

з зарядженими групами фосфоліпідів, а саме, з залишками фосфату та холіну. Івін і потейтин також підвищують величину площі, що припадає на одну молекулу фосфоліпідів. Такі зміни можуть бути наслідком часткового проникання досліджених речовин між молекулами фосфоліпідів моношарових мембран.

1. Пономаренко С. П. Регуляторы роста растений на основе N-оксидов производных пиридина (физико-химические свойства и биологическая активность). – Киев: Техніка, 1999. – 272 с.
2. Романюк Н. Д. Фізіологічна активність нових регуляторів росту – івіну, емістиму С та агростимуліну: Автореф. дис. . . . канд. біол. наук. – Львів, 1999. – 24 с.
3. Ляхов О. М. Взаємодія фізіологічно активних речовин з ленгмюрівськими мономолекулярними плівками: Автореф. дис. . . . канд. біол. наук. – Київ, 2006. – 19 с.
4. Рыбальченко В. К., Островская Г. В., Рыбальченко Т. В. Активная роль липидного матрикса плазматических мембран в реализации эффектов регуляторных пептидов // Тканевые регуляторные пептиды. Теоретические аспекты и перспективы практического применения / Под общ. ред. И. П. Кайдашева, В. П. Мищенко, В. К. Рыбальченко. – Киев: Здоров'я, 2003. – С. 309–330.
5. Прокопенко Р. А., Ляхов О. М., Могилевич С. Є., Луйк О. І. Взаємодія модуляторів фосфоліпідної та аденілатциклазної сигнальних систем клітини з фосфоліпідними моношарами // Доп. НАН України. – 2001. – № 3. – С. 189–193.
6. Feng Si-Shen, Brockman L. H., Mac-Donald R. C. On osmotic-type equations of state for liquid-expanded monolayers of lipids at the air-water interface // Langmuir. – 1994. – 10. – P. 3188–3194.

Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 15.04.2008

УДК :616.314:615.849.19

© 2008

А. Я. Барилляк

Нанолазерна дезінфекція системи кореневого каналу зуба

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Д. Д. Зербіном)

A nanolaser method of the disinfection root canal system of tooth is offered. Comparing the bactericidal action of silver nanoparticles to the bactericidal effect of laser irradiation in the root canal of tooth in vitro is conducted. The increase of the depth of penetration of nanoparticles is set in dentinal tubules at the nanosecond sentinel mode of irradiation. Bacteriological information of researches confirmed that an additional laser irradiation at a wavelength of 1064 nm deeply enough got to the dentinal structures as a result of the waveguide effect and, in combination with silver nanoparticles provides a synergistic effect – total elimination of bacteria is due to the additional photoactivation of nanoparticles.

Мікроорганізми і токсичні продукти їх життєдіяльності у каналі кореня зуба являються головною причиною виникнення періапикальних запальних процесів або їх загострень. Тому основним завданням ендодонтичного лікування є повна дезінфекція кореневого каналу.

Якщо перший етап лікування — механічна обробка каналу зуба достатньо добре опрацьована і здійснюється за допомогою сучасного інструментарію, то власне дезінфекція макро- і мікроканалів загальноновизнаними антисептичними засобами є недостатньо ефективною. Це зумовлено насамперед тим, що мікроорганізми з некротизованого шару пульпи здатні проникати у дентин на глибину більше 1 мм, у той час як ірригація дентинних мікроканалів субмікронного діаметра дезінфікуючими розчинами фізично доступна лише до 100 мкм [1, 2].

В інфікованих тканинах каналу знаходять біля двадцяти видів аеробних та анаеробних бактерій з різною чутливістю та резистентністю до антисептичних розчинів [3]. Встановлення факту лазерної стерилізації каналу кореня зуба відкриває нові горизонти як альтернативний метод у подоланні проблеми недостатньої глибини проникнення дезінфікуючих засобів мікроканалів, оскільки глибина проходження лазерного випромінювання в структуру дентину сягає 1000 мкм і навіть більше. Доведено дезінфікуючу і бактерицидну дію лазера з повним видаленням інфікованих шарів і запечатуванням дентинних мікроканалів [4]. Однак стримуючим фактором для впровадження в клінічну практику методу лазерної дезінфекції є необхідність обмеження порогової густини енергії лазера, що забезпечує достатню напруженість електромагнітного поля в дентині для бактерицидної дії і допустиме термічне навантаження лазерного впливу на періапикальні тканини.

Разом з тим, останнім часом надзвичайно зростає інтерес до нанотехнологій з точки зору і стоматологічних застосувань. Попередньо ми вже продемонстрували успішне використання наночастинок срібла для дезінфекції системи каналу кореня зуба [5–7].

Мета даної роботи — повна дезінфекція системи каналу кореня зуба шляхом поєднання глибокого проникнення в мікроканалів наночастинок і їх лазерної активації. На наш погляд, реалізація цієї ідеї зможе істотно понизити енергетичний бар'єр необхідного бактерицидного лазерного впливу і різко підвищити терапевтичний ефект.

