

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕНЕТРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ АДГЕЗИВНЫХ СИСТЕМ НА ВРЕМЕННЫХ ЗУБАХ МЕТОДОМ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

А.А. Мамедов¹, В.Б. Лощенов², Н.С. Морозова¹, А.В. Рябова², К.О. Иванникова¹,
Н.А. Орлова¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

Резюме

В работе представлены результаты исследования эффективности применения различных адгезивных систем (АС) при реставрации временных зубов композитными материалами. Для проведения исследования авторы использовали временные зубы, удаленные по ортодонтическим показаниям или утраченные вследствие физиологической смены. Из таких зубов были изготовлены образцы эмали с подлежащим дентином. В каждую из использованных АС был добавлен флуорохром (родамин В). Для большей практической значимости результатов были выбраны АС нескольких поколений: IV, V и VII. Далее в каждом образце отпрепарировали полость и провели адгезивную подготовку согласно инструкциям производителей соответствующих систем с последующей реставрацией композитным материалом. Затем для каждого образца изготавливали продольные шлифы с учетом полного попадания в область шлифа участков эмали и дентина, для которых проводили адгезивный протокол и реставрацию. Эффективность различных поколений определялась глубиной проникновения компонентов АС в дентинные трубочки. Для визуализации пенетрационной способности АС был использован метод флуоресцентной конфокальной микроскопии. По результатам исследования авторы делают вывод, что наибольшей эффективностью обладают АС IV и V поколения.

Ключевые слова: адгезивные системы, дентин, стоматология, детская стоматология, конфокальная микроскопия.

Для цитирования: Мамедов А.А., Лощенов В.Б., Морозова Н.С., Рябова А.В., Иванникова К.О., Орлова Н.А. Исследование пенетрационной способности адгезивных систем на временных зубах методом конфокальной микроскопии // Biomedical Photonics. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 4–9. doi: 10.24931/2413-9432-2020-9-2-4-9.

Контакты: Морозова Н.С., e-mail: kns74@bk.ru

STUDY OF PENETRATION ABILITY OF ADHESIVE SYSTEMS ON TEMPORARY TEETH BY CONFOCAL MICROSCOPY

Mamedov A.A.¹, Loschenov V.B.², Morozova N.S.¹, Ryabova A.V.², Ivannikova K.O.¹,
Orlova N.A.¹

¹Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

²Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

In this work, the authors evaluate the effectiveness of various adhesive systems (AS) in the temporary teeth restoration with composite materials. For this study, the authors used temporary teeth extracted for orthodontic reasons or lost due to a physiological change. Enamel samples with dentin were made from these teeth. Rhodamine B fluorochrome was added to each of the adhesive systems used. For the greater practical significance of research results, adhesive systems of several generations (IV, V, and VII) were chosen. In each sample, a cavity was prepared, and adhesive preparation was carried out according to the AS manufacturer instructions, followed by restoration with a composite material. Then, longitudinal slits were made so that the areas of enamel and dentin for which an adhesive protocol and restoration were performed could be observed in their entirety. The effectiveness of various generations was determined by the depth of penetration of AS components into the dentinal tubules. Fluorescent confocal microscopy was used to visualize the penetration ability of AS. Based on the results of the study, the authors concluded that IV and V generations of AS are the most effective.

Keywords: adhesive systems, dentin, dentistry, pediatric dentistry, confocal microscopy.

For citations: Mamedov A.A., Loschenov V.B., Morozova N.S., Ryabova A.V., Ivannikova K.O., Orlova N.A. Study of penetration ability of adhesive systems on temporary teeth by confocal microscopy, *Biomedical Photonics*, 2020, vol. 9, no. 2, pp. 4–9. (in Russian) doi: 10.24931/2413-9432-2020-9-2-4-9.

Contacts: Morozova N.S., e-mail: kns74@bk.ru

Введение

В современной реставрационной стоматологии композитные материалы являются материалами выбора [1]. Их применение получило широчайшее распространение благодаря прочности и долговечности композитных материалов, а также простоте работы с ними.

Успех применения конкретной марки композитного материала напрямую зависит от силы его адгезии к твердым тканям зуба – эмали и дентину, поэтому только грамотно подобранная адгезивная система (АС) может гарантировать стабильность реставрации в долгосрочной перспективе [2, 3].

