

М. Д. ПЕРОВА<sup>1</sup>, Т. В. ГАЙВОРОНСКАЯ<sup>1</sup>, В. Б. КАРПЮК<sup>2</sup>, И. А. СЕВОСТЬЯНОВ<sup>1</sup>, У. А. ШИПИЕВА<sup>1</sup>

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГНОЗНЫХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДЛЯ ВЫБОРА МЕТОДИКИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, ул. Седина, д. 4, Краснодар, Россия, 350063.

<sup>2</sup>Клиника Шале Сантэ, ул. Красных Партизан, д. 238, г. Краснодар, Россия, 350002.

### АННОТАЦИЯ

**Цель.** Оценить исход достигнутых результатов лечения у больных длительно текущим пародонтитом в соответствии с индивидуальными характеристиками цитологической картины микроокружения поврежденных тканей пародонта.

**Материалы и методы.** В основную группу исследования вошло 40 больных хроническим пародонтитом средне-тяжелой степени (Mo 56,7 года), выбор регенеративного лечения которым осуществляли с учетом предварительной экспресс-оценки цитологической картины поврежденных тканей пародонта; в контрольную группу, сопоставимую по основным клиническим показателям, вошло 43 больных, выбор лечения которым осуществляли в случайном порядке.

**Результаты.** Клеточно-потенцированный хирургический подход статистически достоверно индуцирует рост нового зубодесневого прикрепления у лиц с критически малым количеством морфологически измененных нейтрофильных гранулоцитов и мелких клеточных форм с интенсивной базофильной окраской ( $\leq 20\%$ ) в цитологических образцах в сравнении с контролем, снижая величину остаточной потери опорных тканей зубов в 2 раза.

**Заключение.** Предварительная экспресс-оценка цитологической картины микроокружения пародонтальных карманов косвенно указывает на потенциальные возможности организма больного пародонтитом к восстановлению утраченных структур опорного аппарата зуба. Выбор хирургической тактики регенеративного лечения с учетом особенностей клеточного поведения в цитологических образцах больных пародонтитом целесообразно использовать как прогностический тест для улучшения конечных результатов.

**Ключевые слова:** хронический пародонтит средне-тяжелой степени, цитологическая прогнозная экспресс-оценка, регенеративное хирургическое лечение

**Для цитирования:** Перова М.Д., Гайворонская Т.В., Карпюк В.Б., Севостьянов И.А., Шипиева У.А. Использование прогнозных цитологических характеристик для выбора методики регенеративного лечения больных пародонтитом. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(5): 65-70. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-65-70

**For citation:** Perova M.D., Gaivoronskaya T.V., Karpjuk V.B., Sevostyanov I.A., Shipieva U.A. The use of predictive cytological features for the selection of the methodology of regenerative treatment of patients with periodontitis. *Kubanskiy nauchnyy medicinskiy vestnik*. 2018; 25(5): 65-70. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-5-65-70

M. D. PEROVA<sup>1</sup>, T. V. GAIVORONSKAYA<sup>1</sup>, V. B. KARPYUK<sup>2</sup>, I. A. SEVOSTYANOV<sup>1</sup>, U. A. SHIPIEVA<sup>1</sup>

THE USE OF PREDICTIVE CYTOLOGICAL FEATURES FOR THE SELECTION  
OF THE METHODOLOGY OF REGENERATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH PERIODONTITIS

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Kuban State Medical University  
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Sedina str., 4, Krasnodar, Russia, 350063.

<sup>2</sup>Clinic Chalet Sante; str. Red Partizan, 238, Krasnodar, 350002.

### ABSTRACT

**Aim.** This study was conducted to assess the outcome of the results obtained in the treatment of patients with long-term current periodontitis with individual characteristics of the cytological picture of the microenvironment of damaged periodontal tissues.

