

СТОМАТОЛОГИЯ

УДК 616.31-576.72-576.8

А.В. Цимбалистов¹, Г.Б. Шторина¹, Э.Д. Сурдина¹, Ю.Л. Авдеенко², О.М. Яковлева³

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПУЛЬПЫ И МИКРОФЛОРА КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ИНТАКТНЫХ ЗУБОВ ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ

¹ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

² Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н. Кашкина
Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования

³ Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург

До настоящего времени чрезвычайно актуальной проблемой продолжает оставаться лечение генерализованного пародонтита тяжелой степени. Известно, что генерализованный пародонтит тяжелой степени развивается на фоне снижения общего и местного иммунитета [1 и др.]. Основным этиологическим фактором является воздействие инфекционных агентов. Современная концепция заключается в том, что наибольшее клиническое значение в развитии воспалительных явлений в челюстно-лицевой области имеют облигатные анаэробы [2 и др.]. Сопровождается данное заболевание выраженными нарушениями микроциркуляции в тканях пародонта [3 и др.]. И все это приводит к выраженным деструктивным процессам в тканях пародонта вплоть до потери зубов [4].

В связи с этими обстоятельствами принято включать в комплексное лечение генерализованного пародонтита тяжелой степени методики, направленные на различные звенья данной патологической цепи. Однако далеко не всегда удается достичь желаемого результата: длительной стадии ремиссии и, в идеале, снижения степени тяжести заболевания.

Причина заключается главным образом в том, что генерализованный пародонтит, являясь хроническим инфекционным заболеванием, может давать обострения вплоть до гноетечения из зубодесневых карманов и абсцедирования на фоне различных неблагоприятных ситуаций. Это может быть при реинфицировании из не полностью ликвидированных очагов патогенной микрофлоры, при повышенной нагрузке, в частности, при протезировании, переохлаждении, неудовлетворительной гигиене полости рта и на фоне самых различных общих причин. При снижении иммунитета патогенная микрофлора начинает активно размножаться, вытесняя антагонистов из микробного сообще-

ства и, достигнув определенного количественного и качественного уровня, начинает оказывать деструктивное действие на ткани пародонта [5 и др.].

Между тем неоспоримым фактом является единство таких структур, как зуб и пародонт. В последнее время все чаще говорят о так называемом «эндопародонтальном синдроме», одним из проявлений которого считается начало воспалительного процесса в тканях пародонта, а затем переход его на ткани зуба, включая корневые каналы и пульпу. Достаточно подробно в литературе описываются пути проникновения инфекции из пародонта в корневые каналы. При этом довольно редко исследователи наблюдали в таких ситуациях клинические проявления пульпита, чаще сталкиваясь с гиперестезией тканей зуба [6–8 и др.]. Считается, что пародонтологическое лечение само по себе может привести к вторичному вовлечению пульпы. Удаление зубного камня, кюретаж и образование лоскута могут способствовать открытию латеральных каналов и дентинных канальцев в полость рта, что может привести к инфицированию пульпы. Делясь опытом лечения эндопародонтального синдрома, авторы утверждают, что эндодонтическое лечение является частью комплексного лечения данной патологии. Независимо от места локализации воспалительного процесса, в пародонте или эндодонте, прекращение патологических процессов в апикальной части периодонта saniрует состояние маргинального края.

Однако исследователи до сих пор не могут дать однозначного ответа, какова степень инфицированности пульпы зубов при генерализованном пародонтите тяжелой степени вне обострения процесса, каков характер гистоморфологических изменений в ней, а также какой должна быть врачебная тактика, если эти изменения существенные, но при этом бессимптомно протекающие?

Ряд авторов [9 и др.] считают, что пульпа зуба, как и другие ткани организма, подвержена процессам старения. На фоне патологии пародонта и нарушений микроциркуляции, свойственной данному заболеванию, физиологический возраст пульпы начинает превышать хронологический. При этом уменьшаются размеры пульпарной камеры из-за увеличения продукции дентина, происходит развитие фиброза, уменьшается количество клеток, что ограничивает возможность восстановления пульпы при ее повреждении.

