УДК 616.31-08-039.71

РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ ТЕРАПИИ КАРИЕСА У ДЕТЕЙ

Соколович Наталия Александровна (1), Климова Елена Александровна (1), Сарана Андрей Андреевич (1, 2)

1 - ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7/9, Тел. (812) 328-94-55

2 – СПб ГБУЗ «Городская больница № 40»

197706, Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Борисова д. 9, Тел. (812) 437-10-35

E-mail: lun_nat@mail.ru

E-mail: biberdent@gmail.com

E-mail: dr.sarana@mail.ru

Резюме.

Обследовано 158 пациентов детского возраста, ранее леченных по поводу кариеса дентина жевательных зубов методом пломбирования. Цель исследования - обосновать подход к выбору реставрационного материала для лечения кариеса локализации 1 класса по Блэку жевательной группы зубов у детей на основании анализа результатов молекулярно-генетических и микробиологических исследований микробиоты, а также метаболических показателей ротовой жидкости. Исследован и проанализирован бактериальный спектр поверхности реставраций с помощью двух молекулярно-генетических методов у группы детей, прошедших стоматологическое лечение в Санкт-Петербурге. В эксперименте изучены изменения интегральных показателей ротовой жидкости пациентов детского возраста в сменном прикусе, ранее леченных с применением композитов и стеклоиономерных цементов. На основании полученных данных сделан вывод о том, что применение стеклоиономерного цемента показало большую биологическую

совместимость у детей в возрастной группе 12 лет с индексом КПУ 0,4-0,6 (P<0,05) по сравнению с полимерным композиционным материалом, что позволяет рекомендовать его преимущественное применение в данной возрастной группе. В перспективе предложенная экспериментальная технология саливадиагностики дальнейшем позволит индивидуализировать выбор пломбировочного материала, учитывая особенности стоматологического статуса и возрастную группу пациента при внедрении результатов исследования в практическую деятельность врачей-стоматологов.

Ключевые слова: кариес; микробиота; композиционные материалы; стеклоиономерные цементы

STUDY RESULTS OF THE ALTERATIONS IN THE ORAL CAVITY AFTER CARIES TREATMENT IN CHILDREN

Sokolovich N.A.(1), Klimova E.A.(1), Sarana A.A.(1,2)

[1]Saint Petersburg State University

St. Petersburg, Russia, 199034, 7/9 Universitetskaya nab., Tel. (812) 328-94-55

[2]City Hospital № 40, Saint-Petersburg, Russia

St. -Petersburg, Sestroretsk, Russia, 197706, ul Borisova, 9, Tel. (812) 437-10-35

E-mail: lun_nat@mail.ru
E-mail: biberdent@gmail.com
E-mail: dr.sarana@mail.ru

Resume.

The scientific work is based on the results of examinations of 158 pediatric patients, who were treated for dentin posterior teeth caries using restorative technique. The purpose of the study is to substantiate the approach to dental materials selection in the treatment of posterior teeth caries l according to G.V. Black Class I based on analysis of the molecular genetics tests, microbiological investigations and experiment with saliva metabolic parameters results. For the first time was analyzed the bacterial spectrum from their restoration's surfaces using two molecular genetics methods of children previously treated in Saint Petersburg. There were studied experimentally saliva integral parameters from 12-years old pediatric dental patients, who were treated using composite filling or glass ionomer cement. Based on the obtained data it was concluded that the usage of glass ionomer cement showed better biocompatibility in group of 12-years old patients with DMF-Index 0,4-0,6 ($P<0,05$) compared with composite. This fact allows us to recommend the preferential usage of this material in such group of patients. For the future proposed experimental technology of saliva diagnostics can permit to individualize the

approach to dental materials selection taking into account the dental status and age group during the implementing the research results in the practical dental clinical practice.

Key words: caries; microbiota; composite materials; glass ionomer cements

УДК 616.31-08-039.71

Введение.

Во всем мире благодаря новым технологиям не прекращается процесс совершенствования стоматологических материалов, в том числе и для детской практики путем повышения их показателей прочности и эстетики, а также биосовместимости и качества адгезии к твердым тканям зубов.

До недавнего времени при лечении детей применяли материалы с большим коэффициентом усадки и малой прочностью – стеклоиономерные цементы. Основной причиной использования являлись такие особенности материала, как относительная толерантность к отсутствию влаги в области операционного поля, экономическая доступность материала в лечебно-профилактических учреждениях и выделение фтора в окружающие ткани. Последний фактор в стоматологической науке по настоящее время считают одним из важнейших, благоприятствующих противокариозному действию материала факторов. Мало изучен вопрос экскреции материалом частиц на поверхность зуба в различные сроки после лечения у детей и не изучено влияние материала на экосистему бактерий полости рта детей.