**Materials and methods.** The main study group included 40 patients with chronic periodontitis of the moderate degree (Mo 56, 7 years). The selection of the regenerative treatment in the main group was carried out in accordance with the preliminary express assessment of the cytological picture of the damaged periodontal tissues. The control group,

whose indicators were compared with the main clinical indicators, included 43 patients with randomly selected regenerative treatment.

**Results.** The cell-potential surgical approach statistically induces the growth of new dentogingival junction in patients with critically small amount of morphologically altered neutrophil granulocytes and small cell forms with intense basophilic coloring ( $\leq 20\%$ ) in cytological samples in comparison with the control decreasing the amount of residual loss of teeth supporting tissues by 2 times.

**Conclusion.** The preliminary express assessment of the cytological picture of the microenvironment of periodontal pockets indirectly indicates the potential of the patient with periodontitis to restore the missing structures of the periodontal membrane. The choice of the surgical tactics of regenerative treatment, taking into account the characteristics of cellular behavior in cytological samples of patients with periodontitis, is advisable to use as a prognostic test to improve the final results.

**Keywords:** chronic moderate periodontitis, cytological prognostic express assessment, regenerative surgical treatment

## Введение

Анализ результатов лечения больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени продемонстрировал широкий диапазон эффективности при использовании различных хирургических методик [1-4]. Обращено внимание на разную интенсивность ответа к восстановлению тканей, а именно, способность формировать опорный аппарат зуба, используя хирургические вмешательства регенераторной направленности. На сегодняшний день результаты лечения развившегося пародонтита, невзирая на внушительный арсенал применяемых методик, являются плохо предсказуемыми.

В основу прогнозных оценок исходов лечения пародонтита положены материалы патента РФ на изобретение [№2414844, приоритет 25.01.2010 г.], суть которых заключается в проведении цитологической экспресс-оценки содержимого микроокружения пародонтальных карманов, позволяющей предварительно оценить количество и морфологию клеточных форм в зоне планируемого хирургического вмешательства.

**Цель исследования:** оценить исход достигнутых результатов лечения у больных длительно текущим пародонтитом в соответствии с индивидуальными характеристиками цитологической картины микроокружения поврежденных тканей пародонта.

## Материалы и методы

В основную группу исследования включено 40 больных хроническим пародонтитом средне-тяжелой степени в возрасте от 45 до 67 лет (Мо 56,7 года): из них, 19 мужчин и 21 женщина, которые были обследованы и пролечены в Краснодарском Центре пародонтологии и дентальной имплантации (МБУЗ СП №3 г. Краснодара) и в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в период с 2013 по 2017 годы. Общая соматическая патология в состоянии ремиссии подтверждена у 18 больных (сердечно-сосудистые заболевания, патология желудочно-кишечного тракта, эндокринные заболевания, состояние после радио- и химиотерапии по поводу онкологических заболеваний не менее 6 месяцев назад). С вредными привычками (курение  $\geq 10$  сигарет в

день) в основную группу вошло 11 человек. Со всеми пациентами оформлены договоры на лечение и участие в исследовании, формуляры добровольного информированного согласия.

Обследование проводили по принятому в пародонтологии протоколу с фиксацией в медицинской карте основных клинических показателей [4]. В работе применена электронная измерительная система Florida Probe (США); клинические показатели включали определение глубины зондирования, уровня рецессии десневого края, что в сумме составило величину потери зубодесневого (клинического) прикрепления; прирост зубодесневого прикрепления определяли как разницу между исходным значением потери клинического прикрепления и остаточной его потерей. При обследовании каждого больного пародонтитом для вычисления средних значений целевых клинических параметров проводили измерения не менее чем на 15 зубах разных функционально ориентированных групп с 4-6 сторон, что отражается в числе наблюдений «n» при статистической обработке цифрового материала. Оценку результатов проводили через 6 месяцев после хирургического лечения, когда завершались формообразовательные процессы во вновь сформированных опорных тканях, а также при минимуме в эти сроки внешних факторов, способных модифицировать результат лечения.

