

doi: 10.25005/2074-0581-2021-23-4-532-541

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ПРОТИВОМИКРОБНОГО НАНОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИДА МЕДИ-КАЛЬЦИЯ

В.А. РУМЯНЦЕВ¹, Г.А. ФРОЛОВ², А.В. БЛИНОВА¹, Я.Н. КАРАСЕНКОВ³, Е.В. БИТЮКОВА¹¹ Кафедра пародонтологии, Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Российская Федерация² Кафедра физической химии, Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Российская Федерация³ «Медицинская компания РосДент», Москва, Российская Федерация

Цель: изучить структурную организацию применяемого в стоматологии комплексного гидроксида меди-кальция (ГМК) в водной суспензии, а также нового противомикробного нанопрепарата на основе ГМК и гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II).

Материал и методы: исследовали препарат «Купрал» производства «Humanchemie GmbH» (Германия). Непосредственно перед исследованием его разводили или дистиллированной водой, или гидрозолем наночастиц меди и оксида меди (II) в соотношении 1:2. Гидрозоль получали в лаборатории кафедры физической химии НИТУ МИСиС методом конденсации низкотемпературной плазмы в искровом разряде. Для исследования суспензий использовали просвечивающий электронный микроскоп «LEO 912 AB OMEGA» (Karl Zeiss).

Результаты: при разведении ГМК гидрозолем наночастиц меди и оксида меди (II) образуется сложная наноразмерная композиционная структура. Наночастицы дисперсной фазы проникают внутрь поверхностных слоёв частиц ГМК, являющихся кристаллогидратами оксида меди (II) и оксида кальция.

Заключение: обнаруженный феномен позволит разработать новую технологию наноимпрегнации дентина корня зуба при эндодонтическом и пародонтологическом лечении, не требующую дополнительных электрофоретических воздействий.

Ключевые слова: эндодонтия, пародонтология, нанотехнологии, гидроксид меди-кальция, электронная микроскопия.

Для цитирования: Румянцев ВА, Фролов ГА, Блинова АВ, Карасенков ЯН, Битюкова ЕВ. Электронно-микроскопические свойства нового противомикробного нанопрепарата на основе гидроксида меди-кальция. *Вестник Авиценны*. 2021;23(4):532-41. Available from: <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2021-23-4-532-541>

ELECTRON MICROSCOPIC PROPERTIES OF A NEW ANTIMICROBIAL NANODRUG BASED ON COPPER-CALCIUM HYDROXIDE COMPOUND

V.A. RUMYANTSEV¹, G.A. FROLOV², A.V. BLINOVA¹, YA.N. KARASENKOV³, E.V. BITYUKOVA¹¹ Department of Periodontology, Tver State Medical University, Tver, Russian Federation² Department of Physical Chemistry, National University of Science and Technology "MISIS", Moscow, Russian Federation³ "RosDent" Medical Company, Moscow, Russian Federation

Objective: To study the structural arrangement of the copper-calcium hydroxide (CCH), a commercially available dental paste used in aqueous suspension, as well as a new antimicrobial nanodrug based on CCH and a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide.

Methods: Dental paste Cupral® manufactured by "Humanchemie GmbH" (Germany) was investigated. Immediately prior to the study, it was diluted with either distilled water or a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide in a ratio of 1:2. The hydrosol was obtained in the Department of Physical Chemistry laboratory at the National University of Science and Technology "MISIS", using the method of condensation of low-temperature plasma in a spark discharge. The microstructure of the obtained samples was analyzed using a transmission electron microscope (TEM), LEO 912 AB OMEGA (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany).

Results: Dilution of CCH with a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide results in forming a complex nanosized composite structure. Nanoparticles in the dispersed phase penetrate the surface layers of CCH particles, which are crystalline hydrates of copper (II) oxide and calcium oxide.

Conclusion: The discovered phenomenon could be helpful in the design of a new technology of nanoimpregnation of the tooth root dentin in endodontic and periodontal treatment, which does not require additional electrophoresis.

Keywords: Endodontics, periodontology, nanotechnology, copper-calcium hydroxide, electron microscopy.

For citation: Rumyantsev VA, Frolov GA, Blinova AV, Karasenkov YaN, Bitjukova EV. Elektronno-mikroskopicheskie svoystva novogo protivomikrobnogo nanopreparata na osnove gidroksida medikal'tsiya [Electron microscopic properties of a new antimicrobial nanodrug based on copper-calcium hydroxide compound]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2021;23(4):532-41. Available from: <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2021-23-4-532-541>

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы исследователями была доказана связь между хроническими стоматогенными очагами инфекции и развитием общей соматической патологии: микробные токсины, частицы бактериальных клеточных стенок и живые микроорганизмы, проникая в кровеносное русло, провоцируют изменения

INTRODUCTION

In recent years, some studies have found the link between chronic stomatogenic foci of infection and the development of general somatic pathology: microbial toxins, particles of bacterial cell walls and living microorganisms penetrating the bloodstream, provoke changes in the structure of vessel walls, which leads to

в структуре стенок сосудов, что приводит к развитию атеросклероза [1-3]. Его системные осложнения, а также аутоиммунные и аллергические реакции могут приводить к снижению качества жизни людей. В подавляющем большинстве случаев, одонтогенные очаги инфекции формируются в области апикального (при апикальном пародонтите) или краевого (при пародонтите) пародонта. В первом случае инфекция способна длительно персистировать в системе корневых каналов зуба и многочисленных дентинных трубочках, а во втором – в глубине патологических пародонтальных карманов и структурах цемента корня. Академиком В.К. Леонтьевым с соавт. (2011) в пространствах дентина корня зуба на глубине 300-1000 мкм обнаружены бактериальные колонии, длительно сохраняющие свою активность [4]. Через систему дентинных трубочек патогены могут попадать туда как со стороны корневого системы зуба при пульпите и пародонтите, так и со стороны пародонтальных карманов, обуславливая развитие эндо-пародонтального синдрома.

По некоторым данным, эффективность традиционного эндодонтического лечения, несмотря на множество разработанных инструментов и оригинальных приспособлений, не превышает 53-64% для однокорневых и 39-40% для многокорневых зубов. Потребность в перелечивании зубов почти в 2,5 раза превышает потребность в их первичном лечении [5]. Пародонтальные очаги инфекции также способны длительно существовать, поскольку симптоматика при хроническом пародонтите может быть не выражена и своевременное лечение не всегда возможно.

Современные эндодонтия и пародонтология стоят перед проблемой пролонгированного противомикробного воздействия на инфекционные очаги, скрытые в труднодоступных наноразмерных структурах в глубине твёрдых тканей зуба. Одной из первых удачных попыток такого воздействия стала разработка немецким профессором А. Кнаппвост методики импрегнации корневых каналов и пародонтальных карманов комплексным ионным препаратом – гидроксидом меди-кальция (ГМК, Купрал®) [6]. В эндодонтии технология заключается в проведении дозированного электрофореза ГМК («депофореза») с помощью источников постоянного электрического тока. В пародонтологической практике ГМК вводится в пародонтальные карманы на пропитанных хлопчатобумажных нитях – эта процедура получила название «купрал-кюретаж» [7]. Как показала многолетняя практика, использование ГМК является перспективным направлением в комплексной терапии эндо-пародонтальных поражений [8-10]. Однако предложенные методы требуют дополнительного оборудования (источников электрического тока, гальванических штيفтов, нитей), предполагают, как минимум, три визита к врачу, а лечение длится в среднем 20-30 дней.

