

На правах рукописи

**НИКОЛЬСКАЯ
Ирина Андреевна**

**ВЛИЯНИЕ ОЗОНО-ВОЗДУШНОЙ СМЕСИ В СОЧЕТАНИИ С
ПРЕПАРАТАМИ ДЛЯ ПРЯМОГО ПОКРЫТИЯ НА РЕГЕНЕРАЦИОННУЮ
СПОСОБНОСТЬ ПУЛЬПЫ ЗУБА
(клинико-экспериментальное исследование)**

14.01.14 – «Стоматология»

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

7 АВГ 2014



005551681

Москва – 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Копецкий Игорь Сергеевич**

Официальные оппоненты:

Ефанов Олег Иванович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гериатрической стоматологии ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Минздрава России

Разумова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации

Ведущая организация:

ФГБУ "Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2014 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.14, созданного на базе ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр.2

С диссертацией можно ознакомиться в ГЦНМБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (117997, Москва, Нахимовский пр-т, д.49) и на сайте Первого МГМУ им. И.М. Сеченова www.mma.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Басин Евгений Михайлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Количество пациентов с воспалительными заболеваниями пульпы, по данным различных авторов, не только не снижается, но имеет тенденцию к увеличению, составляя от 20,6 до 46,3% от числа всех обратившихся за стоматологической помощью (В.С. Иванов, 2003; Л.М. Лукиных, Л.В. Шестопалова, 2004; Юдина Н.А., Азаренко В.И., Русак А.С., 2009).

При лечении обратимых форм пульпита используются препараты для прямого покрытия пульпы, которые способствуют купированию воспаления и повышению регенерационных возможностей тканей зуба. Для стимуляции процессов регенерации многие авторы рекомендуют использовать физиотерапевтические методы воздействия (Ефанов О.И., Волков А.Г., 2005; Масленников О.В., 2008). Среди многочисленного арсенала физиотерапевтических средств в стоматологии активно применяется озонотерапия, которая является высокоэффективным немедикаментозным методом лечения, обладающим бактерицидным, противовирусным, фунгицидным, иммуномодулирующим, противогипоксическим и дезинтоксикационным действием (Azarpazhooh A., Limeback H., 2008).

Механизм лечебного действия озонотерапии связан с высоким окислительно-восстановительным потенциалом озона, что обеспечивает, с одной стороны, дезинфицирующий эффект в отношении бактерий, вирусов и грибов, с другой – приводит к активизации метаболических процессов в тканях (Seidler V. et al., 2008; Кисткин А.И., 2009). Универсальность механизма действия, способность влиять на процессы микроциркуляции и регенерации, отсутствие побочных эффектов предполагают возможность использования данного вида воздействия при лечении обратимых форм пульпита. В связи с этим изучение эффективности применения озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы зуба весьма актуально.

Цель исследования

Повышение эффективности лечения пульпита биологическим методом за счет включения в протокол применения озono-воздушной смеси в сочетании с методом прямого покрытия пульпы материалами на основе гидроокиси кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности.

Задачи исследования

1. Оценить частоту использования, особенности применения и клиническую эффективность биологического метода лечения пульпита в стоматологической практике.
2. С помощью лазерной доплеровской флоуметрии дать оценку динамике микроциркуляции в пульпе зуба при лечении обратимых форм пульпита с использованием озono-воздушной смеси в комбинации с лечебными прокладками на основе гидроокиси кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности в эксперименте.
3. Оценить с помощью морфологических методов исследования противовоспалительный и репаративный потенциал озono-воздушной смеси в сочетании с прокладочными материалами на основе гидроокиси кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности при ятрогенном пульпите в эксперименте.
4. Разработать алгоритм и оценить клиническую эффективность применения озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы при обратимых формах пульпита.

Научная новизна

1. Впервые на основании анкетирования установлено, что 85% врачей-стоматологов имеют представление о биологическом методе лечения пульпита, но в клинической практике регулярно его используют лишь в 11,7%. При этом клиническая эффективность данного метода отмечается лишь в 68% случаев, что связано с неправильной тактикой лечения, несоблюдением врачами единого протокола ведения больных,

недостаточным использованием дополнительных методов исследования и физиотерапии.

2. Впервые разработана экспериментальная модель, позволившая изучить влияние озонотерапии, в сочетании с методом прямого покрытия пульпы материалами на основе гидроксида кальция и гидроксиапатита ультравысокой дисперсности, на процессы микроциркуляции и регенерационную способность пульпы при ятрогенном пульпите.

3. Доказано, что озонотерапия в сочетании с методом прямого покрытия пульпы при лечении ятрогенного пульпита способствует ликвидации воспалительной гиперемии пульпы. При этом более выраженные изменения микроциркуляции наблюдаются при сочетании озонотерапии и гидроксиапатита ультравысокой дисперсности, что проявляется в снижении показателей микроциркуляции и среднего квадратичного отклонения амплитуды колебаний кровотока к 21-у дню после начала эксперимента и нормализацией показателей активной и пассивной модуляции кровотока на 35-й день исследования.

