УДК 616. 314. 18-002. 2-07

О. В. Шешукова

СПОСІБ РОЗШИРЕНОЇ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОГО ПЕРІОДОНТИТУ ТИМЧАСОВИХ ЗУБІВ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»

Інфекційна етіологія хвороб періодонта на сучасному етапі загальновизнана [3]. Мікробні пародонтопатогени, зокрема анаеробні мікроорганізми (Streptococcus sanguis, Streptococcus milleri, Fusobacterium spp. , Prevotella spp. , Actinomyces spp. , Porphyromonas gingivalis, P. endodontalis, Prevotella intermedia, Treponema denticola) , відіграють значну роль у розвитку запалення періодонта, призводять до перебудови неспецифічної та специфічної реактивності організму при деяких формах запалення і, відповідно, до розвитку різних тканинних реакцій у періодонті [2, 6, 8].

Наші попередні дослідження дозволили з'ясувати, що характер мікробної інвазії при періодонтитах тимчасових зубів безпосередньо впливає на стан періапікальної грануляційної тканини, яка формується у відповідь на дію певного спектра мікроорганізмів [4, 7, 9] та веде до інфільтрації прикореневої грануляційної тканини основними субпопуляціями лімфоцитів і дендритних клітин [5]. Визначення цих особливостей патогенезу захворювання важливе для фомування остаточного діагнозу, а значить, і для побудови стратегії лікування.

Мета дослідження - розробити спосіб діагностики хронічного періодонтиту тимчасових зубів шляхом установлення імунних відхилень із боку основних імуноцитів, локалізованих у прикореневій грануляційній тканині, визначення етіологічних мікробних чинників - пародонтопатогенних мікроорганізмів, що є необхідною умовою для успішної ерадикації інфекції.

Матеріали і методи дослідження

Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань проведено клінічні, рентгенологічні, імуногістологічні та мікробіологічні дослідження за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Обстежено 35 дітей віком від 2 до 10 років із захворюваннями періодонта тимчасових зубів, які зверталися по допомогу в дитячу стоматологічну поліклініку м. Полтави. Попередній діагноз установлювали на підставі з'ясування скарг, анамнезу, результатів об'єктивного обстеження, рентгенографії та дослідження біоптату грануляційної тканини, яка локалізувалася в ділянці деструкції та видалялася разом із причинним зубом. Діагноз визначали за міжнародною класифікацією стоматологічних хвороб на основі МКХ-10, залучаючи класифікацію періодонтитів у дітей за Т. Ф. Виноградовою (1968).

Імуногістологічні дослідження основних імуноцитів здійснювали на тканинних кріостатних зрізах товщиною 5-7 мкм за допомогою моноклональних антитіл (мкАТ) проти HLA-DR-, CD3-, CD4-, CD8-, CD20-антигенів імуноцитів («Сорбент», Росія) для визначення антигенпрезентуючих дендритних клітин (HLA-DR$^+$ ДК) , загальної Т-клітинної популяції (CD3$^+$) , Т-лімфоцитів- хелперів (CD4$^+$) , цитотоксичних лімфоцитів (CD8$^+$) і В-клітин (CD20$^+$). Відповідно оцінювали основні клітини-представники індуктивної та ефекторної ланок імунітету [1]. Імуногістохімічним методом були досліджені прикореневі грануляції (38 біоптатів, а з кожними мкАТ1 - анти-HLA-DR, CD3, CD4, CD8, CD20 усього було досліджено більше 190 препаратів).

Для якісного визначення пародонтопатогенних мікроорганізмів у кореневих каналах тимчасових молярів методом ПЛР проводили відбір матеріалу з каналів за допомогою стерильного паперового ендодонтичного штифта. Потім переносили штифт до епендорфів зі стерильним забуференим фізіологічним розчином для транспортування і зберігання відібраного матеріалу. У разі нерозкритої пульпової камери пробу з кореневого каналу отримували після видалення зубів з апікального отвору.

Отримані проби з кореневих каналів протягом 1 год. при температурі 2-4°С (у термосі з кригою) транспортували в лабораторію, де проводили ПЛР для визначення ДНК 5 основних пародонтопатогенних мікроорганізмів (Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Bacteroides forsythus, Treponema denticola, Actinomyces actinomycetemcomitans) за допомогою комерційного набору реагентів для якісного визначення ДНК (ООО НПФ „ГЕНТЕХ") за стандартною методикою [1]. За результатами досліджень пацієнту з хронічним періодонтитом тимчасових зубів визначають метод терапії. Для визначення дієвості проведеного лікування проводять повторне ПЛР-дослідження на 5 основних періодонтопатогенів безпосередньо перед постійною обтурацією кореневих каналів.

