P. Raggio // Microsc microanal. — 2013. — № 6 (19). — P. 1445–1449.
295. Tuning nano-amorphous calcium phosphate content in novel rechargeable antibacterial dental sealant / M.S. Ibrahim, F.D. AlQarni, Y.A. Al-Dulaijan [et al.] // Materials (Basel, Switzerland). — 2018. — № 9 (11). — P. 1544–1544.
296. Tuning nanopore diameter of titanium surfaces to improve human gingival fibroblast response / M.D.M. Ferrà-Cañellas, M.A. Llopis-Grimalt, M. Monjo, J.M. Ramis // International journal of molecular sciences. — 2018. — № 10 (19). — P. 2881–2881.
297. Use of silver nanoparticles reduces internal contamination of external hexagon implants by *Candida albicans* / V.H. Matsubara, F. Igai, R. Tamaki [et al.] // Brazilian dental journal. — 2015. — № 5 (26). — P. 458–462.

298. Vincent, M. Antimicrobial applications of copper / M. Vincent, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch // International journal of hygiene and environmental health. — 2016. — № 7 (219). — P. 585–591.
299. Xie, H. Effect of exposure of osteoblast-like cells to low-dose silver nanoparticles: uptake, retention and osteogenic activity / H. Xie, P. Wang, J. Wu // Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. — 2019. — № 1 (47). — P. 260–267.
300. Yalcinkaya, F. Polyvinyl butyral (PVB) nanofiber/nanoparticle-covered yarns for an-tibacterial textile surfaces / F. Yalcinkaya, M. Komarek // International journal of molecular sciences. — 2019. — № 17 (20). — P. 4317–4317.
301. Yoldaş, O. The effect of two different calcium hydroxide combinations on root dentine microhardness / O. Yoldaş, C. Doğan, G. Seydaoğlu // International endodontic journal. — 2004. — № 12 (37). — P. 828–831.
302. Zafar, K. Bio-active cements-mineral trioxide aggregate based calcium silicate materials: a narrative review / K. Zafar, S. Jamal, R. Ghafoor // JPMA. The journal of the Pakistan medical association. — 2020. — № 3 (70). — P. 497–504.
303. Zare Jahromi, M. Effect of calcium hydroxide on inflammatory root re-sorption and ankylosis in replanted teeth compared with other intracanal materials: a review / M. Zare Jahromi, M.R. Kalantar Motamedi // Re-storative dentistry & endodontics. — 2019. — № 3 (44). — P. 32.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 2.1 — Блок-схема дизайна исследований;
2. Рисунок 2.2 — Анализатор «Malvern Zetasizer Nano ZS»;
3. Рисунок 2.3 — Сканирующий электронный микроскоп «Tescan» «Vega 3SB»;
4. Рисунок 2.4 — Внешний вид энергодисперсионного анализатора «10mm2 SDD Detector — X-Act»;
5. Рисунок 2.5 — Поперечный спил корня зуба с зонами регистрации химических элементов;
6. Рисунок 3.1 — Просвечивающая электронная микроскопия гидрозоль наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II): А — распределение частиц на подложке из поливинилформала; Б — агломераты частиц меди и её оксидов на границе подложки; В — гидрозоль наночастиц меди и её оксидов, светлопольное изображение; Г — гидрозоль наночастиц меди и её оксидов, темнопольное изображение;
7. Рисунок 3.2 — Распределение размеров частиц гидрозоля наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II);
8. Рисунок 3.3 — Дзета-потенциал наночастиц меди, оксида меди (I), оксида меди (II) в их гидрозоле в дистиллированной воде;
9. Рисунок 3.4 — Просвечивающая электронная микроскопия гидрозоля наночастиц серебра: А — распределение частиц серебра на подложке из поливинилформала; Б, В — гидрозоль наночастиц серебра, светлопольное изображение; Г — гидрозоль наночастиц серебра, темнопольное изображение;
10. Рисунок 3.5 — Распределение размеров частиц гидрозоля наночастиц серебра;
11. Рисунок 3.6 — Дзета-потенциал наночастиц серебра в их гидрозоле в дистиллированной воде;
12. Рисунок 3.7 — Водная суспензия ГМК: А — агрегаты частиц ГМК, светлопольное изображение; Б — агрегаты частиц ГМК, темнопольное изображение;

