

На правах рукописи



Семенникова Нина Владимировна

**Клинико-морфологическая характеристика
периодонта при хроническом воспалении и лечении
методом трансканальной электрогранулотомии**

**03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
14.01.14 – стоматология**

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2010

Работа выполнена в Государственных образовательных учреждениях высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (г. Томск), «Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (г. Новосибирск)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

*Логвинов
Сергей Валентинович*

заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

*Сысолятин
Павел Гаврилович*

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

*Красноженов
Евгений Павлович*

доктор медицинских наук, профессор

*Сулимов
Анатолий Филиппович*

Ведущая организация: Государственное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН» (г. Новосибирск)

Защита состоится «___» _____ 2010 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.096.03 при ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава» (по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан «___» _____ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



А.В. Герасимов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Изучение структурных реакций, клеточно-тканевой адаптации и межклеточных взаимодействий, закономерностей повреждения и регенерации тканей пародонта при воспалительных процессах и различных видах лечения деструктивных форм периодонтита является актуальной проблемой современной гистологии и стоматологии (Левицкая Е.В., 1973; Коэн С., Бернс Р., 2009). Лечение больных с хроническими деструктивными формами периодонтита является одной из сложных задач практической стоматологии. Пациенты с различными формами деструктивного периодонтита составляют от 15% до 30% от общего числа обратившихся в стоматологические учреждения, и у половины из них лечение указанного заболевания проводится путем удаления зубов (Боровский Е.В., 1997). Являясь причиной сенсбилизации, периапикальные очаги инфекции способны нарушать иммунологический статус, снижать резистентность организма, способствовать распространению одонтогенных воспалительных процессов челюстно-лицевой области, а также осложнять течение заболеваний внутренних органов (Овезов Э.С., 1991; Соловьёва А.М., 2000; Kinane D.F., 2001; Митронин А.В., 2005). В этой связи повышение качества лечения пациентов с деструктивными формами периодонтита является одной из актуальных проблем стоматологии (Балин В.Н., 1995; Боровский Е.В., 1998; Барер Г.М., 2003). Определение эффективности и обоснование возможности использования односеансного метода трансканальной электрогранулотомии (ТКЭГТ) в зависимости от стадии течения воспалительного процесса, размеров деструкции костной ткани вызывает особый интерес. Ответы на эти вопросы позволят обосновать показания и противопоказания к применению метода в зависимости от клинико-рентгенологической картины, сократить сроки лечения деструктивных форм периодонтита и, таким образом, повысить эффективность эндодонтического лечения.

Эффективность лечения деструктивных форм периодонтита в большинстве случаев оценивается на основании лишь клинико-рентгенологических данных. Применение же морфологических исследований позволит повысить достоверность оценки результатов лечения указанной патологии.

Цель исследования. Изучить влияние трансканальной электрогранулотомии на морфологию апикальной гранулемы периодонта в комплексном односеансном лечении хронического периодонтита.

Задачи исследования

1. Изучить структурную организацию гранулемы до и после электрохирургического воздействия с помощью световой и электронной микроскопии.
2. Провести иммуногистохимическое исследование гранулемы до и после электрохирургического лечения.
3. Оценить состояние микробиоценоза гранулемы до и после электрохирургического воздействия.
4. Дать клиничко-лабораторную оценку результатов комплексного лечения деструктивного периодонтита в стадиях ремиссии и обострения с использованием трансканальной электрогранулотомии в ближайшие и отдаленные сроки.

Научная новизна. Впервые с помощью комплекса методов световой и электронной микроскопии, иммуногистохимии изучена морфология периодонта при хроническом гранулематозном воспалении в стадиях ремиссии и обострения. Показаны дистрофические изменения коллагеновых волокон, очаговая петрификация, сосудистые нарушения. Установлено процентное содержание клеток воспалительного инфильтрата с преобладанием лимфоцитов и клеток макрофагально-моноцитарного ряда. Выявлено соотношение CD₃⁺, CD₁₀⁺, CD₆₈⁺-позитивных клеток, которое значимо не различалось в стадиях обострения и ремиссии хронического воспаления периодонта.

Доказано, что после ТКЭГТ в периодонте повышается фагоцитарная активность макрофагов и полиморфно-ядерных лейкоцитов, активизируются репаративные процессы, что проявляется неоваскулогенезом, гипертрофией фибробластов и повышением продукции коллагена.

Получены новые данные о влиянии проведенного лечения на местные иммунные реакции в периодонте, касающиеся клеточного и гуморального звеньев иммунитета и свидетельствующие о снижении активности воспалительного процесса. Установлена высокая эффективность ТКЭГТ в односеансном комплексном лечении хронического гранулематозного периодонтита на различных стадиях его развития.

Практическая значимость работы. Данные морфологического исследования позволяют обосновать возможность, безопасность и эффективность однокурсного комплексного метода лечения хронического гранулематозного периодонтита на различных стадиях его развития с использованием ТКЭГТ. Результаты клинических наблюдений подтвердили эффективность предложенной методики на практике.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В период ремиссии хроническое гранулематозное воспаление периодонта характеризуется выраженной клеточной инфильтрацией с преобладанием клеток моноцитарно-макрофагального ряда и лимфоцитов, деструкцией коллагеновых волокон, отложением кальцинатов, гемодинамическими нарушениями. Значимым отличием в фазе обострения является возрастание процентного содержания полиморфно-ядерных лейкоцитов.

2. Данные иммуногистохимического исследования не показали значимых различий в фазах ремиссии и обострения, а проведенное лечение модифицирует в периодонте местные иммунные реакции и вызывает снижение процентного содержания CD₃, CD₂₀.

3. Однокурсное комплексное лечение хронического гранулематозного периодонтита с использованием ТКЭГТ в стадиях ремиссии и обострения способствует интенсификации репаративных процессов в периодонте, улучшению микроциркуляции, восстановлению полного объема костной ткани в области апикальной гранулемы, снижению частоты и интенсивности проявления болевого синдрома и эффективно на различных стадиях течения гранулематозного периодонтита.