Для выбора лечебной тактики получали цитогаммы микроокружения пародонтальных карманов следующим образом: после споласкивания полости рта в течение 3 минут 0,9% изотоническим раствором натрия хлорида поверхность десен высушивали, изолировали адсорбционными валиками, с помощью стоматологического экскаватора извлекали содержимое пародонтальных карманов на стерильное предметное стекло с последующей сушкой на воздухе в течение часа, после чего наносили фиксатор Мая-Грюнвальда с 3-минутной экспозицией, смывали проточной водой, наносили краску Романовского-Гимзы на 5 минут и после её смывания со стекла проточной и дистиллированной водой высушивали на воздухе и просматривали при увеличении светового микроскопа  $\times 10$  и  $\times 40$ . Подсчет клеточных форм и

определение их размеров проводили с помощью градуированной сетки в программе ScopePhoto 2.4.7. (2006) не менее, чем в 10 полях зрения цитологического препарата. Подсчитывалось число увеличенных в размерах нейтрофильных гранулоцитов с дефрагментацией ядер и деконденсацией хроматина с сохраненной или поврежденной клеточной мембраной, количество обособленных ядер гранулоцитов, в том числе, с перемычками (голаядерных элементов без цитоплазмы), а также мелких клеток с интенсивной базофильной окраской ядер и цитоплазмы.

При наличии в цитограмме менее 20% таких форм (от общего числа клеточных элементов в просмотренных полях зрения) у 23 больных пародонтитом ожидали компромиссную ответную реакцию на формирование аппарата зубодесневого прикрепления, что рассматривалось как показание к использованию клеточно-потенцированного хирургического лечения. Для этого в комплекс мероприятий включалось хирургическое лечение с трансплантацией васкуляро-стромально-клеточной фракции (ВСКФ), выделенной в асептических условиях из гиподермы пациента или от обследованных здоровых доноров (в связи с отсутствием иммунологической принадлежности недифференцированных клеток) по стандартному протоколу P.Zak с соавт. (2001) в нашей модификации [4]. Свежевыделенную ВСКФ смешивали с материалами-остеокондукторами и использовали *ex tempore*, без предварительного культивирования. Внесение подготовленного трансплантата в санированные пародонтальные дефекты проводили после кюретажа патологических тканей, механической и химической обработки инфицированных корневых поверхностей, поверх трансплантата моделировали и укладывали нерезорбируемую пористую барьерную мембрану из политетрафторэтилена (НПО Экофлон, Санкт-Петербург, Россия; GoreTex, США) для предотвращения врастания в зону регенерации (кости, корневого цемента и периодонтальной связки) мягкотканых структур лоскута. При недостатке покровных тканей с толстым фенотипом десны лоскуты расщепляли, позиционировали коронально и закрепляли матрасными и обвивными швами в каждом межзубном промежутке (e-PTFE, 5/0).

При наличии в цитограмме более 20% измененных гранулоцитов от общего числа клеточных форм в просмотренных полях зрения не ожидали компромиссных исходов лечения и у 17 больных пародонтитом ВСКФ не использовали, выполняли операцию направленной регенерации тканей с применением под барьерные мембраны материалов остеопроводящего действия.

В контрольную группу вошло 43 больных хроническим пародонтитом средне-тяжелой степени (21 мужчина, 22 женщины), в возрасте от 32 до 60 лет (Мо 49,6 года), выбор регенеративной методики хирургического лечения которым осуществляли

в случайном порядке. Общая соматическая патология подтверждена у 16 человек (сердечно-сосудистые расстройства, хронические заболевания ЖКТ, заболевания почек, эндокринные заболевания, гинекологические заболевания). В группу вошли 9 курящих пациентов. Группы исследования были сопоставимы по полу и возрасту, тяжести и распространенности процесса, наличию сопутствующей общей соматической патологии и принадлежности к курению.

Статистическая обработка данных проведена путем подсчета средних значений параметров, ошибки средней арифметической, стандартного отклонения и расчета доверительных интервалов. Различия показателей до и после лечения, в группах исследования и между методиками регенеративного хирургического лечения признавались значимыми при  $p \leq 0,05$  в ходе дисперсионного анализа с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента в программе Биостатистика (С. Гланц, 1999).

