


Применение метода сканирующей электронной микроскопии для оценки эндогерметиков, используемых для лечения зубов с обострением хронического периодонтита

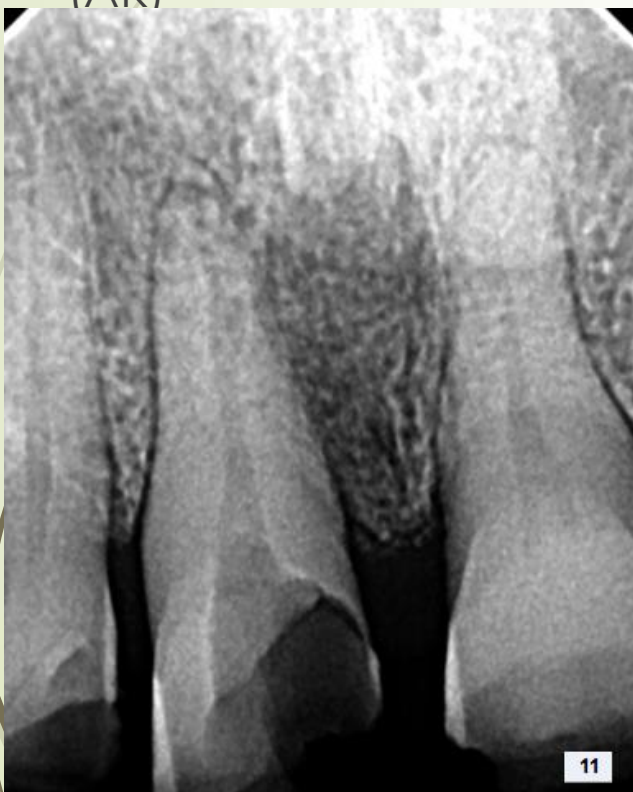
Доклад аспиранта кафедры ортопедической стоматологии
ГОО ВПО «ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО»
Глинкина Владимира Васильевича



► **Актуальность.** На сегодняшний день частота обращаемости больных в связи с необходимостью эндодонтического лечения зубов с болезнями периодонта не имеет тенденции к снижению. По некоторым данным пациенты с деструктивными формами периодонтита составляют 30-45% от общего числа обратившихся за эндодонтической помощью. Одной из составляющих успеха эндодонтического лечения является эффективная obturation корневого канала (КК). Чтобы выбрать оптимальную методику лечения деструктивных форм периодонтита врач должен понимать какой эндогерметик необходимо применять в том или ином случае.

При лечении зубов с обострением хр. Рт следует различать три состояния апикальной констрикции:

- 1. Сохраненная апикальная констрикция (АК)




- 2. Частично разрушенная АК




- 3. Сильно разрушенная АК



- 
- **Цель исследования** - повысить эффективность эндодонтического лечения зубов с периапикальной патологией на основе выбора пломбировочного материала для obturации корневых каналов в зависимости от степени разрушения апикальной констрикции.
 - **Задачи исследования:**
 - С помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) изучить микроэлементный состав морфологию и плотность прилегания материалов «Форедент», «SealApex» и «Триоксидент» к стенкам корневых каналов.
 - С помощью СЭМ определить эффективность пломбирования материалами: «Форедент», «SealApex» в сочетании с гуттаперчевыми штифтами методом латеральной конденсации и «Триоксидент» для obturации на постоянной основе каналов зубов с разрушенной апикальной констрикцией.


- **Материал и методы.** Для исследования морфологии, микроструктуры и проведения элементного анализа стоматологических образцов (удаленные зубы) и пломбировочных материалов применяли методы **СЭМ** и **микрорентгеноспектральный анализ** (МРСА) в отделе физики и диагностики перспективных материалов ГУ «Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина». Достоверность и объективность методов обеспечена оборудованием: сканирующий электронный микроскоп JSM-6490LV (JEOL, Япония) и энергодисперсионный спектрометр INCA Penta FETx3 (Oxford, Англия), с соответствующим программным обеспечением и сертифицированными стандартными образцами. В результате воздействия на образец электронного пучка формируются продукты взаимодействия. Регистрация их во вторичных электронах (SEI), обратно рассеянных электронах (BEI) и характеристическое рентгеновское излучение позволяла получать необходимую информацию об исследуемом образце. По окончании исследования образцов проводили анализ полученных фотографий и результатов анализа при помощи программы Excel.

- 
- С целью исследования биологического материала на СЭМ нами был разработан способ эндодонтической подготовки образца зуба *in vitro*.
 - После извлечения из полости рта зубы, предназначенные для изучения, промывают в дистиллированной воде с последующим погружением в нее для минимизации возможного воздействия различных факторов на изменение микроэлементного состава зуба.
 - При подготовке к проведению исследований удаленные зубы помещают в силиконовую форму, изготовленную из С-силиконовой массы, например, *Zeta plus*, согласно инструкции по использованию.
 - После застывания массы зубы подготавливают по стандартной методике для эндодонтического лечения, согласно протокола.