Другими исследователями при изучении микроциркуляторного русла пульпы зубов больных в разных возрастных категориях при генерализованных пародонтитах были отмечены значительные нарушения кровообращения и снижение интенсивности кровотока [10 и др.]. По мнению ученых, исследовавших этот вопрос [11 и др.], одной из причин таких изменений в пульпе зубов являются пародонтальные карманы, которые по мере углубления отсекают пути дополнительного кровоснабжения через боковые микроканалы корня зуба.

Между тем при изучении воспалительных изменений в пульпе интактных зубов было высказано предположение, что это связано с инфицированием тканей пародонта [12 и др.]. Рядом авторов преимущественно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) была обнаружена одинаковая патогенная анаэробная микрофлора как в карманах, так и в корневых каналах интактных зубов при генерализованном пародонтите средней и тяжелой степени [13 и др.]. Однако ПЦР выявляет фрагменты ДНК даже мертвых микроорганизмов, которые могли присутствовать до использования антибактериальных средств, применяемых обычно для снятия обострения. В связи с этим ПЦР не может свидетельствовать о фактическом присутствии микроорганизмов в момент исследования. Поэтому остается не решенным вопрос о существовании взаимосвязи между тече-

нием генерализованного пародонтита, инфицированностью корневых каналов и гистоморфологическими изменениями в пульпе зубов.

Однако клинические наблюдения разных авторов [14 и др.] и наши собственные показали, что при депульпировании зубов, подверженных генерализованному пародонтиту тяжелой степени, заметно уменьшается их подвижность и снижаются воспалительные явления вокруг них, но теоретического обоснования эти наблюдения до сих пор не нашли.

Цель исследования — выявление и верификация микрофлоры корневых каналов и оценка морфофункционального состояния пульпы интактных зубов у больных ГП тяжелой степени.

Материалы и методы исследования. Материалами исследования служило содержимое корневых каналов, зубодесневых карманов и пульпа, экстирпированная из интактных зубов больных генерализованным пародонтитом (ГП) тяжелой степени. С этой целью выбирались зубы с широкими корневыми каналами. В основном это были верхние центральные резцы и клыки и нижние клыки и премоляры. Для сравнения мы пользовались материалом (пульпа и содержимое корневых каналов интактных зубов) пациентов контрольной группы, у которых пародонт был без признаков ГП, а зубы депульпировались по ортопедическим показаниям.

Гистоморфологическое исследование было проведено для выявления корреляции между состоянием тканей пародонта и состоянием пульпы интактных зубов больных ГП тяжелой степени. Гистоморфологические и морфометрические исследования проводили в лаборатории цитологии и патоморфологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СПбМАПО. Исследовали 30 препаратов пульпы интактных зубов больных ГП тяжелой степени и 15 препаратов пульпы пациентов из контрольной группы.

Депульпирование проводили под местной инфильтрационной или проводниковой анестезией. Зубы изолировались от слюны и десневой жидкости с помощью коффердама. Непосредственно перед обработкой твердых тканей поверхность зуба механически очищали и обрабатывали растворами антисептиков. Трепанацию и экстирпацию осуществляли с помощью стерильных инструментов.

Поскольку при экстирпации неизбежно повреждается коронковая часть пульпы, исследованию подвергалась только корневая ее часть. Извлеченные пульпарные тяжи фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, далее в лабораторных условиях их проводили через спирты возрастающей концентрации, заливали в парафин. Затем изготавливали срезы с парафиновых блоков толщиной 3–5 мкм. Для исследования применялись гистологические и гистохимические окраски: гематоксилин-эозин, альциановый синий, азур-эозин, ШИК, Ван-Гизон. Для изучения материала использовали световой микроскоп МБИ-15.

