

Ярынич-Бучинская Н.П., Скрипников П.Н.,
Кайдашев И.П., Богашова Л.Я., Боброва Н.А.



**ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ
ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО
ПАРОДОНТИТА АУТОЛОГИЧНЫМИ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ
КЛЕТКАМИ КРОВИ**



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
Высшее государственное учебное заведение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия»

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ
ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО
ПАРОДОНТИТА АУТОЛОГИЧНЫМИ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ
КЛЕТКАМИ КРОВИ

Методические рекомендации

Полтава
2007

УДК 616.314.18-002.4-089.843

Рецензент: Ткаченко П.И., д. мед. н., профессор, зав. кафедрой детской хирургической стоматологии и пропедевтики хирургической стоматологии с пластической хирургией

Ярынич-Бучинская Н.П., Скрипников П.Н., Кайдашев И.П., Богашова Л.Я., Боброва Н.А. Хирургическое лечение хронического генерализованного пародонтита аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками крови

В настоящем издании изложены подготовка больного к хирургическому вмешательству, метод хирургического вмешательства с применением аутологичных мезенхимальных стволовых клеток крови при хроническом генерализованном пародонтите и полученные результаты лечения.

Методические рекомендации рассчитаны на врачей-стоматологов, врачей-интернов, студентов стоматологического профиля.

Методические рекомендации утверждены на заседании ЦМК УМСА, протокол № 7 от 19 апреля 2007 г.

Ответственный за подготовку и издание рекомендаций: ректор ВГУЗУ «УМСА» профессор Ждан В.Н.; зав. кафедрой последипломного образования врачей стоматологов профессор Скрипников П.Н.

Заболевание пародонта, по данным разных авторов (Дмитриева Л.А., 2001; Лемецкая Т.И., 1972; Genco R.J. с соавт., 1998 и многих других), является одной из самых распространенных патологий челюстно-лицевой области и достигает 98% среди других воспалительных заболеваний.

В патогенезе пародонтита одна из важных ролей принадлежит воспалительному процессу, нарушениям центральных механизмов регуляции нейротрофических функций тканей челюстно-лицевой локализации вследствие расстройства корково-подкорковых взаимоотношений (Турбина Л.Г. , 1995; Gyurfi A. с соавт., 1994 и др.).

В то же время, развитие пародонтита находится в прямой зависимости от количества зубного налета и общей микробной загрязненности полости рта и от эффективности гигиенических мероприятий (Лобань Г.А., Федорченко В.И., 2004 и др.).

Большое внимание исследователи уделяют реактивности организма больных пародонтитом (Белоклицкая Г.Ф., Центило Т.Д., 2004; Мащенко И.С., Самойленко А.В., 2002 и др.).

В практике врача стоматолога основным дифференциально-диагностическим признаком, хотя и с известными оговорками, признается состояние зубо-десневого прикрепления.

Таким образом, патологический процесс в опорно-удерживающем аппарате зуба на органном уровне при пародонтите характеризуется наличием стойких прогрессирующих морфологических изменений в связочном аппарате, а на уровне организма в целом – наличием хронических очагов одонтогенной инфекции (Иорданишвили А.К., Гололобов В.Г., 2001 и др.).

Следовательно, многочисленные причины и разнообразие взглядов на патогенез обуславливают значительные трудности в выборе лечения хронического генерализованного пародонтита.

Приоритетная роль в комплексной терапии пародонтита отводится хирургическим методам, с помощью которых можно до-

биться ликвидации очагов воспаления, устранить пародонтальные карманы, стабилизировать процессы деструкции костной ткани (Луцкая И.К., Артюшкевич А.С., 2000; Степанов А.Е., 1991; Loos S., 1960 и др.).

Однако, применяя при оперативных вмешательствах различные трансплантационные материалы, до настоящего времени так и не удалось добиться гарантированной репарации периодонтальных структур.