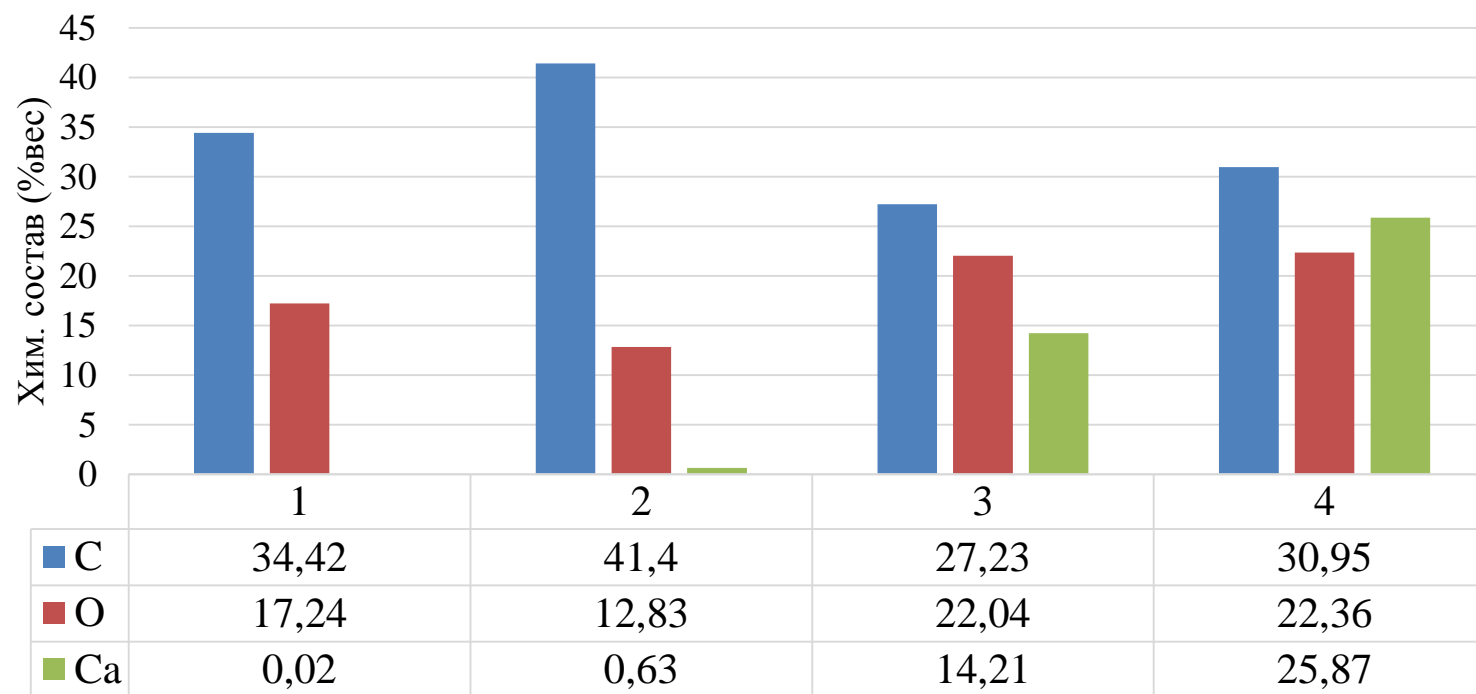
➤ Методика приготовления шлифа зуба (для исследования на СЭМ):

- 1. Продольный (поперечный) распил корня удаленного зуба проводят алмазным сепарационным диском с таким расчетом, чтобы не было перегрева зуба с целью недопущения растрескивания образца.
- 2. Полученный образец для исследований заливают эпоксидной смолой (соотношение смола : отвердитель 9:1). После ее полимеризации (не менее 24 часов) поверхность шлифа полируют.
- 3. Полировка шлифа:
 - 3.1. Шлифовка наждачной бумагой: ступенчато шероховатостью P100, P240, P500, P1000, P2000.
 - 3.2. Полировка: ступенчато алмазными пастами зернистостью 10/7, 5/3, 1/0.
 - 3.3. Полировка универсальной алмазной суспензией (DiaDuo-2, зернистость 1,0 мкм).
 - 3.4. Финишная полировка коллоидной кремниевой суспензией (OP-S, зернистость 0,04 мкм).
- 4. На поверхность полученного шлифа наносят токопроводящий слой углерода методом напыления в установке ВУП-5А.
- 5. Напыленный шлиф закрепляют на предметном столике, обеспечив надежный электрический контакт между поверхностью шлифа и столиком.
- 6. Предметный столик с закрепленным образцом помещают в колонну микроскопа для проведения исследований.

- **Методика приготовления образца пломбировочного материала (для исследования на СЭМ).**
- 1. Предназначенный для исследований ПМ замешивают как для пломбирования подготовленного канал зуба, согласно инструкции исследуемого материала. Использовали Форедент, Силапекс, Триоксидент.
- 2. Полученную смесь или гуттаперчевый штифт наносят на двусторонний углеродный токопроводящий скотч, предварительно закрепленный на подложке.
- 3. После полного отверждения ПМ на воздухе при $t\ 22^{\circ}\text{C}$ подложку с закрепленным на ней образцом ПМ помещают в вакуумную установку ВУП-5А для нанесения токопроводящего покрытия.
- 4. Напыленный образец с подложкой закрепляют на предметном столике, обеспечив надежный электрический контакт между подложкой и столиком.
- 6. Предметный столик с образцом помещают в колонну микроскопа для проведения исследований.

- 
- Для проведения исследований **качества obturации** пломбировочным материалом (ПМ) КК зубов с разрушенной апикальной констрикцией и воздействия ПМ на дентин корня, были подготовлены **шлифы 15 корней удаленных зубов**, которые, в зависимости от используемого ПМ, были разделены на 3 группы. Первая – чьи корневые каналы были запломбированные **Форедентом**, вторая – **Силапексом** с гуттаперчевыми штифтами методом латеральной конденсации, третья – **Триоксидентом** ортоградным путем. Изучали количественный состав микроэлементов силлеров Форедент, Силапекс с гуттаперчевыми штифтами, Триоксидент и морфологию данных материалов. В табл. 1 указано весовое% соотношение основополагающих микроэлементов, входящих в состав всех ПМ.