4. Установлено, что озонотерапия в сочетании с прямым покрытием пульпы купирует воспаление и стимулирует процессы регенерации в пульпе зуба при ятрогенном пульпите. Эти эффекты более выражены в той группе, где озонотерапию применяли в сочетании с материалом на основе гидроксиапатита ультравысокой дисперсности, о чём свидетельствовало снижение уровня экспрессии Macrophage и интенсивности реакций с S100 на 14-й день и образование дентинных мостиков и структуризация одонтобластов в один слой – на 35-й день.

5. Доказана клиническая эффективность включения озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия в алгоритм лечебных мероприятий при случайном вскрытии пульпы зуба.

Практическая значимость

Применение озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы материалами на основе гидроксида кальция и гидроксиапатита ультравысокой дисперсности позволяет расширить арсенал методов лечения и способствует повышению качества лечения обратимых форм пульпита.

Положения, выносимые на защиту

1. Использование лазерной доплеровской флоуметрии и иммуногистохимических методов исследования позволяет достоверно оценить влияние озono-воздушной смеси на регенерационную способность пульпы зуба.
2. Озонотерапия в сочетании с методом прямого покрытия пульпы оказывает положительное влияние на регенерацию пульпы при ятрогенном пульпите в эксперименте, и повышает клиническую эффективность лечения при случайном вскрытии пульпы зуба.

Внедрение результатов исследования

Разработанная методика применения озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы внедрена в практику лечебно-хирургического отделения ГБУЗ г. Москвы "Детская стоматологическая поликлиника № 54 ДЗМ". Материалы исследования включены в учебный процесс кафедры терапевтической стоматологии стоматологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на XI Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2010 г.); на VI Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва, 2011 г.); на VIII Международной (XVII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2013 г.); на XIV Международном конгрессе "Здоровье и образование в XXI веке", Втором Российском съезде по

хронобиологии и хрономедицине с международным участием (Москва, 2013 г.); на IX Межвузовской и межрегиональной научно-практической конференции «Научная стоматологическая навигация» «Достижения стоматологии – практическому здравоохранению» (Москва, 2013 г.); на Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы морфологии, адаптогенеза и репаративных гистогенезов» (Оренбург, 2013 г.); на IX Всероссийской научно-практической конференции "Образование, наука и практика в стоматологии" II Всероссийском стоматологическом форуме Дентал-ревю (Москва, 2014 г.); на IX международной (XVIII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2014 г.) и на совместном заседании кафедр терапевтической стоматологии; стоматологии педиатрического факультета, гистологии, эмбриологии и цитологии, челюстно-лицевой хирургии и стоматологии стоматологического факультета РНИМУ им. Н.И.Пирогова; кафедры терапевтической стоматологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова 11 марта 2014 г. (протокол №14).

Личный вклад автора

Автором лично разработана экспериментальная модель для изучения эффективности применения озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы материалами на основе гидроокиси кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности при лечении ятрогенного пульпита, а также проведено лечение зубов в эксперименте на кроликах. Автор участвовал в проведении морфологических исследований и в анализе результатов. Самостоятельно изучал влияние озонотерапии на микрогемодинамику в пульпе зуба у экспериментальных животных и в клинической практике с помощью лазерной доплеровской флоуметрии. Самостоятельно проводил набор и анализ клинического материала по изучению эффективности применения озонотерапии при случайном вскрытии пульпы зуба. Автор лично оформил диссертационную работу и сформулировал выводы и практические рекомендации.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 6 работ в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и состоит из «Введения», трёх глав, «Заключения», «Выводов», «Практических рекомендаций» и «Списка литературы». Обзор литературы содержит 162 источника, из которых 70 – отечественных и 100 – иностранных авторов. Текст диссертации иллюстрирован 6 таблицами и 61 рисунком.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует шифру научной специальности: 14.01.14-стоматология и формуле специальности. Стоматология – область науки, занимающаяся изучением этиологии, патогенеза основных стоматологических заболеваний, разработкой методов их профилактики, диагностики и лечения. Совершенствование методов профилактики, ранней диагностики и современных методов лечения стоматологических заболеваний будет способствовать сохранению здоровья населения страны. Также соответствует области исследований (пункт 1. Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения поражений твердых тканей зубов (кариес и др.), их осложнений).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью получения объективной информации об уровне оказания специализированной помощи пациентам с обратимыми формами пульпита было проведено анкетирование врачей-стоматологов. Анкетирование носило анонимный характер. Всего было опрошено 105 врачей, в их числе 55 специалистов по терапевтической стоматологии, 25 детских врачей – стоматологов, 25 – врачей-стоматологов «общей практики».

