



Wydział Lekarski
Oddział Stomatologiczny

Rafał Stelmach
lekarz dentysta

Badania nad lokalizacją, składem chemicznym i budową kamieni ślinowych

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych
PROMOTOR: dr hab. n. med. prof. nadzw. Anna Janas-Naze

Zakład Chirurgii Stomatologicznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź 2018

I. Streszczenie

Kamica ślinianek występuje u 12 na 1000 osób dorosłych. Etiologia powstawania kamieni ślinowych nie jest znana, ale wśród czynników, które przyczyniają się do ich powstawania wymienia się: nieprawidłowości w budowie przewodów ślinianek, zapalenie lub miejscowe czynniki drażniące. Kamienie w gruczołach ślinowych tworzą się również w wyniku infekcji. Skryształizowane substancje chemiczne mogą blokować przewody ślinowe. W procesie tworzenia się kamieni udział biorą substancje zwyrodnieniowe zawarte w ślinie, następuje zwapnienie wokół tych substancji, by w końcu doprowadzić do tworzenia się kamieni. Jednak dokładny mechanizm powstawania kamieni pozostaje niejasny. Przyczyny powstawania kamieni ślinowych wydają się być następujące: mechaniczne, chemiczne, zapalne i neurohumoralne. Złogi ślinowe mogą występować we wszystkich gruczołach ślinowych, ale najczęściej obejmują mięsz ślinianki podżuchwowej (80-90%) i jej przewód wyprowadzający (Whartona), głównie z powodu jego długiego, wąskiego i krętego przebiegu. Kamica ślinianek występuje częściej u mężczyzn, ze szczytem zachorowania od 30 do 60 roku życia. Kamienie ślinowe należy różnicować z zapaleniem żył, zapaleniem kości szczękowych i zwapnieniami węzłów chłonnych. Istnieją dane wskazujące na skłonność do rozwoju kamicy nerkowej u pacjentów z kamicą ślinianek.

Celem pracy było określenie lokalizacji kamieni ślinowych i analiza związku pomiędzy lokalizacją a występowaniem objawów klinicznych oraz określenie budowy morfologicznej i składu chemicznego kamieni ślinowych u pacjentów leczonych w Zakładzie Chirurgii Stomatologicznej w latach 2009-2015.

Badanie zostało przeprowadzone u 46 pacjentów z kamicą ślinianek. Zostały zebrane i przeanalizowane historie chorób, zawierające wiek pacjenta, płeć, lokalizację kamieni

ślinowych, objawy i współwystępowanie z kamicą nerkową. Wszyscy pacjenci skarżyli się na nawracające lub przewlekłe objawy ze strony ślinianek, takie jak obrzęk i ból oraz nawracające epizody zapalenia ślinianki. Czas trwania objawów, mierzony od pierwszej wizyty, wynosił średnio 20 miesięcy (od 2 dni - 6 lat). Pacjenci byli diagnozowani na podstawie wywiadu, badania stomatologicznego, zdjęcia pantomograficznego i zdjęcia zgryzowego dna jamy ustnej. Ze względu na lokalizację i małą średnicę, kamienie w śliniankach usuwane były głównie z zastosowaniem lasera, pozostałe metodą klasyczną. Kamienie ślinowe rozcinano wiertłem szczelinowym na dwie części. Na rozcięte powierzchnie aplikowano 15% EDTA w czasie 12 godzin. Tak przygotowane preparaty poddano badaniu mikroskopowemu SEM oraz dyfraktometrycznemu w Instytucie Inżynierii Materiałowej Politechniki Łódzkiej. Kamienie analizowano za pomocą mikroskopu skaningowego oraz dyfraktometru rentgenowskiego (XRD). Podczas badania XRD próbki sproszkowano w moździerzu z agatu. Badanie za pomocą dyfraktometru rentgenowskiego (Siemens D 500 Pro dyfraktometr, Siemens, Karlsruhe, Niemcy) przeprowadzono przy następujących warunkach: X-ray $CaK\alpha$, X-ray napięcie lampy 50 kV, natężenie lampy 30 mA, prędkość skanowania 2θ . Wzorce otrzymane dla wszystkich próbek porównano ze standardami dla minerałów krystalicznych z użyciem plików proszkowej dyfrakcji. Zastosowano scanningowy mikroskop elektronowy (Hitachi S300N, Tokio, Japonia) oraz użyto mikroanalizator rentgenowski EDX (ang. energy dispersive X-ray spectrometer - EDX) (Nordan MM). Próbki kamieni były pokryte cienką powłoką złota przewodzącą prąd do izolacji elektrycznej. Badania przy użyciu SEM i detektora EDX były wykonane z napięciem przyspieszającym 15kV i w odległości 15 mm.

