

Регенерация пульпы зуба при использовании материалов для ее прямого покрытия в сочетании с методом озонотерапии

И.А.Никольская¹, И.С.Копецкий¹, Т.К.Дубовая², В.Ф.Выгорко³, А.Г.Волков⁴

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра терапевтической стоматологии стоматологического факультета, Москва (зав. кафедрой — доц. И.С.Копецкий);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра гистологии и эмбриологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. В.В.Глинкина);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра челюстно-лицевой хирургии и стоматологии детского возраста, Москва (зав. кафедрой — проф. А.Г.Притыко);

⁴Московский государственный медико-стоматологический университет, кафедра физиотерапии (зав. кафедрой — проф. О.И.Ефанов)

В исследовании разработан комплекс мероприятий, направленных на сохранение жизнеспособности и регенерации пульпы зуба, в эксперименте на кроликах. Проведен сравнительный анализ характеристик лечебных прокладок на основе гидроксиапатита ультравысокой дисперсности и гидроксида кальция, а также их применения в сочетании с физиотерапевтическим методом — озонотерапией. Эти процедуры были нацелены на повышение степени защиты пульпы от внешних воздействий и создавали условия обратимости воспалительного процесса и регенерации. Данные экспериментального исследования позволяют разработать новые методы лечения, ориентированные на сохранение жизнеспособности пульпы зуба, и добиться устойчивых результатов лечения пациентов в клинической практике.

Ключевые слова: пульпа, озон, гидроксид кальция, иммуногистохимическое исследование

Regeneration of dental pulp using materials for its direct coverage in combination with ozone therapy method

I.A.Nikolskaya¹, I.S.Kopetskiy¹, T.K.Dubovaya², V.F.Vygorko³, A.G.Volkov⁴

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Therapeutic Dentistry of Dentistry Faculty, Moscow (Head of the Department — Assoc. Prof. I.S.Kopetskiy);

²The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Histology and Embryology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. V.V.Glinkina);

³The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Maxillofacial Surgery and Dentistry of Childhood, Moscow (Head of the Department — Prof. A.G.Prityko);

⁴Moscow State Medical and Dental University, Department of Physical Therapy (Head of the Department — Prof. O.I.Efanov)

In the study there was worked out a set of measures aimed at preserving the vitality and regeneration of dental pulp in an experiment on rabbits. It is given a comparative analysis of the characteristics of therapeutic pads based on hydroxyapatite ultrahigh dispersion and calcium hydroxide and their use in combination with a physiotherapeutic method of treatment — ozone therapy. These procedures were directed on increasing the protection of the pulp from external influences and created conditions for the invertibility of inflammation and regeneration. These pilot studies allow the development of new measures aimed at preserving the vitality of the tooth pulp and to achieve sustainable results in the treatment of patients in clinical practice.

Key words: pulp, ozone, calcium hydroxide, immunohistochemical research

Для корреспонденции:

Никольская Ирина Андреевна, ассистент кафедры терапевтической стоматологии стоматологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0500
E-mail: doknikolskaya@gmail.com

Статья поступила 17.04.2012, принята к печати 19.09.2012

Поражения пульпы в структуре болезней зубов занимают второе место, поэтому актуальной проблемой является поиск новых материалов для сохранения ее жизнеспособности. Число пациентов, обратившихся за стоматологической помощью с воспалительными заболеваниями пульпы, не только не снижается, но и имеет тенденцию к росту и, по данным различных

авторов, составляет от 20,3 до 45,8% всех пришедших в стоматологические поликлиники [1, 2].

В настоящее время ведутся активные исследования по применению различных биоматериалов и разработке специальных способов воздействия на ткани, позволяющих комплексно в процессе лечения оказывать влияние на метаболические и регенераторные процессы в тканях пульпы. В большинстве случаев при лечении заболеваний пульпы используют методы витальной и девитальной экстирпации, но одним из методов выбора, имеющим ограниченные показания, является биологический метод. Он обеспечивает полное сохранение структуры и функции пульпы. Однако трудности в дифференциальной диагностике форм пульпитов, ограниченные показания к применению биологического метода, связанные с отсутствием эффективных методов купирования воспалительного процесса, частое развитие осложнений после лечения не позволили данному методу получить широкое распространение [3, 4].