Для изучения влияния озono-воздушной смеси на регенерационную способность пульпы в клинико-экспериментальных исследованиях

применяли озоногенератор, разработанный на кафедре физиотерапии МГМСУ им. А.И.Евдокимова. В качестве источника озона в этом приборе использовался аппарат ОКУФ-5м, позволяющий синтезировать озон с помощью ультрафиолетового излучения. Производительность озоногенератора равнялась 2 л/мин озono-воздушной смеси, в которой концентрация озона составляла 0,261 мг/м³. В ходе экспериментального исследования проводилось воздействие на вскрытую пульпу зуба озono-воздушной смесью в течение 1 мин.

При прямом покрытии пульпы использовали материал на основе гидроксида кальция Calcipulpe-«Septodont» (Франция) и препарат на основе гидроксиапатита ультравысокой дисперсности ОСТИМ-100, синтезированный в Лаборатории радиохимических методов исследования гетерогенных процессов МГУ им. М.В. Ломоносова.

Объектами экспериментального исследования являлись половозрелые кролики породы "Советская шиншилла". Количество животных составило 32 особи. Общую анестезию (наркоз) у кроликов проводили на фоне премедикации 2% раствором ксилазина гидрохлорида (рометара) в дозе 5,0 мг/кг. Для общей анестезии применяли внутримышечное или внутривенное введение 5% раствора золетила в дозе 7,5 мг/кг массы при внутримышечном введении и 7,0 мг/кг массы – при внутривенном введении.

После введения исследуемого животного в состояние наркоза производили установку роторасширителя, затем под инфльтрационной анестезией sol. Ubestezini 4% – 1,7 ml. проводилось препарирование зубов. На вестибулярной поверхности двух резцов верхней и двух резцов нижней челюсти в пришеечной области моделировали дефект твердых тканей и вскрывали пульпу зуба. Зубы животных были разделены на 4 равных группы по 32 зуба в каждой. В 1-й группе озонотерапию не использовали.

После моделирования ятрогенного пульпита проводилось прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe – «Septodont»). Во 2-й группе при лечении ятрогенного пульпита использовали

озонотерапию, после чего проводили прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpre – «Septodont»). В зубах 3-й группы животных моделировали ятрогенный пульпит, лечение там проводилось без применения озонотерапии. Вскрытую пульпу покрывали материалом на основе гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ультравысокой дисперсности (ОСТИМ-100), тогда как в 4-й группе при лечении ятрогенного пульпита применяли воздействие на пульпу озono-воздушной смесью. Вскрытую пульпу затем покрывали препаратом на основе гидроксиапатита ультравысокой дисперсности (Остим-100). Завершающим этапом во всех группах являлось закрытие дефекта в твердых тканях зуба с помощью светоотверждаемого полихромного композера (Twinky Star, Voco, Германия).

Состояние микроциркуляции в пульпе зуба экспериментального животного изучали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), проводимую в первый день, а также на 7-е, 14-е, 21-е, 35-е сутки. Кровообращение оценивали по показателю микроциркуляции (М), определяли характеристику потока эритроцитов « σ » – среднее квадратичное отклонение амплитуды колебаний кровотока. Регистрировали показатели, характеризующие активный и пассивный механизмы модуляции кровотока. Методом ЛДФ было проведено 76 исследований на 12 кроликах.

Выведение животного из эксперимента производили путем передозировки зоветилового наркоза. Костные фрагменты челюсти, включающие зуб со смоделированным дефектом, отделялись от окружающих тканей путем выпиливания.

Для изучения процессов регенерации тканей пульпы зуба было проведено иммуногистохимическое исследование 128 гистологических препаратов, полученных от 32 кроликов. Полученные образцы фиксировали в официальном 10% забуференном формалине (Bio-Optica) в течение суток. Для декальцинации, спустя 24 часа от начала фиксации, исследуемый материал был помещен в контейнер с раствором Mielodex (Bio-Optica,

Италия). Этап декальцинации проходил в ультразвуковом декальцинирующем устройстве (USE 33, Medite Medizintechnik, Германия). Через 4 часа декальцинации материал промывали проточной водой.

Из каждого зуба поперечными срезами с использованием скальпеля выделяли несколько фрагментов – серия послойных срезов через шейку и корень зуба. Выделенные фрагменты укладывали в гистологические кассеты. На каждую кассету наносили соответствующую содержанию маркировку. Далее для стандартной проводки материал помещали в гистологический процессор конвейерной проводки Tissue Xpress X50 (Sakura, Япония). Длительность стандартной запрограммированной проводки составляла 80 мин. при температуре 62°C. После проводки выделенные фрагменты заливали в парафин (Bio Plast extra, Италия) на модульной системе заливки Tissue-Tek®TEC™5.