Коллективом исследователей из НИТУ «МИСиС» (Москва) в 2017 году была опубликована статья, описывающая антибактериальную активность материалов для пломбирования кариозных полостей, модифицированных наночастицами металлов и их оксидов [11]. Токсикологические профили наночастиц, в том числе меди, оксида меди (II) и серебра, оценивались ранее в многочисленных исследованиях на крысах [12], эмбрионах рыб-зебр [13], клеточных линиях фибробластов [14] и трёхмерных культурах кератиноцитов [15]. Негативных цитологических и биохимических реакций отмечено не было. Однако данные о возможности использования нанопрепаратов в эндодонтии и пародонтологии и их комбинации с уже существующими материалами крайне скудны. В научной литературе отсутствуют и актуальные сведения о структурной организации и физико-химических свойствах ГМК. Это ограничивает возможности дальнейшего изучения, совер-

the development of atherosclerosis [1-3]. Its systemic complications, autoimmune and allergic reactions can lead to a decrease in the quality of life of people. In most cases, odontogenic foci of infection are formed in the apical (in apical periodontitis) or marginal (in marginal periodontitis) periodontium. In the former case, the infection can persist for a long time in the root canal system and numerous dentinal tubules. In the latter case, it is located deep in pathological periodontal pockets and root cementum structures. Academician Leontiev VK et al (2011) in the spaces of the root dentin at a depth of 300-1000 μm , bacterial colonies were found that retain their activity for a long time [4]. Through the system of dentinal tubules, pathogens can get there from the tooth root system in pulpitis and periodontitis and periodontal pockets, resulting in endoperiodontal syndrome development.

According to some reports, the effectiveness of traditional endodontic treatment, despite the many advanced tools and unique devices, does not exceed 53-64% for single-rooted and 39-40% for multi-rooted teeth. In addition, the incidence of endodontic retreatment is almost 2.5 times higher compared to the one of primary treatment [5]. Periodontal foci of infection can also exist for a long time since the symptoms of chronic periodontitis may be vague; therefore, timely treatment is not always possible.

Modern endo-periodontics are facing the problem of prolonged antimicrobial action on infectious foci hidden in hard-to-reach nanostructures deep in the hard dental tissues. One of the first successful attempts at such an intervention was the development by the German professor A. Knappwost of a technique for impregnating root canals and periodontal pockets with a complex ionic preparation – copper-calcium hydroxide (CCH) or Cupral® [6]. The technology involves carrying out dosed electrophoresis of CCH and is called depophoresis using direct electric current sources. In periodontal practice, CCH is introduced into periodontal pockets on impregnated cotton threads - this procedure is called "cupral-curettage" [7]. As long-term observations have shown, the use of CCH is a promising area in the combination therapy of endo-periodontal lesions [8-10]. However, the proposed methods require additional equipment (sources of electric current, galvanic pin elements, threads), involve at least three patient visits, and an average treatment duration of 20-30 days.

In 2017, a research team from NUST "MISIS" (Moscow) published an article describing the antibacterial activity of dental filling materials for carious cavities modified with metal oxide nanoparticles and their oxides [11]. The nanoparticles toxicity of copper, copper (II) oxide, and silver have been previously evaluated in numerous rat models [12], zebrafish embryos [13], fibroblast cell lines [14], and three-dimensional keratinocytes cultures studies [15]. No adverse cytological and biochemical reactions were noted. However, data on the potential nanodrugs use in endodontics and periodontics, and their combination with already existing materials are incredibly scarce. The scientific literature also lacks up-to-date information on the structural arrangement and physicochemical properties of CCHs. This limits the possibilities for further study, improvement, and implementation of nanoimpregnation technologies in endodontic and periodontal treatment protocols.

PURPOSE OF THE STUDY

to study the structural arrangement and properties of the antimicrobial CCH used in endodontics and periodontology and a

шенствования и внедрения наноимпрегнационных технологий в протоколы эндодонтического и пародонтологического лечения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить с помощью просвечивающей электронной микроскопии структурную организацию и свойства противомикробного препарата гидроксида меди-кальция, используемого в эндодонтии и пародонтологии, а также нового противомикробного нанопрепарата на основе гидроксида меди-кальция и гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовал препарат гидроксида меди-кальция (Купрал®) производства «Humanchemie GmbH» (Германия). Непосредственно перед исследованием его разводили дистиллированной водой в соотношении 1:2. Новый препарат на основе ГМК создали путём его разведения до состояния суспензии гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II) в том же соотношении. Гидрозоль наночастиц меди и оксида меди (II) размерами 0,5-3 нм получали в лаборатории кафедры физической химии Национального исследовательского технологического университета «МИСиС» (Москва) методом конденсации низкотемпературной плазмы в искровом разряде.

Проводили просвечивающую электронную микроскопию и микроскопию в «тёмном поле». Для исследования суспензий использовали просвечивающий электронный микроскоп «LEO 912 AB OMEGA» (Carl Zeiss, Germany) 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).

Полученные суспензии, содержащие мелкодисперсные частицы ГМК, диспергировали в ультразвуковой ванне в течение 10 минут с частотой 22 кГц. Затем несколько капель образцов помещались на плёнки-подложки из поливинилформаль и переносились на предметные никелевые сетки толщиной 20 нм, диаметром 3,05 мм и стороной ячейки 40 мкм.

Всего было сделано 32 снимка суспензии ГМК в дистиллированной воде и 48 снимков образцов суспензии ГМК в гидрозоле наночастиц меди и оксида меди (II).

Исследование носило описательный характер. Статистический анализ включал вычисление из вариационных рядов среднего значения размеров частиц и стандартной ошибки средней величины.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования представлены на рисунках. На рис. 1А видно, что на поверхности плёнки из поливинилформаль 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.

В ходе исследования определено, что степень слияния напрямую зависит от времени, прошедшего от момента получения суспензии ГМК: чем большее время прошло от этого момента, тем

new antimicrobial nanopreparation based on CCH and a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide using transmission electron microscopy.

METHODS

The study involved the preparation of CCH (Cupral®) manufactured by Humanchemie GmbH (Germany). Immediately prior to the study, it was diluted with distilled water in a ratio of 1:2. As a result, a new drug based on CCH was created by diluting it for suspension with a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide in the same ratio. A hydrosol of copper and copper (II) oxide nanoparticles with a size of 0.5-3 nm were obtained in the laboratory of the Department of Physical Chemistry of the National Research Technological University "MISIS" (Moscow) by the method of low-temperature plasma condensation in a spark discharge.