### Результаты и обсуждение

Анализ результатов регенеративного лечения больных хроническим пародонтитом средне-тяжелой степени, выбор подхода к которому основывался на цитологической картине микроокружения пародонтальных карманов, выявил ряд статистически значимых различий в сравнении с таковыми контрольной группы исследования, где методика регенеративного лечения выбиралась случайным порядком. При малом количестве измененных клеточных форм нейтрофильных гранулоцитов ( $\leq 20\%$  от общего числа клеток в 10 полях зрения цитологического препарата), при котором ожидался компромиссный ответ к лечению и в связи с чем использовали клеточно-потенцированный подход к восстановлению утраченных тканей; через 6 месяцев наблюдался существенный прирост зубодесневого прикрепления –  $5,9 \pm 0,71$  мм: пародонтальные дефекты замещались на 80% от утраченного уровня при  $p \leq 0,05$ ; величина остаточной потери опорного аппарата составила  $1,5 \pm 0,13$  мм (табл. 1).

В контрольной группе наблюдался идентичный вектор процессов восстановления поврежденных структур: выявлен статистически значимый прирост зубодесневого прикрепления –  $4,30 \pm 0,21$  мм ( $p \leq 0,05$ ) с замещением утраченного на 60% и величиной остаточной потери опорных тканей  $2,90 \pm 0,15$  мм (табл. 2). Разница показателей прироста молодых тканевых структур аппарата зубодесневого прикрепления в группах исследования при использовании васкуляро-стромально-клеточной фракции составила 20% в пользу целесообразности применения прогностических цитологических характеристик на этапе планирования лечения.

При увеличенном числе измененных клеточных форм нейтрофильных гранулоцитов ( $>20\%$  от об-

## Результаты регенеративного лечения больных пародонтитом в основной группе

The regenerative treatment results of the patients with periodontitis in the main group

Клинические показатели	Прогнозные цитологические характеристики					
	≤ 20% нейтрофильных гранулоцитов с измененной морфологией			>20% нейтрофильных гранулоцитов с измененной морфологией		
	Клеточно-потенцированное хирургическое лечение			Методика направленной регенерации тканей пародонта		
До лечения:	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n
Глубина зондирования	5,5мм	0,52мм	345	5,3мм	0,60мм	260
Величина рецессии десневого края	1,8мм	0,08мм		1,6мм	0,07мм	
Потеря зубодесневого прикрепления	7,3мм	0,83мм		6,9мм	0,86мм	
Через 6 месяцев после лечения:			287			254
Прирост зубодесневого прикрепления	5,9мм	0,71мм		3,8мм $p_2 \leq 0,05$	0,42мм	
Остаточная потеря зубодесневого прикрепления	1,5мм	0,13мм		3,1мм $p_2 \leq 0,05$	0,16мм	

**Примечание:**  $p_2$  – значимость различий показателей в подгруппах с разными методиками лечения.

щего числа клеток в цитологических препаратах), при котором ожидался адекватный ответ к лечению и применялась традиционная методика направленной регенерации тканей, наблюдался прирост зубодесневого прикрепления, составивший  $3,8 \pm 0,42$  мм, то есть пародонтальные дефекты замещались на 55% от уровня потери прикрепления до начала лечения (при  $p \leq 0,05$ ). Сравнение достигнутых эффектов с клиническими показателями контрольной группы демонстрирует статистически незначимые различия при формировании новых тканей зубодесневого прикрепления в пределах 50% от утраченного (3,80 мм в основной группе против 3,40 мм в контроле, при  $p \geq 0,05$ ). Такие результаты находятся в приемлемом диапазоне возможностей методики с использованием барьерных мембран.