После охлаждения блоков в морозильной камере крио-станции (Tissue-Tek®TEC™ plus Cryo Console, Sakura, Япония) на ротационных микротоммах Accu-Cut® SRM™ 200 (Sakura, Япония) из каждого фрагмента были сделаны срезы толщиной 0,5 мкм. Срезы укладывали по одному на предметные стекла Menzel-Glaser (Thermo Scientific, USA), высушивали в вертикальном положении в термостате (TC-1/80 СПУ, Россия) при температуре 38°C. Срезы после стандартной депарафинизации окрашивали гематоксилином Джилла (Gill's hematoxylin, Bio-Optica, Италия) и водно-спиртовым раствором эозина (BioVitrum, Россия) в мультистейнере Tissue-TEK®PRISMA™ (Sakura, Япония). После заключения под покровную пленку гистологические препараты оценивали методом световой микроскопии на тотально роботизированном микроскопе Nikon Eclipse i90 (Nikon Corporation, Япония).

Для выявления соединительнотканного компонента и степени зрелости коллагеновых волокон, помимо окраски препаратов гематоксилином-эозином, использовали дополнительную гистохимическую окраску трихромом в модификации Массон. Для идентификации лимфоцитов и

определения линии дифференцировки проводили иммуногистохимическое исследование с моноклональными антителами CD3 (Т-линия дифференцировки) и CD20 (В-линия дифференцировки). Уровень пролиферативной активности оценивали по реакции с Ki-67 из расчета количества клеток с позитивной ядерной экспрессией на 100 элементов аналогичного морфологического ряда. Реакция с CD117 позволила выявить количество тучных клеток пульпы. Степень повреждения сосудистой стенки оценивали по уровню и интенсивности экспрессии Podoplanin и CD34 на эндотелии лимфатических и кровеносных сосудов соответственно. Для визуализации нервных волокон и выявления интенсивности постампутационной пролиферации проводили реакцию с S100. Для визуализации элементов гистиоцитарного ряда воспалительного инфильтрата и на поздних сроках для контроля макрофагально-гистиоцитарной реакции и ее интенсивности использовали анти-Macrophage маркер. Срезы для проведения реакций формировались аналогично срезам для рутинных окрасок, но укладывались на предметные стекла SuperFrost Plus из (Menzel, Германия) с положительно заряженной поверхностью. Иммуногистохимическое исследование проводили в полностью автоматизированном иммунопейнере BenchMark (Roche Ventana, США).

Изучали клиническую эффективность применения озонотерапии при случайном вскрытии пульпы зуба. Под наблюдением находились 12 пациентов в возрасте от 20 до 50 лет. В зависимости от проводимого лечения больные были разделены на две группы. 1-ю группу составили 6 пациентов, при лечении которых, с целью сохранения жизнеспособности пульпы при ее случайном вскрытии, использовали озонотерапию, после чего проводили прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe-Septodont). Для проведения озонотерапии применяли озоногенератор, разработанный на кафедре физиотерапии МГМСУ им. А.И. Евдокимова. Продолжительность воздействия на вскрытую пульпу зуба озono-воздушной смесью составляла 1 мин. Во 2-й группе (6 пациентов)

озонотерапию не назначали, но также проводили прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calciipulpe–Septodont). Завершающим этапом лечения в обеих группах являлась временная реставрация дефекта твердых тканей зуба с помощью светоотверждаемого композера (Twinky Star, Voco, Германия). Окончательную реставрацию проводили через 6 месяцев при отсутствии симптомов воспаления.

Обследование пациентов проводили через сутки после проведения лечения, а также спустя 14 дней, 2, 6 и 12 месяцев. Стоматологический статус больных оценивали с помощью основных и дополнительных методов исследования. Дополнительные методы исследования включали: электроодонтодиагностику (ЭОД), лазерную доплеровскую флоуметрию (ЛДФ) и рентгенологическое обследование. ЭОД проводили с помощью цифрового отечественного прибора «ИВ11-01 Пульптест-Про». Для исследования микроциркуляции в пульпе зуба использовали лазерный анализатор кровотока «ЛАКК - 02», (НПП «Лазма», Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов вариационной статистики по стандартным программам. Достоверность различий между средними величинами определяли по критериям Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании результатов проведенного анкетирования 105 практикующих врачей-стоматологов установлено, что 85% врачей-стоматологов имеют представление и теоретические знания о биологическом методе лечения пульпита, но в клинической практике регулярно его используют лишь в 11,7%. Более 75% всех опрошенных респондентов считают, что существующие методы лечения обратимых форм пульпита недостаточно эффективны. Анкетирование показало, что осложнения и ошибки при лечении обратимых форм пульпита чаще всего связаны с несоблюдением единого протокола ведения больных, недостаточным использованием дополнительных методов исследования, позволяющих не

только уточнить диагноз, но и контролировать состояние пульпы зуба в ходе лечения. Кроме того, установлено, что при проведении биологического метода лечения мало используется физиотерапия, лишь в 18,3% случаев позволяющая повысить его эффективность. Совершенствование лечения обратимых форм пульпита биологическим методом является актуальной проблемой в современной стоматологии.