Внедрение результатов в практику. Методика лечения внедрена в практику работы терапевтических отделений муниципального учреждения здравоохранения «Стоматологическая поликлиника № 1», стоматологической клиники «Жемчужина» г. Барнаула. Материалы исследования используются в учебном процессе на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии, кафедре стоматологии ГОУ ВПО «Сибирский государственный университет Росздрава», на кафедре хирургической стоматологии ГОУ ВПО «Алтайский государственный университет Росздрава».

Основные положения работы доложены на конференции «Молодежь – Барнаулу» (Барнаул, 2004, 2008); Международном медицинском конгрессе студентов и молодых ученых «Санкт-Петербургские научные чтения» (Санкт-Петербург, 2005, 2009); 54-й итоговой студенческой научной конференции с международным участием (Москва, 2006); VIII ежегодном научном форуме «Стоматология 2006» (Москва, 2006); XXIX итоговой конференции общества молодых ученых МГМСУ (Москва, 2007); XII Международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Паттайя, Таиланд, 2007); XIX всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии» (Москва, 2008); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию стоматологического факультета Кемеровской государственной медицинской академии (Кемерово, 2009); 10-м конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2009); научно-практической конференции Центрального Федерального округа РФ с международным участием «Инновации и информационные технологии в диагностической, лечебно-профилактической и учебной работе клиник» (Тверь, 2009).

Апробация работы проведена 17 июня 2010 г. на совместном заседании кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, кафедры стоматологии ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет».

Личное участие. Автором изучен и проанализирован 241 источник отечественной и иностранной литературы. Проведено клиническое обследование и лечение 107 пациентов на базе муниципального учреждения здравоохранения «Стоматологическая поликлиника № 1», частной стоматологической клиники «Жемчужина». Совместно с соответствующими специалистами проведены следующие исследования: мультисрезовая компьютерная томография костей лицевого черепа, обзорная и прицельная рентгенография зубов и челюстей, иммунологические исследования, морфологические исследования, включающие световую и электронную микроскопию, а также иммуногистохимическое исследование, бактериологические исследования содержимого периапикальной гранулемы. Произведена корректная статистическая обработка полученных данных, которая обеспечивает достоверность представленных результатов. Автором поставлены задачи. Выполненные исследования решают эти задачи, что отражено

в выводах. На основании полученных результатов исследования автором разработаны практические рекомендации.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки, в том числе 2 патента РФ на полезную модель № 75830 от 27.08.08 и №75830 от 10.07.10.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, главы обзора литературы, глав, включающих материалы и методы исследования, результаты морфологического и клинико-лабораторного исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Работа изложена на 121 странице компьютерного текста, иллюстрирована 36 рисунками. Цифровой материал представлен в 8 таблицах. Список литературы включает 241 источник, из них 176 – отечественных, 65 – иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для выявления клинико-лабораторных особенностей состояния тканей периапикального дефекта в динамике, а также изучения влияния ТКЭГТ на результаты лечения деструктивных форм периодонтита в исследование было включено 107 пациентов обоего пола в возрасте от 18 до 60 лет с хроническим гранулематозным периодонтитом в стадиях ремиссии и обострения.

Осуществлено простое открытое проспективное контролируемое сравнительное исследование в связанных группах продолжительностью 1 день, 3, 6, 12, 24, 36 месяцев. Изучение проводилось методом повторных исследований в группах с хроническим гранулематозным периодонтитом в стадию ремиссии и в стадию обострения на двух разных этапах исследования – до- и после лечения.

Исследования выполнены с учетом протокола Международного этического комитета с обязательным мотивированным согласием пациентов, о чем свидетельствуют подписи пациентов в бланках добровольного информированного согласия пациента (в приложении к амбулаторной истории больного). Исключены из регистра исследования пациенты: с подвижностью зубов III степени, отягощенным аллергологическим анамнезом, со злокачественными заболеваниями, с наличием имплантатов в сердце, с тяжелыми соматическими заболеваниями.

ями, с невозможностью прохождения каналов зубов в связи с анатомическими особенностями, ранее проведенным неудачным эндодонтическим лечением, приведшим к перфорации корня и отлому инструментов в канале зуба.

Всего у 107 пациентов было пролечено 160 зубов. Из них: с наличием одного канала – 18 зубов, двух каналов – 52, трех каналов – 75 зубов, четырех каналов – 18 зубов.

Пациентам обеих групп проводилось односеансное лечение, которое складывалось из обезболивания, механической обработки корневых каналов методом Crown Down с использованием стандартных наборов К-файлов и гейтс-глиденов. Медикаментозная обработка корневого канала осуществлялась 3%-м стабилизированным раствором гипохлорида натрия и хелатом (препаратом на основе этилендиаминтетрауксусной кислоты – ЭДТА), 3%-м раствором H_2O_2 , стерильной дистиллированной водой. С целью контроля чистоты каналов использовался йодиол, затем проводилось высушивание каналов стерильным бумажным штифтом, апикальное отверстие расширялось до 15-го размера по шкале ISO и проводилась трансканальная электрогранулотомия. Перед и после электрохирургического воздействия осуществлялся забор содержимого периапикальной полости Н-файлом или бумажным штифтом. Затем каналы пломбировали Seal-Apex с гуттаперчевыми штифтами методом латеральной конденсации. После рентгенологического контроля уровня заполнения корневого канала пломбировочным материалом коринковая часть зуба восстанавливалась по терапевтическим или ортопедическим показаниям.

Данные клинического обследования включали в себя следующее: жалобы, анамнез, наличие у пациента соматической патологии и аллергологического статуса, исследование органов полости рта и челюстно-лицевой области путем осмотра, пальпации, перкуссии, определения подвижности зубов. Сравнительная оценка результатов лечения в обеих группах проводилась на основании субъективных данных. Они включали жалобы пациента с определением показателей индекса боли по шкале Хоссли – Бергмана в баллах от 0 до 4. Кроме того, проводилось определение подвижности зуба (I–IV степени), наличия изменений слизистой оболочки десны в области «причинного» зуба (гиперемии, отёка, боли при пальпации), наличия осложнений и сроков нетрудоспособности пациентов.

С целью объективной оценки болевого синдрома проводилось исследование биогенных аминов в ротовой жидкости методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Забор ротовой жидкости проводился до и на 1–2-е сутки после проведенного лечения.