Transmission electron microscopy and dark field microscopy were conducted. To study the suspensions, a transmission electron microscope (TEM), LEO 912 AB OMEGA (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) equipped with the in-column OMEGA-energy filtering system and Koehler Illumination system for high image contrast was used. The TEM technical data are as follows:

1. Acceleration voltage: 60-120 kV
2. Area illumination (TEM): 1 μm to 75 μm
3. Illuminating aperture: 0.02 to 5 mrad
4. Elastic energy resolution: 1.5 eV
5. Energy loss range: 0 to 2500 eV

The obtained suspensions containing finely dispersed particles of CCH were treated for 10 minutes in an ultrasonic bath for 10 minutes (22 kHz). Then, several drops of samples were placed on polyvinyl formal films as substrates and transferred to nickel grids 20 nm thick, 3.05 mm in diameter with a hole width of 40 μm .

A total of 32 photographs of a suspension of CCH in distilled water and 48 photographs of samples of a suspension of CCH in a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide were taken.

Descriptive research was conducted. Statistical analysis included determining the average particle size and the standard error of the mean.

RESULTS

The results of the study are presented in the following figures. In Fig. 1A, adhesion of two aggregates of particles, after applying the CCH suspension prepared in distilled water, occurred on the surface of the Polyvinyl formal (PVF) film. Each aggregate consists of several tens of spherical CCH particles ranging from 200 to 900 nm. However, most particles are in the size range of 287 ± 23.4 nm. They are represented by linear chains, between which a diffusion contact is established with varying degrees of coalescence between nanoparticles.

During the study, it was determined that the degree of fusion directly depends on the time elapsed from the moment the CCH suspension was obtained: the more time has passed from this moment, the more nanoparticles merge into chains, forming CCH particles with a size of 300 to 400 nm, on average 362 ± 14.6 nm (Fig. 2).

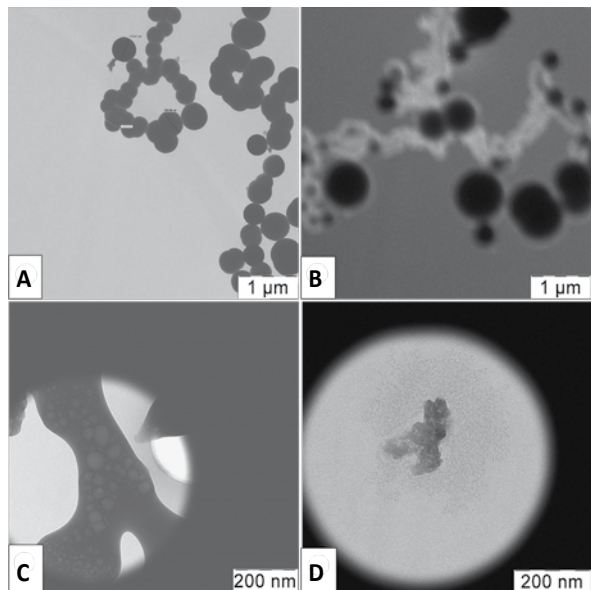


Рис. 1 Водная суспензия гидроксида меди-кальция (ГМК). А: агрегаты частиц ГМК, светлопольное изображение; В: агрегаты частиц ГМК, тёмнопольное изображение; С: кристаллическая фаза оксидов меди (II) и кальция, светлопольное изображение; D: аморфная фаза оксидов меди (II) и кальция, тёмнопольное изображение

Fig. 1 An aqueous suspension of CCH. A: CCH particle aggregates, bright-field image; B: aggregates of CCH particles, dark-field image; C: crystalline phase of copper (II) and calcium oxides, bright-field image; D: amorphous phase of copper (II) and calcium oxides, dark-field image

больше сливаются наночастицы в цепочки, образуя частицы ГМК размером от 300 до 400 нм, в среднем $362 \pm 14,6$ нм (рис. 2).

В тёмнопольном изображении на рис. 1В видно, что частицы ГМК имеют светлый ободок. Скорее всего, это связано с тем, что они представляют собой кристаллогидраты оксида меди (II) и оксида кальция. Это хорошо видно и на рисунке 1С, где определяется, что частицы ГМК состоят из более мелких частиц кристаллогидратов оксида меди (II) и оксида кальция со средним размером $12 \pm 3,2$ нм.

На рисунке 1D видно, что в суспензии ГМК также встречаются отдельные агрегированные частицы, не содержащие кристаллогидраты оксида меди (II) и оксида кальция и представленные аморфными фазами оксидов этих металлов. Такие агрегаты состоят из более мелких частиц со средним размером $4 \pm 1,6$ нм и имеют неправильную форму.

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 (рис. 3А). Этот эффект обусловлен электронным нагревом кристаллогидратов, способствующим коалесценции соседних кристаллогидратов с образованием более

The dark-field image of Fig. 1B shows that CCH particles have a light rim. Most likely, this is because they are crystalline hydrates of copper (II) oxide and calcium oxide. This is also seen in Fig. 1C, where the CCH particles consist of smaller particles of crystalline copper oxide (II) and calcium oxide with an average size of 12 ± 3.2 nm.

Fig. 1D shows that in the CCH suspension, individual aggregated particles do not contain crystalline hydrates of copper (II) oxide and calcium oxide and are represented by amorphous phases of oxides of these metals. Such aggregates consist of smaller particles with an average size of 4 ± 1.6 nm and of irregular shape.

During the study, it was found that the effect of an electron beam on a suspension of CCH led to the growth of crystalline copper oxide (II) and calcium oxide several times: from 12 ± 3.2 nm to 61 ± 7.3 nm (Fig. 3A). This effect is due to the electronic heating of crystalline hydrates, which promotes the coalescence of neighbouring crystalline hydrates with the formation of larger particles (Fig. 3B). As a result, such intermediate particles continue to merge, forming even larger ones.

When copper nanoparticles and copper (II) oxide hydrosol was added to CCH instead of distilled water, the particle depo-

Рис. 2 Зависимость средних размеров частиц ГМК от времени, прошедшего от момента приготовления суспензии. Ось абсцисс – время (минуты); ось ординат – средний размер частиц ГМК (нм)

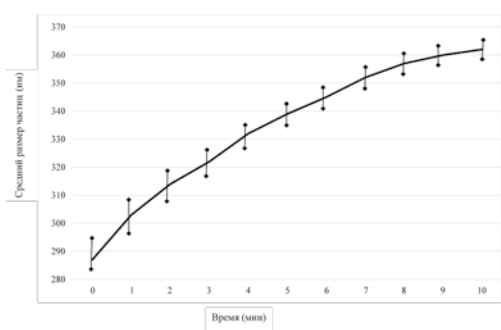


Fig. 2 Dependence of the average size of CCH particles on time elapsed from the moment of preparation of the suspension. X-axis – time (min), Y-axis – average particle size of CCH (nm)

Рис. 3 Структура частиц ГМК после воздействия электронного пучка в светлопольном изображении

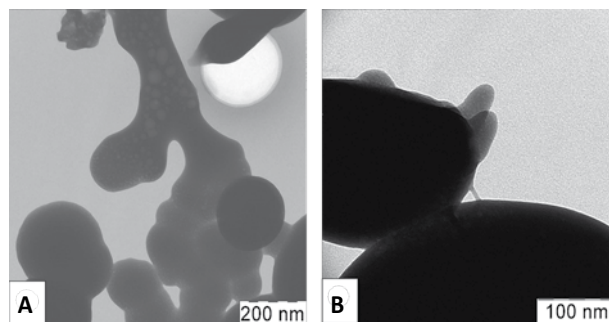


Fig. 3 Structure of GMC particles after exposure to an electron beam in a bright-field image

крупных частиц (рис. 3В). В дальнейшем такие промежуточные частицы могут продолжать сливаться, образуя еще более крупные.