В результате экспериментального исследования микроциркуляции пульпы зубов при лечении ятрогенного пульпита было установлено, что в ответ на повреждение зуба во всех исследуемых группах развивалась воспалительная гиперемия пульпы. Более выраженная и продолжительная воспалительная реакция наблюдалась в тех группах, где в комплекс лечебных мероприятий озонотерапию не включали. Причем в 3-й группе, где вскрытую пульпу покрывали материалом на основе гидроксиапатита ультравысокой дисперсности (Остим-100), показатели микроциркуляции имели более выраженную тенденцию к нормализации, по сравнению с 1-й группой, в которой проводилось прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe-«Septodont»).

Менее выраженная воспалительная гиперемия пульпы наблюдалась в тех группах, где применялась озонотерапия. На 21-й день наблюдений отмечалось снижение показателей микроциркуляции (M) и среднего квадратичного отклонения амплитуды колебаний кровотока (σ). На 35-й день исследований показатели активной и пассивной модуляции кровотока в 4-й группе лишь на 13,63% отличались от нормы, тогда как во 2-й группе это отличие составляло 41,41%. Динамика показателя микроциркуляции (M) в экспериментальных группах представлена на рис. 1.

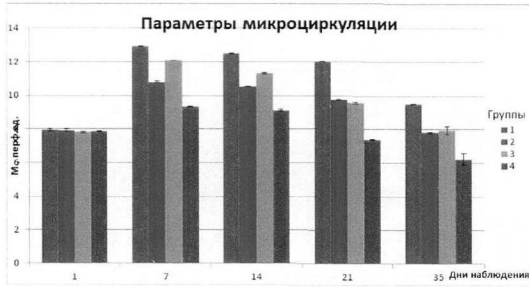


Рис. 1. Динамика показателя микроциркуляции (М) пульпы зуба в экспериментальных группах

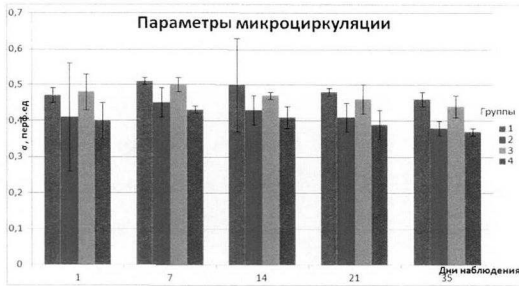


Рис. 2. Динамика показателя среднего квадратичного отклонения амплитуды колебаний кровотока (σ) пульпы зуба в экспериментальных группах

Таким образом, в 4-й группе, где при лечении пульпита воздействовали на пульпу озono-воздушной смесью и покрывали вскрытую пульпу препаратом на основе гидроксипатита ультравысокой дисперсности (Остим-100), по сравнению со 2-й, в которой при лечении ятрогенного пульпита после озонотерапии проводили прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe-«Septodont»), показатели лазерной доплеровской флуометрии свидетельствовали о более быстрой нормализации кровотока.

В результате проведенного иммуногистохимического исследования препаратов, полученных при лечении ятрогенного пульпита в эксперименте, было установлено, что в тех группах, где озонотерапию не применяли,

регенерационная способность пульпы была менее выражена, чем в группах, где в комплекс лечебных мероприятий было включено воздействие на вскрытую пульпу озono-воздушной смесью. На 14-е сутки в гистологических материалах этих групп отмечалось снижение уровня макрофагальной активности: единичные макрофаги экспрессировали Macrophage. Определялась выраженная коллагенизация стромы пульпы с уплотнением и утолщением волокон. Фибробласты, завершившие стадию пролиферации и осуществляющие секрецию коллагена, обладали меньшим объемом цитоплазмы, что соответственно уменьшало их размер по сравнению с аналогичными элементами в материале, не подвергавшемся воздействию озона. Набухание эндотелия кровеносных сосудов пульпы сохранялось, но в менее выраженном объеме по сравнению с 7-м днем исследования.

Равномерность распределения эндотелиальных маркеров подтверждала снижение его отека. Отмечалось восстановление межклеточных контактов его элементов, что обеспечивало уменьшение отека пульпарного матрикса за счет снижения диффузии плазмы во внесосудистое пространство, обуславливавшейся все еще сохраняющейся выработкой тучными клетками медиаторов воспаления, хотя и в меньшем объеме. Об этом свидетельствовало снижение объема их цитоплазмы и уменьшение ее гранулярности. По этой причине в 4-й группе в меньшей степени был выражен периневральный отек с соответствующим восстановлением равномерности и снижением интенсивности реакции с S100, что давало возможность периневрию к регенерации за счет восстановления обменных процессов.