- изображение; В — кристаллическая фаза оксидов меди (I, II) и кальция, светлопольное изображение; Г — аморфная фаза оксидов меди (II) и кальция, темнопольное изображение;
13. Рисунок 3.8 — Зависимость средних размеров частиц ГМК от времени, прошедшего от момента приготовления суспензии;
 14. Рисунок 3.9 — Включения кристаллизованной воды в структуре частиц гидроксида меди-кальция (ГМК) на различных увеличениях (А, Б), светлопольное изображение;
 15. Рисунок 3.10 — Структура частиц ГМК после воздействия электронного пучка в светлопольном изображении на различных увеличениях (А, Б);
 16. Рисунок 3.11 — Суспензия ГМК и гидрозоля наночастиц меди и оксидов меди (I, II): А, Б — флоккулы ГМК в смеси с гидрозолем наночастиц меди и оксидов меди (I, II); В — флоккула ГМК с наночастицами меди, агрегировавшимися в её поверхностном слое; Г — наночастицы меди и оксидов меди (I, II), не вступившие в агрегацию с частицами ГМК;
 17. Рисунок 3.12 — Электронная микрофотография пасты ГМК: А — в дистиллированной воде; Б — в гидрозоле наночастиц меди, оксидов меди (I, II);
 18. Рисунок 3.13 — Суспензия ГМК: А — в дистиллированной воде, Б — гидрозоле наночастиц меди, оксидов меди (I, II), В — гидрозоле наночастиц серебра;
 19. Рисунок 3.14 — Флоккулы ГМК в смеси: А — с гидрозолем наночастиц меди, оксидов меди (I, II); Б — гидрозолем наночастиц серебра;
 20. Рисунок 3.15 — А, Б — Темнопольное изображение частиц ГМК в гидрозоле наночастиц меди, оксида меди (I) и оксида меди (II);
 21. Рисунок 3.16 — А, Б — Темнопольное изображение частиц ГМК в гидрозоле наночастиц серебра;
 22. Рисунок 4.1 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по первой методике, в наиболее близкой к стенке КК;
 23. Рисунок 4.2 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по второй методике, на расстоянии 200 мкм от стенки КК;

24. Рисунок 4.3 — Спектральный анализ фрагмента корня зуба, обработанного по третьей методике, на расстоянии 500 мкм от стенки КК;
25. Рисунок 4.4 — График диффузии частиц меди в дентин удаленных зубов с течением времени;
26. Рисунок 4.5 — Содержание ДНК *P. gingivalis* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
27. Рисунок 4.6 — Средние значения содержания ДНК *P. gingivalis* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
28. Рисунок 4.7 — Средние значения содержания ДНК *P. gingivalis* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения;
29. Рисунок 4.8 — Содержание ДНК *P. intermedia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
30. Рисунок 4.9 — Средние значения содержания ДНК *P. intermedia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке;
- Рисунок 4.10 — Средние значения содержания ДНК *P. intermedia* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения;
31. Рисунок 4.11 — Содержание ДНК *T. forsythia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
32. Рисунок 4.12 — Средние значения содержания ДНК *T. forsythia* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
33. Рисунок 4.13 — Средние значения содержания ДНК *T. forsythia* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения;
34. Рисунок 4.14 — Содержание ДНК *T. denticola* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
35. Рисунок 4.15 — Средние значения содержания ДНК *T. denticola* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;

36. Рисунок 4.16 — Средние значения содержания ДНК *T. denticola* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до (А) и после (Б) проведенного эндодонтического лечения;
37. Рисунок 4.17 — Содержание ДНК *F. nucleatum* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
38. Рисунок 4.18 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
39. Рисунок 4.19 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до лечения;
40. Рисунок 4.20 — Средние значения содержания ДНК *F. nucleatum* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) после проведенного эндодонтического лечения;
41. Рисунок 4.21 — Средние значения содержания ДНК микроорганизма *A. actinomycetemcomitans* в КК зубов пациентов основной группы и группы сравнения (контрольная) до лечения;
42. Рисунок 4.22 — Средние значения содержания ДНК микроорганизма *A. actinomycetemcomitans* в КК зубов до и после проведенного эндодонтического лечения во всей выборке пациентов;
43. Рисунок 4.23 — Отношение шансов исчезновения симптомов и рентгенологических признаков периапикального воспалительного процесса у пациентов основной группы, по сравнению с группой сравнения;
44. Рисунок 4.24 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зубов 2.1, 2.2 и 2.3 у больного Н.И.Е.: А — КК подготовлены к лечению; Б — КК заполнены комплексным противомикробным препаратом; В — временная повязка на зубах; Г — во второе посещение, КК запломбированы материалом «АН+» и гуттаперчевыми штифтами методом горячей конденсации; Д — внутриротовая прицельная рентгенограмма зубов 2.1, 2.2, 2.3 через 6 месяцев после лечения;
45. Рисунок 4.25 — Конусно-лучевая компьютерная томограмма нижней челюсти больной А.А.А. до (А) и после (Б) лечения (через 12 месяцев);