В настоящем издании представлен хирургический метод лечения хронического генерализованного пародонтита разработанным новым способом восстановительного лечения необратимо поврежденных органов путем трансплантации клеток – клеточной инженерии.

При использовании метода клеточной трансплантации появляется возможность возмещения отсутствующих клонов специализированных клеток в поврежденных органах, увеличения количества функционирующих клеток, а также активации в сохранившихся клетках поврежденного органа собственного резерва регенерации и пролиферации (Грищенко В.И., 2003; Турчин И.С., 2003; Цепколенко В.А. с соавт., 2003 и др.).

На наш взгляд, наиболее перспективным, доступным и недорогим для пациента методом лечения хронического генерализованного пародонтита может быть метод с применением аутологичных мезенхимальных стволовых клеток крови, которые способствуют регенеративным и репаративным процессам околозубных тканей.

Выбор клеточного материала и биоматрицы (носителя, проводника) является определяющим фактором применения современных технологий. При данном методе лечения носителем стволовых аутологичных клеток крови может быть коллапан.

Обследование больных и подготовка полости рта к хирургическому вмешательству

Оперативное вмешательство было произведено при I и II стадиях пародонтита у 20 больных.

Обследование пациентов проводили согласно принятым в клинике методам оценки состояния тканей пародонта.

Клиническое исследование начинали с выяснения жалоб больного, анамнеза заболевания и соматического статуса пациента, наличия отягчающей наследственности по поводу заболеваний пародонта и сопутствующей патологии.

Оценивали стоматологический статус пациента на основании данных объективного исследования органов полости рта, прикуса, зубной формулы, состояния твердых тканей зубов, окклюзионных взаимоотношений; обращали внимание на цвет, тургор слизистой оболочки полости рта, цвет, консистенцию, пастозность, атрофию или гипертрофию десневых сосочков, кровоточивость их, наличие пародонтальных карманов, присутствие гнойного отделяемого из карманов, подвижность зубов, наличие над- и поддесневых зубных отложений.

Диагноз хронического генерализованного пародонтита устанавливался на основании общепринятых клинических критериев и данных параклинических методов обследования.

С целью объективной оценки состояния пародонта больных определяли гигиенический индекс (ГИ) по Федорову-Володкиной, ГИ по Грину-Вермильону, папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА) в модификации Parma, степень кровоточивости десны (индекс Н.Ж.Кötzchke); глубину пародонтальных карманов измеряли с помощью градуированного зонда, устанавливали степень патологической подвижности зубов.

Для оценки состояния костной ткани альвеолярного отростка челюстей пациентам проводили рентгенологическое исследование – прицельную рентгенограмму, радиовизиограмму на аппарате «Трофи», ортопантограмму.

Данные визиограмм, рентгенограмм и ортопантограмм до оперативного вмешательства свидетельствовали о том, что у большинства пациентов определялась деструкция альвеолярного отростка, межзубных перегородок с обнажением корней зубов на 1/3-1/2. Резорбированный край гребней нечеткий и неровный. Периодонтальная щель вокруг 31, 41, 42, 12, 11, 21, 22 неравномерно расширена, в том числе и за счет вертикально расположенных участков деструкции в зонах, прилежащих к периодонтальной щели. В этих местах нечетко прослеживалась компактная пластинка лунок, как за счет деструкции, так и остеопороза гребня. В связи с остеопорозом в неразрушенной части гребней структура губчатого вещества прослеживалась нечетко, исчезали горизонтально расположенные толстые балки, начинала приобретать ячеистый характер структура губчатого вещества. Уменьшена высота коронок в связи с исчезновением на режущей их поверхности слоя эмали и дентина. Ширина просвета корневых каналов неравномерна за счет сужения их и даже облитерации в нижних отделах (рис. 13а, 14а).

Всем пациентам назначали клиническое исследование крови и мочи, кровь на сахар, при необходимости консультировали больных у других специалистов.

В первый день обращения пациента производили исследование содержимого пародонтальных карманов.