С приходом на рынок России частной системы здравоохранения и развитием инновационных технологий появилась возможность использования высокоэстетичных материалов на основе композитов, которые требуют особого протокола работы детского стоматолога, но дают более стабильный результат в аспекте прогнозирования герметичности реставрации временных и постоянных зубов. Композиционные материалы на основе метакрилата являются наиболее распространенными на массовом стоматологическом приеме. Способность материала, содержащего в своем составе метакриловые группы, вызывать неблагоприятные реакции со стороны макроорганизма пациента и микрофлоры его полости рта является вопросом, который волнует ученых на протяжении последнего десятилетия [2,5,6]. В последние годы установлено, что антибактериальный эффект полимеров является незначительным и полимерная матрица большей частью способствует формированию микробной биоплёнки.

В ряде отечественных и зарубежных исследований установлено, что поверхность всех реставрационных материалов может служить объектом для колонизации кариесогенных бактерий. Это способно привести к изменению показателей проведенной реставрации не только с точки зрения эстетики (изменение цвета), но и качества прилегания пломбы, развития рецидива кариозного процесса и осложнений.

Метагеномные исследования микроорганизмов полости рта позволяют изучить роли патогенных видов и функции специфических генов при заболеваниях периодонта и кариесе. Основными точками приложения методов секвенирования нового поколения (далее - СНП) в области микробиологии, вирусологии и эпидемиологии являются: открытие новых бактерий и вирусов с использованием метагеномных подходов, изучение микробных сообществ различных биотопов тела здорового и больного человека, анализ вариабельности геномов возбудителей инфекционных заболеваний [1].

Все материалы, применяемые в стоматологии, в разной степени выделяют вещества в окружающие их ткани. Это может привести к разностороннему влиянию на организм пациента и потенциируемые процессы могут прямо или косвенно стимулировать реакции как немедленного, так и замедленного типа.

В практике детского стоматолога имеют место клинические случаи, когда сложно установить причину развития патологического процесса. В настоящее время исследование показателей ротовой жидкости (далее - РЖ) человека рассматривается как перспективный метод диагностики как стоматологической, так и соматической патологии, неинвазивность которого особенно ценна в детской практике [3,4].

Актуальным является поиск таких реставрационных материалов, к которым адгезия микроорганизмов была бы минимальной, и которые препятствовали бы дальнейшей микробной колонизации на поверхности пломб. Вместе с тем, меньшее внимание в литературе уделяется проблемам, связанным с особенностями влияния физиологии полости рта, включая взаимоотношение полимеров с метаболизмом, прилипанием микробов и тенденцией к формированию зубного налета.

Цель исследования – изучить характер микробиологических и биохимических изменений в полости рта после лечения кариеса зубов у детей

Задачи исследования:

1. оценить характер изменений в микробиоте полости рта пациентов после лечения кариеса с помощью методики секвенирования нового поколения
2. изучить влияние или его отсутствие стоматологических материалов на метаболические параметры ротовой жидкости

3. сделать выводы о биоинертности материалов и характере влияния на микрофлору полости рта

Материалы и методы.

Под нашим наблюдением в течение 6 месяцев находились 158 детей без общесоматической патологии, с неотягощенным аллергологическим анамнезом, ранее не применяющих антибактериальную терапию. У детей была проведена визиография ранее пломбированных витальных зубов для контроля состояния реставрации и отсутствия осложнений кариеса в зубе. Температурная реакция зубов, ранее леченных по поводу кариеса с применением материалов была положительна.

При вовлечении пациентов в группы критерием отбора было наличие в полости рта лишь одного вида применяемых материалов. Дети не предъявляли жалоб на боли. Санация пациентов группы была проведено в промежуток и варьировала от 1 месяца до 3 лет до исследования. Пациенты с декомпенсированной формой кариеса в исследование не включались.

При клиническом обследовании было установлено, что у пациентов был хороший уровень гигиены. Из анамнеза, по данным клинического обследования данных об не о повышении чувствительности на границе «пломба-зуб» или перелома реставраций выявлено не было. Эстетические нарушения реставраций по цвету или прозрачности отсутствовали. Значительных изменений или дефектов текстуры поверхности не отмечалось. Поверхность реставраций обследуемых зубов была блестящая, гладкая, без клинических признаков вторичного кариеса.

