

Экспериментальное определение сроков образования заместительного дентина в искусственно созданных полостях

С.В. СИРАК*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
Е.В. ЩЕТИНИН*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
А.Г.СИРАК***, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
Т.Л. КОБЫЛКИНА*, доцент
М.Ю. ВАФИАДИ**, доцент
*Кафедра стоматологии
**Кафедра патологической физиологии
***Кафедра гистологии

Ставропольский государственный медицинский университет

Experimental determination of the timing of the formation of substitution of dentin in an artificially created cavities

S.V. SIRAK, E.V. SHCHETININ, A.G. SIRAK, T.L. KOBYLKINA, M.Yu. VAFIADI

Резюме: В статье рассматриваются вопросы оценки скорости образования заместительного дентина в искусственно созданных полостях, имитирующих поражение зубов кариесом. Эксперимент проведен на шести взрослых собаках. Установлено, что наиболее информативным признаком активизации пластической реакции пульпы в ответ на повреждение твердых тканей зуба является утолщение и обызвествление аргирофильных волокон. Через 21 сутки в препаратах определяется пласт заместительного дентина, толщиной до 40 мк, который достигает максимальной толщины через 1 месяц, а к сроку 2 месяца его отложения уже построены по типу регулярного дентина.

Ключевые слова: дентин, эксперимент, кариес, лечение.

Abstract: In the article the questions of assessment of the rate of formation of substitution of dentin in an artificially created cavities that mimic the defeat of teeth caries. The experiment was carried out on 6 adult dogs. It is established that the most informative characteristic of activation of the plastic response of the pulp in response to damage to the hard tissues of the tooth is thickening and calcification of argyrophilic fibers. After 21 days the drugs is determined by the formation of substitution of dentin with a thickness of up to 40 MK, which reaches a maximum thickness of 1 month and a deadline of 2 months, its deposits already built like regular dentin.

Key words: dentin, experiment, caries, treatment.

Вопросу определения скорости образования заместительного дентина в искусственно созданных полостях твердых тканей зубов посвящено немало научных работ [1, 7, 10]. Еще в середине 60-х годов прошлого века Царинский М. М. один из первых в нашей стране изучил скорость образования заместительного дентина в зубах экспериментальных животных и человека после препарирования кариозных полостей [2, 9]. Гистологические исследования показали, что примерно в течение 30 дней после вмешательства количество заместительного дентина оставалось незначительным, нарастая максимально к 70–90 суткам. В аналогичных исследованиях других авторов показано, что наивысший уровень образования заместительного дентина отмечен от 30-х до 60-х суток (прирост — от 2 до 3,5 мк в сутки), а на 70-е и 140-е сутки темп дентиногенеза снижается до 0,15 мк за сутки [11, 12]. Средний уровень образования репаративного дентина для всего периода изучения составил 1,35 мк в сутки [13, 14]. Таким образом, данные различных исследователей, изучавших скорость формирования заместительного дентина в эксперименте, довольно противоречивы. В то время как Yoshida K. (2010) относит начало генеза заместительного дентина

к 7–14 суткам после создания у собак искусственных полостей [17], Сирак А. Г. (2011) при аналогичной методике эксперимента — лишь к концу 30 суток [8].

Вместе с тем изучение динамики образования заместительного дентина представляет для клиницистов исключительный интерес [3, 6]. Этот вопрос тесно связан с поисками и созданием новых лекарственных и пломбировочных препаратов [4, 5]. Успех этих исследований, а также объективная оценка предлагаемых в продаже препаратов для стимуляции репаративной функции пульпы зуба, возможны лишь при учете динамики образования заместительного дентина, которую можно детально изучить только экспериментальным путем.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное определение сроков образования заместительного дентина в искусственно созданных полостях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведен на шести взрослых собаках (средний возраст около трех лет), которым под общим наркозом (Zoletil 50) создавали искусственные

полости по типу глубокого кариеса без вскрытия рога пульпы. Препарирование полостей начинали с шлифования эмали алмазным бором и заканчивали твердосплавным бором при постоянном охлаждении стерильным физраствором. Искусственные полости в течение всего периода эксперимента оставались открытыми.