Существенное значение в достижении положительного эффекта лечения имеют препараты для прямого покрытия пульпы, поэтому поиск «идеального» материала, устраивающего клиницистов, активно продолжается. В настоящее время применяют лечебные прокладки, содержащие антибиотики, антисептики, сорбенты, глюкокортикоиды, остеотропные препараты и другие химические вещества [5].

Наилучшие результаты, по данным различных авторов, отмечены при использовании в качестве лечебной прокладки соединений гидроксида кальция. При этом важную роль в формировании регенератов в области дефекта твердых тканей играют как фактор твердых тканей, проявляющийся в виде образования дентинного мостика, так и мягких тканей — в виде ликвидации признаков воспаления в пульпе [6].

Для повышения интенсивности действия препаратов прямого покрытия пульпы в терапию включают различные физиотерапевтические процедуры, способствующие регенерации тканей [7]. К таким методам можно отнести действие CO_2 -лазера [8], а также озонотерапию, которая, по мнению большинства исследователей, является высокоэффективным немедикаментозным методом лечения, обладает бактерицидным, противовирусным, фунгицидным, иммуномодулирующим, противогипоксическим и дезинтоксикационным действием [9, 10].

Механизм лечебного действия озона связан с его высоким окислительно-восстановительным потенциалом, что обеспечивает, с одной стороны, дезинфицирующий эффект в отношении бактерий, вирусов и грибов, с другой — приводит к активизации метаболических процессов в тканях. Озон взаимодействует с белково-липидными комплексами мембран клеток и плазмы крови, что способствует преобразованию и синтезу биологически активных веществ, усилению активности иммунокомпетентных клеток, улучшению реологии и кислородтранспортной функции крови [10, 11].

Цель исследования — изучить в экспериментальных условиях способность пульпы к регенерации при ее покрытии материалами, содержащими гидроксипатит, в сочетании с воздействием озона.

Материалы и методы

На проведение экспериментальной работы получено разрешение Этического комитета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (протокол № 98 от 17.05.2010).

Объектом исследования были кролики породы советская шиншилла — 54 особи возрастом от 6 мес до 3 лет, живой массой 2,5–4,0 кг, содержащиеся в условиях вивария.

Перед экспериментом (после 4 дней акклиматизации) все кролики были рандомизированы на 3 группы для проведения лечения пульпы, которое различалось в зависимости от применяемых материалов для биологического метода. Всем кроликам моделировали ятрогенную форму пульпита.

В 1-ю экспериментальную группу вошли 16 кроликов. На 8 животных проводили лечение биологическим методом с применением в качестве лечебной прокладки гидроксипатита ультравысокой дисперсности (Остим-100) и на 8 кроликах — препаратом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe — Calcium hydroxide paste). Во 2-ю экспериментальную группу (16 особей) вошли кролики, в лечении которых, помимо вышесказанного метода лечения, до внесения лечебных прокладок использовали прямое воздействие озоном (в виде обдувания) в течение 1 мин (рис. 1). Концентрация озона составляла 0,261 мг/м³.

Контрольную 3-ю группу составили 16 особей, у которых дефект пульпы пломбировали полихромным композитом, но биологический метод лечения не применяли.

Ниже представлена краткая характеристика используемых материалов — Остим-100 и Calcipulpe.