Определение интерлейкина-6 в зубодесневой жидкости осуществляли с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan. Забор материала из зубодесневой борозды проводили до и на 30-е сутки после пломбирования каналов с помощью эндодонтического шприца фирмы KENDOL (USA). Уменьшение уровня интерлейкина-6 свидетельствовало о снижении реакции воспаления и процессов резорбции.

Оценка кровотока альвеолярной десны проводилась сразу после пломбирования каналов и через 3 и 6 месяцев после окончания лечения с помощью доплерографического исследования на ультразвуковом компьютеризированном приборе «Ангиодин» (НПФ «Биосе», Россия, ТУ 94422-001-17201375-95) с помощью ультразвукового датчика частотой 16 МГц.

Внутриротовая контактная рентгенография проводилась перед лечением, в процессе лечения, сразу после пломбирования каналов. Динамика восстановления костной ткани периапикального дефекта изучалась в сроки 3, 6, 12 месяцев. Для объективной оценки рентгенологических данных измеряли оптическую плотность костной ткани периапикального очага деструкции с проведением радио-визеографического исследования на аппарате Trophy 96V2.4a с использованием программы денситометрического анализа. Эффективность лечения при рентгенологическом исследовании визуально оценивалась по 5-балльной системе индекса РАІ.

Микробиологические исследования проводились для изучения бактерицидного и бактериостатического влияния ТКЭГТ на микробную флору периапикального очага инфекции, а также для сравнения антибактериальной эффективности механической и медикаментозной обработки при традиционном методе лечения. После препарирования кариозной полости, эвакуации путридных масс, химико-механической подготовки корневого канала проводилась антисептическая обработка корневого канала, которая заключалась в последовательном использовании препаратов: RC-prep, (Premier Dental, Канада), стабилизированного 3%-го гипохлорида натрия («ВладМиВа», Россия), 3%-й перекиси

водорода. Обработка йодином дополняла антисептические мероприятия и служила для контроля стерильности, после чего канал промывался стерильной дистиллированной водой и высушивался. Стерильным бумажным штифтом проводился забор материала из канала и гранулемы до и после ТКЭГТ. Бумажные штифты помещались в пробирки с питательной средой (тиогликолевой, сахарном бульоне и среде Сабуро). Посевы инкубировали при t 37 °С в течение 24 часов или 2 суток (сахарный бульон). При обнаружении роста микроорганизм пересеивали на чашки Петри с мясопептонным агаром.

Морфологические исследования

Морфологическое исследование, включающее световую и электронную микроскопию, проведено на материале 42 пациентов с хроническим гранулематозным периодонтитом. Для морфологического исследования выделены следующие группы:

1-я группа (n=7) – хронический гранулематозный периодонтит в фазе ремиссии до лечения;

2-я группа (n=7) – хронический гранулематозный периодонтит в фазе обострения до лечения;

3-я группа (n=7) – 14–15-е сутки после лечения в фазу ремиссии;

4-я группа (n=7) – 14–15-е сутки после лечения в фазу обострения;

5-я группа (n=7) – 21–22-е сутки после лечения в фазу ремиссии;

6-я группа (n=7) – 21–22-е сутки после лечения в фазу обострения.

Лечение проведено с использованием ТКЭГТ по методике В.И. Семенникова, О.Е. Шишкиной (2004). Пациенты были направлены для проведения операции гранулэктомии или резекции верхушки корня (по стандартной методике) с целью дальнейшего ортопедического лечения. Операционный материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина и заливали в парафин по стандартной методике. Депарафинированные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по Ван-Гизону и заключали в канадский бальзам.

Иммуногистохимическое исследование проводили на материале после фиксации в 10%-м нейтральном формалине не более 12 часов. Депарафинированные по стандартной методике срезы помещали в цитратный буфер (pH=6,0) и обрабатывали в микроволновой печи мощностью 650 Вт двукратно по 5 мин с

перерывом в 1 мин. Охлаждали 15–20 мин при комнатной температуре и промывали в трис-буфере (pH=7,4–7,6). Для иммунного окрашивания использовали непрямой стрептавидин-биотиновый метод. После обработки срезов первичными (в нашем случае это CD₃, CD₂₀, CD₆₈) и вторичными биотилированными антителами проводили инкубацию со стрептавидином, меченным ферментом щелочной фосфатазой, которую выявляли с помощью хромогена Fast Red. Готовые срезы докрашивались гематоксилином. Подсчет результатов осуществляли при помощи окулярной сетки в 20 произвольно выбранных полях зрения. Определяли процентное содержание CD₃-, CD₂₀-, CD₆₈-позитивных клеток к общему числу окрашенных клеток в периодонте при хроническом гранулематозном воспалении.

Препараты анализировали и фотографировали с помощью видеосистемы на базе блока Pentium Celeron 4, светового микроскопа «Биолам». Для фоторегистрации через световой микроскоп применяли фотоаппарат Sony DSC-P 73. Подсчитывали процентное содержание различных видов клеток (фибробластов, макрофагов, моноцитов, лимфоцитов, плазмоцитов, полиморфно-ядерных лейкоцитов) периодонтальной гранулемы.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере (pH 7,4), постфиксировали в 1%-й четырехокиси осмия, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в аралдит. Срезы получали на ультратоме LKB (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, ультратонкие – уранилацетатом и цитратом свинца, затем изучали на электронном микроскопе JEM-7A.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием методик статистической оценки и проверки гипотез. В работе использованы различные методы статистической обработки в зависимости от типа случайных величин и поставленной задачи исследования (Гланц С., 1999; Трухачева Н.В., 2010). Для оценки нормальности распределения признаков использовали критерий Шапиро – Уилка. В случаях нормального распределения, при условии равенства выборочных дисперсий, для сравнения средних использовали t-критерий Стьюдента. В случае распределений, не соответствующих нормальному, использовали непараметрические U-критерий Манна – Уитни для незави-

симых выборок и Т-критерий Уилкоксона для связанных выборок. Обработку и графическое представление данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 и Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты морфологического исследования