Отбор материала для исследования осуществляли с помощью стерильного эндодонтического штифта (пина). Штифт переносили в микропробирку со стерильным физиологическим раствором. Сохраняли при необходимости при температуре -20°C (в морозильной камере).

Далее производили качественное определение ДНК микроорганизмов в биологических образцах методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

ПЦР представляет собой циклы синтеза (амплификации) специфической области ДНК-мишени в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ), соответственно солевого буфера и олигонуклеотидных праймеров, которые определяют границы амплифицируемой области ДНК-мишени. Циклы синтеза многократно повторяются.

Каждый цикл состоит из трех стадий с разными температурными режимами. На первой стадии при 94°C происходит разделение звеньев ДНК, потом при 57-62°C – присоединение праймеров к гомологическим последовательностям ДНК-мишени и при температуре 72°C – синтез новых звеньев ДНК путем продолжения таймера в направлении 5-3.

В каждом цикле удваивается число копий амплифицированных областей, что позволяет за 35 циклов наработать фрагмент ДНК, ограниченный парой выбранных праймеров в количестве, достаточном для его детекции с помощью электрофореза.

В зависимости от результатов исследования выявления возбудителей, чувствительности их к антибиотикам пациентам назначалась антимикробная терапия в послеоперационном периоде. Чаще чувствительными микроорганизмы были к цефалоспорином.

При подготовке больного к операции производили гигиену полости рта: орошение 0,02% раствором хлоргексидина биглюконата, снятие над- и поддесневых зубных отложений по Грейси (ручным способом), повторное удаление отложений осуществляли ультразвуковым аппаратом «Кавитрон», периодически повторяли орошение раствором хлоргексидина, затем обрабатывали десну мазью «Метрагил-Дента», мазью солкосерила под твердую повязку Vasopak на сутки.

На второй день после снятия повязки и обработки 0,02% раствором хлоргексидина осуществляли контроль снятия зубных отложений, оставшийся камень доснимался аппаратом «Кавитрон» или в труднодоступных местах пескоструйным аппаратом NSK, производилась ирригация пародонтальных карманов ирригатором «Rowenta», растворами парагеля или водным раствором хлорфиллипта, фитодента, гевалекс или корсодил. После ирригации выполняли массаж десны, затем накладывали мазовые аппликации траумеля, парагеля под парафин на 20 мин. На следующий день назначали гидромассаж, мазовые аппликации и парафиновые повязки.

Таких процедур до операции производили 5-7. За 3 дня до операции – проба на гентамицин (т.к. ротовая среда для лейкоцитов содержит гентамицин), линкомицин, цифран.

Устраняли травматическую окклюзию после определения травматических узлов путем применения копировальной бумаги (рис. 1).



Рис. 1. Больная С. подготовлена к оперативному вмешательству.

По показаниям осуществляли пластику уздечек верхней или нижней губ при соответственно низком или высоком ее прикреплении путем рассечения по центру и ушивания раны или путем полного иссечения уздечки (рис. 2, 3).

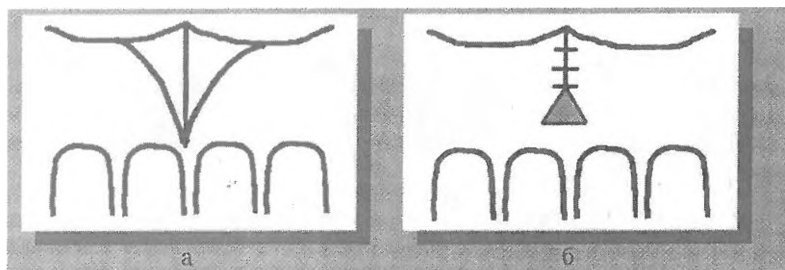


Рис. 2. Схема пластики уздечки верхней губы.