Процесс обработки эмали и дентина перед реставрацией условно можно разделить на три этапа: кондиционирование, прайминг и бондинг. На первом этапе на твердые ткани зуба наносится ортофосфорная или органическая кислота, которая декальцифицирует интер- и перитубулярный дентин, растворяет смазанный слой, образовавшийся при препарировании, и открывает дентинные каналы, что обеспечивает проникновение компонентов адгезивной системы в толщу дентина. Затем вносят праймер, имеющий в своем составе гидрофильные группы, обеспечивающие адгезию к дентину, и гидрофобные группы, связывающиеся с бондом. Бонд, также являясь компонентом адгезивной системы, наносят после праймера, что обеспечивает адгезию к композитному материалу, который используется для реставрации [4].

АС классифицируют на поколения. Системы I – III поколения в настоящее время не используются. АС IV поколения наиболее сложны в применении: все три этапа в них разделены, то есть кондиционер, праймер и бонд представляют собой отдельные флаконы. Дальнейшее эволюционирование АС привело к объединению нескольких этапов обработки в один. В АС V поколения этап протравливания эмали выделен отдельно, а прайминг и бондинг совмещены. В системах VI поколения отдельно не выделяется этап кондиционирования, такие системы являются самопротравливающимися, выпускаются в двух отдельных емкостях и требуют смешивания перед применением. VII поколение также представлено самопротравливающимися АС, однако в нем все этапы объединены в один [3]. Подобные адгезивы наиболее просты в использовании [5].

Полноценное осуществление всех трех этапов адгезивного протокола затруднительно в рутинной

практике детского врача-стоматолога [6]. Поэтому наиболее популярными являются самопротравливающиеся АС и системы, совмещающие праймер и бонд [7].

В последний год популярность стали набирать универсальные бондинговые системы. Адгезивный протокол для них вариативен: врач, в зависимости от клинической ситуации, сам решает проводить ли этап кондиционирования.

В данном исследовании авторы сравнивают пенетрационную способность нескольких представителей наиболее популярных АС, используя метод флуоресцентной конфокальной микроскопии.

Материалы и методы

В исследовании были использованы интактные временные жевательные зубы, удаленные по ортодонтическим показаниям или утраченные вследствие физиологической смены. Всеми родителями пациентов было подписано информированное добровольное согласие на использование временных зубов для проведения экспериментального исследования.

Из временных зубов было изготовлено 63 образца эмали с подлежащим дентином. Для исследования были выбраны шесть АС, наиболее используемых детскими стоматологами, две из которых являются универсальными. Адгезивный протокол для каждой выбранной системы был проведен в соответствии с инструкциями производителей.

В исследовании были использованы АС IV поколения (Bond A, 12 образцов), АС V поколения (Bond B, 10 образцов), АС V поколения (Bond C, 10 образцов), АС VII поколения (Bond D, 11 образцов), универсальная АС (Bond E, 10 образцов) и универсальная АС (Bond F, 10 образцов).

Дополнительные характеристики исследуемых АС приведены в табл. 1.

В качестве флуорохрома выбран родамин В, 0,01% массовый раствор которого был добавлен к бондинговым агентам перед их нанесением [8].

Распределение флуоресценции родамина В внутри тканей зуба исследовали при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии с использованием микроскопа LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Для получения изображений использовали объектив Plan-Apochromat с увеличением

x20 (апертура 0,8). Для исследования шлифы зубов помещали на покровные стекла толщиной 0,17 мм и наблюдали в плоскости распила. Для возбуждения автофлуоресценции тканей зуба использовали аргоновый лазер с длиной волны 458 нм (LASOS, Германия), для возбуждения флуоресценции родамина В – DPSS лазер с длиной волны 561 нм (LASOS, Германия), детектировали автофлуоресценцию и флуоресценцию родамина В в диапазонах 465–555 нм и 570–650 нм, соответственно. Трехмерные флуоресцентные изображения были получены путем регистрации серии изображений с шагом 10 мкм вдоль оси Z с последующей реконструкцией трехмерного изображения при помощи программы ZEN (Carl Zeiss, Германия).