Морфологические изменения периодонта при хроническом гранулематозном воспалении в фазах ремиссии и обострения. При изучении периодонта нелеченных зубов при хроническом гранулематозном воспалении наблюдалась инфильтрация клетками лимфоцитарного и моноцитарно-макрофагального ряда, наибольшее скопление которых отмечалось в центре гранулемы [Nickolauschuk В., 2006]. Внутри гранулем соединительная ткань отечна, коллагеновые волокна связки набухшие, с повышенной оксифилией, на некоторых участках гомогенизированы. Поблизости от гранулемы и в перифокальной зоне нередко обнаруживались эпителиальные тельца Малассе [Быков В.Л., 2003; Майборodin И.В., 2009]. Часто обнаруживались незрелые клеточные формы с округлым или овальным ядром, неодинаковой степенью конденсации хроматина и небольшим количеством органелл в цитоплазме. Клеточный состав гранулем был представлен в основном макрофагами различной степени зрелости. Встречались участки, в которых наиболее многочисленными были лимфоциты и моноциты, а в отдельных случаях обнаруживались скопления плазмоцитов. В незначительном количестве встречались полиморфно-ядерные лейкоциты. В цитоплазме некоторых макрофагов содержалось значительное скопление фаголизосом, вакуоли, многочисленные митохондрии и элементы эндоплазматического ретикулума. Чаще макрофаги имели единичные фагосомы. Описываемые формы макрофагов следует отнести к фагоцитарным. Однако ультраструктурные исследования показали преобладание секреторных форм макрофагов, характеризовавшихся наличием хорошо развитого гранулярного эндоплазматического ретикулума.

По периферии гранулемы клеточный инфильтрат располагался более разреженно, содержал наряду с макрофагами фибробласты отростчатой формы, многие из которых характеризовались некробиотическими изменениями. Коллагеновые волокна в гранулемах отличались неравномерной толщиной: отдель-

ные из них характеризовались набуханием, некоторые волокна, напротив, были истончены, подвергались фрагментации, окрашивались резко базофильно.

При электронной микроскопии наблюдалась утрата поперечной исчерченности частью коллагеновых фибрилл. В некоторых случаях обнаруживались скопления многоядерных клеток инородного тела. Выявлялись очаговые отложения солей кальция в виде аморфных масс, интенсивно окрашенных гематоксилином. Кровеносные сосуды немногочисленны. В единичных венулах и капиллярах отмечался сладж эритроцитов.

У пациентов с хроническим гранулематозным периодонтитом в стадии обострения в инфильтрате к вышеописанной морфологической картине присоединялось значительное увеличение полиморфно-ядерных лейкоцитов и некоторое повышение содержания фибробластов. При электронной микроскопии плазмолеммы нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов нередко контактировали на значительном протяжении. В цитоплазме многочисленны различного вида и размера лизосомы, вакуоли. Отмечался перинуклеарный отек, набухание части митохондрий с деструкцией крист. На периферии гранулемы, а также вокруг венозных сосудов и капилляров отмечался умеренно выраженный отек соединительной ткани. Ультраструктурная организация эндотелия, как правило, характеризовалась наличием разнокалиберных микровизукул, умеренным или небольшим количеством микроворсинок на люминальной поверхности, повышенной электронной плотностью цитоплазмы, выраженными признаками эндоцитоза. Базальная мембрана местами разрыхлена. В единичных сосудах наблюдался эритро- и лейкостаз.

При количественной оценке процентного содержания клеточного состава хронической гранулемы в периоды обострения и ремиссии получены следующие данные. При обострении отмечалась некоторая тенденция к снижению клеток фибробластического ряда – с $22,1 \pm 3,6\%$ до $16,4 \pm 2,1\%$ ($p > 0,05$); лимфоцитов – с $19,1 \pm 2,7\%$ до $7,4 \pm 0,9\%$ ($p < 0,05$). Количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в случае обострения хронически текущего гранулематозного воспаления увеличивалось более чем в 3 раза, что статистически значимо отличалось от содержания таковых в период ремиссии – $12,2 \pm 0,12\%$ и $39,3 \pm 4,1\%$ соответственно ($p < 0,001$). Тенденцией к снижению характеризовалось содержание макрофагов – с $20,1 \pm 3,6\%$ до $14,6 \pm 3,6\%$ ($p > 0,05$) и плазмоцитов – с $12,3 \pm 1,9\%$ до

8,1±1,2% ($p>0,1$), количество моноцитов не изменилось – с 14,2±2,3% до 14,8±1,8% (рис. 1).

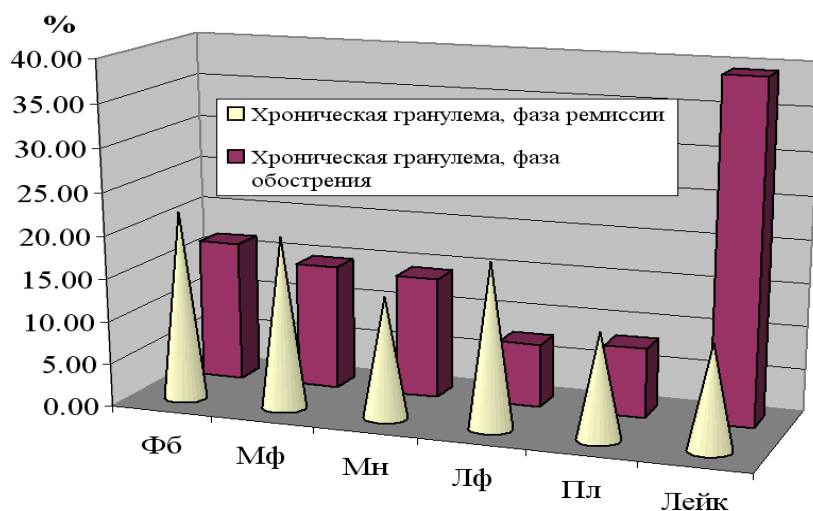


Рис. 1. Сравнительная характеристика клеточного состава хронической гранулемы в периоды ремиссии и обострения до лечения

Таким образом, в фазу ремиссии хронического гранулематозного воспаления в составе гранулемы преобладали клетки моноцитарно-макрофагального ряда и лимфоциты, в период обострения присоединялась значительная полиморфно-ядерная лейкоцитарная инфильтрация.