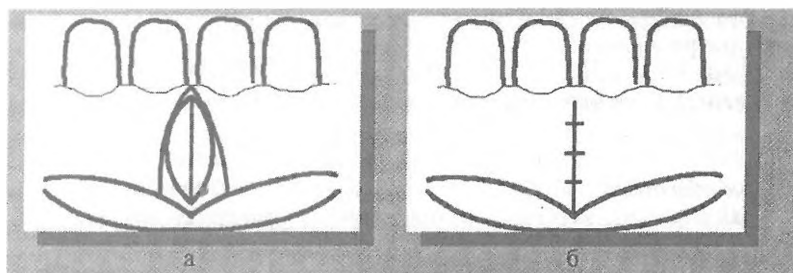


Рис. 3. Схема пластики уздечки нижней губы.

При выявлении мелкого преддверия выполняли операцию вестибулопластики по методу Кларка. Суть операции состояла в том, что разрез производился по границе подвижной и неподвижной слизистой оболочки, отслаивалась подвижная слизистая оболочка до внутренней поверхности нижней губы, углублялось преддверие разрезом параллельно альвеолярному отростку до ментальной складки; периост рассекался горизонтальным разрезом в глубине раны, отслоенная слизистая оболочка пришивалась в глубине раны к периосту, сухожилиям подбородочной и квадратным мышцам нижней губы (модифи-

кация операции Богашовой Л.Я., 2001). Рана в области альвеолярного отростка прикрывалась иодоформной марлевой полоской на 5-7 дней (рис. 4).

Все эти подготовительные оперативные вмешательства производились за 2-3 недели до начала лечения.

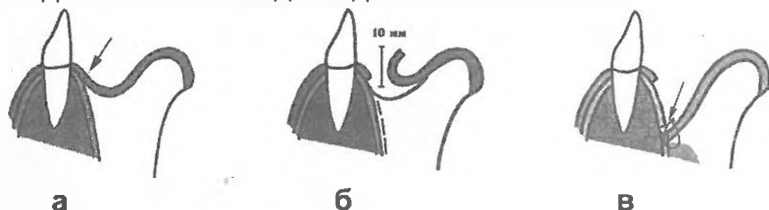


Рис. 4. Схема оперативного вмешательства при патологии преддверия.

Подготовку биоинженерных трансплантатов клеточных культур аутологичных лейкоцитов на основе коллапана осуществляли следующим образом.

В связи со сложностью получения костного мозга у больных генерализованным пародонтитом, альтернативным источником клеток, способных к регенерации, а также доступных в получении их, могут быть клетки периферической крови пациента.

Забор клеточного материала производили у пациента путем взятия крови из кубитальной вены шприцем системы Vacutainer с гепарином в объеме 4-5 мл (рис. 5).

Культирование лейкоцитов осуществляли при комнатной температуре в результате отстаивания эритроцитов, полученную плазму отбирали в стерильную пробирку и центрифугировали при 1500 об/мин для получения осадка лейкоцитов. Осадок лейкоцитов однократно отмывали стерильным 0,9% раствором хлорида натрия и доводили концентрацию клеток питательной ростовой средой до конечной концентрации 10^6 клеток/мл. Ростовая среда содержит среду Игла (SIGMA, США), гентамицина сульфат (фармацевтическая фирма «Дарница»,

Украина) 100 мкг/мл, L-глутамин 2 мМ (SIGMA, США), 5% аутологичную сыворотку.