В целях объективизации структурных характеристик был использован метод морфометрии при увеличении от 20 до 90 при количестве измерений 100. Применяли методы точечного счета, прямого измерения и линейного интегрирования. С этой целью использовали световой микроскоп с набором для морфометрии. С помощью данного метода определяли выраженность воспалительного инфильтрата на единицу поверхности среза и оценивали трофическую функцию пульпы путем определения относительного объема сосудистого русла пульпы зубов посредством подсчета удельной площади сосудов методом точечного счета.

Микробиологическое исследование проводили с помощью культуральных методов диагностики.

Экстирпация пульпы и забор материала для микробиологического исследования осуществлялись в соответствии со стандартами ISO, декларированными Американской организацией по контролю за качеством в 1986 г.

Для изучения микрофлоры пародонтальных карманов проводили снятие всех наддесневых зубных отложений. Затем в область наиболее глубоких локализаций зубодесневых карма-

нов вводили стерильные эндодонтические бумажные штифты (3–4 штуки, ISO 30 или 35). Их доводили до дна кармана и оставляли на 10 с. После этого пробы переносили в контейнеры с анаэробной транспортной средой.

Согласно протоколу, с целью исследования корневых каналов зубы изолировали с помощью коффердама, обрабатывали 30%-ным раствором перекиси водорода, затем 5%-ным раствором йодида калия, далее 5%-ным раствором тиосульфата натрия для инактивации йода. Доступ к устью канала осуществляли только стерильными алмазными борами и файлами. Забор материала из каналов проводили с помощью стерильных бумажных штифтов. Перед использованием такой штифт необходимо опустить на несколько секунд в стерильный физиологический раствор. Затем штифт помещается в канал на 30 с, а далее переносится в контейнер с анаэробной транспортной средой.

Микробиологическое культуральное исследование инфицированного материала проводили в аэробных и анаэробных условиях в лаборатории бактериологии РосНИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена.

Для выращивания в аэробных условиях культивация осуществлялась при температуре 37 °С в течение 48 ч, при этом использовались плотные питательные среды — кровяной агар, ЖСА. Для выявления анаэробной флоры материал высевался на 1 сут на жидкую среду обогащения — СКС+199 среда. Затем, через 24 ч материал еще раз высевался на плотную питательную среду Шердлер-агар. Культивация осуществлялась в анаэробных условиях с помощью анаэро-тата при температуре 37 °С в течение 7 сут. После этого выделенную микрофлору идентифицировали на спектрофотометре с использованием специальных биохимических тестов.

Забор материала для микробиологического исследования корневых каналов интактных зубов и зубодесневых карманов был произведен у 30 больных ГП тяжелой степени. В контрольной группе (15 человек) исследовали только корневые каналы. В исследовании участвовали преимущественно женщины в возрасте от 44 до 57 лет. Из выборки исключались пациенты с сахарным диабетом, декомпенсированными сердечно-сосудистыми и тяжелыми аутоиммунными заболеваниями.

Больным ГП тяжелой степени микробиологическое исследование проводили после стандартного курса общей и местной антибактериальной терапии, обладающей бактерицидным действием на анаэробную микрофлору. Данный курс включал в себя: «Метронидазол» 500 мг 3 раза в день в течение 8 дней, «Ципрофлоксацин» 500 мг 2 раза в день в течение 8 дней и полоскание полости рта 0,2%-ным раствором хлоргексидина биглюконата в течение 2 недель. Данная терапия назначалась с целью снятия обострения и создания равных условий для чистоты исследования. При этом отмечались уменьшение жалоб и улучшение клинического состояния больных.

Результаты и их обсуждение. Проведенное микробиологическое исследование выявило наличие микрофлоры в корневых каналах у больных генерализованным пародонтитом тяжелой степени в 83,33% случаев. Выявленная микрофлора относится в основном к облигатным и факультативным анаэробам.