Морфологические изменения периодонта после эндодонтического лечения с ТКЭГТ. После ТКЭГТ и последующего пломбирования область гранулемы характеризовалась наличием некротических очагов, нередко сливающихся между собой. В отдельных полях зрения определялись обширные кровоизлияния. Перифокально располагалась зона демаркационного воспаления, представленная преимущественно полиморфно-ядерными лейкоцитами [Кабак Ю.С., 2008; Endod J., 2009]. Лейкоциты, непосредственно прилежащие к некротическим очагам, находились в состоянии некробиоза. В перифокальной зоне полиморфно-ядерные лейкоциты были активированы, с выраженным лизосомальным аппаратом, часто содержали весьма крупные фагосомы, окруженные несколькими мембранами.

Большинство макрофагальных элементов находились в активированном состоянии, имели выросты цитоплазмы, в которой наблюдалось высокое содержание первичных и вторичных лизосом, интенсивный фагоцитоз продуктов коагуляции. Фагоцитарные формы макрофагов в данный период преобладают над секреторными и нередко содержат большие фагосомы, включающие фраг-

менты ядер и цитоплазмы погибших и поглощенных клеток. Многочисленные кровеносные капилляры расширены, с признаками стаза, сладжа эритроцитов, многие тромбированы [Lappin D.F., 2003; Майбородин И.В., 2009].

Однако уже на 14–15-е сутки после лечения в периодонте с использованием ТКЭГТ вблизи области воздействия отмечаются интенсивные процессы неоваскулогенеза. Новообразованные капилляры, как правило, сформированы эндотелиоцитами с относительно крупным ядром, а при электронной микроскопии отмечена прерывистость базальной мембраны или отсутствие таковой на значительном протяжении сосуда. В период на 21–22-е сутки после лечения с ТКЭГТ в микроскопической картине преобладали выраженные репаративные процессы. В окружающем периодонте отмечались крупные гипертрофированные формы фибробластов. Отмечалось хаотичное и направленное разрастание коллагеновых волокон в виде пучков различной толщины. Некоторые были разволокнены, другие формировали компактные тяжи, между которыми наблюдались очаговые скопления фибробластов.

При электронной микроскопии фибробласты, как правило, характеризовались крупными ядрышками с преобладанием гранулярного компонента, митохондриями с признаками набухания и многочисленными расширенными цистернами гранулярной ЭПС. В очаге электрохирургического воздействия обнаруживались коллагеновые фибриллы с характерной исчерченностью. Среди клеточных элементов в зоне, предшествующей области электрокоагуляции, преобладали макрофаги, активность которых сохранялась на прежнем уровне, что проявлялось наличием цитоплазматических выростов, остатков фагоцитированных частиц в цитоплазме клеток. Присутствовали также скопления эпителиальных клеток Малассе в виде отдельных тяжей. Кровеносные капилляры и вены отличались гиперемией, имел место умеренный периваскулярный отек, иногда незначительное разрастание соединительной ткани и клеточная инфильтрация.

В гранулемах, исследованных до ТКЭГТ, отмечалось преобладание полиморфно-ядерных лейкоцитов [Ricucci D., 2006], которые составили $39,3 \pm 4,1\%$ от общего количества клеток периодонтальной гранулемы. В период после эндодонтического лечения (14–15-е сутки) отмечалось статистически достоверное снижение содержания лейкоцитов до $1,5 \pm 0,8\%$ ($p < 0,01$) (рис. 2).

В фазу затухания воспалительного процесса после ТКЭГТ отмечалось значимое увеличение лимфоцитов – с $7,4 \pm 0,9\%$ до $15,5 \pm 2,2\%$ ($p < 0,01$) и моноцитов – с $14,2 \pm 1,7\%$ до $20,8 \pm 2,3\%$ ($p < 0,01$), что, наряду с уменьшением количества полиморфно-ядерных клеток, свидетельствовало о переходе воспалительного процесса в продуктивную фазу. Общее содержание плазматических клеток не отличалось на протяжении всего лечения. Также наблюдалось достоверное увеличение количества фибробластов – с $16,4 \pm 2,1\%$ до $26,8 \pm 2,0\%$ ($p < 0,05$), макрофагов – с $14,6 \pm 3,6\%$ до $27,3 \pm 2,8\%$ ($p < 0,005$), что отражало усиление синтетической активности соединительной ткани и процессов репарации.

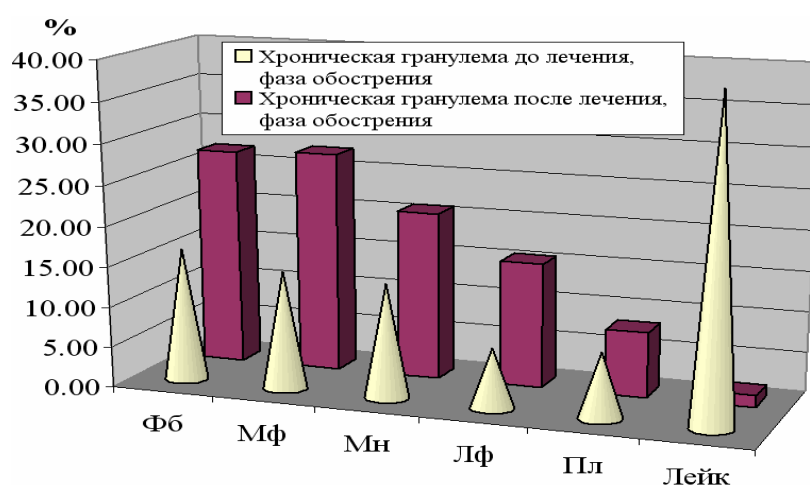


Рис. 2. Процентное содержание клеточного состава хронической гранулемы до и после ТКЭГТ с последующим эндодонтическим лечением в период обострения