Для досліду було використано 52 однокореневі зуба людини з прямими каналами, які зберігалися у 0,9% фізіологічному розчині до початку експерименту. Канали кореня ендодонтично відпрепарували до розміру 50 за допомогою H-файлів та промивали фізіологічним розчином і стерилізували в автоклаві. У канал кореня зуба вводили 2 мкл бактерій *E. Coli* (ATCC 29 212). Далі зразки зубів інкубували протягом 4 год при температурі 37 °С.

Як бактерицидний агент використовували монодисперсний колоїдний розчин наночастинок срібла середнім розміром близько 20 нм і основною концентрацією 8 г/л. Для дослідження антимікробних властивостей синтезованого розчину наночастинок срібла використали стандартний мікрометод розведення, що визначав мінімальну бактерицидну концентрацію, яка становила 25 мкг/мл. Після інкубаційного періоду зразки поділили на 4 групи. Перша група зберігалась контрольною для тестованої форми бактерії. Друга група: кореневі канали зразків зубів через кварцевий світловод (300 мкм) опромінювали Nd:YAG лазером “Smart File” DEKA, який генерує на довжині хвилі 1064 нм. Опромінювання зразків здійснювалось за прийнятим протоколом, одним циклом, що складався з 5-ти спроб тривалістю 5 с та перервою у 20 с між кожною спробою. Канал кореня зуба опромінювали в напрямку від апікальної до коронкової частини циркулярними рухами. Третя група: 2 мкл розчину наночастинок срібла було введено у канал кореня зуба. Четверта група: 2 мкл розчину наночастинок срібла було введено в кореневий канал з наступним лазерним опроміненням. Середня потужність та частота імпульсів були однаковими як і для другої, так і для четвертої груп: 15 Гц і 1,5 Вт в режимі вільної генерації.

Мікроскопічні спостереження наночастинок та морфології поверхні макро- і мікроканалів проводили за допомогою електронного скануючого мікроскопа “ESEM XL30”, Philips.

Під час експерименту зразки зубів знаходились у стерильних пробірках Епендорфа, до яких було додано 100 мкл фізіологічного розчину. Далі, для кращого виділення бактерії з каналу та дентинних каналців пробірки знаходились у спеціальному шейкері протягом 15 хв. Отриманий розчин з пробірок Епендорфа був розведений 10 разів. Потім по 20 мкл із кожного розведення поміщали на чашки Петрі з 5% кров'яним агаром (“BioMerieux”, Франція), після чого чашки Петрі зберігались при температурі 37 °С протягом 24 год. Далі підраховувалась кількість колоній бактерій. Найнищий рівень бактерій становив 5×10^2 КУО/мл (кількість утворюваних одиниць на мл з отриманого розчину), який і приймалося за повне знищення бактерій.

Продемонструвавши у попередніх наших роботах бактерицидний ефект наночастинок срібла проти *E. coli* [5, 7] та лазерну дезінфікуючу дію в системі кореневих каналів [8], ми прагнули добитися синергічного ефекту при поєднанні цих двох методів, що є першим дослідженням такого плану *in vitro*.

Передумовою даної ідеї є унікальність наночастинок з точки зору розмірної залежності їх оптичних і теплофізичних характеристик і температури активації від матеріалу і фізичних розмірів частинок. Окрім цього, ми очікували значного бактерицидного ефекту внаслідок анізотропних світловодних властивостей дентину (дентинних мікроканалців) у ближньому інфрачервоному діапазоні спектра [9].

Результати першої групи (контрольної) показали кількість колоній, що становила 10^6 – 10^7 КУО/мл. У другій групі ми зауважили, як і у попередній нашій роботі [8], що кількість колоній бактерій зменшилась на 3–4 порядки порівняно з контрольною групою (табл. 1).

У третій групі кількість колоній бактерій зменшилась також на 3 порядки. Раніше ми пояснювали цей факт взаємодією наночастинок із складовими зовнішньої мембрани клітини бактерії, що спричиняє її структурні зміни у вигляді численних кратерів на поверхні, дегідратацію та, в кінцевому результаті, знищення клітини бактерії [10]. У четвертій групі ми встановили найбільший ступінь знищення бактерій, $5 \cdot 10^2$ КУО/мл. Тобто, додаткове лазерне опромінення каналу кореня зуба з наночастинами срібла приводить практично до

Таблиця 1. Результати бактеріологічного дослідження

Зразки зубів	Кількість колоній бактерій у зразках зубів, КУО/мл			
	Група 1 (контрольна)	Група 2 лазер	Група 3 наночастинок Ag	Група 4 наночастинок Ag + лазер
1	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$
2	$4,5 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$
3	$3 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^4$	0
4	$1,5 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^2$
5	$1 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^1$
6	$5 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^3$	0
7	$1 \cdot 10^7$	$3,5 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^2$
8	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^2$
9	$5 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^2$
10	$5 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^3$	0
11	$4 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$
12	$4,5 \cdot 10^7$	$7,5 \cdot 10^3$	0	0
13	$2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$

тотального знищення бактерій. Цей факт пояснюється можливим резонансним поглинанням лазерного випромінювання окремими наночастинками і їх агломератами в мікроканальцях як своєрідними елементами “приймаючої антени”. Тим більше, що розмірні фрагменти елементів (нанооб’єктів) такої “антени” можуть виявитися співмірними з довжиною хвилі лазерного випромінювання. Це призводить до різкого підвищення температури довкола ядра частинки, тобто до її додаткової активації і, відповідно, до підвищення бактерицидної здатності. В експериментальних дослідженнях різке підвищення температури внаслідок фотонанотермолізу дійсно було нами зафіксовано.