Оценивая обнаруженную микрофлору, мы выявили, что кроме представителей резидентной и транзбионтной флоры были культивированы представители пигменто-образующих анаэробов, грамотрицательных и грамположительных анаэробных микроорганизмов, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, которые способны в ассоциациях оказывать агрессивное действие на окружающие ткани, в частности, вызывать деструкцию пародонта.

Среди статистически значимых видов в корневых каналах встречались: *Actinomyces israeli* и *A. naeslundii* в 33,33% случаев каждый *Bacteroides distasonis* — 43,33%, *B. vulgatus* — 36,67%, *Peptostreptococcus anaerobius* и *P. micros* — 40,0% каждый, *P. magnus* — 33,33%, *Prevotella intermedia* — 30,0% и *P. oralis* — в 40,00% случаев ($p < 0,05$).

Всего в корневых каналах было обнаружено 23 вида микроорганизмов, а в пародонтальных карманах — 41 вид, причем грамположительные виды преобладали над грамотрицательными. Это можно связать с избирательным действием на грамотрицательную микрофлору антибактериальных препаратов, входящих в состав стандартной схемы лечения.

17 видов микроорганизмов были обнаружены и в пробах, взятых из пародонтальных карманов, и из корневых каналов. 12 видов микроорганизмов обнаружены у одних и тех же пациентов в обеих локализациях (табл. 1). Преобладание в корневых каналах таких видов, как *Bacteroides distasonis*, *B. vulgatus*, *Enterococcus faecalis*, *Peptostreptococcus magnus*, *P. micro*, *Prevotella intermedia*, говорит о том, что отдельные виды условно-патогенной микрофлоры могут сохраняться в каналах независимо от проведенной антибактериальной терапии. Присутствие пародонтопатогенной флоры в большом проценте случаев подтверждает необходимость определять индивидуальную чувствительность микрофлоры к антибиотикам.

Таблица 1

**Частота встречаемости микроорганизмов,
обнаруженных в обеих локализациях одновременно**

Вид микроорганизма	Частота встречаемости в пародонтальном кармане и корневом канале одновременно, %
<i>Actinomyces israeli</i>	13,33
<i>Actinomyces naeslundii</i>	23,33
<i>Bacteroides distasonis</i>	13,33
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10,00
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	30,00
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	6,67
<i>Peptostreptococcus micros</i>	20,00
<i>Peptostreptococcus niger</i>	6,67
<i>Prevotella intermedia</i>	13,33
<i>Prevotella oralis</i>	26,67
<i>Staphylococcus warneri</i>	3,33
<i>Streptococcus intermedius</i>	3,33

В связи тем, что до взятия проб на культуральное исследование не были удалены поддесневые зубные отложения, была исключена возможность так называемого ятрогенного инфицирования пульпы. Следовательно, подтверждается вероятность миграции микроорганизмов из пародонтальных каналов в систему корневых каналов. Также вероятна возможность обратного поступления микрофлоры из каналов в ткани пародонта, что впоследствии может привести к рецидиву заболевания.

Важно отметить, что содержание микрофлоры в корневых каналах не проявлялось какими-либо симптомами обострения заболевания пульпы или апикального периодонта.

В группе пациентов без признаков пародонта определяли отсутствие микрофлоры в корневых каналах.

Гистоморфологическое исследование пульпы больных генерализованным пародонтитом позволило выявить изменения в слое одонтобластов, наличие и характер расположения клеточных инфильтратов (гистиоциты, макрофаги, лимфоциты, лейкоциты), наличие или отсутствие дистрофических изменений рыхлой волокнистой соединительной ткани, присутствие очагов склероза, изменение сосудов пульпы и характер очагов петрификации в случае их обнаружения. Так, вакуолизация одонтобластов наблюдалась в 40,0% случаев, мукоидное — в 50,0% случаев, фибриноидное набухание (10%) рыхлой волокнистой соединительной ткани, мелкие очаги склероза выявлены в 63,3% случаев, крупные очаги склероза — в 26,7%, изменения сосудов пульпы в виде утолщения — в 13,3%, склероза — 6,7%, набухания эндотелия — в 10,0% случаев, дилатации — 30,0%. Крупные очаги петрификации встречались в 16,67% случаев, мелкие — в 60,0%, что составило в общей сложности 76,7% случаев. В контрольной группе существенным было отсутствие патологических изменений за исключением мелких очагов петрификации (18,2% случаев).