На 21-й день исследования существенные изменения визуализировались лишь в материале экспериментальных групп 2-й и 4-й, в которых применялась озонотерапия. Строма пульпы зубов экспериментальных животных из этих групп была без признаков воспалительной реакции, визуализировались единичные CD3/CD20-лимфоциты, не формировавшие инфильтратов. Макрофагальная активность

была значительно снижена, что подтверждалось реакцией низкой интенсивности с Macrophage в единичных клетках. Отмечалось наличие лишь единичных тучных клеток вокруг сосудов со сниженным объемом цитоплазмы и слабо выраженной гранулярностью.

Пульпарный матрикс отличался повышенной, по сравнению с 7-м и 14-м днями исследования, компактностью, что обуславливалось продолженной выработкой коллагена фибробластами. Компактизация и утолщение коллагеновых волокон визуализировались в препаратах, окрашенных трихромом по Массон, в виде компактно упакованных волокнистых структур без признаков межволоконного отека. В зоне формирования третичного дентина отмечалась склонность одонтобластов к формированию рядности. В пульпе области моделированного повреждения отмечалось постепенное замещение некротизированной ткани незрелой соединительной тканью (выявлявшейся при окраске по Массон).

В гистологических препаратах, полученных на 35-й день исследования в 1-й и 3-й экспериментальных группах, где озонотерапию не применяли, в пульпе определялись единичные малые лимфоциты, которые были распределены в матриксе равномерно, с преобладанием CD20-позитивных элементов. Элементы гистиоцитарно-макрофагального ряда визуализировались в единичном количестве. Реактивность их в отношении Macrophage выявлялась в виде слабопозитивной реакции с равномерным распределением в цитоплазме. Одонтобласты вне зоны дефекта находились в состоянии активной пролиферации, что подтверждалось повышенной ядерной экспрессией Ki-67 на уровне около 60%.

В области формирующегося третичного дентина одонтобласты структурировались в многорядный слой, практически теряя тенденцию к скоплению. Большинство из них обладало всеми признаками дегенеративных изменений (кубоизация клеток, гранулярность и избыточная эозинофилия цитоплазмы, снижение объема цитоплазмы), что было обусловлено истощением запаса синтетической функции клеток.

В материале 2-й и 4-й экспериментальных групп, где применялась озонотерапия, отличительными чертами, по сравнению с остальными группами, являлась визуализация тонких, высокой плотности дентинных мостиков, что было более характерно для материала, полученного в 4-й экспериментальной группе. При окраске трихромом в модификации Массон третичный дентин характеризовался гомогенной интенсивной окраской. Одонтобласты, продуцирующие вещество заместительного дентина, были структурированы в один слой. Периферические их отростки были плотно вмурованы в синтезированный ими дентин, проксимальные же – визуально терялись среди плотной соединительной ткани, заместившей некротизированный пульпарный матрикс.

Таким образом, в тех группах, где применяли озонотерапию, быстрее исчезали признаки воспаления в пульпе зуба, и отмечалось образование заместительного дентина в области дефекта. Эти изменения были более выражены в той экспериментальной группе, где в качестве лечебной прокладки использовали материал на основе гидроксипатита ультравысокой дисперсности (Остим-100). Высокая эффективность этого препарата обусловлена сверхмалыми размерами частиц гидроксипатита (0,01–0,03 мкм), что обеспечивает максимальную адаптацию кристаллов по форме и размерам к структуре окружающей ткани, высокую сорбционную активность по отношению к белкам, и быструю реакцию материала на изменение окружающей биохимической активности. Полученные данные позволяют расширить показания к применению гидроксипатита ультравысокой дисперсности «Остим-100» и рекомендовать его к использованию в клинической практике в качестве лечебной прокладки при обратимых формах пульпита.

В результате проведенного экспериментального исследования, по данным лазерной доплеровской флоуметрии и иммуногистохимического исследования, было установлено, что применение разработанной методики проведения озонотерапии при лечении ятрогенного пульпита способствует

улучшению регенерационной способности пульпы зуба. При местном применении озон вызывает бактерицидное действие, способствует остановке капиллярного кровотечения, улучшает местный метаболизм и микроциркуляцию. Кроме того, озонотерапия обладает дезинтоксикационным действием, оказывая влияние лишь на патологически измененные ткани и микробные клетки, так как озон, в отличие от многих антисептиков, не разрушает и не раздражает здоровые ткани в связи с тем, что клетки многоклеточного организма имеют антиоксидантную систему защиты.