Остим-100 синтезирован в Лаборатории радиохимических методов исследования гетерогенных процес-



Рис. 1. Обдувание вскрытой пульпы зуба озоно-воздушной смесью

сов МГУ им. М.В.Ломоносова. Препарат Остим-100 — синтетический гидроксиапатит ультравысокой дисперсности, представленный в виде пасты [12, 13]. Помимо высокой химической чистоты и строгой стехиометрической однородности, материал отличается тем, что размеры его частиц составляют 0,5 мкм, что на 2–3 порядка меньше, чем у наиболее близких по структуре образцов гидроксиапатита, а их удельная поверхность в 10–30 раз выше, чем у аналогов. Это обуславливает быструю реакцию материала на изменение окружающей биохимической активности, максимальную адаптацию кристаллов по форме и размерам, близким к структуре костной ткани, и высокую сорбционную активность по отношению к белкам [14].

Calcipulpe (Septodont, Франция). При контакте со здоровой пульпой зуба или в непосредственной близости от нее гидроксид кальция способствует образованию заместительного дентина. Материал в своей основе имеет гидроксид кальция (20,0 г) и сульфат бария (20,1 г). На дне полости он химически нейтрализует кислоты, источником происхождения которых служит полость рта или цемент, тем самым образуя преграду для их проникновения в пульпу зуба.

Для проведения озонотерапии применяли прибор, разработанный на кафедре физиотерапии МГМСУ. В качестве источника озона в этом приборе использован аппарат ОКУФ-5м, позволяющий синтезировать газ за счет ультрафиолетового излучения. Прибор снабжен компрессором для закачки и подачи озono-воздушной смеси, системой отводящих и приводящих силиконовых трубок и стандартными сменными рабочими насадками Mini Tip фирмы Ultradent (США), которые использовались для проведения процедур.

Для обеспечения безболезненного проведения эксперимента применяли общую анестезию. На фоне премедикации 2% раствором ксилазина гидрохлорида (рометара) в дозе 5,0 мг/кг выполняли внутримышечное или внутривенное введение 5% раствора зоветила в дозах 7,5 и 7,0 мг/кг массы соответственно. Данные анестетики разрешены к применению в ветеринарии у животных.

После введения исследуемого животного в наркоз производили установку роторасширителя, затем механически очищали исследуемые зубы с помощью полировочных щеток и пасты (SuperPolish/CleanPolish). На вестибулярной поверхности двух резцов верхней и двух резцов нижней челюсти в пришеечной области шаровидным бором № 2 моделировали дефект твердых тканей зуба, не доходя 0,1 мм до пульпы зуба, затем шаровидным бором № 1 вскрывали пульпу.

Завершающим этапом была постановка постоянной пломбы Twinky Star (Voco, Германия). Выбор материала обусловлен наличием широкого спектра цветов, облегчающим кодировку гистологического материала. При закрытии дефекта препаратом Остим-100 для маркировки участка в 1-й экспериментальной группе использовали компомер Twinky Star blue, препаратом Calcipulpe — Twinky Star green, а при применении метода озонотерапии во 2-й группе — Twinky Star orange и Twinky Star pink соответственно (рис. 2).



Рис. 2. **Закрытие дефекта полихромным компомером Twinky Star, Voco**

В связи с понижением температуры тела кролика во время общей анестезии и в течение 3 ч в послеоперационном периоде производили его согревание внешними источниками тепла. На всех этапах исследования животное пребывало в условиях, исключающих болевую или иную травму.

Описанная модель эксперимента была избрана специально, чтобы иметь возможность оценить одонтотропные свойства изучаемых материалов.

Выведение животных из эксперимента производили на 7, 14, 21, 35-е сутки путем передозировки зоветилового наркоза. Эти сроки были необходимы, чтобы проследить в динамике процессы регенерации тканей пульпы, происходящие в очаге повреждения. Костные фрагменты челюсти, включающие зуб с областью дефекта в пришеечной области, отделяли от мягких тканей путем выпиливания.

При морфологических исследованиях было изучено 216 гистологических препаратов резцов, полученных от 54 кроликов. Гистологические и иммунологические исследования полученных препаратов проводили в лаборатории патологии ФНКЦ ДГОИ им. Д.Рогачева.