Соотношение С, О, Са в исследуемых материалах

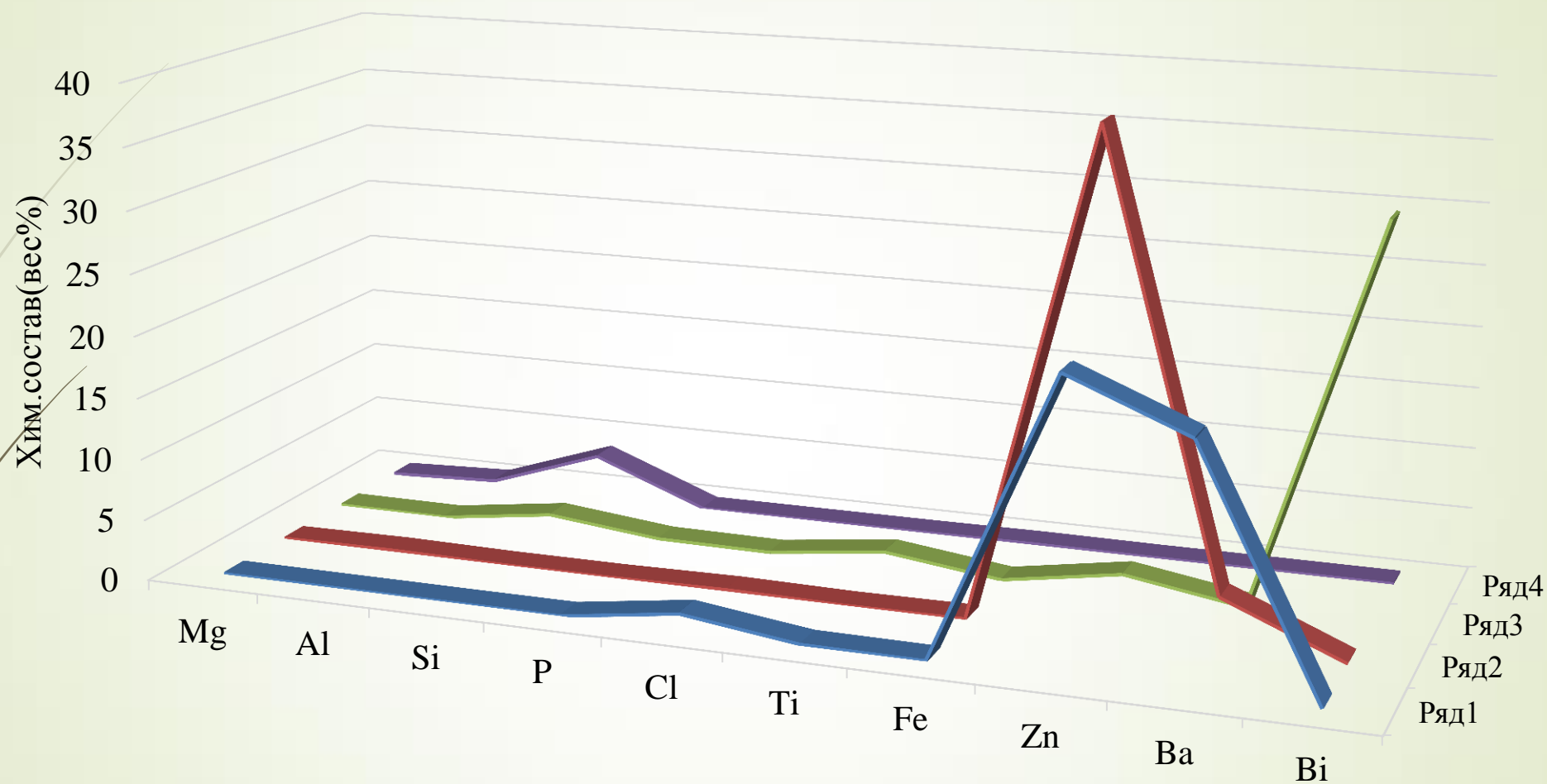


- здесь и далее результаты элементного анализа указаны в весовых %, определенных по данным микрорентгеноспектрального анализа

Примечание: 1 ряд – Форедент, 2 ряд – гуттаперчевые штифты, 3 ряд – Силапекс, 4 ряд – Триоксидент

- ▶ Для рентгеноконтрастности в эндодонтических пломбировочных материалах производители, как правило, используют Ba и Bi. **Большая концентрация Bi** в Силапексе (в среднем ~ 31,6%) может быть причиной снижения его прочностных свойств. Наименьшая концентрация этих МЭ в Триоксиденте (менее 0,05%). Здесь в качестве рентгеноконтрастного материала применен оксид **ZrO₂**, т.к. цирконий (Zr) обнаруживается до 17вес%, что способствует повышению его прочности. Zr является биологически инертным элементом и благодаря своей химической стойкости не взаимодействует с тканями организма. А вот оксид висмута (**Bi₂O₃**) присутствует в незначительных количествах, что свидетельствует о высоком качестве цемента, т.к. **увеличение концентрации Bi приводит к ухудшению физико-механических свойств** цемента. Процентное содержание Mg и Si максимально в Триоксиденте. Соотношение микроэлементов в исследуемых материалах представлено в табл. 2, 3.