Высокая эффективность озонотерапии, подтвержденная экспериментальным исследованием, позволила перейти к клиническому применению озонотерапии при случайном вскрытии пульпы зуба. Было установлено, что при случайном вскрытии пульпы зуба в той группе, где озонотерапию не применяли, у двух из шести пациентов возникли необратимые патологические изменения в пульпе. Применение озонотерапии способствовало повышению качества лечения. В группе, в которой использовали озонотерапию, а потом проводили и прямое покрытие пульпы материалом на основе гидроксида кальция (Calcipulpe-Septodont), у всех пациентов удалось добиться сохранения жизнеспособности пульпы при её случайном вскрытии. У этих больных быстрее стихали и были менее выражены симптомы воспаления, о чем свидетельствовали данные ЭОД и ЛДФ.

Полученные клинико-экспериментальные данные позволили разработать алгоритм комплексного лечения пациентов с обратимыми формами пульпитов с использованием озонотерапии (рис. 3). При случайном вскрытии полости зуба для сохранения жизнеспособности пульпы необходимо провести воздействие на вскрытую пульпу озono-воздушной смесью в течение 1 мин, при концентрации озона $0,261 \text{ мг/м}^3$ и производительности озоногенератора 2 л/мин озono-воздушной смеси. После этого нужно провести прямое покрытие пульпы материалом на основе

гидроксида кальция (Calcipulpe–Septodont). Завершающим этапом лечения является временная реставрация дефекта твердых тканей зуба. Окончательную реставрацию рекомендовано проводить через 6 месяцев при отсутствии симптомов воспаления.

Методы лечения пульпита



Рис. 3. Алгоритм комплексного лечения пациентов с обратимыми формами пульпита

Результаты клинического применения озонотерапии при случайном вскрытии пульпы зуба полностью согласуются с результатами экспериментального исследования по изучению эффективности применения озонотерапии при лечении ятрогенного пульпита. Достоверно установлено, что применение озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы повышают качество лечения обратимых форм пульпита. Разработанная методика позволила повысить клиническую эффективность комплексного лечения обратимых форм пульпита при использовании материалов на основе гидроксида кальция и гидроксиапатита ультравысокой дисперсности в сочетании с озонотерапией, что способствует ликвидации воспаления, нормализует микроциркуляцию в пульпе и повышает регенерационные возможности пульпы.

ВЫВОДЫ

1. В результате анкетирования практикующих врачей-стоматологов установлено, что 85% врачей-стоматологов имеют представление и знания о биологическом методе лечения пульпита, но в клинической практике регулярно его используют лишь в 11,7%, что связано с неправильной тактикой лечения, несоблюдением врачами единого протокола ведения больных, недостаточным использованием дополнительных методов исследования и физиотерапии.

2. По данным лазерной доплеровской флоуметрии, установлено, что озонотерапия, в сочетании с прямым покрытием пульпы материалами на основе гидроксида кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности при лечении ятрогенного пульпита, способствует ликвидации воспалительной гиперемии пульпы, что проявляется в снижении показателей микроциркуляции (M) и среднего квадратичного отклонения амплитуды колебаний кровотока (σ) к 21-му дню после начала эксперимента, и нормализации показателей активной и пассивной модуляции кровотока, которые на 35-ый день исследований при применении гидроксипатита ультравысокой дисперсности в сочетании с озонотерапией лишь на 13,63% отличаются от показателей интактных зубов.

3. В результате морфологического исследования в эксперименте установлено, что озонотерапия, в сочетании с прямым покрытием пульпы материалами на основе гидроксида кальция и гидроксипатита ультравысокой дисперсности, способствует купированию воспаления, а также стимулирует процессы дентинообразования и регенерации в пульпе зуба, при этом более выраженный эффект оказывает сочетание озонотерапии и гидроксипатита ультравысокой дисперсности, о чём свидетельствует снижение уровня экспрессии Macrophage и интенсивности реакции с S100 уже на 14-й день лечения ятрогенного пульпита и образование дентинных мостиков и структуризация одонтобластов в один слой на 35-й день.

4. Разработанный алгоритм позволил повысить эффективность лечения обратимых форм пульпита при проведении лечебных мероприятий, обусловивший включение озонотерапии в сочетании с методом прямого покрытия пульпы в комплексное лечение обратимых форм пульпита.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При лечении обратимых форм пульпита необходимо проводить воздействие на вскрытую пульпу зуба озono-воздушной смесью, в которой концентрация озона составляет 0,261 мг/ м³.
2. При производительности озоногенератора 2 л/мин озono-воздушной смеси продолжительность процедуры озонотерапии для лечения обратимых форм пульпита должна составлять 1 мин.
3. Прямое покрытие пульпы зуба материалами на основе гидроксида кальция или гидроксиапатита ультравысокой дисперсности при лечении обратимых форм пульпита необходимо проводить сразу после окончания процедуры озонотерапии.
4. Данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, позволяют расширить показания к применению гидроксиапатита ультравысокой дисперсности «Остим-100» и рекомендовать его к использованию в клинической практике в качестве лечебной прокладки при обратимых формах пульпита.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Копецкий И.С., **Никольская Н.А.** «Актуальность проблемы сохранения жизнеспособности пульпы» // Сб. работ XI Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке». «Научные и прикладные аспекты концепции здоровья и здорового образа жизни» 8–12 декабря 2010 г. Москва. С. 170.
2. Копецкий И.С., **Никольская Н.А.** «Актуальность разработки биологических методов лечения пульпы на современном этапе» // Матер. Всероссийского