Podczas analizy danych został użyty test dwustronny Fischer do określenia różnic między zmiennymi nominalnymi. Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą programu StatSoft Statistica for Windows, wersja 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

Do analizy włączono 46 pacjentów. U 1% pacjentów stwierdzono wiele drobnych kamieni. Średnia średnica kamieni w śliniance podżuchwowej wynosiła 4,1 mm. Usunięte kamienie były kształtu podłużnego oraz okrągłego. Ich powierzchnia była gładka lub chropowata. Przekroje podłużne kamieni ujawniły wydłużone, okrągłe i nieregularne kształty. Analiza opisowa wykazała u 16 (34,7 %) pacjentów okresowe powiększenie ślinianek podane jako pojedynczy objaw choroby. Pozostali pacjenci (n = 30 , 65,2 %) prezentowali wiele różnych objawów.

Zaobserwowano, że mężczyźni chorują na kamicę ślinianek około dwa razy częściej niż kobiety. Wśród pacjentów, 22% było powyżej 60 roku życia. Hydroksyapatyt o wzorze chemicznym $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ był obecny we wszystkich kamieniach podżuchwowych, często razem z węglem, wapniem, fosforem, tlenem i siarką. Taki skład kamieni ślinowych w obserwowanej populacji może wynikać z podobnych zwyczajów żywieniowych i podobnej flory bakteryjnej błony śluzowej jamy ustnej. Kamica nerkowa była obecna u 11 (24 %) chorych.

Podsumowując, w badanej grupie pacjentów w wieku od 28 do 70 lat średni czas trwania choroby wynosił 4 lata. Najczęściej, u 65% chorych, kamienie zlokalizowane były jednostronnie wewnątrz przewodu wyprowadzającego ślinianki podżuchwowej. Badane kamienie były zróżnicowane pod względem kształtu, wymiarów i topografii. Największe kamienie miały wymiar 20mm, przy średniej wielkości kamieni 4,1 mm. Na przekroju kamienie ślinowe miały powierzchnię warstwową. We wszystkich kamieniach obecny był fosforan wapnia w formie hydroksyapatytu z niewielką zawartością węglanów i siarki. Kamice gruczołową obserwowano ponad pięciokrotnie częściej u badanych kobiet w porównaniu do mężczyzn, u których częściej obserwowano kamicę przewodową.

W badanej grupie najczęściej, u 50% chorych, obserwowano współwystępowanie takich objawów jak: poszerzenie przewodu wyprowadzającego, ograniczone wydzielanie śliny,

zaczernienie i obrzęk błony śluzowej oraz skąpą wydzielinę śluzowo – ropną. W oparciu o współwystępowanie objawów choroby wyodrębniono cztery profile kliniczne pacjentów, z których dwa pozwalają z dużym prawdopodobieństwem na określenie lokalizacji złogów, co pomoże zaplanować postępowanie z pacjentem. Tak więc, okresowe powiększenie zastoinowe ślinianki występowało jedynie u pacjentów ze złogiem uwidocznionym poza przewodem wyprowadzającym. Natomiast, współwystępowanie objawów takich jak: poszerzenie przewodu wyprowadzającego, ograniczone wydzielanie śliny, zaczernienie i obrzęk błony śluzowej, skąpa wydzielina śluzowo – ropna obserwowano u pacjentów ze złogiem wewnątrz przewodu wyprowadzającego ślinianki.

II. Summary

Sialolithiasis is estimated to affect 12 in 1000 of the adult population. The etiology of sialoliths' formation is still unknown but there are some factors contributing to stone formation: irregularities in the duct system, inflammation or local irritants. Salivary gland stones also form as a result of an infection. However, in certain cases, chemicals may become crystallised and block salivary ducts. It was speculated that in the process of calculi formation, degenerative substances are presented in saliva and calcification subsequently occurs around those substances to finally lead to calculi formation. Nevertheless, the exact mechanism of the formation of calculi is still unclear. The causes of formation of sialoliths seem to be as follows: mechanical, chemical, inflammatory and neurohumoral. Salivary duct stones may occur in all of the salivary glands, but they are mainly found in the submandibular glands (80-90%), especially the submandibular duct (Wharton duct) because of its long, narrow and winding transection. Sialolithiasis occurs more frequently in males with the peak incidence between the ages of 30 and 60 years. Stones should be differentiated from phleboliths, inflammation of maxillary bones and calcification of lymph nodes. There is some indication that patients with sialolithiasis are more prone to develop nephrolithiasis.