При добавлении к ГМК вместо дистиллированной воды гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II) картина осаждения частиц на поверхность плёнки из поливинилформала кардинально менялась – количество осажённых на полимерную плёнку частиц увеличивалось на несколько порядков (рис. 4А и 4В).

На рис. 5А и 5В видно, что при добавлении гидрозоля наночастиц количество частиц ГМК в одной флоккуле увеличивалось, как и степень контакта между ними. На рисунке 5С зафиксировано, что наночастицы меди и оксида меди (II) проникали внутрь кристаллогидратов оксидов меди (II) и оксида кальция в поверхностных слоях частиц ГМК. Причём 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 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 наночастиц меди и оксида меди (II) (рис. 5D).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было установлено неизвестное ранее явление образования композиций наночастиц ГМК при его разведении гидрозолями наночастиц меди и оксида меди (II). Наночастицы дисперсной фазы, вследствие своих малых размеров (0,5-3 нм) и высокой удельной поверхностной энергии, проникают внутрь сферических частиц ГМК, имеющих средний размер $287 \pm 23,4$ нм и образованных кристаллогидратами оксида меди (II) и оксида кальция. Это приводит к образованию сложной наноразмерной композиционной структуры, состоящей из частиц ГМК, окружённых наночастицами меди и оксида меди (II).

Повышение адгезивных характеристик частиц оксидов меди (II) и оксида кальция – основных структурных элементов ГМК – можно объяснить активной адагуляцией наночастиц меди со значительно более крупными частицами этих оксидов. При этом высокоэнергетические наночастицы меди проявляют, по сути, свойства поверхностно-активного вещества. Это приводит к снижению когезии в агрегатах ГМК. Поэтому при разведении гидрозолями наночастиц меди, адгезия и смачиваемость ГМК на плёнке

Рис. 4 Электронная микрофотография пасты ГМК, разведённой дистиллированной водой (слева) и разведённой гидрозолями наночастиц меди и оксида меди (II) (справа)

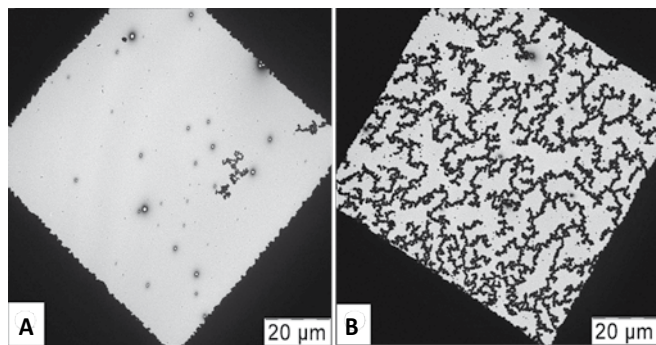


Fig. 4 Electron micrograph of GMC paste diluted with distilled water (left) and diluted with hydrosol of copper nanoparticles and copper oxide (II) (right)

sition pattern on the surface of a polyvinyl formal film changed dramatically. The number of particles deposited on the polymer film increased by several orders of magnitude (Figs. 4A and 4B).

Fig. 5A and 5B show that when the nanoparticles hydrosol was added, the number of CCH particles in one floccule increased, as did the degree of contact between them. Fig. 5B shows that copper and copper (II) oxide nanoparticles penetrated the crystalline hydrates of copper (II) oxides and calcium oxide in the surface layers of CCH particles. Moreover, it was noted that the effect of the electron beam no longer led to the fusion of crystalline hydrates, as in the case of the dilution of CCH with distilled water. Therefore, it is essential that the copper and copper (II) oxide nanoparticles were concentrated on the surface of the CCH particles, and the latter practically did not become coarser.

Equally important is the presence of "free" nanoparticles of copper and copper (II) oxide that did not participate in aggregation (Fig. 5D).

DISCUSSION

In the study, a previously unknown phenomenon of the formation of compositions of CCH nanoparticles when it is diluted with a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide was established. Nanoparticles of the dispersed phase, due to their small size (0.5-3 nm) and high specific surface energy, penetrate spherical CCH particles (average size of 287 ± 23.4 nm)

Рис. 5 Суспензия гидроксида меди-кальция (ГМК) и гидрозоля наночастиц меди и оксида меди (II). А, В: флоккулы ГМК в смеси с гидрозолями наночастиц меди и оксида меди (II); С: флоккула ГМК с наночастицами меди, агрегировавшимися в её поверхностном слое; D: наночастицы меди и оксида меди (II), не вступившие в агрегацию с частицами ГМК

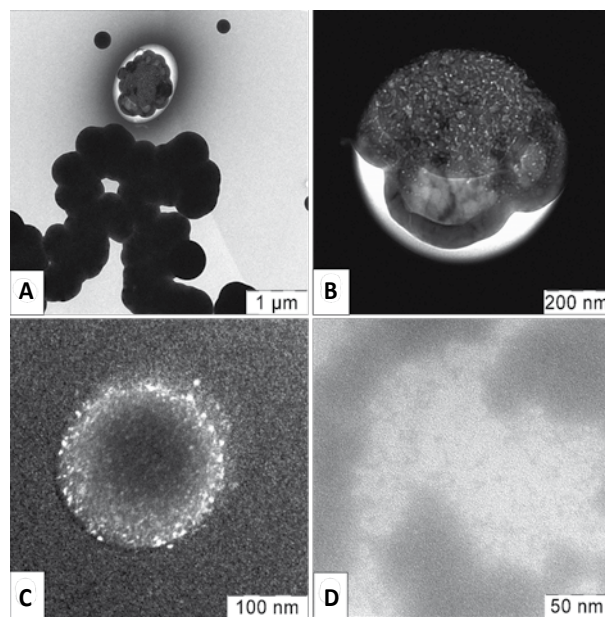


Fig. 5 Suspension of CCH and hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide. A, B: CCH floccules mixed with a hydrosol of copper nanoparticles and copper (II) oxide; C: CCH floccule with copper nanoparticles aggregated in its surface layer; D: nanoparticles of copper and copper oxide (II) that did not enter into aggregation with particles of CCH

значительно возрастают. Изменение адгезивных характеристик и упорядочивание структурной организации частиц ГМК при разведении гидрозолеом наночастиц меди позволит добиться лучшей смачиваемости дентина, его равномерной импрегнации комбинированным препаратом.