Соотношение микроэлементов в исследуемых материалах



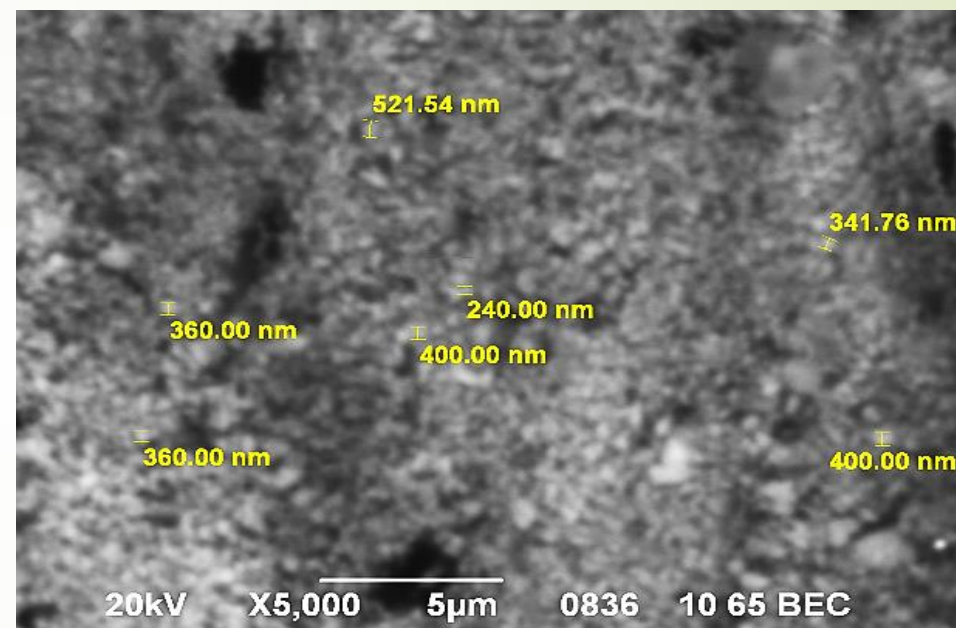
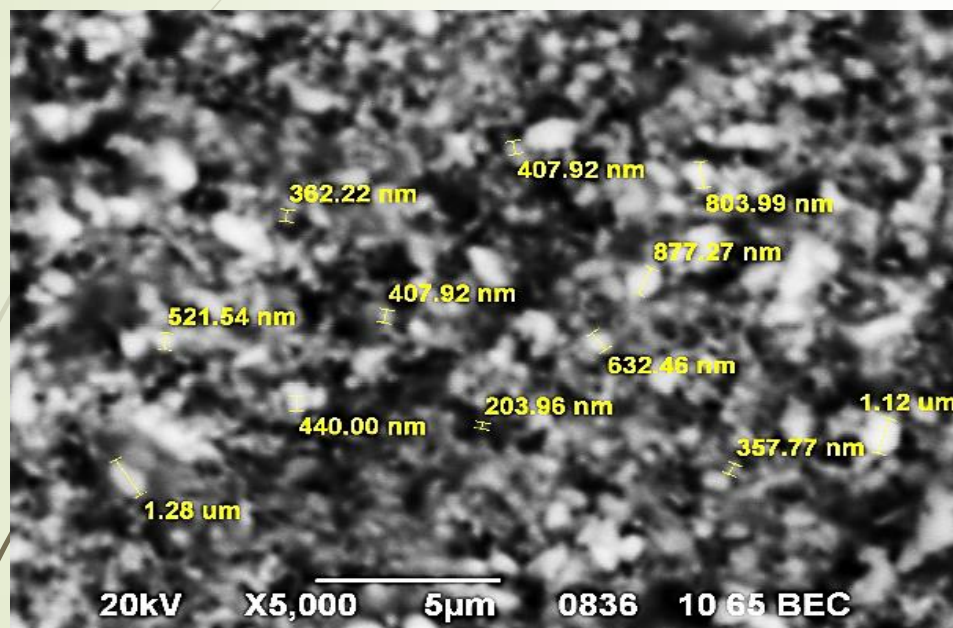
Примечание: 1 ряд – Форедент, 2 ряд – гуттаперчевые штифты, 3 ряд – Силапекс, 4 ряд – Триоксидент

Среднестатистическое количественное обнаружение микроэлементов в исследуемых пломбировочных материалах

Пломбировочный материал	Микроэлементы									
	Mg	Al	Si	P	Cl	Ti	Fe	Zn	Ba	Bi
Форедент	0,051 ±0,032	0,03 ±0,032	0,01 ±0,01	0,004 ±0,009	1,34± 0,39	0,106 ±0,105	0,038± 0,038	22,98 ±98,11	19,08 ±6,178	0,128 ±0,193
Гуттаперчевые штифты	0,04 ±0,01	0,13 ±0,06	0,01 ±0,01	0,01 ±0,01	0,13 ±0,09	0,01 ±0,01	0,066 ±0,03	39,3 ±0,28	4,14 ±0,3	0,11 ±0,05
Силалекс	0,063 ± 0,04	0,02 ±0,02	1,28 ±0,67	0,262 ±0,15	0,18 ±0,14	1,315 ±0,98	0,09 ±0,07	1,672 ±0,968	0,122 ±0,10	31,59 ±22,18
Триоксидент	0,092± ±±0 0,072	0,438 ±0,329	3,64± 3,53	0,01 ±0,03	0,023 ±0,27	0,04 ±0,04	0,088 ±0,06	0,042 ±0,059	0,049 ±0,073	0,048 ±0,78

- 
- 
- Самая высокая концентрация Al (~ 0,44%) обнаружена в Триоксиденте и виде оксида алюминия, превращающегося в результате последующей химической реакции в алюмосиликат кальция, который, объединяясь с гидроксидом кальция, способствует увеличению механической прочности цемента. Большое содержание Zn отмечено в гуттаперчевых штифтах (~39,3%) и в Фореденте (~23%), т.к. именно этот элемент составляет основу этих материалов. Нами был отмечен дисбаланс этого элемента по отношению к другим микроэлементам в составе всех материалов, кроме Триоксидента. Самая высокая концентрация Fe в Триоксиденте и Силапексе (до 0,09%). В то же время самая низкая концентрация P в Фореденте (менее 0,01%).
 - Исследуя микроэлементный состав ПМ, мы смогли наглядно проанализировать не только содержание, но и распределение основополагающих химических элементов во всех ПМ.