Гистоморфологические изменения в пульпе интактных зубов при генерализованном пародонтите тяжелой степени иллюстрируют фотографии гистологических срезов (рис. 1, 2). В обоих случаях в ткани пульпы четко наблюдается очаговая воспалительная, преимущественно мононуклеарная инфильтрация, выраженная петрификация и увеличение количества волокнистых структур.



Рис. 1. Воспалительно-дистрофические изменения в ткани пульпы при генерализованном пародонтите тяжелой степени. Гематоксилин-эозин. Ув. $\times 100$.



Рис. 2. Выраженная петрификация и увеличение количества волокнистых структур в ткани пульпы. Гематоксилин-эозин. Ув. $\times 100$.

Для объективизации данных методом морфометрии определили значение плотности воспалительного инфильтрата (лейкоциты, макрофаги, гистиоциты, лимфоциты) на единице площади среза. Среднее значение плотности клеточного инфильтрата препаратов пульпы зубов больных генерализованным пародонтитом составило $(9,66 \pm 0,99) \cdot 10^{-5}$ кл./мкм². В контрольной группе этот показатель составил $(13,82 \pm 1,27) \cdot 10^{-5}$ кл./мкм².

Таблица 2

Оценка показателей морфометрического исследования пульпы зубов

Показатель	Больные ГП тяжелой степени (<i>n</i> = 30)	Контрольная группа (<i>n</i> = 15)
Плотность клеточного инфильтрата, кл/мкм ²	$(9,66 \pm 0,99) \cdot 10^{-5}, p < 0,05$	$(13,82 \pm 1,27) \cdot 10^{-5}$
Удельная площадь сосудистого русла, %	$3,07 \pm 0,31, p < 0,001$	$9,69 \pm 0,39$

Средние показатели морфометрического исследования плотности воспалительного инфильтрата в пульпе интактных зубов приведены в табл. 2. Можно отметить, что при пародонтите тяжелой степени увеличивается количество инфильтратов малой плотности, уменьшается количество инфильтратов средней и большой плотности.

С помощью того же метода морфометрии мы оценивали трофическую функцию пульпы зубов путем подсчета удельной площади сосудистого русла на срезе. Среднее значение удельной площади сосудистого русла пульпы зубов у больных генерализованным пародонтитом тяжелой степени составило $(3,07 \pm 0,31)\%$. Значение этого параметра в контрольной группе составило $(9,69 \pm 0,39)\%$.

Таким образом, плотность клеточного инфильтрата в группе больных генерализованным пародонтитом достоверно меньше, чем в контрольной группе, а трофическая функция пульпы при генерализованном пародонтите уменьшилась почти в 3 раза.

Сочетанное использование гистоморфологического и морфометрического методов позволило оценить морфофункциональное состояние пульпы интактных зубов больных ГП тяжелой степени по сравнению с пульпой пациентов контрольной группы. Можно сказать, что при ГП тяжелой степени в пульпе интактных зубов изменения носят воспалительно-дистрофический, зачастую необратимый характер.

Итак, на основании микробиологического исследования выявлен и подтвержден факт присутствия факультативной и облигатной микрофлоры в корневых каналах интактных зубов 83,33% больных ГП тяжелой степени по сравнению с корневыми каналами интактных зубов контрольной группы лиц без признаков ГП, в которых микроорганизмы отсутствовали. Данные нашего микробиологического исследования говорят о том, что микрофлора в корневых каналах может сохраняться независимо от антибактериальной терапии.