Для визначення зв'язку між наявністю того чи іншого мікроорганізму в кореневому каналі, визначених методом ПЛР, та наявністю інфільтрації імунними клітинами був проведений непараметричний кореляційний статистичний аналіз із визначенням коефіцієнтів Kendall Tau і Gamma.

Результати дослідження

За ступенями активності карієсу в обстежених дітей виділяли: „компенсовану форму" – в 15, 8±4, 2% випадків; „субкомпенсовану" – в 39, 5±5, 6 %; „декомпенсовану" – в 44, 7±5, 7%, тобто переважна більшість обстежених дітей мали кілька уражених карієсом та його ускладненнями тимчасових зубів, що в такому віці опосередковано свідчить про низьку резистентність організму. Стан слизової оболонки в ділянці причинного зуба показав наявність гіперемії з ціанозом і пастозністю – в 52, 6+5, 7% випадків; наявність абсцесу, нориць із виділенням ексудату – в 31, 6+5, 3%.

При визначенні мікробного профілю в 10 осіб (28, 5±7, 6%) не було виявлено жодного з пародонтопатогенів, що визначалися. Можливо, в ряді випадків хронічний періодонтит тимчасових зубів має асептичний характер або викликається іншим профілем мікроорганізмів.

По одному з інфекційних агентів виявлено у 12 (34, 3±8, 0%) випадках із 35: серед них P. intermedia – 2 (5, 7±3, 9%) , T. denticola та B. forsythus – по 3 випадки (8, 6± 4, 7% відповідно) і P. gingivalis – 4 (11, 4±5, 3%) випадків. Дані нашого дослідження свідчать, що P. gingivalis досить часто зустрічався окремо від інших збудників, що узгоджується з відомостями про його високу вірулентність.

Асоціацію збудників (більше 1 пародонтопатогена) визначено в 13 (37, 1±5, 7%) пацієнтів, причому A. actinomycetemcomitans виявлений винятково в поєднанні з іншими збудниками (8 випадків - 22, 8±7, 09%). Відповідно, в поєднанні з B. forsythus - у 2-х пацієнтів; у решті випадків за наявності A. actinomycetemcomitans виявляли ще 2-3 збудники в каналі, серед них: по 2 рази – із B. forsythus і T. denticola та з B. forsythus, T. denticola й P. intermedia; по 1 разу – B. forsythus і P. intermedia та P. intermedia і T. denticola. A. actinomycetemcomitans у поєднанні з P. gingivalis не зустрічався жодного разу. Отже, найчастіше виявили асоціацію A. actinomycetemcomitans з B. forsythus, які були разом у 7 випадках (53, 8±8, 4%). Ще одна з асоціацій - це поєднання P. intermedia та B. forsythus, виявлене в 4-х із 13 випадків (30, 7±7, 8%). І в 1 випадку ми виділили асоціацію P. intermedia з T. denticola.

За результатами дослідження з'ясовано, що пародонтопатогенні асоціації, до складу яких входить B. forsythus, є найчастішими при хронічному періодонтиті тимчасових зубів (виявлені в 11 з 13 випадків). Про значну етіологічну роль T. denticola свідчить її наявність у складі асоціації в 6 випадках (46, 2+13, 8%).

Підсумовуючи, можна зробити висновок, що при хронічній інфекції кореневих каналів найчастіше виявлявся B. forsythus – 40+8, 2% (3 випадки – при моноінфекції кореневих каналів і 11 з 13 випадків бактеріальних асоціацій). На другому місці – T. denticola, яка виявлена у 25, 7±7, 4% досліджень. Кореляційний аналіз підтвердив припущення, що для хронічного періодонтиту тимчасових зубів характерна мікробна асоціація з наявністю B. forsythus. Так, позитивна кореляція встановлена між Bacteroides forsythus і Prevotella intermedia (Kendall Tau= 0, 410792, p=0, 040709).

Ми встановили позитивні кореляційні зв'язки для B. forsythus і CD3⁺ клітинної популяції в грануляціях (Kendall Tau= 0, 458131, p=0, 022471) та для P. gingivalis і CD20⁺ B-клітин, зосереджених локально (Kendall Tau=0, 421637, p=0, 035684).