Анализ индивидуальных показателей роста тканевых структур пародонта у респондентов статистической выборки позволил заключить, что наличие общих соматических заболеваний, даже в компенсированной форме, а также длительный период курения ( $\geq 10$  сигарет в день) оказывают существенное влияние на возможность ответа к регенераторным методикам лечения пародонтита, увеличивая значения остаточной потери клини-

ческого прикрепления на 20%. Следует отметить, что увеличение показателей остаточной потери зубодесневого прикрепления у этих больных связано с осложненным заживлением тканей в связи с отсутствием интеграции мембранных барьеров с покровными тканями, инфицированием раны и, соответственно, ранней экспозиции барьера. Через 6 месяцев после лечения у этих больных выявлялись пародонтальные карманы с разной степенью активности, представляя собой фактор риска возникновения рецидивов воспалительно-деструктивного процесса в опорном аппарате зуба. Различий исходов лечения пародонтита в зависимости от половой принадлежности и возраста не обнаружено.

Прогрессирующее снижение объема тканей пародонта приводит к дефекту связочного аппарата зуба и костномозгового компартмента альвеолы с уменьшением численности клеток, способных дифференцироваться в необходимые клеточные линии для восстановления утраченных структур [3]. Предварительная экспресс-оценка клеточной картины патологического микроокружения позволяет выявить снижение потенциала к активному формированию новых структур опорного аппарата зуба, что выражается в критически малом количе-

## Результаты регенеративного лечения больных пародонтитом в контрольной группе

The regenerative treatment results of the patients with periodontitis in the control group

Клинические показатели	Методики хирургического регенеративного лечения					
	Клеточно-потенцированное хирургическое лечение			Методика направленной регенерации тканей		
	$\bar{X}$	SD	n	$\bar{X}$	SD	n
<b>До лечения:</b>						
<b>Глубина зондирования</b>	5,7мм	0,51мм	408	5,5мм	0,44мм	240
<b>Величина рецессии десневого края</b>	1,5 мм	0,11мм		1,7мм	0,12мм	
<b>Потеря зубодесневого прикрепления</b>	7,2мм	0,60мм		7,0мм	0,63мм	
<b>Через 6 месяцев после лечения:</b>						
<b>Прирост зубодесневого прикрепления</b>	4,3 мм $p1 \leq 0,05$	0,21мм	384	3,4мм $p2 \geq 0,05$	0,11мм	256
<b>Остаточная потеря зубодесневого прикрепления</b>	2,9мм $p1 \leq 0,05$	0,15мм		3,5мм $p2 \geq 0,05$	0,23мм	

**Примечание:** p1 – значимость различий показателей в основной и контрольной группах; p2 – значимость различий показателей с разными методиками лечения.

стве морфологически измененных нейтрофильных гранулоцитов и клеточных форм ядерного типа с интенсивной базофильной окраской (менее 20%). Внесение в санированный пародонтальный дефект клеток трансплантата (ВСКФ) индуцирует быструю пролиферацию и дифференцировку в моноцитарно-макрофагальные и фибробластические элементы со свойственными им фагирующими и синтетическими функциями, фиксируясь в сети коллагеновых фибрилл/волокон уже в течение первых суток [2, 3, 5].

### Заклучение

Настоящим исследованием показана целесообразность использования предложенного неинвазивного цитологического экспресс-теста для определения способностей организма больных к формированию зубодесневого прикрепления *de novo*, и при их снижении – выбора индуктивного воздействия на ткани с применением клеточно-потенцированных технологий. Клетки трансплантата в результате прямого взаимодействия в микроокружении тканей-мишеней, контактируя со стиму-

лированными нейтрофильными гранулоцитами в ответ на хирургическое вмешательство, дополнительно активируют их ядра, вызывая изменения структуры хроматина, генную экспрессию и синтетическую активность. Ранее уже сообщалось о наличии активационного потенциала ядер нейтрофильных гранулоцитов и эффектов генной экспрессии, характерной для зрелых клеток [6, 7, 8].