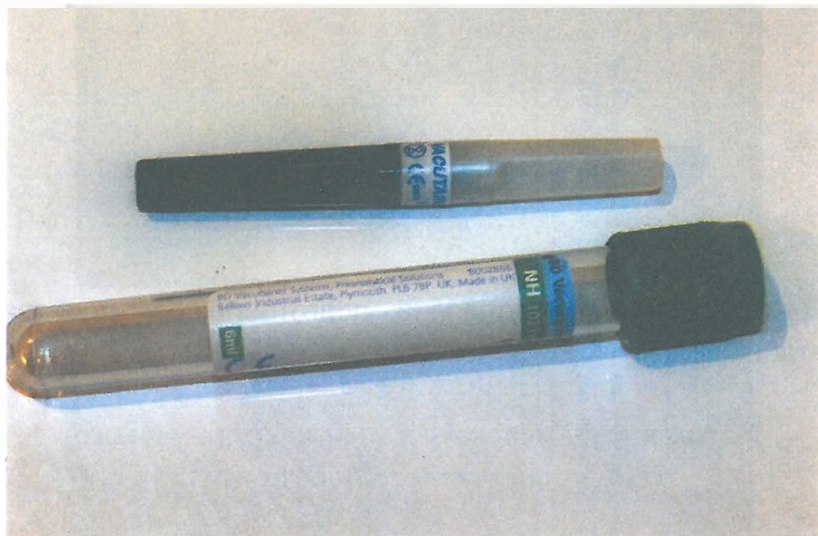


Рис. 5. Шприц системы Vacutainer.

В ростовую среду с лейкоцитами больных вносили коллапана (ООО фирма «Интермедапатит», Москва) по 15-18 (1 г) гранул на 5 мл. Культивирование лейкоцитов проводили в термостате при 37°C с 5% CO₂ 9 дней (периодически встряхивая для ресуспензирования лейкоцитов). На 4-й день культивирования лейкоцитов на гранулах коллапана ростовая среда проверялась на предмет возможного бактериального загрязнения на тиогликолевой среде, среде Сабуро и на питательном агаре.

На 10 день гранулы коллапана с прикрепленными лейкоцитами отмывали от питательной ростовой среды. Для этого удаляли среду, приливали 2-3 мл 0,9% раствора хлорида натрия и центрифугировали при 1500 об/мин. Процедуру повторяли до тех пор, пока гранулы коллапана приобретали белый цвет. Отмытые гранулы применяли для трансплантации (рис. 6).

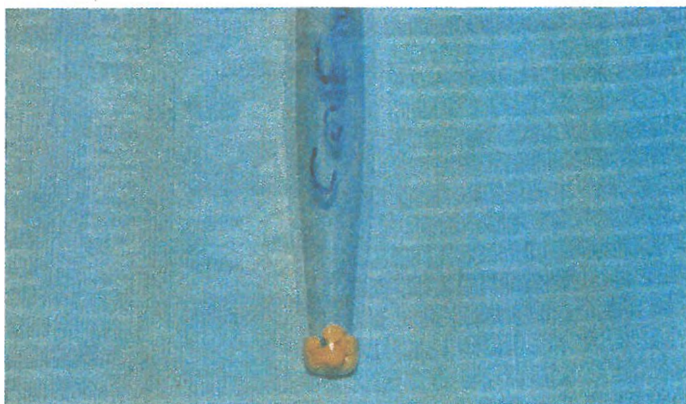


Рис. 6. Гранулы коллапана, подготовленные для трансплантации.

Метод хирургического лечения хронического генерализованного пародонтита

Трансплантация биоинженерного препарата, для данного больного осуществлялась во время хирургического вмешательства путем предложенного нами метода открытого кюретажа (патент № 55698А от 15.04.2003 г.) на 10-й день.

Метод операции заключался в том, что производился разрез в области оперируемых зубов верхней или нижней челюстей с вестибулярной и язычной поверхностей, по гребню десневых сосочков и далее разрез десны с вестибулярной стороны под углом 90° к десневым сосочкам до подвижной слизистой оболочки, с язычной или небной поверхности такой разрез проводился с противоположного его края, таким образом, вертикальные разрезы не совпадали, что не нарушает питание костной ткани (рис. 7).

Отслаивали слизисто-надкостничный лоскут, удаляли поддесневой камень, грануляции, сглаживали острые края и освежали костную ткань; обрабатывали оголенный корень бором,

производили аппликацию его 18% раствором лимонной кислоты или ЭДТА 1-2 мин (рис. 8).



Рис. 7. Схема разрезов для открытого кюретажа (вид спереди и сверху).