- Форедент (Рис.1а), как и гуттаперчевый штифт, отличается дисперсностью частиц (0,2 - 1,28 μm). Преобладают микрочастицы средних размеров 0,4...0,6 μm). Для гуттаперчевого штифта (Рис.1б) характерно наличие мелкодисперсных, однородно распределенных частиц, размером 0,24-0,52 μm . Все эти материалы по классификации коллоидной химии можно отнести к среднедисперсным системам или к тонкодисперсным.



Морфология пломбировочных материалов с указанием размеров частиц:
Форедент , гуттаперчевый штифт СЭМ. ВЕС. Увеличение 5000х.

- В Силапексе отмечено наличие трех видов частиц, отличающихся по контрасту и составу. Это мелкие светло-серые частички, содержащие цинк ($<0,1 \mu\text{m}$), ярко-белые частицы сульфата бария ($0,4-1,0 \mu\text{m}$) и крупные кальцийсодержащие частицы ($1,06-2,09 \mu\text{m}$), как правило, собирающиеся в конгломераты, размером до $5 \mu\text{m}$. Этот материал можно отнести по размеру микрочастиц к среднedisперсным и по дисперсности частиц отнести к классу весьма тонкого порошка. Можно предположить, что мелкие частицы не способствуют прочности материалов.

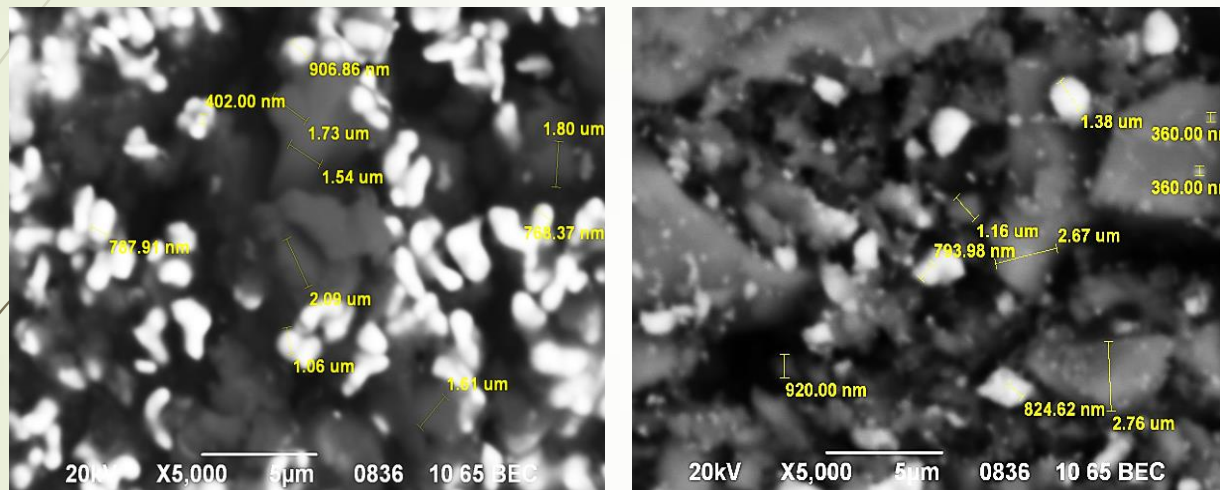

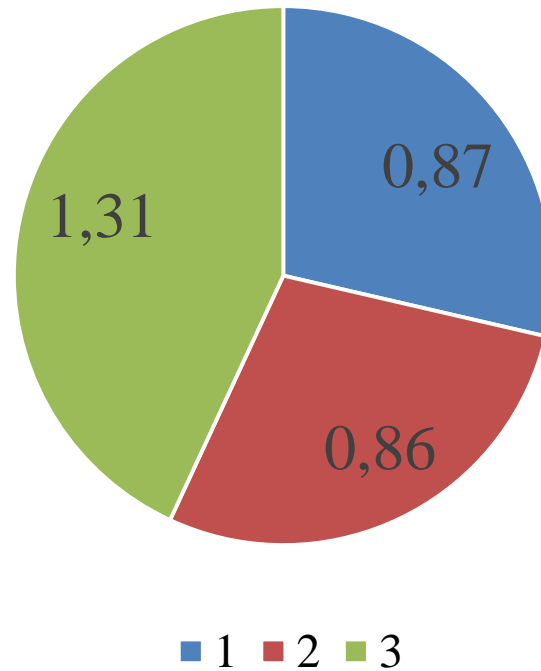


Рис. 1 Морфология пломбировочных материалов с указанием размеров частиц: Силапекс, Триоксидент. СЭМ. ВЕС. Увеличение 5000х.

- Для Триоксидента характерно наличие, в основном, двух видов частиц, отличающихся по контрасту и составу. Это ярко-белые частички, содержащие цирконий (от $<0,1$ до $1,38 \mu\text{m}$), и крупные кальций- и кальций-кремний-содержащие частицы (от $1,0$ до $5,0 \mu\text{m}$). Это неоднородный материал с частицами разных размеров от более крупных ($>30 \mu\text{m}$) до мелкодисперсных ($<1 \mu\text{m}$). В нем сочетаются как (высоко-) коллоидно-дисперсные, так и грубодисперсные частицы. Этот материал по дисперсности частиц сочетает в себе крупные частицы и весьма тонкий порошок. На наш взгляд такое сочетание микрочастиц способствует увеличению прочностных характеристик материала.