Пенетрационная способность определялась путем подсчета средней глубины проникновения (l) и количества заполненных дентинных канальцев в отношении ко всем канальцам в поле зрения (n) в процентах на изображениях, полученных методом флуоресцентной конфокальной микроскопии:

$$n = (n_{зан} / n_{общ}) \times 100\% \\ l = l_{cp} / n_{зан}$$

где n – процент заполненных дентинных канальцев среди общего числа дентинных канальцев в поле зрения;

$n_{общ}$ – общее количество дентинных канальцев в поле зрения;

$n_{зан}$ – количество заполненных дентинных канальцев в поле зрения;

l – пенетрационная способность;

l_{cp} – средняя глубина проникновения адгезивной системы в толщу дентина.

Статистический обсчет данных.

Точные доверительные границы к частоте рассчитывались на основе биномиального распределения.

Для определения достоверности различий использовался t -критерий Стьюдента.

Протокол подготовки образца для исследования

1. Так как дентинные трубочки направляются центрически к пульпарной камере, наиболее подходящей для исследования является пришеечная область временных зубов. Из пришеечной части коронки временного зуба выпиливают цилиндр, содержащий эмаль с подлежащим дентином, который делят на 4 части.
2. В центре блока цилиндрическим бором препарируют полость по пятому классу Блэка.
3. Проводят адгезивную подготовку образца согласно инструкции производителя.
4. Полость пломбируют жидкотекучим композитом.
5. Образец распиливают пополам.
6. Проводят конфокальную микроскопию образца.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты отображены на рис. 1 и 2.

Сравнивая эффективность отдельных представителей различных АС методом флуоресцентной конфокальной микроскопии, авторы заключили, что наилучшей пенетрационной способностью обладают АС IV и V поколения. Между ними не было выявлено статистически значимой разницы в количестве заполненных канальцев в поле зрения полученного изображения и глубины проникновения. Однако были получены достоверно более низкие результаты по аналогичным показателям у универсальных АС и АС VI поколения и универсальных бондинговых систем ($p < 0,05$).

Объяснить результаты данного исследования можно следующим образом: при препарировании

Таблица 1

Сравнительная характеристика адгезивных систем

Table 1

Comparison of the adhesive systems

Наименование Name	Поколение Generation	Схема использования Scheme of using the adhesive system
Bond A	IV	3 этапа: кондиционирование; прайминг; бондинг 3 steps: conditioning; priming; bonding
Bond B	V	2 этапа: кондиционирование; прайминг+бондинг 2 steps: conditioning; priming+bonding
Bond C	V	2 этапа: кондиционирование; прайминг+бондинг 2 steps: conditioning; priming+bonding
Bond D	VII	1 этап: кондиционирование+прайминг+бондинг 1 step: conditioning+priming+bonding
Bond E	универсальная система universal system	1 этап: кондиционирование+прайминг+бондинг 1 step: conditioning+priming+bonding
Bond F	универсальная система universal system	1 этап: кондиционирование+прайминг+бондинг 1 step: conditioning+priming+bonding

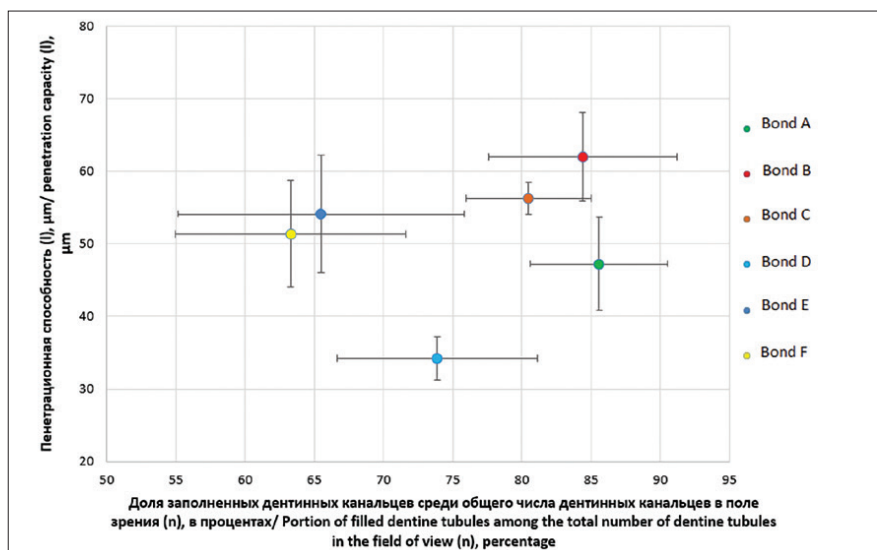


Рис. 1. Зависимость пенетрационной способности системы от доли заполненных дентинных канальцев
Fig. 1. Dependence of the penetration ability of the system on the fraction of filled dentinal tubules