Кроме того, наличие не участвующих в агрегационном процессе наночастиц меди потенциально обеспечит создание на внутренней поверхности корневого канала или наружной поверхности корня зуба высокой массовой концентрации дисперсной фазы, проявляющей выраженные антибактериальные свойства [16, 17]. Ранее исследователями уже изучалась возможность комбинирования водных растворов наночастиц металлов, прежде всего, наночастиц серебра, меди и цинка, с препаратами для временного пломбирования корневых каналов зубов на основе гидроксида кальция (ГК) [18]. Так, пилотный лабораторный эксперимент Javidi M et al (2014) на удалённых зубах продемонстрировал антибактериальный потенциал такой смеси [19]. Несколько исследовательских групп из Ирана и Китая получили похожие результаты на моделях биоплёнки *E. faecalis* [20, 21]. С 2020 года Balto H et al работают над комплексным препаратом на основе внутриканального медикамента ГК «UltraCal®» и 0,02% водной суспензии наночастиц серебра диаметром 10 нм [22]. Важно, что в эксперименте Afkhami F et al (2017) методом спектрофотометрии было показано, что добавление наночастиц металлов к пастам для временного пломбирования корневых каналов не вызывает изменения цвета запломбированных зубов [23]. Можно предположить, что образование композиционных структур наночастиц меди, оксида меди с химически более близкими частицами ГМК обеспечит ещё большее депонирование и последующее высвобождение активных наночастиц – для проверки этой гипотезы необходимы дальнейшие лабораторные и клинические исследования.

Кроме того, учитывая полученные данные, можно предположить, что нагрев частиц ГМК в водном растворе, который неизбежно происходит во время «депофореза» под влиянием достаточно сильного тока (около 1 мА), способствует разрушению гидратных оболочек, ускоренной агрегации кристаллогидратов оксидов металлов, возникновению коагуляционных, а, в дальнейшем – диффузных контактов между микрочастицами с образованием крупных частиц. Такие большие частицы не всегда могут проникать в дентинные трубочки корня зуба и перемещаться в них под действием электрического поля. Этим эффектом объясняется более низкая эффективность депофореза ГМК по сравнению с методами транспорта частиц, не предполагающими сильных электромагнитных воздействий – в первую очередь, с методом гальванофореза ГМК с применением внутриканальных штифтов, выполненных из гальванически парных металлов и позволяющих генерировать ток силой около 0,1 мкА [24, 25]. Кроме того, ранее предпринимались попытки комбинации щадящего режима «депофореза» ГМК с обработкой дентина корня зуба пучком холодной аргоновой плазмы, имеющей температуру около 40°C [26].

Смесь ГМК с гидрозолеом наночастиц меди и оксида меди (II) оказалась устойчивее, чем суспензия ГМК в дистиллированной воде. В ходе настоящего исследования замечено сохранение дисперсности смеси и отсутствие коалесценции кристаллогидратов при нагреве электронным пучком. Это явление может обеспечить более высокую эффективность электрофоретических методов антисептической обработки корневых каналов зубов в случае, если вместо водной пасты ГМК будет использоваться препарат на основе гидрозоля наночастиц меди.

formed by crystalline hydrates of copper (II) oxide and calcium oxide. This creates a complex nanosized composite structure of CCH particles surrounded by copper and copper (II) oxide nanoparticles.

An increase in the adhesive characteristics of copper (II) oxides and calcium oxide particles, the main structural elements of CCH, can be explained by the active adagulation of copper nanoparticles with much larger particles of these oxides. At the same time, high-energy copper nanoparticles exhibit, in fact, the properties of a surfactant resulting in a decrease in cohesion in CCH aggregates. Therefore, when copper nanoparticles are diluted with a hydrosol, the adhesion and wettability of CCHs on the film increase significantly. Thus, changes in the adhesive characteristics and ordering of the CCH particles structural arrangement when copper nanoparticles are diluted with a hydrosol will make it possible to achieve better wettability of dentin and its uniform impregnation with the combined preparation.

In addition, the presence of copper nanoparticles not participating in the aggregation process will potentially ensure the creation of a high mass concentration of a dispersed phase on the inner surface of the root canal or the outer surface of the tooth root, which exhibits pronounced antibacterial properties [16, 17]. Previously, researchers have already studied the possibility of combining aqueous solutions of metal nanoparticles, primarily silver, copper, and zinc nanoparticles, with preparations for temporary root canal filling based on calcium hydroxide (CH) [18]. Thus, a pilot laboratory experiment by Javidi M et al (2014) on extracted teeth demonstrated the antibacterial potential of such a mixture [19]. Several research groups from Iran and China have obtained similar results on *E. faecalis* biofilm models [20, 21]. Since 2020, Balto H et al have been working on a complex preparation based on the CH-based intracanal medication UltraCal® and a 0.02% aqueous suspension of silver nanoparticles with a diameter of 10 nm [22].

Furthermore, the spectrophotometry-based experiment by Afkhami F et al (2017) showed that adding metal nanoparticles to pastes for the temporary filling of root canals does not cause a change in the colour of the filled teeth [23]. Therefore, it can be assumed that forming copper and copper oxide nanoparticles composite structures with chemically closer MMC particles will provide even greater deposition and subsequent release of active nanoparticles. However, further laboratory and clinical studies are needed to test this hypothesis.

In addition, considering the data obtained, it can be assumed that the heating of CCH particles in an aqueous solution, inevitably occurring during "depophoresis" influenced by a sufficiently strong current (about 1 mA), contributes to the destruction of hydrate shells, accelerated aggregation of metal oxides crystal hydrates, and the appearance of coagulation, and, later, diffuse contacts between microparticles with the formation of the large particle. Such large particles cannot always penetrate the dentinal tubules of the tooth root and move into them under the influence of an electric field. This effect explains the lower efficiency of CCH depophoresis than particle transport methods that do not involve strong electromagnetic effects. First of all, the CCH galvanophoresis method using galvanically paired metals intrachannel pins allowing to generate a current of about 0.1 μA [24, 25]. In addition, earlier attempts were made to combine the sparing mode of "depophoresis" of MMC with the treatment of

С другой стороны, обнаруженный феномен позволит разработать новую технологию наноимпрегнации дентина корня зуба при эндодонтическом лечении пульпита и апикального периодонтита, а также пародонтита. При этом для реализации методики не потребуется дополнительного оборудования – транспорт активных ионов может происходить за счёт осмотического и электрокинетического потенциала наночастиц меди и оксида меди (II). В этом случае, необходимое количество посещений пациентом стоматологического кабинета будет минимальным, вплоть до однокурсного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования электронно-микроскопических свойств гидроксида меди-кальция – препарата, используемого для дезинфекции корневых каналов зубов и пародонтальных карманов, – были установлены следующие факты:

Противомикробный препарат гидроксид меди-кальция в водной суспензии представлен агрегатами микрочастиц размерами 40-60 мкм. Такие агрегаты, в свою очередь, образованы сферическими частицами размерами от 200 до 900 нм, в среднем $287 \pm 23,4$ нм.