- 
- **Сравнение морфологических характеристик пломбировочных материалов.**
 - На фотографиях СЭМ отчетливо видны микротрещины в ПМ. В Фореденте повсеместно короткие, но довольно широкие микротрещины и **много мелких микропор, расположенных на стыке крупных и мелких микрочастиц**, что может свидетельствовать об усадке ПМ. Процесс полимеризации ПМ приводит к образованию микротрещин и микропор за счет микронапряжений. Силапекс – материал однородной консистенции с незначительным количеством микротрещин, но большим содержанием микропор. Было отмечено, что микропоры в первых двух силлерах примерно одного размера. Наличие в этих материалах микродефектов должно приводить к снижению герметизма и повышенной проницаемости как для МФ, так и для ее токсинов.
 - Результаты измерений микропор были обработаны с помощью программы Excel и наглядно изображены в виде диаграммы (Рис.2).

Усредненные размеры микропор в исследуемых
пломбировочных материалах (в микрометрах)



Примечание: 1 – Форедент; 2 – Силапекс; 3 – Триоксидент

- Наличие в этих материалах микродефектов должно приводить к снижению герметизма и повышенной проницаемости как для МФ, так и для ее токсинов.
- Наличие микротрещин в ПМ можно объяснить усадкой при **отверждении**. Именно потому, что в Триоксидент включены различные по величине микрочастицы, они не плотно прилегали друг к другу, и на первый взгляд их можно было принять за крупные микропоры. Но расстояние между этими микрочастицами **заполнено гелеподобной массой**. В отличие от предыдущих материалов в Триоксиденте нет пустот. Гель сцепляет между собой частицы порошка цемента, и мы не можем их в полной мере отнести к разряду микропор. Поэтому в случае с Триоксидентом мы не в праве говорить о наличие микропор в структуре самого материала. При исследовании Триоксидента мы наблюдали процесс гидратации с образованием кристаллогидратов (Рис.3).

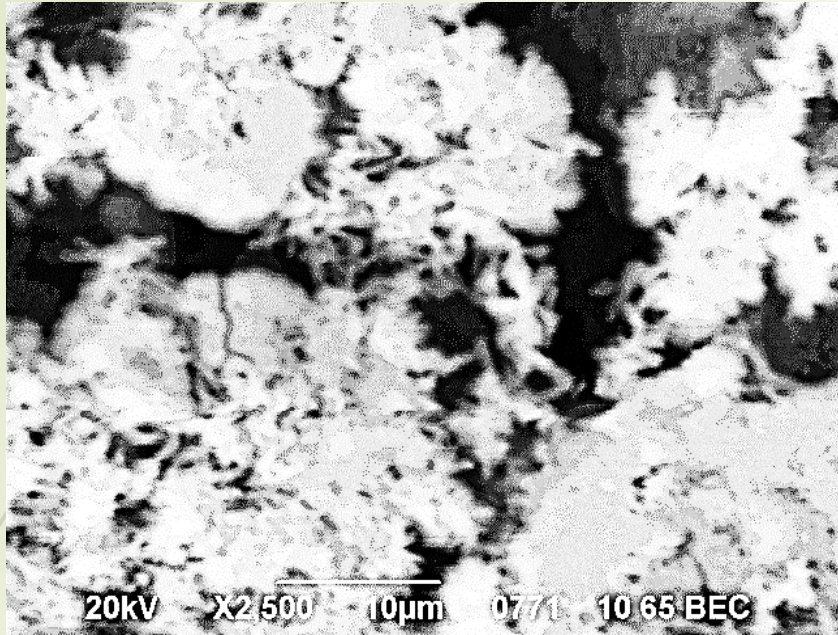


Рис. 3 Процесс гидратации с образованием кристаллогидратов в цементе Триоксидент в апикальной части корневого канала. СЭМ. ВЕС. Увеличение: x2500.

Несмотря на то, что эта реакция длится довольно долго, увеличивая прочностные характеристики материала, мы отмечаем ее уже в первые дни после пломбирования. Мы наглядно наблюдаем *увеличение площади поверхности твёрдой фазы цементного геля.*

Гелевые поры заполняются **тонкопористой структурой**. Влажная среда в периапикальном пространстве способствует сохранению влажности в цементном тесте и, соответственно, способствует его упрочнению. Это позволяет предположить, что использование Триоксидента для ортоградного пломбирования КК со временем увеличивает не только прочностные характеристики материала, но и данный эндогерметик благодаря своим физическим свойствам будет препятствовать фильтрации жидкости из периодонта в КК.

- Помимо исследования морфологии пломбировочных материалов, их дисперсности, однородности и состава, была проанализирована плотность прилегания материала к стенкам канала после пломбирования. На шлифах зубов, запломбированных исследуемыми материалами, при малых увеличениях невозможно оценить качество пломбирования. Мы визуально отмечаем везде плотное прилегание ПМ к стенкам апикального отверстия (Рис. 4).