эмали и дентина на их поверхности неизбежно образуется смазанный слой, который выступает в качестве барьера, препятствуя проникновению компонентов АС в толщу твердых тканей зуба [9]. Однако протравливание ортофосфорной кислотой в концентрации 30–40% способствует удалению смазанного слоя, обеспечивая микропористость твердых тканей и обнажение коллагеновых фибрилл [10]. Таким образом, выделенный этап кондиционирования способствует формированию гибридного слоя, прочно интегрированного с дентином [11].

Результаты, полученные авторами, согласуются с данными, представленными в современной литературе. В литературном обзоре T. Lemzi и соавт. [12] сообщают о том, что АС, в которых отдельно выделен этап кондиционирования, показывают лучшие результаты в сравнении с самопротравливающимися АС. Данный вывод авторы сделали на основании анализа результатов исследований *in vitro*, подчеркнув, что большее количество подобных исследований могло бы подтвердить его.

Однако имеются также данные, не подтверждающие значительного превосходства АС с выделенным этапом протравливания твердых тканей зубов. J. H. Jang и соавт. сравнивали самопротравливающие системы, где все три этапа адгезивной подготовки совмещены в один, и системы тотального травления, где этапы адгезивной подготовки разграничены, двумя путями: исследуя микропрочность на разрыв, при котором отдельно отмечался характер разрыва, и сравнивая снимки адгезивного слоя, полученные

с использованием трансмиссионного электронного микроскопа. В первом случае авторы отметили преимущество некоторых представителей систем тотального травления над самопротравливающимися адгезивами, однако заметили, что линия отлома всегда проходила по границе адгезивного интерфейса. Во втором случае значительной разницы в структуре адгезивного слоя выявлено не было. Авторы отметили, что в целом, согласно полученным ими результатам, и самопротравливающие системы, и системы тотального травления одинаково эффективны [13].

Возможно, использование большего количества образцов твердых тканей временных зубов и большего разнообразия представителей выбранных поколений АС будет способствовать получению статистически более достоверных результатов.

Результаты исследования могут быть использованы практикующими детскими стоматологами при выборе адгезивного протокола для рутинного применения, а также другими исследователями для более детального изучения вопроса адгезии реставраций к твердым тканям временных зубов.

Заключение

АС IV и V поколения демонстрируют высокую пенетрационную способность, что позволяет рекомендовать их к применению в реставрации временных зубов. Авторы связывают полученный результат с тем, что кондиционирование дентина 37% ортофосфорной кислотой позволяет более эффективно удалить смазанный слой, что обеспечивает более глубокое