При сравнении клеточного состава хронических гранул вне обострения до и после лечения наблюдались следующие отличия. После лечения в составе хронических периодонтальных гранул преобладали макрофаги – $28,1 \pm 2,8\%$, фибробласты – $28,3 \pm 2,0\%$, моноциты – $15,8 \pm 3,0\%$. В фазу ремиссии хронического воспаления без применения специфического лечения содержание перечисленных клеток составляло соответственно $20,1 \pm 3,6\%$ ($p < 0,1$), $22,1 \pm 3,6\%$ ($p < 0,05$), $14,2 \pm 2,3\%$ ($p > 0,1$). Общее содержание плазмоцитов в составе хронических гранул не отличалось в двух сравниваемых группах и составило соответственно $12,3 \pm 1,9\%$ и $10,5 \pm 2,1$ ($p > 0,1$). Количество лимфоцитов, входящих в состав периодонтальных гранул, после лечения составило $14,0 \pm 2,2\%$, что значимо отличалось от такового в периодонте без ТКЭГТ – $19,0 \pm 2,7\%$ ($p < 0,05$). Наиболее значимыми оказались показатели содержания полиморфно-ядерных

лейкоцитов, отражающие остроту воспалительного процесса. Так в группе без лечения лейкоциты составили $12,2 \pm 0,1\%$, после применения эндодонтического лечения – $1,5 \pm 1,0\%$ ($p < 0,001$) (рис. 3).

Таким образом, после комплексного эндодонтического лечения хронического гранулематозного воспаления с помощью ТКЭГТ наблюдалось преобладание клеточного инфильтрата, указывающего на продуктивный характер воспаления (лимфоциты, моноциты, плазмоциты), а также активация макрофагального и фибробластического клеточных звеньев, способствовавшая пролиферации соединительнотканых элементов.

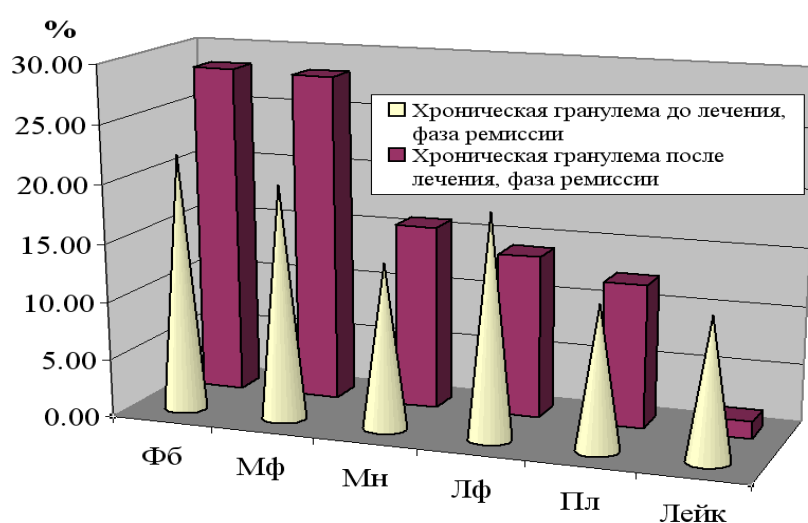


Рис. 3. Процентное содержание клеточного состава хронической гранулемы в период ремиссии до лечения и после эндодонтического лечения с ТКЭГТ

Увеличение тяжёлых эпителиальных клеток Малассе, которые в норме локализуются в интактной периодонтальной связке [Быков, В.Л., 2003; Endod, J., 2009], позволяет сделать вывод о выраженных процессах репаративной регенерации в области периодонтальной гранулемы после примененного лечения.

Результаты иммуногистохимического исследования

При постановке иммуногистохимической реакции на лимфоциты, экспрессирующие CD3-рецепторы в периодонте при хроническом гранулематозном воспалении в интенсивно коричневый цвет окрашиваются клетки, располагающиеся группами или поодиночке. Краситель имеет мембранную локализацию. Как правило, положительно реагирующие клетки формируют крупные скопления в глубине гранулем. Ближе к поверхности или капсуле их содержание не столь значительно, и они чаще дислоцированы поодиночке. Распростра-

ненность CD3-положительных клеток при хроническом периодонтите примерно одинакова в фазах ремиссии и обострения [Johannesen A.C., 2004; Erciyas K., 2006].

Содержание CD20-экспрессирующих лимфоцитов в гранулемах существенно меньше, чем CD3. CD20-лимфоциты могут формировать скопления, но чаще они располагаются поодиночке или небольшими группами. Отмечается локализация данных клеток вблизи кровеносных или лимфатических сосудов.

CD68-положительные клетки (макрофаги) более крупные, чем CD3 и CD20, окрашенный в коричневый цвет продукт иммуногистохимической реакции в них имеет цитоплазматическую локализацию. CD68 принадлежит к семейству лизосомальных гликопротеинов/мембранных белков-переносчиков, играющих роль в эндоцитозе и/или лизосомальном движении. CD68 интенсивно экспрессировался в цитоплазматических гранулах и слабо – на поверхности макрофагов. Клетки распределены в гранулемах относительно равномерно или небольшими группами. Анализ процентного содержания в периодонте при хроническом гранулематозном воспалении CD68-позитивных клеток не позволил выявить статистически значимых отличий показателей между 1-й группой (фаза ремиссии периодонтита) – $22,6 \pm 6,2\%$, 2-й группой (фаза обострения хронического периодонтита) – $18,9 \pm 3,6\%$, 3-й группой (после лечения в фазе ремиссии, 21–22 сутки) – $25,1 \pm 5,6\%$, 4-й группой (после лечения в фазе обострения, 21–22 сутки) – $16,2 \pm 3,6\%$. Процентное содержание CD3-позитивных клеток, к которым принято относить Т-лимфоциты, достоверно не различается в 1-й ($12,2 \pm 2,5\%$) и 3-й ($13,0 \pm 1,9\%$) группах. Значимое снижение показателя отмечено после лечения в фазе обострения (до лечения – $13,6 \pm 2,6\%$, после лечения – $6,8 \pm 1,7\%$).

Полученные результаты иммуногистохимического исследования могут свидетельствовать о том, что проведенное лечение оказывает существенное влияние на реакции клеточного и гуморального звеньев иммунитета и снижает интенсивность воспалительной реакции особенно после лечебных мероприятий в фазе обострения хронического гранулематозного периодонтита.