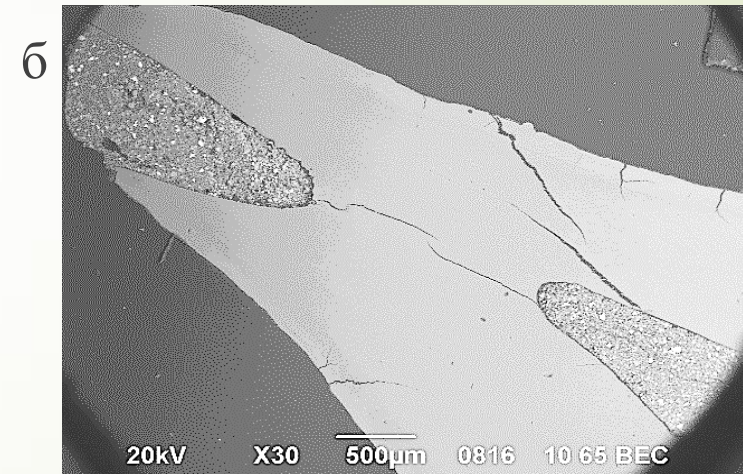
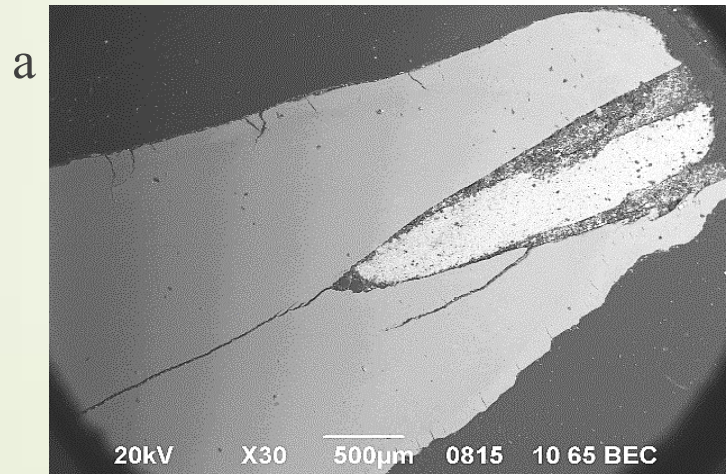


Рис. 4 Прилегание пломбировочного материала в апикальной области корневого канала: Силапекс с гуттаперчевым штифтом (а), Триоксидент (б). СЭМ. Контраст в ВЕС электронах. Увеличение: x30.

- ▶ При использовании больших увеличений во всех образцах были обнаружены микрощели между стенкой КК и ПМ (Рис.5).

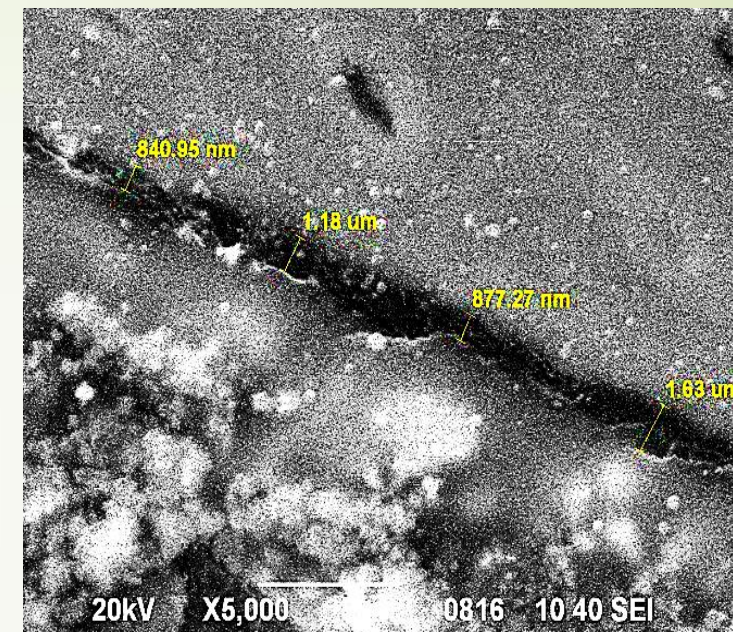
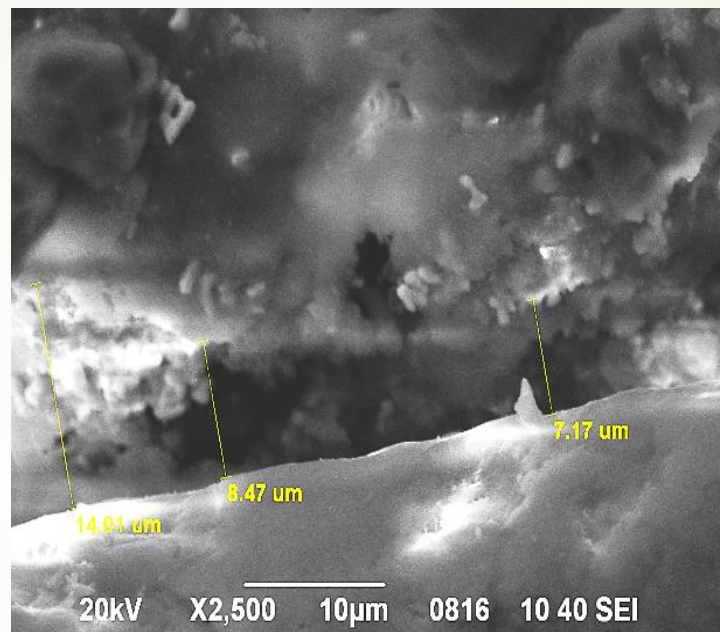
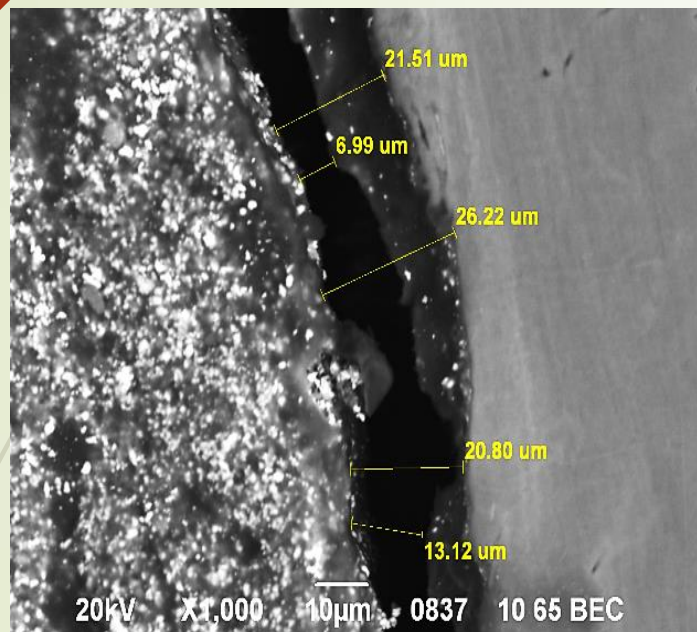
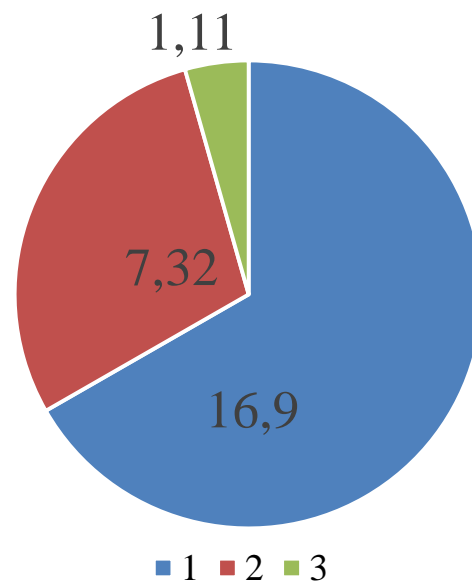