33 образца представителей каждой группы исследования были подвергнуты высокопроизводительному метагеномному секвенированию на базе Ресурсного Центра СПбГУ на секвенаторе Ion Torrent PGM (Life Technologies) на маркерные гены 16S РНК с помощью “универсальных” праймеров с высоко консервативными участками с целью видовой идентификации микробного сообщества

Материалом для исследования служила ротовая жидкость, которую получали натощак без стимуляции в количестве 2 мл в стерильные стеклянные пробирки в

количестве. В первой серии эксперимента ротовая жидкость инкубировалась с полимеризованным композиционным материалом Filtek Supreme XT, 3M ESPE. Во второй серии эксперимента – со стеклоиономерным цементом Vitremer, 3M ESPE. Третья серия служила контролем. Образцы ротовой жидкости инкубировались с 30 мг нанокомпозита и 30 мг стеклоиономера при 25˚С в течение 30 минут соответственно. Далее порции реставрационного материала удалялись, пробы охлаждались и служили источником биологического материала для изучения ферментативной активности и физико-химических параметров. Работа выполнена в соответствии с Хельсинской декларацией.

Статистическая обработка.

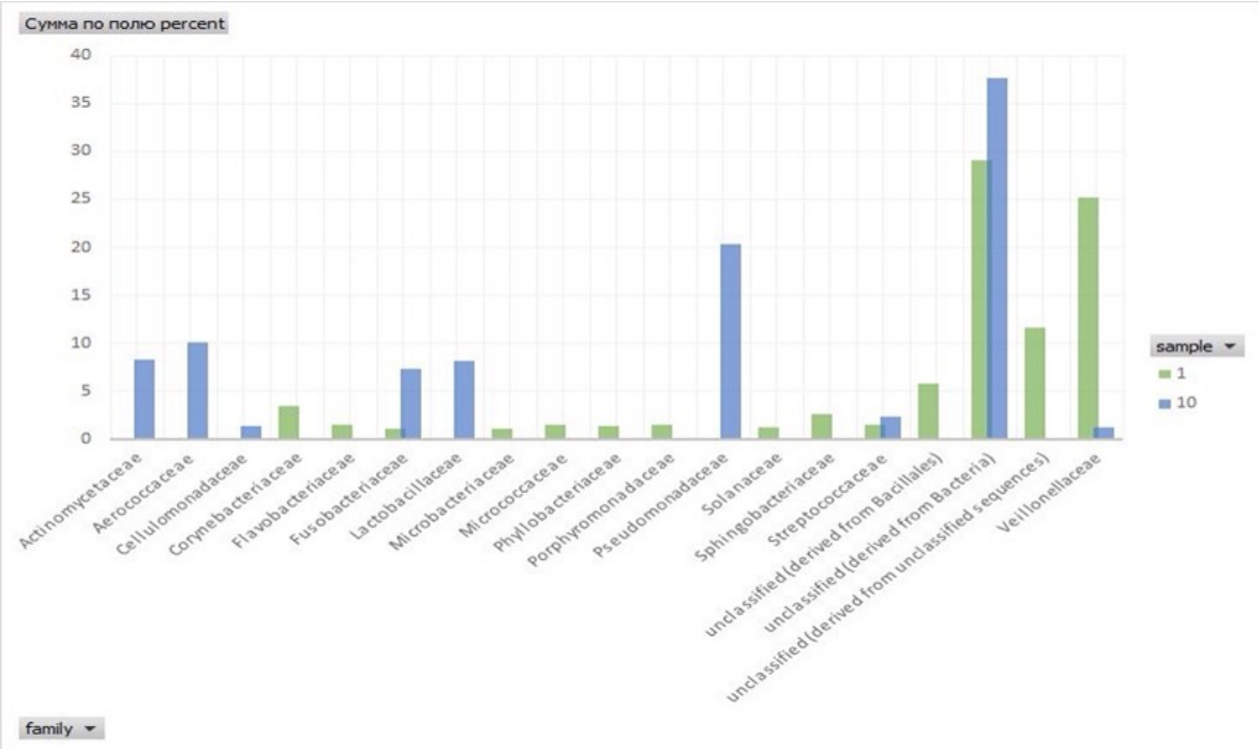
Для обработки данных нами был использован статистический анализ. Общий объем выборки составлял 158 наблюдений с помощью пакета программ StatPlus2009 Professional. Построение таблиц и диаграмм выполнено при помощи программы Microsoft Excel.