Рис. 8. Этап операции: удаление поддесневого зубного камня, шлифовка оголенных корней, устранение острых краев костной ткани.

Затем в рану вводили произвольно измельченные гранулы коллапана (рис. 9), лоскуты укладывали на место и ушивали капроновыми швами (рис. 10).

На десну на сутки накладывали гель солкосерила и парафиновую повязку (рис. 11).



Рис. 9. Этап операции: в рану введены гранулы коллапана.



Рис. 10. Рана ушита капроновыми узловатыми швами.



Рис. 11. На ушитую рану наложен солкосерил под парафиновую повязку.

Больному рекомендовали гигиену полости рта, полоскания водным раствором хлорфиллипта, цифран с метранидазолом по 250 тыс. 3 раза в день в течение 5 дней. Повязку снимали на 2-й день, назначения больной продолжал в течение недели. На осмотр больного назначали на 5, 7 день. В первые 3 месяца производили гидромассаж десен каждый месяц, затем по 1 процедуре в 3 месяца.

Состояние тканей пародонта оценивали на основании жалоб, данных анамнеза, клинического осмотра, определения объективных пародонтальных индексов и проб: ГИ Федорова-Володкиной, индекса Грина-Вермильона, индекса РМА, зондовой пробы на кровоточивость, глубине пародонтального кармана, подвижности зубов, данных рентгенологического исследования и денситометрии.

При первичном осмотре жалоб на наличие самопроизвольной боли пациенты не предъявляли, отмечали небольшую ною-

щую боль при откусывании пищи. После снятия повязки определялся небольшой отек десны в области оперированного участка, десна слабо гиперемирована, пальпация малоболезненная, при прикосновении к десневому краю у 6 (30%) больных отмечена небольшая кровоточивость, подвижность зубов I степени, швы сохранены. Производилась обработка раневой поверхности парагелем, иоддицирином, накладывалась мазь солкосерила.

После снятия швов (на 7-10 день) отмечалась небольшая отечность десневого края, слабая болезненность при пальпации, цвет десны не изменен, кровоточивость отсутствовала.

Через месяц после операции состояние больных удовлетворительное, жалоб нет. При осмотре: десна бледно-розового цвета, уплотнена, не кровоточит при прикосновении, имеется небольшой патологический десневой карман до 2 мм. Подвижности зубов нет.

Индекс Федорова-Володкиной – 1,8.

Индекс Грина-Вермильона – 1,6.

РМА – 11%.

Кровоточивость – 0.

Подвижность I степени – 0.

ПИ – 1.

Через 3-6 месяцев: жалоб нет, отека десневого края нет, десна уплотнена, не кровоточит, подвижности зубов нет, патологический карман не определяется, отмечено оголение шейки зубов.

Индекс Федорова-Володкиной – 1,6.

Индекс Грина-Вермильона – 1,2.

РМА – 0.

Кровоточивость – 0.

Подвижность I степени – 0.

ПИ – 0 (рис. 12).



Рис. 12. Больная С. через год после хирургического лечения.

После проведенного хирургического вмешательства на визиограмме **через месяц** определялась стабилизация процесса в гребне между 31, 32, 11, 12 зубами, у некоторых больных между 41, 42, 22, 23 зубами определялось уменьшение остеопороза, восстановление компактной пластинки по медиальной поверхности, увеличение высоты гребня, в результате чего вершина гребня у 32, 31, 42, 41, 23, 24 зубов располагалась на 2 мм ниже шейки. Уменьшилась ширина периодонтальных щелей, костные пародонтальные карманы уменьшились на 2/3 у пациентов со II степенью заболевания и полностью исчезли у пациентов с I степенью заболевания. Плотность в уровнях серого увеличилась на 8,5%.

Через 3-4 месяца определялось восстановление межальвеолярных перегородок, компактной пластинки. Уменьшилась ширина периодонтальной щели, значительно уменьшились пародонтальные карманы (рис. 136, 146).