Рис. 5 Микрощель между стенкой канала и пломбировочным материалом: Форедент (а), Силапекс (б), Триоксидент (в). СЭМ. Контраст в ВЕС (а) и SEI электронах (б, в). Увеличение: x1000 (а), x2500 (б), x5000 (в).

- Результаты проведенных измерений микрощелей были обработаны с помощью программы Excel и представлены в виде диаграммы (Рис. 6).

Усредненные размеры микрощелей по границе пломбировочных материалов и стенок каналов (в микрометрах)




Примечание: 1 – Форедент; 2 – Силапекс; 3 – Триоксидент

- ▶ В ходе исследований шлифов было выявлено, что самое **плохое пристеночное прилегание** практически повсеместно отмечено для Форедента. Микрощели расположены в разных местах. В КК зубов, запломбированных этим материалом, обнаружено самое большое количество микропор и микрощелей как в самом ПМ, так и в пристеночной области. При этом размер микрощелей (расстояние между стенкой КК и ПМ) составил 6,99-26,22 μm .
- ▶ При использовании Силапекса с гуттаперчевыми штифтами в средней трети корней, ближе к апексу отмечали плотное прилегание ПМ к стенке канала практически повсеместно, но в некоторых местах (в 4 КК) обнаружены микрощели между дентином и силлером. Они содержались в незначительных количествах и составляют 7,17-14,07 μm . Плотное сцепление между гуттаперчевыми штифтами и силлером отмечено на всем протяжении пломбирования.
- ▶ В КК, заполненных Триоксидентом, неплотное прилегание к стенке канала отмечено в 1-2 местах в 2 корнях на незначительном протяжении и небольшой ширины (0,84-1,63 μm) в средней трети КК. *Это связано с отсутствием жидкости необходимой для затвердения материала.* Наиболее плотное краевое прилегание материала и самые маленькие микрощели в апикальной области говорят в пользу использования его для obturation корневых каналов с разрушенной апикальной констрикцией.

➤ Выводы:

- Процесс полимеризации пломбировочного материала приводит к усадке и образованию в нем микротрещин и микропор. В случаях использования Форедента и Силапекса это может привести прогрессированию патологического процесса в периодонте. Пломбирование Триоксидентом КК с разрушенной апикальной констрикцией относящихся к третьей группе ортоградным методом показало высокий результат за счет процесса гидратации в цементе и плотному краевому прилеганию.
- Результаты, проведенных с помощью СЭМ исследований, позволили выявить изменения в вес% соотношении в ткани дентина корня зуба после использования различных эндогерметиков. Морфологические исследования подтвердили, что применение Триоксидента способствует регенерации ткани цемента корня зуба даже в местах обширной резорбции.

- 
- ▶ **Практические рекомендации:** Проведенные исследования позволяют рекомендовать применение Триоксидента для пломбирования КК с разрушенной апикальной констрикцией типичным методом. ПМ создает, своего рода, моноблок прочно соединяясь со стенкой корневого канала. Мы не рекомендуем применение Триоксидента или аналогов для пломбирования зубов с сохраненной апикальной констрикцией, относящихся к первой группе в связи с высоким риском нарушения герметизации при отсутствии влаги в корневом канале и трудностями его внесения в данном случае.
 - ▶ Несмотря на то, что Силапекс оказывает положительное воздействие на химическую структуру дентина, его, как и Форедент, нельзя рекомендовать для пломбирования зубов с рентгенологически видимой разрушенной апикальной констрикцией корня. Это связано с выведением материалов через широкое апикальное отверстие ввиду повышенной текучести и относительного медленного периода восстановления окружающих зуб тканей. Силапекс лучше использовать для пломбирования корневых каналов зубов с частично разрушенной апикальной констрикцией, относящихся ко второй группе.