Для определения статистической значимости различия между группами использовались следующие методы: метод непараметрической статистики, Т-тест с равными дисперсиями (гомо-скедастический); метод непараметрической статистики, Т-тест с равными дисперсиями (гетеро- скедастический); метод непараметрической статистики, сравнение двух независимых выборок, тест Мана – Уитни: 1) анализ таблиц сопряженности 2 х 2; 2) критерий t – Стьюдента с течением времени.

Результаты и обсуждение.

При метагеномном исследовании образцов групп применением 2х материалов получены различные состав микробиоты на зубном налете. Образцы налета, полученные с зубов, ранее леченных с применением стеклоиономерного цемента показывали меньший спектр патогенной микрофлоры в отличии от образцов с зубов, пролеченного с применением композиционного материала (Рис.1)

Рис.1 Сравнение типичных показателей микрофлоры образцов

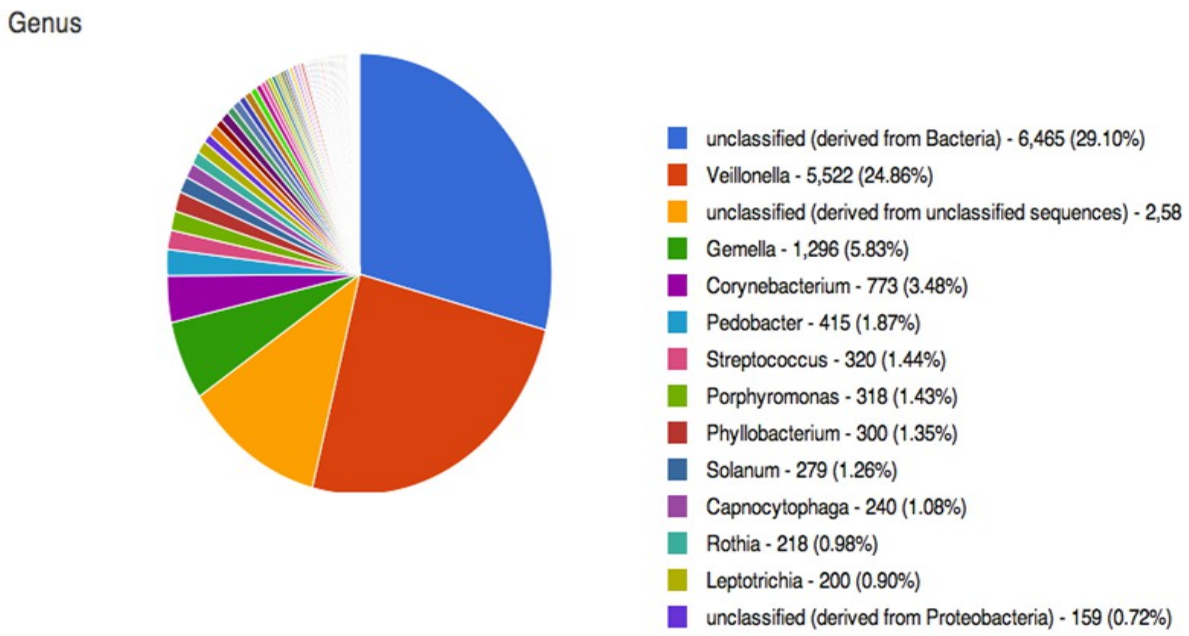


Образец 01 –после лечения кариеса с применением стеклоиономерного цемента

Образец 10 –после лечения кариеса с применением композиционного материала

В образцах, взятых с зубов с реставрациями из СИЦ отмечается преобладание бактерий семейств Veillonellaceae (анаэробные грамотрицательные кокки), Corynebacreriaceae (Грам-положительные аэробы), Sphingobacteriaceae (Рис.2).