Зубы удаляли под общим наркозом через 3, 7, 14, 21, 30, 60 и 90 дней после создания полостей, фиксировали в 12% растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 12% растворе азотной кислоты и заливали в целлоидин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по Массону-Голднеру, а для выявления аргирофильных волокон пульпы импрегнировали по Бильшовскому-Гросс. Всего морфологическому исследованию подвергнуто 40 зубов с искусственными полостями. В качестве контроля изучено 20 интактных зубов. Микроскопию срезов проводили на цифровом микроскопе со встроенным фотоаппаратом Olympus BX45. Морфометрические исследования проводили с использованием программы «ВидеоТест Морфология 5.1» для Windows. Полученные цифровые данные проанализированы с применением статистического метода t-критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Эксперимент на животных проведен в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), положительное заключение этического комитета СтГМУ №34 от 12.02.2014. Исследование осуществлено в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации для ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по осуществлению научных исследований и разработок по теме «Стволовые клетки пульпы зуба в регенерации и иммуномодуляции» совместно с Всероссийским НИИ овцеводства и козоводства и Ставропольским государственным аграрным университетом (Ставрополь).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенные исследования показали, что при повреждении твердых тканей зуба изменения в дентине и пульпе преимущественно локализуются в секторе, соответствующем искусственной полости. По прошествии 3-х суток опыта в пододонтобластическом слое

(соответственно искусственной полости) отмечается некоторое увеличение количества клеточных элементов за счет малодифференцированных форм. Слой одонтобластов в этой области дезорганизован и содержит клетки с пикнотичными ядрами. Через 7 суток зона преддентина на границе со слоем одонтобластов теряет четкость очертаний, линия гиперкальцинации выражена хорошо (рис. 1а). Заслуживает внимания тот факт, что протяженность этой линии значительно превосходит диаметр искусственной полости. Аргирофильные волокна Корфа в этой области представляются несколько выпрямленными и укороченными. Концы их, обращенные к дентину, значительно утолщены (рис. 1б).

Через 14 суток количество клеточных элементов в пододонтобластическом слое в проекции искусственной полости не отличается от такового на соседних участках. Слой одонтобластов несколько расширен. Однако это происходит не за счет увеличения числа рядов клеток, а вследствие более рыхлого их расположения. Большая часть клеток с пикнотичными ядрами. Зона преддентина несколько расширена, и выраженной границы со слоем одонтобластов отметить не удастся. Линия гиперкальцинации четкая. На ограниченном участке, соответствующем искусственной полости, аргирофильные волокна Корфа в отличие от нормы в еще большей степени, чем в предыдущем сроке, выпрямляются и утолщаются по направлению к дентину, напоминая по форме пирамиды (рис. 1в).

Таким образом, изменения аргирофильных волокон уже в ранние сроки отражают проявление пластической реакции пульпы в ответ на повреждение твердых тканей зуба. В этом отношении полученные данные подтверждают наблюдения других авторов [15, 16], которые при исследовании кариозных зубов человека уже в стадии пятна находили изменения аргирофильных волокон, радиально проходящих в слое одонтобластов.

Через 21 сутки в пододонтобластическом слое отмечается увеличение количества клеточных элементов. Слой одонтобластов соответственно полости несколько обеднен клетками, встречаются формы с пикнотичными ядрами. Имеется четкая демаркационная линия, отделяющая первичный дентин от заместительного и по протяженности значительно превосходящая диаметр искусственной полости (рис. 1г). Отложения заместительного дентина несколько выступают в полость зуба, дентинные каналы в нем приобретают неправильное расположение. Зона