Результаты клинического исследования

Данные субъективного исследования болевого синдрома коррелировали с повышением в слюне пациентов адреналина и гистамина, которые были определены до и на первые сутки после окончательного пломбирования каналов у 107 пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Kinane D.F., 2001; Успенская А.О., 2001]. Было установлено (у 21 пациента), что уровень содержания адреналина и гистамина в слюне повышается при умеренном и сильном болевом синдроме: адреналин в 2–2,6 раза (до $0,367 \pm 0,009$ мг/мл), гистамин – в 3–3,5 раза ($0,466 \pm 0,006$ мг/мл).

Развитие осложнений в виде серозного периостита наблюдалось у 1 пациента с периодонтитом в стадии ремиссии. После назначения антибактериальной и противовоспалительной терапии [Робустова Т.Г., 2006] процесс был купирован без дополнительного оперативного лечения. Продолжительность лечения в первой группе составила в среднем 60 ± 8 минут при лечении моляров, 40 ± 6 минут – при лечении однокорневых зубов в одно посещение.

При анализе полученных результатов микробиологического исследования установлено, что до ТКЭГТ микробная флора в полости гранулемы была выявлена в 100% случаев в этиологически значимом количестве 10^4 – 10^6 КОЕ [Будиевская Т.В., 1989; Борисов Л.Б., 2002]. После проведения ТКЭГТ стерильными оказались посевы в 86% случаев при посеве из периапикальной гранулемы на тиогликолевой среде и среде Сабуро, в 82% случаев – на сахарном бульоне. Но в остальных случаях количественный состав оставшейся микробной флоры составлял $< 10^2$, что свидетельствовало об отсутствии значимости микробной флоры для дальнейшего развития воспалительного процесса.

Таким образом, использование ТКЭГТ позволило уничтожить микробную флору в 87% случаев. В остальных 13% случаев наблюдалось снижение её количества до этиологически не значимых значений, препятствующих дальнейшему развитию воспалительного процесса.

Данные денситометрии показали, что у пациентов в возрасте до 35 лет восстановление плотности периапикального дефекта происходит в сроки до 6 месяцев. У пациентов в возрасте старше 40 лет восстановление структуры костной ткани происходит в сроки до 12 месяцев, а у 4% больных обеих групп полная репарация периапикального дефекта кости не была выявлена.

Статистически значимое снижение уровня интерлейкина-6 в зубодесневой жидкости ($p < 0,05$) происходило в сроки 3, 6 и 12 месяцев в группах с хроническим гранулематозным периодонтитом в стадиях ремиссии и обострения. Но статистически значимого отличия исследуемых показателей между группами в соответствующие сроки не было установлено ($p > 0,05$).

После лечения в группах выявлено возрастание пиковой систолической скорости кровотока (S): до лечения – $7,16 \pm 0,43$, через 6 месяцев после лечения – $17,00 \pm 0,56$ ($p < 0,05$), упруго-эластических свойств сосудов по индексу Гослинга до лечения – $0,71 \pm 0,01$ и после лечения – $2,02 \pm 0,02$ ($p < 0,05$), уменьшение показателя индекса Пурсело, характеризующего периферическое сопротивление сосудов десны в области леченых зубов, до лечения – $1,55 \pm 0,01$ и после лечения через 6 месяцев – $0,60 \pm 0,02$ ($p < 0,05$). Следует отметить, что достоверных отличий исследуемых показателей в группах нами выявлено не было. Это свидетельствует о рациональности односеансного метода лечения гранулематозного периодонтита с использованием ТКЭГТ в различных стадиях его развития.

Выводы

1. Структурная организация периодонта при хроническом гранулематозном воспалении характеризуется выраженной клеточной инфильтрацией с преобладанием клеток моноцитарно-макрофагального ряда и лимфоцитов, деструктивными изменениями коллагеновых волокон, отложением минеральных солей, гемодинамическими сосудистыми нарушениями. По данным электронной микроскопии секреторные формы макрофагов превалируют над фагоцитарными. В фазе обострения возрастает процентное соотношение полиморфно-ядерных лейкоцитов.

2. Иммуногистохимическое исследование показало в периодонте при хроническом гранулематозном воспалении содержание CD_{68} -положительных клеток $22,6 \pm 6,2\%$, CD_3 – $12,2 \pm 2,5\%$, CD_{20} – $5,9 \pm 1,9\%$ в фазе ремиссии. Значимых отличий от данных показателей в фазе обострения не выявлено.

3. Трансканальная электрогранулотомия гранулемы с последующим пломбированием каналов зубов приводит к повышению фагоцитарной активности макрофагов и полиморфно-ядерных лейкоцитов. В поздний период после лечения (до 1 месяца) активизируются репаративные процессы в периодонте, о

чем свидетельствуют неоваскулогенез, гипертрофия фибробластов и усиление коллагеногенеза.

4. Проведенное лечение модифицирует в периодонте иммунные реакции и вызывает снижение процентного содержания CD_3 и CD_{20} . Наиболее эффективными по данным показателям лечебные мероприятия оказывались в фазе обострения периодонтита. Значимых изменений содержания CD_{68} не выявлено.

5. Исследования микробиоценоза апикальных гранулем зубов показало полное отсутствие микробной флоры в $85 \pm 1,0\%$ наблюдений. В остальных случаях отмечалось снижение её количества, не сопровождавшееся дальнейшим развитием воспалительного процесса. В стадии обострения стерильными оказались посевы до проведения трансканальной электрогранулотомии в $17,5 \pm 1,2\%$ наблюдений, после электрохирургического воздействия – в $86 \pm 1,5\%$.

6. Восстановление микроциркуляции через 5–6 месяцев после лечения, восстановление полного объема костной ткани в области апикальной гранулемы у $96,5 \pm 1,2\%$ пациентов через 6–12 месяцев, отсутствие выраженного болевого синдрома после лечения, сохранение функции зуба в отдаленные сроки указывают на возможность и высокую эффективность использования односеансного метода комплексного лечения хронического гранулематозного периодонтита с применением трансканальной электрогранулотомии в стадиях ремиссии и обострения.