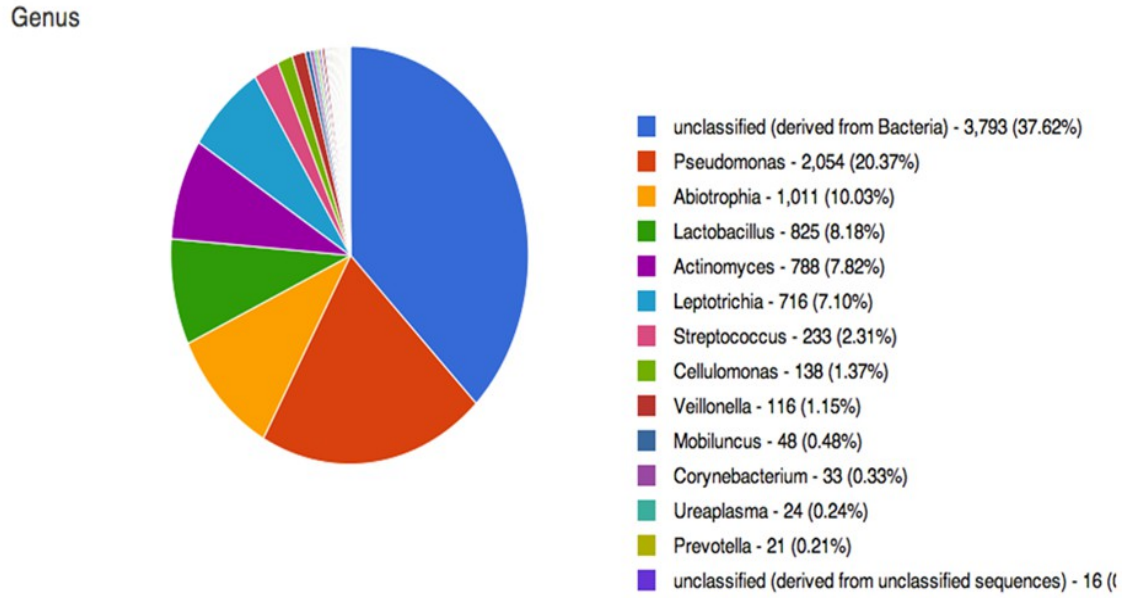
Рисунок 2. Распределение по составу микроорганизмов из образца с реставрации из стеклоиономерного цемента



В образцах с зубов, ранее леченных с применением композиционных светоотверждаемых материалов, отмечается преобладание бактерий семейств Pseudomonadaceae, Aerococcaceae, Actinomycetaceae (Рис. 3).

В результате серии биохимических исследований ротовой жидкости не было выявлено достоверных изменений pH в обеих сериях эксперимента. Эти данные свидетельствуют об относительной инертности изучаемых реставрационных материалов.

Рисунок 3. Распределение по составу микроорганизмов из образца с реставрации из композита



Однако нами установлено, что активность и лактатдегидрогеназы, и альфа-амилазы существенно возрастает под влиянием композиционного материала на основе метилметакрилата и менее значимо - под влиянием стеклоиономерного цемента.

Выводы.

По данным мы предполагаем повышение пародонтопатогенных бактерий у группы пациентов, ранее санированных с применением композита. В то же время клинически данное количество бактерий не приводит к явлениям гингивита. Нами предполагается влияние остаточного мономера композиционных материалов на жизнеспособность бактерий и на их жизнедеятельность. Микробные сообщества у индивидуумов внутри двух обследуемых групп имеют тенденции к сходству, что потенциально может говорить о воздействии материалов на окружающие ткани и биологические жидкости.

Полученные данные свидетельствуют о том, что каждый анализируемый материал обладает определенной химической активностью, показателем чего служит активация ферментов. Мы можем сделать предварительный вывод о том, что химическая структура биоматериала влияет на ротовую жидкость и состав микробиоты, что необходимо учитывать при его клиническом использовании в детской практике.

Список литературы.

1. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф. / Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями // Москва, 2014. – №2.- С.3-4

2. Климова Е.А., Соколович Н.А., Бродина Т.В./ Микробиота полости рта как ключ к пониманию кариозного процесса, состояние вопроса на 2016 год // Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. -2017,-№1 (12).- С. 54-59

3. Носков В. Б. Слюна в клинической лабораторной диагностике (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. - 2008. - № 6. - С. 14-17.

4. Парфенцева Е.А. / Новые модели определения биосовместимости материалов // Сборник тезисов конференции молодых ученых ИТМО. - Санкт-Петербург, 2012. - С. 222

5. Филиппова М.Д. / Полимерные материалы в стоматологии и возможные материал-обусловленные неблагоприятные эффекты // Материалы региональной конференции дипломированных специалистов «Молодые ученые — медицине» «Аспирантские чтения 2009». – Самара, 2009. – С. 346-348.

6. Greenwall LH. Treatment considerations for bleaching and bonding white lesions in the anterior dentition. // Alpha Omegan. 2009 Dec;102(4):121-7. P.110