Сферические частицы гидроксида меди-кальция образуются путём коалесценции кристаллогидратов оксида меди (II) и оксида кальция, имеющих средний размер $12 \pm 3,2$ нм. Помимо кристаллогидратов, наночастицы могут быть представлены аморфными формами оксидов металлов со средним размером $4 \pm 1,6$ нм.

Локальный нагрев суспензии гидроксида меди-кальция пучком электронов во время электронно-микроскопического исследования способствует коагрегации соседних кристаллогидратов с образованием более крупных частиц размерами от 50 до 70 нм, в среднем – $61 \pm 7,3$ нм.

Впервые при электронно-микроскопическом изучении нового противомикробного препарата, представляющего собой соединение гидроксида меди-кальция с гидрозолем наночастиц меди и оксида меди (II) размерами 0,5-3 нм, открыто явление образования сложной наноразмерной структуры.

the dentin of the tooth root with a cold argon plasma beam at a temperature of about 40°C [26].

A mixture of CCH with a hydrosol of copper and copper (II) oxide nanoparticles proved to be more stable than a suspension of CCH in distilled water. In addition, this study noted the mixture dispersion maintenance and the absence of crystalline hydrates coalescence on electron beam heating. This phenomenon can increase the efficiency of electrophoretic methods of antiseptic root canals treatment if, instead of an aqueous CCH paste, a preparation based on copper nanoparticles hydrosol is used.

On the other hand, the discovered phenomenon will make it possible to develop a new technology of nanoimpregnation of the tooth root dentin in the endodontic treatment of pulpitis and apical periodontitis and periodontitis. At the same time, no additional equipment is required to implement the technique – the transport of active ions can occur due to the osmotic and electrokinetic potential of copper and copper (II) oxide nanoparticles. As a result, the patient's dental visits frequency will be significantly reduced, up to a single treatment session.

CONCLUSION

In the analysis of the electron microscopic properties of copper-calcium hydroxide, a drug used to disinfect dental root canals and periodontal pockets, the following data were obtained:

The antimicrobial drug copper-calcium hydroxide in an aqueous suspension is represented by aggregates of microparticles with a size of 40-60 microns. Such aggregates, in turn, are formed by spherical particles ranging in size from 200 to 900 nm, averaging 287 ± 23.4 nm.

Spherical particles of copper-calcium hydroxide are formed by coalescence of copper (II) oxide and calcium oxide crystalline hydrates, having an average size of 12 ± 3.2 nm. In addition to crystalline hydrates, nanoparticles can be represented by amorphous forms of metal oxides with an average size of 4 ± 1.6 nm.

Local heating of copper-calcium hydroxide suspension by an electron beam during electron microscopy contributes to the coaggregation of neighbouring crystalline hydrates with the formation of larger particles ranging in size from 50 to 70 nm, on average – 61 ± 7.3 nm.

For the first time in a new antimicrobial drug study with the electron microscope, which represents a compound of copper-calcium hydroxide with copper and copper (II) oxide nanoparticles hydrosol with a size of 0.5-3 nm, the phenomenon of the formation of a complex nanosized structure was discovered.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mei F, Xie M, Huang X, Long Y, Lu X, Wang X, Chen L. Porphyromonas gingivalis and its systemic impact: Current status. *Pathogens*. 2020;9(11):944. Available from: <https://doi.org/10.3390/pathogens9110944>
2. Tonomura S, Ihara M, Kawano T. Intracerebral hemorrhage and deep microbleeds associated with CNM-positive Streptococcus mutans: A hospital cohort study. *Sci Rep*. 2016;6:20074. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep20074>
3. Suh JS, Kim S, Boström KI, Wang CY, Kim RH, Park NH. Periodontitis-induced systemic inflammation exacerbates atherosclerosis partly via endothelial-mesenchymal transition in mice. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3):21. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0054-1>

REFERENCES

1. Mei F, Xie M, Huang X, Long Y, Lu X, Wang X, Chen L. Porphyromonas gingivalis and its systemic impact: Current status. *Pathogens*. 2020;9(11):944. Available from: <https://doi.org/10.3390/pathogens9110944>
2. Tonomura S, Ihara M, Kawano T. Intracerebral hemorrhage and deep microbleeds associated with CNM-positive Streptococcus mutans: A hospital cohort study. *Sci Rep*. 2016;6:20074. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep20074>
3. Suh JS, Kim S, Boström KI, Wang CY, Kim RH, Park NH. Periodontitis-induced systemic inflammation exacerbates atherosclerosis partly via endothelial-mesenchymal transition in mice. *Int J Oral Sci*. 2019;11(3):21. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0054-1>