Практические рекомендации

1. Применять односеансный метод комплексного лечения хронического гранулематозного периодонтита с ТКЭГТ в стадиях ремиссии и обострения.

2. Методика не должна применяться при невозможности прохождения канала на всю глубину и без расширения апикального отверстия до 15-го размера по международной системе стандартизации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Семенникова Н.В. Клинико-денситометрическая оценка эффективности применения заапикальной диатермокоагуляции в комплексном лечении хронических деструктивных периодонтитов / О.Е. Шишкина, Н.В. Семенникова // Материалы науч.-практ. конф. «Молодежь – Барнаулу». – Барнаул, 2004. – С. 189.
2. Семенникова Н.В. Состояние слизистой оболочки верхнечелюстного синуса при деструктивных формах периодонтита по данным мультисрезовой спирально компьютерной томографии / В.И. Семенников, М. Тактак, Н.В. Семенникова // Материалы всерос. науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы лучевой диагностики заболеваний костно-суставной системы». – Барнаул, 2005. – С. 192–194.
3. Семенникова Н.В. Методика сохранения зубов при воспалительных процессах и травмах / Н.В. Семенникова, Е.А. Василенко, Ю.С. Савицкая // Материалы науч.-практ. конф. «Молодежь – Барнаулу». – Барнаул, 2005. – С. 19.
4. Семенникова Н.В. Динамика состояния периапикальных тканей и слизистой дна верхнечелюстного синуса при деструктивных формах периодонтита / Н.В. Семенникова, М. Тактак // Международный медицинский конгресс студентов и молодых ученых «Санкт-Петербургские научные чтения». – СПб., 2005. – С. 148.
5. Семенникова Н.В. Рентгенологическая оценка результатов лечения деструктивных форм периодонтитов, осложненных верхнечелюстным синуситом / В.И. Семенников, М. Тактак, Н.В. Семенникова // Материалы VIII ежегодного научного форума «Стоматология 2006». – М., 2006. – С. 169–170.
6. Семенникова Н.В. Морфологическая картина рентгеннегативных результатов лечения гранулематозного периодонтита и радикулярных кист / Н.В. Семенникова // XXIX итоговая конференция общества молодых ученых МГМСУ : тр. конф. – М., 2007. – С. 371–372.
7. Семенникова Н.В. Оптимизация лечения деструктивных форм периодонтита, осложненных одонтогенным верхнечелюстным синуситом / В.И. Се-

менников, Н.В. Семенникова, М. Тактак, Г.А. Лебедев // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 310.

8. Семенникова Н.В. Опыт применения трансканальной электрохирургии периапикальных гранулем в комплексном лечении деструктивных форм периодонтита / Н.В. Семенникова, Е.С. Нетребская, Ю.С. Савицкая // Материалы науч.-практ. конф. «Молодежь – Барнаулу». – Барнаул, 2008. – С. 166.

9. Семенникова Н.В. Морфологические изменения пародонта после диатермокоагуляции гранулемы с последующим эндодонтическим лечением / С.В. Логвинов, Н.В. Семенникова, В.И. Семенников // Морфология. – 2008. – Т. 134, № 5. – С. 79–80.

10. Семенникова Н.В. Морфология периодонта при хроническом гранулематозном воспалении / С.В. Логвинов, Н.В. Семенникова // Морфология. – 2008. – Т. 134, № 4. – С. 78.

11. Семенникова Н.В. Динамика микроциркуляции при лечении деструктивных форм периодонтита с использованием трансканальной электрогранулотомии / Н.В. Семенникова, В.И. Семенников, С.В. Логвинов // Медицина в Кузбассе : материалы межрегион. науч.-практ. конф. с международным участием, посвященные 50-летию стоматологического факультета КемГМА. – Кемерово, 2009. – Спецвыпуск № 2. – С. 162–163.

12. Семенникова Н.В. Сравнительная оценка клинико-экономической эффективности применения трансканальной электрохирургии и традиционного метода лечения хронических деструктивных форм периодонтита / Н.В. Семенникова, О.Е. Шишкина, В.И. Семенников // Сб. статей межрегион. науч.-практ. конф. «Образование, наука и практика в стоматологической службе Севера. – Якутск, 2009. – С. 166–171.

13. Семенникова Н.В. Ближайшие и отдаленные результаты лечения деструктивных форм периодонтита ятрогенного генеза / В.И. Семенников, Н.В. Семенникова, О.Е. Шишкина // Фундаментальные и прикладные проблемы стоматологии : сб. тез. междунар. науч.-практ. конф. – СПб., 2009. – С. 206–207.

14. Семенникова Н.В. Сравнительная оценка клеточного состава хронической гранулемы в фазу ремиссии до и после лечения с использованием трансканальной электрогранулотомии / Н.В. Семенникова // Инновации и информационные технологии в диагностической, лечебно-профилактической и

учебной работе клиник : материалы науч.-практ. конф. ЦФО РФ с международным участием. – Тверь, 2009. – С. 246–247.

15. Семенникова Н.В. Клинико-морфологическая оценка хронического гранулематозного периодонтита в стадии обострения и ремиссии / Н.В. Семенникова, С.В. Логвинов, В.И. Семенников // Бюллетень Сибирской медицины. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 52–57.

16. Семенникова Н.В. Визуализация результатов лечения хронического гранулематозного периодонтита / Н.В. Семенникова, В.И. Семенников // Измерение, контроль, информация : материалы XI Междунар. науч.-техн. конф. – Барнаул, 2010. – С. 134–142.

17. Семенникова Н.В. Устройство для стерилизации и удаления эпителия с корня зуба, находящегося в полости кисты : пат. на полезную модель 75830 Рос. Федерация / В.И. Семенников, Н.В. Семенникова, А.В. Хайжок. – Оpubл. 27.08.08, Бюл. № 24.

18. Семенникова Н.В. Устройство для проведения трансканальной электрогранулэктомии и цистотомии в многокорневых зубах : пат. на полезную модель 75830 Рос. Федерация / В.И. Семенников, Н.В. Семенникова, М. Тактак. – Оpubл. 10.07.2010, Бюл. № 19.

Тираж 100 экз. Заказ 1056.
Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники.
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.
Тел. (3822) 533018.