Поперечными срезами выделено несколько фрагментов — в области послеоперационного отверстия и несколько серийных срезов через шейку и корень зуба животного. Из каждого фрагмента были приготовлены гистологические препараты, окрашенные в дальнейшем гематоксилином и эозином, трихромом по Массону.

Дополнительно проведено иммуногистохимическое исследование с CD3, CD20, Ki-67, S100, Podoplanin, Macrophage, CD34 (Ventana).

Результаты исследования и их обсуждение

Гистологическое изучение дефектов твердых тканей зуба в динамике показало, что во всех срезах всех групп исследования на 7-й день эксперимента была идентичная морфологическая картина. В полости зуба и корневых каналах минимально выражена воспалительная инфильтрация. Клетки представлены немногочисленными CD3⁺/CD20⁺ малыми лимфоцитами и большим количеством макрофагов. Наличие последних подтверждено экспрессией в них антител к Macrophage. В области послеоперационного отверстия слой одонтобластов полностью отсутствует, пульпа обнажена, отмечена активная пролиферация фибробластов, лимфоидная инфильтрация (рис. 3). Много-

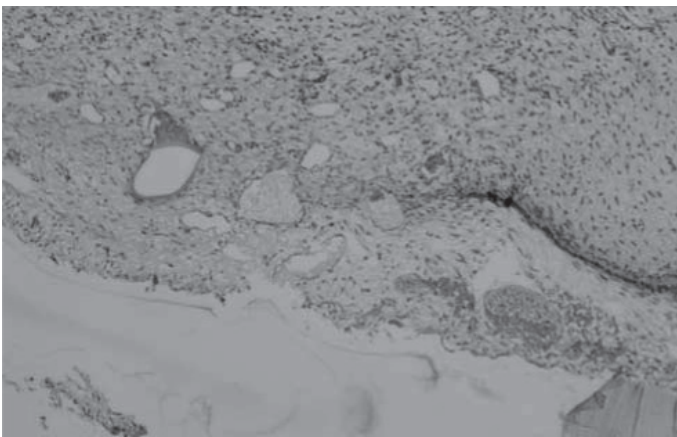


Рис. 3. **Обнаженная пульпа с полнокровными сосудами, лимфоидной инфильтрацией.** Лечение с применением озонотерапии, 7-е сутки после постановки лечебной прокладки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100

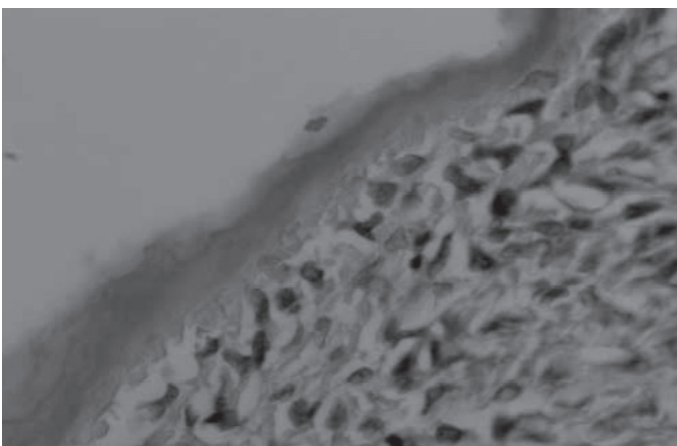


Рис. 4. **Незначительная пролиферация одонтобластов, тенденция к формированию дентинных мостиков.** Лечение без применения озонотерапии, 14-е сутки после постановки лечебной прокладки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 600

численные кровеносные сосуды полнокровны, с незначительным отеком эндотелия. В их стенках выявлена экспрессия CD34. Отмечен небольшой отек окружающей рыхлой волокнистой соединительной ткани. Дентинные мостики не визуализировались.