4. Фаустов ЛА, Леонтьев ВК, Попков ВЛ, Гречишников ВВ, Сычёва НЛ. Ультраструктурная характеристика твёрдых тканей корня зуба при пульпите. Феномен формирования в dentine инфицированных очагов деструкции. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: медицина, фармацевтика*. 2011;111(16):93-9.
5. Петрикас АЖ, Захарова ЕЛ, Ольховская ЕБ, Честных ЕВ. Распространённость осложнений кариеса зубов. *Стоматология*. 2014;93(1):19-20.
6. Peters T. Depotphorese: Eine Lösung für den fast aussichtslosen endodontischen Patientenfall. *Zahn Mund Kiefer*. 2012;28(4):236-41.
7. Румянцев ВА, Федотова ТА, Заблоцкая МВ, Юсупова ЮМ, Рябиков МД, Моисеев ДА. Новый метод комплексного лечения эндодонто-пародонтальных поражений с помощью наноимпрегнации и купрал-кюретажа. *Тверской медицинский журнал*. 2018;1:34-45.
8. Саидова ЛА, Рамазанова ШК. Микробиологическая оценка эффективности применения депо- и апексфореза в комплексном лечении хронического верхушечного периодонтита. *Молодой учёный*. 2019;265(27):77-79.
9. Чепурова НИ, Романенко ИГ. Использование депофореза гидроксида меди кальция при лечении хронического периодонтита с труднопроходимыми корневыми каналами. *Вестник физиотерапии и курортологии*. 2018;24(2):120.
10. Блинова АВ, Румянцев ВА. Нанотехнологии – реальность современной стоматологии (обзор литературы). *Эндодонтия Today*. 2020;18(2):56-61. Available from: <https://doi.org/10.36377/1683-2981-2020-18-2-56-61>
11. Леонтьев ВК, Кузнецов ДВ, Фролов ГА, Погорельский ИП, Латута НВ, Карасенков ЯН. Антибактериальные эффекты наночастиц металлов. *Российский стоматологический журнал*. 2017;21(6):304-7. Available from: <https://doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-6-304-307>
12. Ouni S, Askri D, Jeljeli M, Abdelmalek H, Sakly M, Amara S. Toxicity and effects of copper oxide nanoparticles on cognitive performances in rats. *Arch Environ Occup Health*. 2020;75(7):384-94. Available from: <https://doi.org/10.1080/19338244.2019.1689376>
13. Malhotra N, Ger TR, Uapipatanakul B, Huang JC, Chen KH, Hsiao CD. Review of copper and copper nanoparticle toxicity in fish. *Nanomaterials (Basel)*. 2020;10(6):1126. Available from: <https://doi.org/10.3390/nano10061126>
14. Alizadeh S, Seyedalipour B, Shafieyan S, Kheime A, Mohammadi P, Aghdami N. Copper nanoparticles promote rapid wound healing in acute full thickness defect via acceleration of skin cell migration, proliferation, and neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;517(4):684-90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.07.110>
15. Chen L, Wu M, Jiang S, Zhang Y, Li R, Lu Y, et al. Skin toxicity assessment of silver nanoparticles in a 3D epidermal model compared to 2D keratinocytes. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:9707-19.
16. Toodehzaeim MH, Zandi H, Meshkani H, Hosseinzadeh Firouzabadi A. The effect of CuO nanoparticles on antimicrobial effects and shear bond strength of orthodontic adhesives. *J Dent (Shiraz)*. 2018;19(1):1-5.
17. Lv Y, Li L, Yin P, Lei T. Synthesis and evaluation of the structural and antibacterial properties of doped copper oxide. *Dalton Trans*. 2020;49(15):4699-709. Available from: <https://doi.org/10.1039/d0dt00201a>
18. Yousefshahi H, Aminsobhani M, Shokri M, Shahbazi R. Anti-bacterial properties of calcium hydroxide in combination with silver, copper, zinc oxide or magnesium oxide. *Eur J Transl Myol*. 2018;28(3):7545. Available from: <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7545>
19. Javidi M, Afkhami F, Zarei M, Ghazvini K, Rajabi O. Efficacy of a combined nanoparticulate/calcium hydroxide root canal medication on elimination of *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2014;40(2):61-65. Available from: <https://doi.org/10.1111/aej.12028>
20. Afkhami F, Pourhashemi SJ, Sadegh M, Salehi Y, Fard MJ. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis*. *J Dent*. 2015;43(12):1573-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.08.012>
21. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*. 2014;40(2):285-90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.08.022>
4. Faustov LA, Leontiev VK, Popkov VL, Grechishnikov VV, Sychyova NL. Ul'trastruktural'naya kharakteristika tverdykh tkaney kornya zuba pri pul'pitakh. Fenomen formirovaniya v dentine infitsirovannykh ochagov destruktzii [Ultrastructural characteristics of hard tissues of the tooth root in pulpitis. The phenomenon of formation of infected foci of destruction in the dentine]. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosuniversiteta. Seriya: meditsina, farmatsiya*. 2011;111(16):93-9.
5. Petrikas AZh, Zakharova EL, Olkhovskaya EB, Chestnykh EV. Rasprostranennost' oslozhneniy kariesa zubov [Tooth decay complications incidence]. *Stomatologiya*. 2014;93(1):19-20.
6. Peters T. Depotphorese: Eine Lösung für den fast aussichtslosen endodontischen Patientenfall. *Zahn Mund Kiefer*. 2012;28(4):236-41.
7. Rummyantsev VA, Fedotova TA, Zablotskaya MV. Novyy metod kompleksnogo lecheniya endodonto-parodontal'nykh porazheniy s pomoshch'yu nanoimpregnatsii i kupral-kyuretazha [A new method of complex treatment of endodonto-periodontal lesions using nanoimpregnation and cupral curettage]. *Tverskoy meditsinskiy zhurnal*. 2018;1:34-45.
8. Saidova LA, Ramazonova ShK. Mikrobiologicheskaya otsenka effektivnosti primeneniya depo- i apeksforeza v kompleksnom lechenii khronicheskogo verkhushchego periodontita [Microbiological evaluation of the effectiveness of depo- and apexphoresis in the complex treatment of chronic apical periodontitis]. *Molodoy uchyonyy*. 2019;265(27):77-9.
9. Chepurova NI, Romanenko IG. Ispol'zovanie depoforeza gidrookisi medi kal'tsiya pri lechenii khronicheskogo periodontita s trudnoprkhodimymi kornevymi kanalami [The use of copper calcium hydroxide depophoresis in the treatment of chronic periodontitis with intractable root canals]. *Vestnik fizioterapii i kurortologii*. 2018;24(2):120.
10. Blinova AV, Rummyantsev VA. Nanotekhnologii – real'nost' sovremennoy stomatologii (obzor literatury) [Nanotechnologies as the reality of modern dentistry (literature review)]. *Endodontiya today*. 2020;18(2):56-61. Available from: <https://doi.org/10.36377/1683-2981-2020-18-2-56-61>
11. Leontiev VK, Kuznetsov DV, Frolov GA, Pogorelskiy IP, Latuta NV, Karasenkov YaN. Antibakterial'nye efekty nanochastits metallov [Antibacterial effects of nanoparticles of metals]. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal*. 2017;21(6):304-7. Available from: <https://doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-6-304-307>
12. Ouni S, Askri D, Jeljeli M, Abdelmalek H, Sakly M, Amara S. Toxicity and effects of copper oxide nanoparticles on cognitive performances in rats. *Arch Environ Occup Health*. 2020;75(7):384-94. Available from: <https://doi.org/10.1080/19338244.2019.1689376>
13. Malhotra N, Ger TR, Uapipatanakul B, Huang JC, Chen KH, Hsiao CD. Review of copper and copper nanoparticle toxicity in fish. *Nanomaterials (Basel)*. 2020;10(6):1126. Available from: <https://doi.org/10.3390/nano10061126>
14. Alizadeh S, Seyedalipour B, Shafieyan S, Kheime A, Mohammadi P, Aghdami N. Copper nanoparticles promote rapid wound healing in acute full thickness defect via acceleration of skin cell migration, proliferation, and neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;517(4):684-90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.07.110>
15. Chen L, Wu M, Jiang S, Zhang Y, Li R, Lu Y, et al. Skin toxicity assessment of silver nanoparticles in a 3D epidermal model compared to 2D keratinocytes. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:9707-19.
16. Toodehzaeim MH, Zandi H, Meshkani H, Hosseinzadeh Firouzabadi A. The effect of CuO nanoparticles on antimicrobial effects and shear bond strength of orthodontic adhesives. *J Dent (Shiraz)*. 2018;19(1):1-5.
17. Lv Y, Li L, Yin P, Lei T. Synthesis and evaluation of the structural and antibacterial properties of doped copper oxide. *Dalton Trans*. 2020;49(15):4699-709. Available from: <https://doi.org/10.1039/d0dt00201a>
18. Yousefshahi H, Aminsobhani M, Shokri M, Shahbazi R. Anti-bacterial properties of calcium hydroxide in combination with silver, copper, zinc oxide or magnesium oxide. *Eur J Transl Myol*. 2018;28(3):7545. Available from: <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7545>
19. Javidi M, Afkhami F, Zarei M, Ghazvini K, Rajabi O. Efficacy of a combined nanoparticulate/calcium hydroxide root canal medication on elimination of *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2014;40(2):61-65. Available from: <https://doi.org/10.1111/aej.12028>
20. Afkhami F, Pourhashemi SJ, Sadegh M, Salehi Y, Fard MJ. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against *Enterococcus faecalis*. *J Dent*. 2015;43(12):1573-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.08.012>
21. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*. 2014;40(2):285-90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.08.022>