За цими даними ми можемо простежити переважано CD3⁺ клітинну локальну реакцію при інфекції B. forsythus і CD20⁺ B-клітинну – при P. gingivalis. Щодо P. gingivalis, то відомо, що цей збудник здатний локально модулювати профіль імунної відповіді [10].

Крім того, в нашому дослідженні ми отримали найвиразнішу CD3⁺-клітинну інфільтрацію при інфекції кореневих каналів B. forsythus, що дозволяє зробити припущення, що цей мікроорганізм, очевидно, найбільшою мірою локально індукує Т-клітинно-опосередковану відповідь, що спостерігається у вигляді CD3⁺ Т-клітинної інфільтрації і, зокрема, інфільтрації CD8⁺ цитотоксичними лімфоцитами грануляційної тканини.

Негативні зв'язки виявлені між P. intermedia і CD3⁺ клітинною інфільтрацією (Kendall Tau= – 0, 416667, p=0, 037918) , що може відображати інший, ніж CD3⁺ опосередкований, тип імунної реакції на інфекцію P. intermedia. Імовірно, що цей мікроорганізм зокрема виявив здатність дисрегулювати або пригнічувати саме CD3⁺ клітини in locus morbi при досліджуваній патології. Ці результати демонструють переважно Т-клітинну імунну реакцію, яка може розвиватися в тканинах пародонта у відповідь на пародонтопатогенну інфекцію, і відображають різні процеси при різних хворобах періодонта.

За результатами дослідження ми дійшли висновку про доцільність застосування способу діагностики хронічних періодонтитів шляхом установлення імунних відхилень із боку основних імуноцитів, локалізованих у прикореневій грануляційній тканині, та визначення етіологічних мікробних чинників, зокрема пародонтопатогенів.

Для ілюстрації застосування способу наводимо кілька прикладів.

Приклад 1. Дитині 5 років установлено діагноз „декомпенсована форма карієсу, загострення хронічного гранулюючого періодонтиту 84" за результатами загальноприйнятих клініко-інструментальних методів. Каріозна порожнина 84 не сполучається з порожниною зуба. На рентген-знімку: прогресуюча резорбція коренів, вогнище деструкції альвеоли локалізоване в ділянці фуркації; компактна пластина зачатка постійного зуба залучена в процес. Видалено зуб під відповідним знеболюванням, отримано біоптат прикореневих грануляцій розміром 2-3 мм. Відібрано пробу для ПЛР-діагностики з верхівки кореневого каналу ви-

даленого зуба. ПЛР-діагностика показала наявність 2-х пародонтопатогенних мікроорганізмів: P. intermedia та B. forsythus. Результати імуногістохімічного дослідження показали інтенсивну інфільтрацію HLA-DR⁺, CD3⁺ та CD8⁺ клітинами і помірну – CD4⁺ та CD20⁺ .

Приклад 2. У пацієнтки М. , 6 років, установлено діагноз „декомпенсована форма карієсу, загострення хронічного гранулюючого періодонтиту 84. Хронічний гранулюючий періодонтит 74" за результатами загальноприйнятих клініко-інструментальних методів. На рентген-знімку 84: *прогресуюча резорбція коренів*, вогнище деструкції альвеолярної кістки з нечіткими межами, локалізоване в ділянці фуркації та щічно-медіального кореня; компактна пластина зачатка постійного зуба резорбована на 1 мм у ділянці верхівки щічно-медіального кореня. Видалено зуб 84 під відповідним знеболюванням, отримано біоптат прикореневих грануляцій діаметром 2-3 мм. Відібрано пробу для ПЛР-діагностики з верхівки кореневого каналу видаленого зуба. ПЛР-діагностика показала наявність 2-х пародонтопатогенних мікроорганізмів: P. intermedia та B. forsythus. Результати імуногістохімічного дослідження показали інтенсивну інфільтрацію HLA-DR⁺, CD3⁺ та CD8⁺ клітинами і помірну – CD4⁺ та CD20⁺ . У наступне відвідування і на основі отриманих результатів проведено лікування хронічного періодонтиту 74 за схемою: розкриття порожнини зуба, механічна й медикаментозна обробка розчином хлоргексидину біглюконату 0, 05%, обробка кореневих каналів, тимчасова обтурація кореневих каналів „ЭндАсепт" („Владмива", Росія) на 5 діб під герметичну пов'язку. Постійна обтурація кореневих каналів евгеноловою пастою, ізолююча прокладка – „Адгезор", пломба – „Керамфіл Моляр".