На основании гистоморфологического исследования тканей пульпы интактных зубов больных ГП тяжелой степени установлен и подтвержден факт развития воспалительно-дистрофических изменений: дезорганизация соединительной ткани в виде мукоидного фибриноидного набухания, вакуолизация одонтобластов, очаги склероза, изменения сосудов пульпы и очаги петрификации.

В результате использования метода морфометрии были выявлены изменения трофической функции пульпы зубов. Плотность клеточного инфильтрата (гистиоциты, макрофаги, лейкоциты, лимфоциты) по сравнению с контрольной группой была меньше в 1,3 раза, что может свидетельствовать о снижении неспецифического иммунитета тканей пульпы интактных зубов при генерализованном пародонтите тяжелой степени.

В результате проведенного комплексного исследования можно констатировать, что при ГП тяжелой степени в пульпе интактных зубов происходят воспалительно-дистрофические изменения преимущественно необратимого характера, что приводит к сни-

жению трофики и, как следствие, функциональных свойств пульпы. В частности, снижаются защитные свойства пульпы, на фоне чего происходит колонизация микроорганизмов и затем вторичная альтерация. Инфицирование пульпы может стать причиной депульпирования зубов как мероприятия по лечению ГП тяжелой степени.

Summary

Tsimbalistov A.V., Shtorina G.B., Surdina E.D., Avdeyenko Y.L., Yakovleva O.M. Morphofunctional condition of pulp and root canals microflora of intact teeth in severe cases of generalized marginal periodontitis.

In severe cases of generalized marginal periodontitis facultative and obligate anaerobic microflora is found in root canals of intact teeth. Histomorphological and morphometrical pulp tissues examination of such teeth reveals inflammatory and dystrophic changes and disturbances of the trophic function.

Key words: marginal periodontitis, pulp, root canal, infection, pathomorphologie, trophism.

Литература

1. Орехова Л.Ю. Иммунологические механизмы в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 1998.
2. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология. Н. Новгород, 2004. С. 71–75.
3. Кречина Е.К. Микроциркуляция тканей пародонта и реактивность ее микрососудов // Тр. VI съезда СТАР. М., 2000. С. 213–214.
4. Мюллер Х.-П. Пародонтология. Львов, 2004. С. 30–43.
5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология. М., 2005. С. 140–150, 254.
6. Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Осипова В.А., Бармашева А.А. Влияние сочетанных поражений осложненного кариеса и воспалительных заболеваний пародонта на состояние зубочелюстной системы // Пародонтология. 2004. Т. 31. № 2. С. 8–14.
7. Мороз П.В., Новгородский В.Е., Фан Г.С. и др. Эндодонтическое лечение в комплексной терапии эндопародонтального синдрома // Матер. XII и XIII Всерос. конф. и Труды IX съезда СТАР. М., 2004.
8. Новгородский С.В., Новосядлая Н.В., Березина А.Е. и др. Опыт комплексного лечения эндопародонтального синдрома // Матер. X Междун. конф. челюстно-лиц. хирургов и стоматологов. СПб., 2005. С. 124–125.
9. Фэйзис Д.А. Экстренная помощь в стоматологии. М., 1999. 434 с.
10. Кодола Н.А., Хомутовский О.А., Центи-ло Т.Д. Пародонтоз: Ультроструктура десны и пульпы. Киев, 1980. 319 с.
11. Мороз Б.Т., Пенькова Н.И. Воспаление пульпы зуба // Стоматология / Под ред. В.А. Козлова. СПб., 2003. С. 157–178.
12. Seltzer S., Bender I.B. The dental pulp. Philadelphia, 1984.
13. Rocas I.N., Siqueira I.F., Santos K.R., Coelho A.M. «Red complex» (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*) in endodontic infections: amolecular approach // Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol. 2001. Vol. 91. P. 468–471.
14. Никитина Т.В. Пародонтоз. М., 1982. 255 с.

Статья принята к печати 20 декабря 2006 г.