22. Balto H, Bukhary S, Al-Omran O, BaHammam A, Al-Mutairi B. Combined effect of a mixture of silver nanoparticles and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 2020;S0099-2399(20)30488-X. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.07.001>
23. Afkhami F, Elahy S, Mahmoudi-Nahavandi A. Spectrophotometric analysis of crown discoloration following the use of silver nanoparticles combined with calcium hydroxide as intracanal medicament. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(7):842-7. Available from: <https://doi.org/10.4317/jced.53743>
24. Румянцев ВА, Бордина ГЕ, Ольховская АВ, Опешко ВВ. Клинико-лабораторная оценка и обоснование способа гальванофореза гидроксида меди-кальция при эндодонтическом лечении апикального периодонтита. *Стоматология.* 2015;94(1):14-9.
25. Румянцев ВА, Родионова ЕГ, Денис АГ, Ольховская АВ, Цатурова ЮВ. Электронно-микроскопическая оценка эффективности гальванофореза. *Стоматология.* 2013;2:4-8.
26. Заблочкая МВ, Митронин АВ, Заблочкая НВ. Лечение острого апикального периодонтита с применением метода депофореза и холодной аргонной плазмы. *Смоленский медицинский альманах.* 2018;1:109-12.
22. Balto H, Bukhary S, Al-Omran O, BaHammam A, Al-Mutairi B. Combined effect of a mixture of silver nanoparticles and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 2020;S0099-2399(20)30488-X. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.07.001>
23. Afkhami F, Elahy S, Mahmoudi-Nahavandi A. Spectrophotometric analysis of crown discoloration following the use of silver nanoparticles combined with calcium hydroxide as intracanal medicament. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(7):842-7. Available from: <https://doi.org/10.4317/jced.53743>
24. Rumyantsev VA, Borodina GE, Olkhovskaya AV, Opeshko VV. Kliniko-laboratornaya otsenka i obosnovanie sposoba gal'vanoforeza gidroksida medi-kal'tsiya pri endodonticheskom lechenii apikal'nogo periodontita [Clinical and laboratory assessment and justification of the method of copper-calcium hydroxide galvanophoresis in endodontic treatment of apical periodontitis]. *Stomatologiya.* 2015;94(1):14-9.
25. Rumyantsev VA, Rodionova EG, Denis AG, Olkhovskaya AV, Tsaturova YuV. Elektronno-mikroskopicheskaya otsenka effektivnosti gal'vanoforeza [Electron microscopic evaluation of the effectiveness of galvanophoresis]. *Stomatologiya.* 2013;2:4-8.
26. Zablotskaya MV, Mitronin AV, Zablotskaya NV. Lechenie ostrogo apikal'nogo periodontita s primeneniem metoda depoforeza i kholodnoy argonovoy plazmy [Treatment of acute apical periodontitis using depophoresis and cold argon plasma]. *Smolenskiy meditsinskiy al'manakh.* 2018;(1):109-12.

И СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Румянцев Виталий Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пародонтологии, Тверской государственной медицинской университет

ORCID ID: 0000-0001-6045-3333

SPIN-код: 1922-4850

Author ID: 627641

E-mail: rumyancev_v@tvergma.ru

Фролов Георгий Александрович, кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии, Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»

ORCID ID: 0000-0003-1460-6030

E-mail: georgifroloff@yandex.ru

Блинова Алиса Владимировна, аспирант кафедры пародонтологии, Тверской государственной медицинской университет

ORCID ID: 0000-0002-4315-163X

SPIN-код: 4239-0519

Author ID: 985695

E-mail: blinova-alisa@mail.ru

Карасенков Яков Николаевич, кандидат медицинских наук, главный врач, «Медицинская компания РосДент»

ORCID ID: 0000-0002-9658-3700

E-mail: rosdent@mail.ru

Битюкова Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры пародонтологии, Тверской государственной медицинской университет

ORCID ID: 0000-0002-6225-8344

SPIN-код: 4004-4569

Author ID: 1032251

E-mail: bitykova_l@mail.ru

Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов.

Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали

Конфликт интересов: отсутствует

И AUTHOR INFORMATION

Rumyantsev Vitaliy Anatolievich, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Periodontology, Tver State Medical University

ORCID ID: 0000-0001-6045-3333

SPIN: 1922-4850

Author ID: 627641

E-mail: rumyancev_v@tvergma.ru

Frolov Georgiy Aleksandrovich, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of Physical Chemistry, National University of Science and Technology "MISIS"

ORCID ID: 0000-0003-1460-6030

E-mail: georgifroloff@yandex.ru

Blinova Alisa Vladimirovna, Postgraduate Student of the Department of Periodontology, Tver State Medical University

ORCID ID: 0000-0002-4315-163X

SPIN: 4239-0519

Author ID: 985695

E-mail: blinova-alisa@mail.ru

Karasenkov Yakov Nikolaevich, Candidate of Medical Sciences, Chief Medical Officer of the "RosDent" Medical Company

ORCID ID: 0000-0002-9658-3700

E-mail: rosdent@mail.ru

Bityukova Elena Vladimirovna, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Periodontology, Tver State Medical University

ORCID ID: 0000-0002-6225-8344

SPIN: 4004-4569

Author ID: 1032251

E-mail: bitykova_l@mail.ru

Information about support in the form of grants, equipment, medications

The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment

Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest

✉ АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Блинова Алиса Владимировна

аспирант кафедры пародонтологии, Тверской государственной медицинской университет

170100, Российская Федерация, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

Тел.: +7 (919) 0516059

E-mail: blinova-alisa@mail.ru

✉ ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Blinova Alisa Vladimirovna

Postgraduate Student of the Department of Periodontology, Tver State Medical University

170100, Russian Federation, Tver, Sovetskaya str., 4

Tel.: +7 (919) 0516059

E-mail: blinova-alisa@mail.ru

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: РВА, БАВ

Сбор материала: ФГА, БАВ

Статистическая обработка данных: БАВ, БЕВ

Анализ полученных данных: ФГА, БАВ, КЯН

Подготовка текста: БАВ

Редактирование: КЯН, БЕВ

Общая ответственность: РВА

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conception and design: RVA, BAV

Data collection: FGA, BAV

Statistical analysis: BAV, BEV

Analysis and interpretation: FGA, BAV, KYaN

Writing the article: BAV

Critical revision of the article: KYaN, BEV

Overall responsibility: RVA

Поступила 03.09.21

Принята в печать 30.12.21

Submitted 03.09.21

Accepted 30.12.21

Результаты работы представлены на VII Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», 7 октября 2021 года, Рязань, Россия и на Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Инновации в медицине и фармации – 2021», 27 октября 2021 года, Минск, Беларусь.

Presented at the VII All-Russian Scientific Conference of postgraduates and residents "Innovative technologies in medicine: The view of a young specialist", October 7, 2021, Ryazan, Russia and at the International Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists "Innovations in Medicine and Pharmacy – 2021", October 27, 2021, Minsk, Belarus.