На 14-е сутки в 1-й экспериментальной группе отмечена незначительная пролиферация одонтобластов, тенденция к формированию дентинных мостиков, выраженная колонизация макрофагами, определялось умеренное количество лимфоцитов. Отек стромы минимальный, наблюдали некоторую компактизацию. Проллиферативная активность клеточных компонентов составила 5%. Сосуды мелкокалиберные, гиперемированы (рис. 4).

В препаратах 2-й группы отмечены немногочисленные макрофаги, единичные лимфоциты. Наблюдалась выраженная пролиферация фибробластов, подтверждаемую окраской трихромом по Массону. Признаки репарации дентина аналогичны описанным выше. В контрольной группе пролиферация одонтобластов не отмечена. Сохранялся незначительный отек эндотелия.

На 21-е сутки гистологическая картина в препаратах, полученных от кроликов 1-й группы, по сравнению с 14-м днем, без выраженных изменений. В препаратах, приготовленных из материала группы, где был использован озон в течение 1 мин и гидроксипатит ультравысокой дисперсности, отмечены мелкокалиберные сосуды с менее выраженной гиперемией, отсутствовал отек эндотелия. Визуализировались многочисленные дентинные мостики на ранних стадиях развития. В контрольной группе отмечено умеренное количество макрофагов и лимфоцитов по периметру сформированного дефекта с сохранением незначительного отека эндотелия.

На 35-е сутки эксперимента в гистологических препаратах 1-й группы отсутствовали признаки воспалительной инфильтрации, визуализировались многочисленные новообразованные кровеносные и лимфатические сосуды. Был умеренно выражен фиброз пульпы.

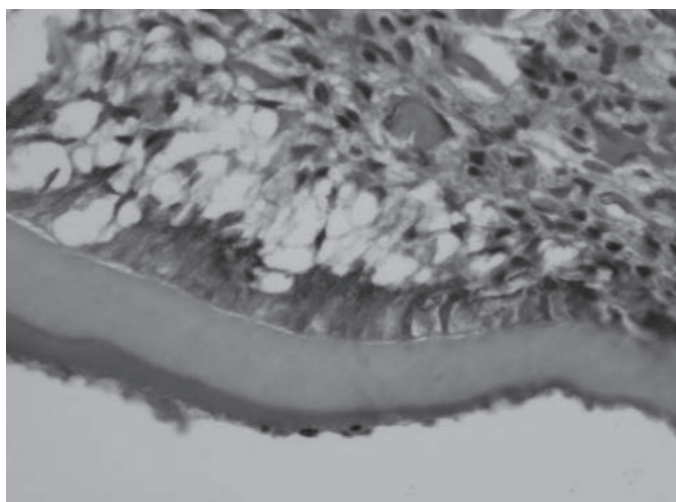


Рис. 5. **Тонкие, но более высокой плотности дентинные мостики.** Лечение с применением озонотерапии, 35-е сутки после постановки лечебной прокладки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

Перинеуральный отек не определялся. Одонтобласты вне зоны предсуществующего дефекта в состоянии реактивной пролиферации. В области формирующихся дентинных мостиков обозначенные выше элементы структурировались в многорядный слой, практически теряя тенденцию к скоплению.

При этом во 2-й группе, после воздействия озоном в течение 1 мин в комбинации с гидроксиапатитом ультравысокой дисперсности, наряду с описанными выше гистологическими изменениями, визуализировались тонкие, более высокой плотности дентинные мостики. Одонтобласты, продуцирующие вещество заместительного дентина, структурированы в один слой (рис. 5). В контрольной группе отмечены слабые признаки воспалительного процесса, незначительный отек эндотелия, наблюдали скопление участков рубцовой ткани по периферии сформированного дефекта. Визуализировалось формирование единичных дентинных мостиков.