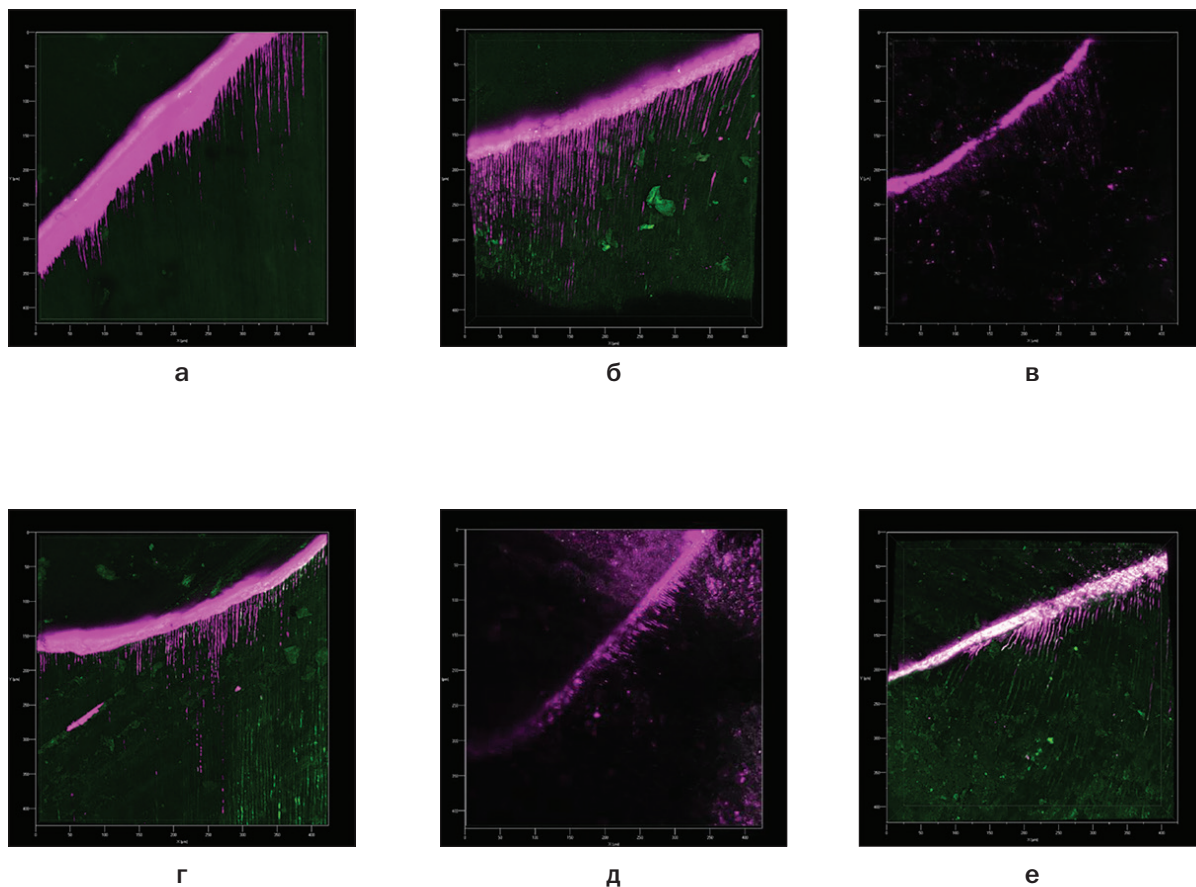


Рис. 2. 3D-реконструкция флуоресцентного изображения спила временного зуба при использовании различных адгезивных систем. Зеленым цветом подсвечены участки автофлуоресценции тканей зуба, розовым цветом – проникающая в дентин адгезивная система, меченная родамином В:

- а – Bond A (IV поколение);
- б – Bond B (V поколение);
- в – Bond C (V поколение);
- г – Bond D (VII поколение);
- д – универсальная AC Bond E;
- е – универсальная AC Bond F

Fig. 2. 3D reconstruction of a fluorescent image of temporary tooth sawn with various adhesive systems. Autofluorescence is shown in green, adhesive system labeled with rhodamine B – in pink:

- а – Bond A (generation IV);
- б – Bond B (generation V);
- в – Bond C (generation V);
- г – Bond D (generation VII);
- д – universal Bond E;
- е – universal Bond F

проникновение компонентов АС в дентинные каналцы. Таким образом, исключение кондиционирования как отдельного этапа неблагоприятно влияет на адгезию к дентину временных зубов. Авторы хотят подчеркнуть удобство и точность использованного ими метода исследования – флуоресцентной конфокальной микроскопии, и надеются на его дальнейшую популяризацию в стоматологии. Этот метод в дальнейшем может быть использован для

оценки пенетрационной способности эндодонтических паст и силеров, а также для исследования колоний микроорганизмов полости рта и твердых тканей зубов.

Работа выполнена при активной поддержке ЦКП ИОФ РАН «Технологический и диагностический центр для производства, исследования и аттестации микро и наноструктур».