The aim of the present study was to analyse symptoms, size, location and biochemical structure of salivary stones in patients treated in the Department of Oral Surgery in the 2009-2015 period. Additionally, we assessed whether the patient's age or sex, or location of the stones may be characteristic of specific clinical symptoms. This study was conducted targeting 46 sialolithiasis patients. Medical records, containing patients' age, sex, position of the salivary stone, symptoms and concomitance with nephrolithiasis, were collected and analysed. All patients complained of recurrent or persistent symptoms of salivary gland such as swelling and pain of the gland or recurrent episodes of sialadenitis. Symptoms, measured from the first

visit, lasted 20 months on average (range: 2 days-6 years). Due to their location and smaller diameter, parotid stones could, in some cases, only be treated using endoscopic laser lithotripsy. The patients were diagnosed based on medical history, intraoral examination, pantomographic X-ray and occlusal X-ray. Stones were analysed ultrastructurally with a scanning electron microscope and X-ray diffractometer (XRD). During XRD, the samples were pulverised in an agate mortar. XRD was performed on the powder with an X-ray diffractometer (Siemens D 500 Pro diffractometer; Siemens, Karlsruhe , Germany) under the following conditions: X-ray beam $\text{CaK}\alpha$, X-ray tube voltage 50 kV, tube current 30 mA, scan speed 2θ . XRD patterns were obtained for all sialoliths and traces were integrated to present the data in one graph. The XRD pattern of each sample was compared with the standard data for crystalline minerals using powder diffraction files. SEM studies were performed applying SEM (Hitachi S300N, Japan Tokyo) with an attached EDX (Nordan MM) microanalysis detector system. The sialolith samples kept for SEM were coated with a thin film of evaporated gold. The SEM studies and EDX microanalysis were done at an accelerating voltage of 15 kV and a working distance of 15 mm.

During the analysis of data the Fischer exact 2-tailed test was used to determine the difference between nominal variables. All statistical analyses were performed using StatSoft Statistica for Windows, release 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Values of $P < 0.05$ were considered to indicate statistical significance.

Data of 46 patients was analysed. Multiple stones were found in 1% of patients. The average stone diameter in the submandibular gland was 4.1 mm. Longitudinal sections of the stones revealed elongated, round and irregular shapes. The descriptive analysis of symptoms revealed that in 16 (34.7%) of patients the periodic enlargement of the salivary gland was reported as the monosymptomatic clinical presentation of the disease. All others patients

(n=30, 65.2%) reported co-occurrence of different symptoms. We observed that males suffered from sialolithiasis about twice as often as females. In our patients 22% were above 60 years of age. Hydroxyapatite with the chemical formula $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ was present in all submandibular stones, often together with carbon, calcium, oxygen, phosphorus and sulphur. Such a composition of the sialoliths in our population might be due to similar eating habits and similar microorganisms in the oral mucosa. We noticed that nephrolithiasis was present in 11 (24%) patients. Salivary stones which were located in the parenchymal system were found 5 times more often in women; in males parotid stones were located more often in the duct. Salivary stones were right-sided, usually in the duct of the submandibular gland.

In the studied group, the most frequent, in 50% of patients, coexistence of such symptoms as periodic congestive enlargement of the parotid, reduced secretion of saliva, redness and swelling of the mucous, and scarce mucopurulent secretion were observed. Based on the coexistence of disease symptoms, four clinical profiles of patients have been distinguished, two of which are very likely to determine the location of the deposits, which will help to plan the patient's diagnosis. Thus, periodic enlargement of congestive salivary gland occurred only in patients with deposits visible outside the discharge tube. On the other hand, the coexistence of symptoms such as: enlargement of the discharge duct, reduced secretion of saliva, redness and swelling of the mucous, scanty mucopurulent discharge was observed in patients with deposits inside the discharge canal of the salivary gland.