Висновки.

Отже, наведені результати досліджень свідчать про можливість розширення інформативної діагностики пародонтопатогенних мікроорганізмів та локальних імунних розладів in locus morbid за застосування запропонованого способу, що є необхідною умовою для успішної ерадикації інфекції та профілактики.

Література

1. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва та ін.]; за ред. І. П. Кайдашева - Полтава, 2003. -320 с.

2. Царев В. Н. Применение иммуноферментного анализа для диагностики анаэробной инфекции челюстно-лицевой области / В. Н. Царев, Н. Е. Ястребова, Н. П. Ванеева, А. И. Калинин // Стоматология. -1995. -№1. -С. 38-40.

3. Этиопатогенетические факторы развития воспалительных заболеваний периодонта / [В. Н. Царев, Р. В. Ушаков, Е. Я. Ясникова, А. В. Митронин] // Стоматолог. -2005. -№6. -С. 16-23.

4. Шешукова О. В. Зв'язок між наявністю пародонтопатогенної інфекції у кореневих каналах і гістологічними особливостями грануляційної тканини при хронічному періодонтиті тимчасових зубів / О. В. Шешукова, І. П. Кайдашев, В. І. Шинкевич //Вісник проблем біології і медицини. -2006. -№2. -С. 413-416.

5. Шешукова О. В. Характеристика імунних клітин прикореневої грануляційної тканини при періодонтитах тимчасових зубів у дітей / О. В. Шешукова //Вісник проблем біології і медицини. -2009. -№2. -С. 208-211

6. Gomes B. P. F. A. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria / B. P. F. A. Gomes, J. D. Lilley, D. B. Drucker // Int. Endod. J. -1996. -Vol. 29. -P. 69-75.

7. Clinical, microbiological and immunological features of subjects with destructive periodontal diseases / A. D. Haffajee, S. S. Socransky, J. L. Dzink [et al.] // J. Clin. Periodontol. -1988. -Vol. 15. -P. 240-246.

8. Coldero L. G. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement / L. G. Coldero, S. Mchung, D. MacKenzie, W. P. Saunders // Int. Endod. J. -2002. -Vol. 35, N5. -P. 437-446.

9. van Winkelhoff A. J. Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction / A. J. van Winkelhoff, B. G. Loos, W. A. van der Reijden, U. van der Velden // J. Clin. Periodontol. -2002. -Vol. 29, N11. -P. 1023-1028.

10. Yun P. L. Hydrolysis of interleukin-12 by Porphiromonas gingivalis major cysteine proteinases may affect local gamma interferon accumulation and the Th1 or Th2 T-cell phenotype in periodontitis / P. L. Yun, A. A. Decarlo, C. Collyer, N. Hunter // Infect. Immunol. -2001. -Vol. 69, N9. -P. 5650-5660.

Стаття надійшла
12. 04. 2010 р.

Резюме

В статье представлено применение способа диагностики хронических периодонтитов временных зубов путем регистрации иммунных отклонений со стороны основных иммуноцитов, локализованных в околокореневой грануляционной ткани, определения этиологических микробных факторов, особенно опасных в аспекте развития одонтогенных осложнений. Применение способа даёт возможность достигнуть расширенной информативной диагностики пародонтопатогенных микроорганизмов и является необходимым условием для успешной эрадикации инфекции, профилактики воспалительных заболеваний тканей пародонта и мягких тканей челюстно-лицевой области у детей.

Ключевые слова: периодонтиты временных зубов, иммуноциты, пародонтопатогены.

Summary

The application of diagnostics method of chronic periodontitis of temporary teeth is presented in the article. It is conducted by registration of immune deviations on the basis of the main immunocytes localized in periapical granular tissue, and determination of etiological microbe factors especially dangerous in the development of odontogenic complications.

The application of the suggested method allows attaining wide informative diagnostics of parodontopathogenic microorganisms that is required for successful infection eradication, and prevention of inflammatory diseases of parodentium tissues and soft tissues of maxillo-facial area at children.

Key words: periodontitis of temporary teeth, immunocytes, parodontopathogens.