Для збільшення глибини проникнення наночастинок у мікроканальці порівняно з ефектом вільної penetрації і, відповідно, підсилення бактерицидної дії застосували лазерне опромінення в наносекундному режимі (Nd:YAG Q-Switched Laser “Brilliant” Quantel, 10 мДж, 5 нс. Ідея цього експерименту полягала у використанні режиму лазерного опромінювання, що задовільняв би критерій виникнення ударної хвилі в зоні лазерного впливу. Наслідком є механічний імпульс ударної хвилі, який наночастинки отримують при збудженні коротким лазерним імпульсом у пружному середовищі колоїдного розчину. Генерована лазерним імпульсом ударна хвиля супроводжується ультразвуковими коливаннями, при яких відбувається дисипація можливих агломератів на окремі наночастинки з величезною сумарною ефективною бактерицидною поверхнею.

Отримані експериментальні результати досліджень однозначно підтвердили ефективність застосування комбінованого методу дезінфекції каналу кореня зуба із застосуванням наночастинок срібла з подальшим лазерним опроміненням. Кількісні дані бактеріологічних досліджень підтвердили, що додаткове лазерне опромінення на довжині хвилі 1064 нм достатньо глибоко проникає в дентинні структури внаслідок світловодного ефекту і, активуючи інтеркальовані в мікроканальці наночастинки срібла, забезпечує синергічний ефект — тотальне знищення бактерій. [11]. Такий підхід дозволяє суттєво обмежити порогову густину енергії лазерного опромінення системи кореневого каналу і тим самим запобігти критичному термічному навантаження на периапікальні тканини. Застосування ж режиму опромінення зони кореневого каналу, що викликає ударну хвилю, ініціює глибоке проникнення наночастинок срібла в мікроканальці і дезінфекцію дентину на глибину втричі більшу порівняно з умовами вільної penetрації наночастинок.

Запропонований метод безперечно відкриває нові можливості у сучасній лазерній- та наноендодонтії і потребує свого подальшого вивчення.

1. *Distel J. W., Hatton J. F., Gillespie M. J.* Biofilm formation in medicated root canals // *J. Endod.* – 2002. – No 2810. – P. 689–693.
2. *Vaarkamp J., Verdonschot E.* Propagation of light through human dental enamel and dentine // *Caries Res.* – 1995. – No 29. – P. 8–13.
3. *Gutknecht N.* Лазер в эндодонтии. Предпосылки для успешного лечения // *Новое в стоматологии.* – 2001. – No 10. – С. 19–25.
4. *Folwaczny M., Mehl A., Jordan C.* Antibacterial effects of pulsed Nd: YAG laser radiation at different energy settings in root canals // *J. Endod.* – 2002. – **28**. – P. 24–29.
5. *Пат. № 26224.* – А Україна. А 61С 5/00 Спосіб дезінфекції каналу кореня зуба / Бариляк А. Я., Бобицький Я. В., Верніш І., Вінтнер Е, Георгіполос А., Заїченко О. С, Шевчук О. М., Шуп У /UA/. – № 200704790. – Заявлено 28.04.2007. – Опубл. 10.09.2007. – “Промислова власність”, Бюл. № 14. – 2007.
6. *Varylyak A. Y., Zubachyk V. M., Schoop U. et al.* The bactericidal effect of nanoparticles in combination with laser irradiation // *4th Congress of the Society for Oral Laser Applications SOLA.* – Bruges. – 2007. – P. 32–33.
7. *Зубачик В. М., Бариляк А. Я.* Нанотехнології у дезінфекції каналу кореня зуба. Дослідження з використанням наночастинок срібла in vitro // *Новини стоматології.* – 2008. – № 2. – С. 28–32.

8. Schoop U., Barylyak A., Goharkhay K. et al. The Impacts of an Er, Cr: YSGG Laser with Radial-Firing Tips in Endodontic Treatment // *Lasers Med. Sci.* – 2007. – **20**. – P. 83–86.
9. Зубачик В. М., Барилляк А. Я. Світловодні властивості зуба // *Стомат. новини.* – 2005. – № 4. – С. 23–26.
10. Sondi I., Dan V. Salopek-Sondi I. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria // *J. Coll. Interface Science.* – 2004. – No 275. – P. 177–182.
11. Letfullin R., Joenathan C., George T., Zharov V. Laser-induced explosion of gold nanoparticles: potential role for nanophotothermolysis of cancer // *Nanomedicine.* – 2006. – **1**, No 4. – P. 473–480.

*Львівський національний медичний
університет ім. Данила Галицького
Стоматологічна клініка ім. Готліба
Віденського медичного університету*

Надійшло до редакції 12.06.2008