46. Рисунок 4.26 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зуба 4.6 у больной А.А.А.: А — открыт доступ к КК зуба 4.6; Б — КК зуба 4.6 заполнены комплексным противомикробным препаратом; В — временная повязка на зубе 4.6.;
47. Рисунок 4.27 — Конусно-лучевая компьютерная томограмма верхней челюсти больной А.А.В. до (А) и после (Б) лечения (через 12 месяцев);
48. Рисунок 4.28 — Процесс лечения хронического апикального периодонтита зуба 2.6 у больной А.А.В.: А — проведена механическая и медикаментозная обработка КК зуба 2.6; Б — изоляция устьев КК зуба 2.6 тефлоновой лентой.

Приложение А

Диплом I степени 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием «Молодёжь, наука, медицина»,

Тверь, 17-18 04.2019 г.



Приложение Б

Диплом I степени II Международного пародонтологического конвента
«Пародонтология: от науки к практике», Тверь, 27-29.11.2019 г.



Приложение В

Диплом III степени Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания медицинского вуза в Крыму «Теоретические и практические аспекты современной медицины», Симферополь, 15.04.2021 г.



Приложение Г

Сертификат участника VII Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», Рязань, 7.10.2021 г.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

СЕРТИФИКАТ

награждается

Блинова А.В.

VII Всероссийская научная конференция
молодых специалистов, аспирантов, ординаторов
**«Инновационные технологии в медицине:
взгляд молодого специалиста»**

Секция Фундаментальных исследований

Ректор РязГМУ,
профессор Р.Е. Калинин



**7 октября
2021 года**



Приложение Д

Диплом III степени Международной научно-практической
конференции студентов и молодых учёных
«Инновации в медицине и фармации — 2021», Минск, 2021 г.