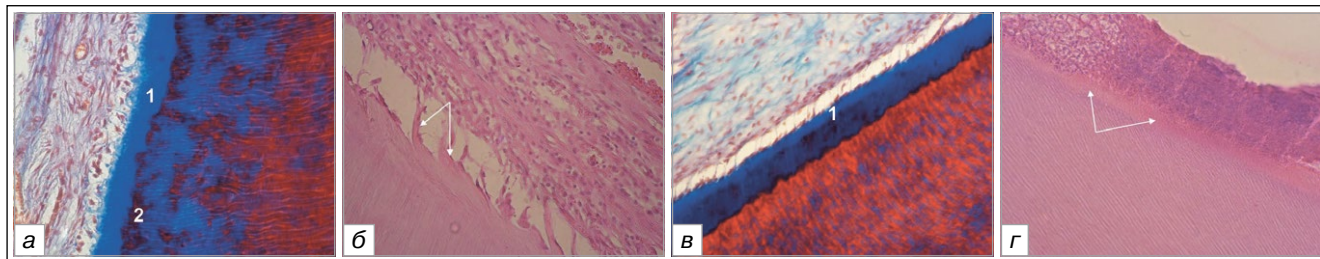


Рис. 1. Микропрепараты основной группы на 7 (а, б), 14 (в) и 21 (г) сутки эксперимента. а — линия гиперкальцинации (1) на границе со слоем одонтобластов (2). Окраска по Массону. Ок. 10, об. 40; б — утолщенные аргирофильные волокна Корфа (отмечены стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 15, об. 40; в — аргирофильные волокна Корфа (1), идущие по направлению к дентину. Окраска по Массону. Ок. 10, об. 40; г — отложение заместительного дентина с четкой демаркационной линией (отмечена стрелками), отделяющей первичный дентин от репаративного. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20

предентина соответственно искусственной полости сужена. В новой генерации дентина замурованы единичные ядра одонтобластов. Аргирофильные волокна Корфа, расположенные в секторе, соответствующем искусственной полости, представляются тонкими, равномерно извитыми. Кроме того, здесь выявляются незначительное количество волокон, утолщенных на всем протяжении. Часть из них имеет пирамидообразные расширения на концах, обращенных к дентину. Описанная картина соответствует начальной фазе формирования следующего слоя заместительного дентина (регулярного).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали результаты проведенного исследования, наиболее информативным признаком про-

явления активизации пластической реакции пульпы в ответ на повреждение твердых тканей зуба является утолщение и обызвествление аргирофильных волокон. Уже через две недели после создания искусственных полостей толщина слоя заместительного дентина увеличивается, и при достижении 21 суток в препаратах определяется пласт заместительного дентина, толщиной до 40 мк. Впоследствии (через 1, 2 и 3 месяца) толщина слоя заместительного дентина продолжает возрастать, его отложения чаще всего построены по типу регулярного дентина.