Заключение

Экспериментальное изучение морфологических изменений в тканях пульпы зуба кроликов, которым в комплекс лечебных мероприятий включали обдувание вскрытой пульпы озоно-воздушной смесью в течение 1 мин с последующей постановкой лечебной прокладки, показало, что процессы регенерации у них протекают быстрее. В этой группе исчезали признаки воспаления в пульпе, отмечено активное образование заместительного дентина в области дефекта в более ранние сроки по сравнению с группой, где орошение озоном не проводили. Более активно процессы регенерации проходили при использовании в качестве лечебной прокладки гидроксиапатита ультравысокой дисперсности Остим-100. В 1-й экспериментальной группе, где применяли только материалы для прямого покрытия пульпы, принципиальной разницы в сроках регенерации пульпы не выявлено.

В контрольной группе, где после вскрытия пульпы зуба ни озон, ни лечебные прокладки не применяли, регенерация происходила в более поздние сроки. В 45,8% случаев отмечали некроз пульпы, что свидетельствует о необходимости использования лечебных и изолирующих прокладок при пломбировании композициями стеклоиономерных цементов и композиционных материалов.

Результаты настоящего исследования могут служить экспериментально-теоретическим обоснованием для разработки и внедрения новых методов лечения, а также определения показаний к применению гидроксиапатита ультравысокой дисперсности в сочетании с озонотерапией в эндодонтической практике.

Литература

1. Иванов В.С., Винниченко Ю.А., Иванова Е.В. Воспаление пульпы зуба. М., 2003. 178 с.
2. Лукиных Л.М., Шестопалова Л.В. Пульпит: клиника, диагностика и лечение. Нижний Новгород, 2004. 87 с.
3. Хоменко Л.А., Биденко Н.В. Практическая эндодонтия. М., 2005. 224 с.
4. Гутман Дж., Думша Т.С., Ловдэл П.Э. Решение проблем в эндодонтии: профилактика, диагностика и лечение / Пер. с англ. М.: МЕДпресс-информ, 2008. 592 с.
5. Рукавишников Л.И. Результаты лечения пульпита биологическим методом и витальной ампутацией // 8-й Всесоюзный съезд стоматологии: Тезисы. М., 1987. Т.2. С.72-74.
6. Schroder U., Granadh L.E. Early reaction of intact human teeth of calcium hydroxide following experimental pulpotomy and its significance to the development of hard tissue barrier // Rev Asoc Odontol Argent. 1971. V.22. P.379-384.
7. Tziafas D., Smith A.J., Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy // J Dent. 2000. V.28. P.77-92.
8. Stabholz A., Sarah-Helft S., Moshonov J. Lasers in endodontics // Dent. Clin. North Am. 2004. V.48. P.809-832.
9. Azarpazhooh A., Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature // J Dent. 2008. V.36. №2. P.104-116.
10. Seidler V., Linetskiy I., Hubalkova H. et al. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article // Prague Med Rep. 2008. V.109. №1. P.5-13.
11. Ефанов О.И., Волков А.Г. Физические методы диагностики и лечения в эндодонтии // Клини. стоматол. 2005. №3. С.22-25.
12. Зуев В.П., Панкратов А.С. Остеорепарация посттравматических дефектов нижней челюсти под воздействием гидроксиапатита ультравысокой дисперсности // Стоматология. 1999. Т.78. №1. С.37-41.
13. Зуев В.П., Сергеев П.В., Панкратов А.С. и др. О влиянии гидроксиапатита на пролиферативную активность клеток костной ткани // Хим.-фарм. журн. 1994. №2. С.10-14.
14. Панкратов А.С. Лечение больных с переломами нижней челюсти с использованием ОСТИМ-100 (гидроксиапатит ультравысокой дисперсности) как стимулятора репаративного остеогенеза. М., 1995. С.19-20.

Информация об авторах:

Копецкий Игорь Сергеевич, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии стоматологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0500
E-mail: kopetski@rambler.ru

Дубовая Татьяна Клеониковна, доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии и эмбриологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4000

Выгорко Виталий Федорович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии детского возраста Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 439-0298

Волков Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры физиотерапии Московского государственного медико-стоматологического университета
Адрес: 127206, Москва, ул. Вучетича, 9а
Телефон: (499) 972-60-91