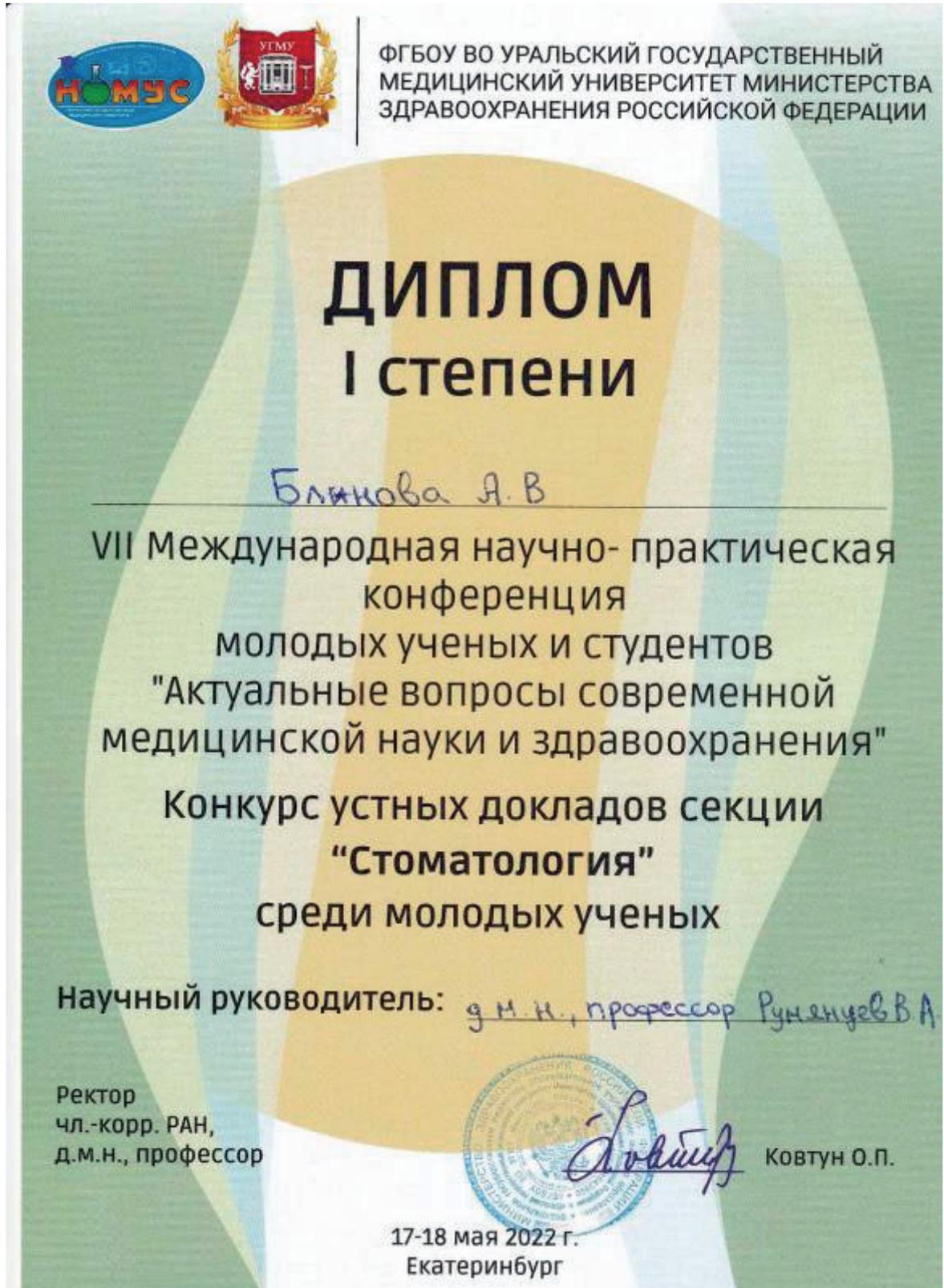
Приложение Е

Сертификат участника The 5th International Conference on Wound Care,
Tissue Repair and Regenera-tive Medicine, Paris, France, 15-16.04.2022



Приложение Ж

Диплом I степени VII международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения», Екатеринбург, 17-18.05.2022 г.



Приложение И

Патент на изобретение «Способ противомикробной обработки дентина корня зуба при эндодонтическом лечении пульпита и периодонтита»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ		(19) RU (11) 2 729 726 ⁽¹³⁾ C1
		(51) МПК A61C 5/00 (2006.01)
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ		
(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ		
(52) СПК A61C 5/007 (2020.05)		
(21)(22) Заявка: 2019144005, 26.12.2019	(72) Автор(ы): Блинова Алиса Владимировна (RU), Румянцев Виталий Анатольевич (RU), Фролов Георгий Александрович (RU), Карасенков Яков Николаевич (RU), Задорожный Дмитрий Владимирович (RU), Заблочкая Маргарита Владимировна (RU)	RU 2 729 726 C1
(24) Дата начала отчета срока действия патента: 26.12.2019	(73) Патентообладатель(и): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Тверской государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)	
Дата регистрации: 11.08.2020	(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2619874 C1, 18.05.2017. RU 2695070 C1, 19.07.2019. RU 2621392 C1, 05.06.2017. US 20110054036 A1, 03.03.2011. Candeiro G.T., Akisue E., Campelo Correia F. et al. Analysis of demineralized chemical substances for disinfecting gutta-percha cones // Iran Endod. J., 2018, Vol. 13(3), P. 318 - 322. БЛИНОВА А. В. и др. Прошлое, настоящее и будущее (см. прод.)	
Приоритет(ы): (22) Дата подачи заявки: 26.12.2019		
(45) Опубликовано: 11.08.2020 Бюл. № 23		
Адрес для переписки: 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4, ФГБОУ ВО Тверской ГМУ, отдел патентной и изобретательской работы		
(54) Способ противомикробной обработки дентина корня зуба при эндодонтическом лечении пульпита и периодонтита		
(57) Формула изобретения		
Способ противомикробной обработки дентина корня зуба при эндодонтическом лечении пульпита и периодонтита, включающий инструментальную и медикаментозную обработку корневых каналов зуба с последующей их obturацией гуттаперчей методом горячей конденсации, отличающийся тем, что при односеансном лечении в качестве корневой пломбы используют гуттаперчевые штифты, импрегнированные обладающими противомикробным действием наночастицами металлов без применения силера, при этом для импрегнирования штифтов их складывают в стерильную чашку Петри и заливают гидрозодем так, чтобы все они были погружены в гидрозоль, далее чашку со штифтами оставляют в темноте при комнатной температуре до полного испарения воды, в дальнейшем при лечении больных штифты с помощью пинцета берут из чашки		
Стр. 1		