На визиограмме через 6-8 месяцев почти полностью восстановился межальвеолярный гребень между 31, 41 и 23, 24 зубами, компактная пластинка отсутствовала только на верхушке гребня у пациентов со II степенью заболевания, там же сохранялся остеопороз. Вершина гребня ниже шейки на 3 мм. Ширина периодонтальной щели приближалась к нормальной, полностью исчезли пародонтальные карманы (рис. 13в, 14в).

Результаты денситометрии показали увеличение плотности костной ткани гребней альвеолярных отростков от 8% до 12% при сравнении плотности кости в уровнях серого до и после начала лечения (рис. 13г, 14г).

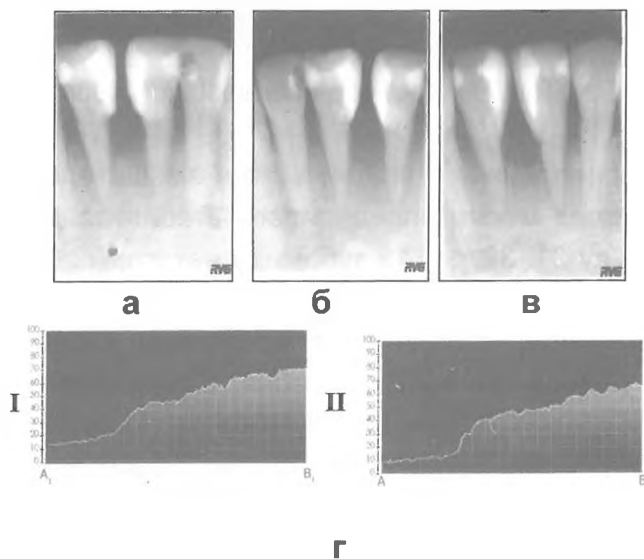


Рис. 13. Визиограмма больной О., 45 лет

- а) до лечения;
- б) через 3 месяца после лечения;
- в) через 10 месяцев после лечения;
- г) измерение плотности кости до лечения (I) и после лечения (II).

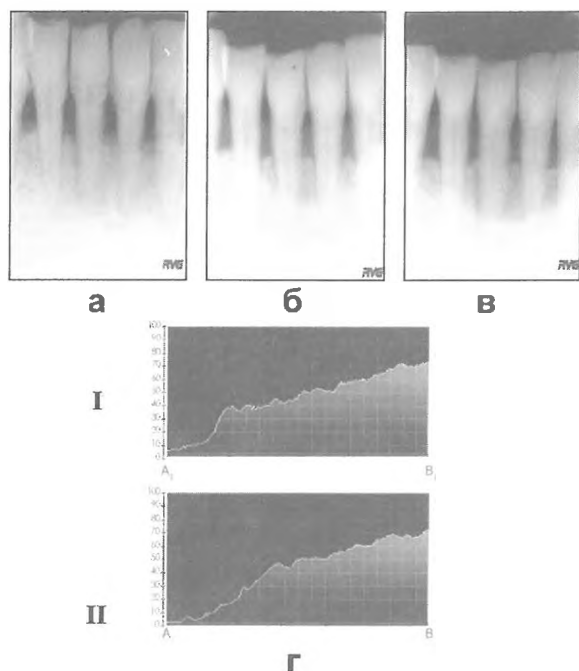


Рис. 14. Визиограмма больной С., 52 лет
 а) до лечения;
 б) через 3 месяца после лечения;
 в) через 10 месяцев после лечения;
 г) измерение плотности кости до лечения (I) и после лечения (II).

Таким образом, разработанный метод хирургического лечения генерализованного пародонтита аутологичными мезенхимальными клетками крови является наиболее эффективным в плане восстановления регенеративных и репаративных процессов, протекающих в кости челюсти. Лечение привело к полному восстановлению периодонта и зубодесневого кармана у 18 больных (90%), стабилизации процесса с восстановлением структуры и увеличением плотности ткани у 2 больных (10%).