Поступила 01.03.2017

Координаты для связи с авторами:
355000, г. Ставрополь, ул. Мира, д. 310

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арутюнов А. В., Сирак С. В. Морфологическая оценка влияния разработанной комбинированной лекарственной композиции на репаративные процессы при экспериментальном пульпите // *Эндодонтия today*. 2015. №3. С. 31–34.
2. Arutjunov A.V., Sirak S.V. Morfoloģičeskaja ocenka vlijanija razrabotannoj kombinirovannoj lekarstvennoj kompozicii na reparativnye processy pri jeksperimental'nom pul'pите // *Endodontija today*. 2015. № 3. S. 31–34.
3. Вайс С. И., Царинский М. М. О центральном механизме образования заместительного (вторичного) дентина при повреждении твердых тканей зуба (экспериментальное исследование) // *Стоматология*. 1960. №1. С. 10.
4. Vajs S. I., Carinskij M. M. O central'nom mehanizme obrazovanija zamestitel'nogo (vtorichnogo) dentina pri povrezhdenii tverdyh tkanej zuba (eksperimental'noe issledovanie) // *Stomatologija*. 1960. №1. S. 10.
5. Орехова Л. Ю., Улитовский С. Б. Определение чувствительности зубов // *Пародонтология*. 2009. №1. С. 85–88.
6. Orehoval L. Ju., Ulitovskij S. B. Opredelenie chuvstvitel'nosti zubov // *Parodontologija*. 2009. №1. S. 85–88.
7. Орехова Л. Ю., Кудрявцева Т. В., Осипова Т. Г., Бармашева И. В. Влияние сочетанных поражений осложненного кариеса и воспалительных заболеваний пародонта на состояние зубочелюстной системы // *Пародонтология*. 2004. №2. С. 7.
8. Orehoval L. Ju., Kudrjavceva T. V., Osipova T. G., Barmasheva I. V. Vlijanie sochetannyh porazhenij oslozhnennogo kariesa i vospalitel'nyh zabolevanij parodonta na sostojanie zubočeljustnoj sistemy // *Parodontologija*. 2004. №2. S. 7.
9. Орехова Л. Ю., Кучумова Е. Д., Антонова И. Н., Стюф Я. В., Киселев А. В. Влияние обработки vector system на твердые ткани зуба по данным электронной микроскопии // *Пародонтология*. 2005. №1. С. 36–38.
10. Orehoval L. Ju., Kuchumova E. D., Antonova I. N., Stjuf Ja. V., Kiselev A. V. Vlijanie obrabotki vector system na tverdye tkani zuba po dannym elektronnoj mikroskopii // *Parodontologija*. 2005. №1. S. 36–38.
11. Митронин А. В., Герасимова М. М. Эндодонтическое лечение болезней пульпы и периодонта. Часть 1. Аспекты применения антибактериальных препаратов // *Эндодонтия today*. 2012. №1. С. 9–15.
12. Mitronin A.V., Gerasimova M.M. Jendodontičeskoe lečenje boleznej pul'py i periodonta. Chast' 1. Aspekty primeneniya antibakterial'nyh preparatov. Jendodontija Today. 2012. № 1. S. 9–15.
13. Сирак С. В., Сирак А. Г., Быков И. М. Динамика биохимических показателей ротовой жидкости у детей и подростков при использовании разработанного зубного эликсира // *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2013. Т. 12. №4 (47). С. 61–65.
14. Sirak S. V., Sirak A. G., Bykov I. M. Dinamika biohimicheskih pokazatelej rotovoj zhidkosti u detej i podrostkov pri ispol'zovanii razrabotannogo zubnogo eliksira // *Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika*. 2013. T. 12. №4 (47). S. 61–65.
15. Сирак С. В., Сирак А. Г., Копылова И. А., Бирагова А. К. Изучение морфологических изменений в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2011. Т. 23. №3. С. 29–33.
16. Sirak S. V., Sirak A. G., Kopylova I. A., Biragova A. K. Izučenie morfoloģičeskix izmenenij v pul'pe zubov eksperimental'nyh životnyh pri lečenii glubokogo kariesa i ostrogo očajgovogo pul'pita // *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza*. 2011. T. 23. №3. S. 29–33.
17. Царинский М. М. Клинико-морфологические сопоставления кариеса и пульпитов // *Стоматология*. 1965. №2. С. 21.
18. Carinskij M. M. Kliniko-morfoloģičeskie sopostavlenija kariesa i pul'pitov // *Stomatologija*. 1965. №2. S. 21.
19. Cooper P. R., Holder M. J., Smith A. J. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: A double-edged sword // *Journal of Endodontics*. 2014. №40 (4). S46–S51. — doi: 10.1016/j.joen.2014.01.021.
20. Grimm W. D., Arnold W. A., Sirak S. W., Vukovich M. A., Videra D., Giesenhagen B. Clinical, radiographic, and histological analyses after transplantation of crest-related palatal-derived ectomesenchymal stem cells (paldscs) for improving vertical alveolar bone augmentation in critical size alveolar defects // *Journal of Clinical Periodontology*. 2015. №42 (S17). P. 366b–366.
21. Kim S. G. Biological molecules for the regeneration of the pulp-dentin complex // *Dental Clinics of North America*. 2017. №61 (1). P. 127–141. — doi: 10.1016/j.cden.2016.08.005
22. Shchetinin E.V., Sirak S.V., Khodzhan A.B., Dilekova O.V., Sirak A.G., Vafiadi M.Yu., Parazyan L.A., Arutyunov A.V. Pathogenetic aspects of dental pulp pathology // *Medical News of North Caucasus*. 2015. №10 (2). P. 187–191. — doi: 10.14300/mnnc.2015.10044.
23. Sirak S. W., Entschladen F., Shchetinin E. W., Grimm W. D. Low-level laser irradiation (810 nm) with toluidinblue photosensitizer promotes proliferation and differentiation of human oral fibroblasts evaluated in vitro // *Journal of Clinical Periodontology*. 2015. №42 (S17). P. 328a–328.
24. Na S. Zhang H., Huang F., Wang W., Ding Y. Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016. №10 (3). P. 261–270. — doi: 10.1002/term.1686.
25. Thibodeau B., Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: Case report and review of the literature // *Pediatric Dentistry*. 2007. №29 (1). P. 47–50.
26. Yoshida K., Yoshida N., Iwaku M. Histological observations in amputated dental pulp capped with a-tricalcium phosphate containing calcium hydroxide // *Endod. Dent. Traumatol*. 2010. №10. P. 113–120.