Приложение К

Патент на изобретение «Способ ингибирования микробной биоплёнки
зубного налёта»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ		(19) RU (11) 2 728 940 ⁽¹³⁾ C1
		(51) МПК <i>A61C 8/00</i> (2006.01)
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ		
(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ		
(52) СПК <i>A61C 8/0004</i> (2020.02)		
(21)(22) Заявка: 2020103449, 27.01.2020	(72) Автор(ы): Румянцев Виталий Анатольевич (RU), Блинова Алиса Владимировна (RU), Асаян Анушаван Грачевич (RU), Колотушкина Анна Сергеевна (RU), Опешко Владимир Витальевич (RU), Румянцева Наталья Васильевна (RU), Афоненкова Виктория Сергеевна (RU)	RU 2 7 2 8 9 4 0 C 1
(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 27.01.2020	(73) Патентообладатель(и): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Тверской государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)	
Дата регистрации: 03.08.2020	(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 65374 U1, 10.08.2007. RU 2258546 C1, 20.08.2005. RU 2646488 C2, 05.03.2018. RU 2637411, 04.12.2017. US 2015366899 A1, 24.12.2015.	
Приоритет(ы): (22) Дата подачи заявки: 27.01.2020		
(45) Опубликовано: 03.08.2020 Бюл. № 22		
Адрес для переписки: 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4, ФГБОУ ВО "ТГМУ" МЗРФ, отдел патентной и изобретательской работы		
(54) СПОСОБ ИНГИБИРОВАНИЯ МИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКИ ЗУБНОГО НАЛЕТА		
(57) Формула изобретения		
Способ ингибирования микробной биопленки зубного налета, включающий проведение гальванофореза противомикробных препаратов в области зубных рядов, отличающийся тем, что введение противомикробных препаратов проводят длительно, преимущественно, во время сна, с помощью назубных капп, изготовленных с учетом индивидуальных особенностей пациента и врачебного плана воздействия, которые на внутренних поверхностях имеют три ленточных электрода из разных металлов, составляющих гальваническую пару: на вестибулярной и оральных поверхностях - из одного металла, на окклюзионной поверхности - из другого.		
Стр. 1		

RU 2 7 2 8 9 4 0 C 1

Приложение Л

Патент на изобретение «Способ консервативного лечения деструктивных форм апикального периодонтита»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11)

2 760 540⁽¹³⁾ C1(51) МПК
A61C 3/00 (2006.01)
A61N 1/32 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61C 3/00 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2020129713, 08.09.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.09.2020Дата регистрации:
26.11.2021Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 08.09.2020

(45) Опубликовано: 26.11.2021 Бюл. № 33

Адрес для переписки:
17010, г. Тверь, ул. Светская, 4, ФГБОУ ВО
"Тверской ГМУ" Минздрава России, отдел
патентной и изобретательской работы(72) Автор(ы):
Румянцев Вигалий Анатольевич (RU),
Блинова Алёса Владимировна (RU),
Федорова Мария Сергеевна (RU)(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Тверской государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2624131 C1, 30.06.2017 RU
2665177 C1, 28.08.2018. RU 2084218 C1,
20.07.1997. RU 182363 U1, 15.08.2018. WO
2013190539 A1, 27.12.2013.

(54) Способ консервативного лечения деструктивных форм апикального периодонтита

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к стоматологии, и может быть использовано для консервативного эндодонтического лечения деструктивных форм апикального периодонтита и радикулярных кист. Осуществляют инструментальную и медикаментозную обработку корневых каналов зубов и проводят дозированный электрофорез препарата гидроксида меди-кальция. При этом дополнительно проводят расширение апикальных отверстий корней зубов и дозированный трансканальный эндооссальный электрофорез препарата гидроксида меди-кальция с помесью

изолированного на всю длину корневого канала активного электрода при количестве проходящего через ткани электричества в дозе от 5 до 35 мА х мин в зависимости от степени деструкции костной ткани челюсти и индивидуальных факторов риска в соответствии с Табл. 1. Способ, за счет устранения эпителиальной и соединительнотканной выстилки внутрикостных дефектов и ускорения оссификации костной ткани, позволяет в разы ускорить лечение и добиться полной оссификации очагов деструкции костной ткани. 1 табл., 7 ил., 3 пр.

RU 2 760 540 C 1

RU 2 760 540 C 1