ЛИТЕРАТУРА

1. Welbure R.R., Duggal M.S., Hosey M.T. *Paediatric dentistry*. – Oxford University Press, 2005. – 443 p.
2. Ozer F., Blatz M.B. Self-Etch and Etch-and-Rinse Adhesive Systems in Clinical Dentistry // *Compend Contin Educ Dent*. – 2013. – Vol. 34(1). – P. 12–18.
3. Асланян М.А., Еремин О.В., Труфанова Ю.Ю., Асланян Мел.А., Еремин А.О., Быкова О.А., Завьялов А.И. Применение адгезивных систем в стоматологии: прошлое и настоящее // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2018. – № 2. – С. 234–239.
4. Edward J.S. Bonding systems for restorative materials - a comprehensive review // *Pediatric Dentistry*. – 1998. – Vol. 20(2). – P. 80–84.
5. Семикозов О.В. Клинический взгляд на самопротравливающие адгезивы // *Проблемы стоматологии*. – 2010. – № 4. – С. 83–87.
6. Cameron A.C., Widmer R.P. *Handbook of pediatric dentistry*. – Oxford: Elsevier Health Sciences, 2013.
7. Sofan E., Sofan A., Palaia G., Tenore G., Romeo U., Migliau G. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type // *Ann Stomatol (Roma)*. – 2017. – Vol. 8(1). – P. 1–17.
8. Choi A.N., Lee J.H., Son S., Jung K.H., Kwon Y.H., Park J.K. Effect of Dentin Wetness on the Bond Strength of Universal Adhesives // *Materials*. – 2017. – Vol. 10(11). – P. 12–24.
9. Rosa W., Piva E., Silva A. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis // *Journal of dentistry*. – 2015. – Vol. 43(7). – P. 765–776.
10. Munoz M.A., Luque I., Hass V., Reis A., Loguercio A.D., Bombarda N.H. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine // *Journal of Dentistry*. – 2013. – Vol. 41. – P. 404–415.
11. Munoz M.A., Sezinando A., Luque-Martinez I., Szesz A.L., Reis A., Loguercio A.D., Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives // *Journal of Dentistry*. – 2014. – Vol. 42. – P. 595–602.
12. Lenzi T., Gimenez T., Tedesco T., Mendes F., Rocha R., Raggio D. Adhesive systems for restoring primary teeth: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies // *International Journal of Paediatric Dentistry*. – 2016. – Vol. 26(5). – P. 364–375.
13. Jang J.H., Lee M.G., Woo S.U., Lee C.O., Yi J.K., Kim D.S. Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive // *Dent Mater*. – 2016. – Vol. 35(4). – P. 606–618.

REFERENCES

1. Welbure R.R., Duggal M.S., Hosey M.T. *Paediatric dentistry*. Oxford University Press, 2005. 445 p.
2. Ozer F., Blatz M.B. Self-Etch and Etch-and-Rinse Adhesive Systems in Clinical Dentistry, *Compend Contin Educ Dent*, 2013, vol. 34(1), pp. 12–18.
3. Aslanyan M., Eremin O., Trufanova Yu., Aslanyan Mel.A., Bykova O., Zavyalov A. Use of adhesive systems in dentistry: past and present, *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal*, 2018, no. 2, pp. 234–239.
4. Edward J.S. Bonding systems for restorative materials - a comprehensive review. *Pediatric Dentistry*, 1998, vol. 20(2), pp. 80–84.
5. Semikozov O., A clinical review on self-etch adhesives, *Problemy stomatologii*, 2010, vol. 4, pp. 12–14. (in Russ.)
6. Cameron A.C., Widmer R.P. *Handbook of pediatric dentistry*. Oxford, Elsevier Health Sciences, 2013.
7. Sofan E., Sofan A., Palaia G., Tenore G., Romeo U., Migliau G. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type, *Ann Stomatol (Roma)*, 2017, vol. 8(1), pp. 1–17.
8. Choi A.N., Lee J.H., Son S., Jung K.H., Kwon Y.H., Park J.K. Effect of Dentin Wetness on the Bond Strength of Universal Adhesives. *Materials*, 2017, vol. 10(11), pp. 12–24.
9. Rosa W., Piva E., Silva A. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis, *Journal of dentistry*, 2015, vol. 43(7), pp. 765–776.
10. Munoz M.A., Luque I., Hass V., Reis A., Loguercio A.D., Bombarda N.H. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine, *Journal of Dentistry*, 2013, vol. 41, pp. 404–415.
11. Munoz M.A., Sezinando A., Luque-Martinez I., Szesz A.L., Reis A., Loguercio A.D. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives, *Journal of Dentistry*, 2014, vol. 42, pp. 595–602.
12. Lenzi T., Gimenez T., Tedesco T., Mendes F., Rocha R., Raggio D. Adhesive systems for restoring primary teeth: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies, *International Journal of Paediatric Dentistry*, 2016, vol. 26(5), pp. 364–375.
13. Jang J.H., Lee M.G., Woo S.U., Lee C.O., Yi J.K., Kim D.S. Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive, *Dent Mater*, 2016, vol. 35(4), pp. 606–618.