Таким образом, предварительное изучение картины микроокружения поврежденных опорных тканей зубов дает возможность оптимального выбора методики регенеративного хирургического лечения у больных развившимся пародонтитом со статистически достоверно улучшенными клиническими исходами.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Перова М.Д. *Ткани пародонта: норма, патология, пути восстановления*. Москва: Триада, ЛТД; 2005. 312с. [Perova M.D. *Tkani parodonta: norma, patologija, puti vosstanovlenija*. Moskva: Triada, LTD; 2005. 312 p. (In Russ.)].
2. Choi J.-W., Shin S., Lee C.Y., Lee J., Seo H.-H., Lim S., Lee S., Kim I.-K., Lee H.-B., Kim S.W., Hwang K.-C. Rapid induction

of osteogenic markers in mesenchymal stem cells by adipose-derived stromal vascular fraction cells. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 44: 53-65.

3. Перова М.Д., Шубич М.Г., Козлов В.А., Тропина А.В. Результаты аутотрансплантации васкулярно-стромальноклеточной фракции при пародонтите. *Институт стоматологии*. 2010; 2(42): 62-64. [Perova M.D., Shubich M.G., Kozlov V.A., Tropina A.V. Evaluation of processed lipoaspirate cells autografting for the treatment of advanced periodontitis and features of granulation tissue growth. *Institut stomatologii*. 2010; 2(42): 62-64. (In Russ., English abstract)].

4. Перова М.Д., Тропина А.В., Фомичева Е.А., Карпюк В.Б. Оценка роста нового зубодесневого прикрепления после ауто-трансплантации стромальных клеток, выделенных из жировой ткани. *Пародонтология*. 2006; 4: 28-31. [Perova M.D. Tropina A.V., Fomicheva E.A., Karpiuk V.B. Evaluation of growth clinical attachment following autologous transplantation of the stromal cells, derived from adipose tissue. *Parodontologija*. 2006; 4: 28-31. (In Russ., English abstract)].

5. Перова М.Д., Шубич М.Г., Карпюк В.Б., Тропина А.В., Мельник Е.А. Возможности стволовых стромальных клеток для регенерации тканей пародонта и их взаимодействие с тканевым микроокружением. *Морфология*. 2007; 131(3): 7-15. [Per-

ova M.D., Shubich M.G., Karpiuk V.B., Tropina A.V., Mel'nik Ye.A. Application of stromal stem cells for periodontal tissues regeneration and their interaction with tissue microenvironment. *Morfologija*. 2007; 131(3): 7-15. (In Russ., English abstract)].

6. Нестерова И.В., Евглевский А.А., Фомичёва Е.В., Парфёнов В.В. Особенности активационного потенциала ядер нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3(2): 52-55. [Nesterova I.V., Evglevskij A.A., Fomichjova E.V., Parfjonov V.V. Peculiarities of activation potential of neutrophil granulocytes' nuclei in normal and pathologic conditions. *Citokiny i vospalenie*. 2004; 3(2): 52-55. (In Russ., English abstract)].

7. Walen K.H. Spontaneous cell transformation: karyoplasts derived from multinucleated cells produce new cell growth in senescent human epithelial cell cultures. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim*. 2004; 40(5-6): 150-158.

8. Zhang X., Kluger Y., Nakayama Y., Paddar R., Whitney C., DeTora A., Weissman S., Newburger P.E. Gene expression in mature neutrophils: early responses to inflammatory stimuli. *Journal of Leukocyte Biology*. 2004; 75(2): 358-372.

Поступила / Received 20.06.2018

Принята в печать / Accepted 30.08.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

**Контактная информация:** Севостьянов Игорь Александрович; тел.: +7 (905) 475-54-55; e-mail: DrSevostyanovIA@gmail.com; Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Кубанская Набережная, д. 52/1.

**Corresponding author:** Igor A. Sevostyanov; tel.: +7 (905) 475-54-55; e-mail: DrSevostyanovIA@gmail.com; 52/1, Kubanskaja Naberezhnaja str., Krasnodar, Russia, 350063.