- форума «Пироговская хирургическая неделя». 24–30 ноября 2010 г. С-Пб. Ж. «Вестник Санкт-Петербургского университета». Приложение. С. 837–840.
3. **Никольская Н.А.** «Сохранение витальности пульпы с использованием физиотерапевтических методов лечения» // Вестн. РГМУ. VI Международная Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых учёных. М., 2011. С. 194.
 4. **Никольская Н.А.** «Актуальность разработки биологических методов лечения пульпы» // Сб. работ «Социальные аспекты современной Российской стоматологии: опыт, проблемы, пути решения». Тверь, 2011, С.141.
 5. **Никольская Н.А., Копецкий И.С.** «Инновационные подходы к сохранению витальности пульпы зуба с использованием физиотерапевтических методов лечения» // Матер. 3-й Всероссийской конференции «Современные аспекты профилактики стоматологических заболеваний» // **DENTAL FORUM.** – 2011. №5. С. 90–91.
 6. **Никольская Н.А., Копецкий И.С.** «Изучение регенераторной способности пульпы зуба в экспериментальном исследовании» // **DENTAL FORUM.** – 2012. №5. С. 102.
 7. **Никольская Н.А., Копецкий И.С., Дубовая Т.К., Выгорко В.Ф., Волков А.Г.** «Регенерация пульпы зуба при использовании материалов для ее прямого покрытия в сочетании с методом озонотерапии» // **Вестн. РГМУ.** 2012. № 5. С. 57–61.
 8. **Никольская Н.А., Копецкий И.С.** "Инновационные подходы к сохранению витальности пульпы зуба с использованием физиотерапевтических методов лечения" // Научно-практическая конференция «Аспирантские и докторантские чтения: Дерзания нового времени – поиск инноваций». Москва. 2012. С.125–126.
 9. **Никольская Н.А.** «Совершенствование биологических методов лечения ятрогенных форм пульпита в экспериментальных условиях» // **Вестн. Российского университета дружбы народов.** 2013. Серия: Медицина. №1, С. 100–102.

10. **Никольская И.А.**, Копецкий И.С., Дубовая Т.К. "Эффективность применения лечебной пасты на основе гидроксипатита ультравысокой дисперсности при биологическом методе лечения ятрогенных форм пульпита" // **Научно-теоретический мед. ж. «Морфология»**. 2013. №5. С. 100.
11. **Никольская И.А.**, Копецкий И.С., Волков А.Г., Дикопова И.Ж., Носов В.В. "Эффективность применения озонотерапии в комплексном лечении ятрогенных пульпитов" // **Вестн. РГМУ**. 2013. № 4. С. 60–63.
12. **Никольская И.А.**, Копецкий И.С., Волков А.Г. "Эффективность применения озона в комплексном лечении ятрогенного пульпита" // Сб. трудов V научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Стоматология XXI века. Эстафета поколений», Москва. 2013. С. 65–66.
13. **Никольская И.А.**, Волков А.Г., Третьяков А.А. «Исследование влияния озона в комплексном лечении ятрогенных форм пульпита биологическим методом в экспериментальных условиях» // Матер. VIII Международной (XVII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых. Москва. 2013. С. 118.
14. **Никольская И.А.**, Копецкий И.С., Волков А.Г. «Клинико-экспериментальное обоснование применения озонотерапии в лечении ятрогенного пульпита» // Матер. XX Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии». Омск. 2014. С. 138–140.
15. **Никольская И.А.**, Копецкий И.С., Волков А.Г. «Применение озонотерапии при случайном вскрытии пульпы зуба» // Сб. трудов IX Всероссийской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии» 11-й Всероссийский стоматологический форум ДЕНТАЛ–РЕВИЮ. 2014. С. 19–22.
16. **Никольская И.А.**, Макеева И.М., Копецкий И.С., Волков А.Г. «Оказание специализированной помощи пациентам с обратимыми формами пульпита: результаты анкетирования врачей» // **Dental Tribune Russian Edition**. 2014. №1. С.14.

Подписано в печать: 25.06.2014
Объем: 1,0 п.л.
Тираж: 100 экз. Заказ № 537
Отпечатано в типографии «Реглет»
г. Москва, Ленинский проспект, д. 2
(495) 978-66-63; www.reglet.ru