

Факултет по дентална медицина  
Медицински университет – София



Faculty of Dental Medicine  
University of Medicine – Sofia

# ПРОБЛЕМИ НА ДЕНТАЛНАТА МЕДИЦИНА

## PROBLEMS OF DENTAL MEDICINE

Том 43 • 2017/2

София • 2017

**РЕДКОЛЕГИЯ**

Гл. Редактор: проф. д-р А. Филчев, дм, дмн –  
e-mail: fdent@abv.bg

Зам. гл. редактор: проф. д-р М. Рашкова, дм –  
e-mail: mayarashkova@mail.bg

**Членове:**

Проф. д-р А. Киселова-Янева, дм, дмн –  
e-mail: prof\_kisselova@yahoo.com

Проф. д-р М. Пенева, дм, дмн –  
e-mail: milenapeneva@mail.bg

Проф. д-р Р. Василева, дм –  
e-mail: etienet@abv.bg

Проф. д-р Хр. Попова, дм –  
e-mail: hrpopova@yahoo.com

Проф. д-р К. Янева, дм –  
e-mail: ribagina@hotmail.com

Доц. д-р М. Димова, дм, дмн –  
e-mail: marianadimova@abv.bg

Доц. д-р Вл. Петрунов, дм –  
e-mail: dr.petrunov@mail.bg

Доц. д-р Х. Факих, дм –  
e-mail: Khodorfakih@abv.bg

**Технически секретар:**

Ирена Тодорова –  
e-mail: ireni\_todorova@abv.bg

**EDITORIAL BOARD**

Managing editor: Prof. dr. A. Filtchev, PhD, DSc –  
e-mail: fdent@abv.bg

Scientific secretary: Prof. dr. M. Rashkova, PhD –  
e-mail: mayarashkova@mail.bg

**Members:**

Prof. dr. A. Kisselova-Yaneva, PhD, DSc –  
e-mail: prof\_kisselova@yahoo.com

Prof. dr. M. Peneva, PhD, DSc –  
e-mail: milenapeneva@mail.bg

Prof. dr. R. Vassileva, PhD –  
e-mail: etienet@abv.bg

Prof. dr. Hr. Popova, PhD –  
e-mail: hrpopova@yahoo.com

Prof. dr. K. Yaneva, PhD –  
e-mail: ribagina@hotmail.com

Assoc. prof. dr. M. Dimova, PhD, DSc –  
e-mail: marianadimova@abv.bg

Assoc. prof. dr. Vl. Petrunov, PhD –  
e-mail: dr.petrunov@mail.bg

Assoc. prof. dr. H. Fakih, PhD –  
e-mail: Khodorfakih@abv.bg

**Technical secretary:**

Irena Todorova –  
e-mail: ireni\_todorova@abv.bg

---

## СЪДЪРЖАНИЕ

### ***Протетична дентална медицина***

Влияние на наклона на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина върху естетиката на усмивката 7

Павлова, Ж., Г. Илиев

Промени в слюнката при пациенти, лекувани с двуслойни цели протези, във връзка с развитието на протезен стоматит 17

Янкова, М., Б. Йорданов, И. Митов

### ***Орална и лицево-челюстна хирургия***

Косвени методи за изследване на стабилността на имплантати –  
*литературен обзор* 27

Инджова, Ж.

Влияние на растежния фактор VEGF върху стволовоклетъчните свойства и диференциацията на клетки от периодонтален лигамент *in vitro* 39

Михайлова, З., Н. Ишкитиев, П. Станимиров, Р. Циканделова, В. Митев,  
Н. Гатева, Е. Алексиев

### ***Консервативно зъболечение***

*In vitro* изследване биодеграцията на два нискосвиваеми композита в среда от изкуствена слюнка 47

Янчева, С., Р. Василева, В. Лозанов

Приложение на модифицирани крайници на пулсов оксиметър за диагностика на състоянието на зъбната пулпа 55

Костурков, Д., Ц. Узунов

Биодеграцията на композиционни материали – *литературен обзор* 61

Янчева, С.

### ***Детска дентална медицина***

Микробни асоциации от субгингивални микроорганизми при деца с плаково индуциран гингивит 71

Митова, Н., М. Рашкова, Хр. Попова

Дълбочина на гингивален сулкус при здрави деца със зъби в пробив 79

Митова, Н., М. Рашкова, Хр. Танкова

***Защитени дисертации за придобиване на образователна и научна степен „доктор“ във Факултет по дентална медицина на Медицински университет – София*** 87

***Изисквания към авторите*** 95

***Етични норми за изследвания и публикуване*** 98

**ISSN 2367-8518**

Списанието „Проблеми на денталната медицина” е рецензирано официално издание на Факултета по дентална медицина към Медицинския университет в София. Започва да излиза през 1973 г. като „Проблеми на стоматологията”, а от 2006 г. името му е сменено във връзка с промяната на специалността „стоматология” в „дентална медицина”.

The journal “Problems of Dental Medicine” is peer-reviewed official edition of Faculty of Dental Medicine, Medical University – Sofia. First published in 1973 as “Problems of Stomatology”, and since 2006 its name was changed to “Problems of Dental Medicine” because the name of the speciality “Stomatology” was changed to “Dental Medicine”.

**Факултет по дентална медицина – МУ София**

1431, бул. ”Св. Георги Софийски” № 1

**Faculty of Dental Medicine, Medical University – Sofia**

1 G. Sofiiski Str., 1431, Sofia, Bulgaria

Електронен вариант на списанието

„Проблеми на денталната медицина” може да бъде намерен на сайта на ФДМ –

<http://www.fdm.mu-sofia.bg/>

Online version of the journal is available at

<http://fdm.mu-sofia.bg/?q=node/321>

---

---

**CONTENTS*****Prosthetic Dental Medicine***

Influence of canine inclination to sagittal plane on smile aesthetics 7  
Pavlova, J., G. Iliev

Changes in saliva at patients, treated with two-layer complete dentures, in relation  
to the development of denture stomatitis 17  
Yankova, M., B. Yordanov, I. Mitov

***Oral and maxillofacial surgery***

Indirect methods for implant stability measurements – *literature review* 27  
Indjova, J.

Effect of VEGF on stem cell and differentiation properties of periodontal ligament  
cells in vitro 39  
Mihaylova, Z., N. Ishkitiev, P. Stanimirov, R. Tsikandelova, V. Mitev,  
N. Gateva, E. Aleksiev

***Conservative Dentistry***

In vitro biodegradation of two low-shrinkage composite materials during artificial  
saliva storage 47  
Yantcheva, S., R. Vasileva, V. Lozanov

Application of modified probes of pulse oximeter for diagnosis of the condition  
of the pulp 55  
Košturkov, D., Ts. Uzunov

Biodegradation of Composite Materials – *literature review* 61  
Yantcheva, S.

***Pediatric Dentistry***

Microbial associations of subgingival microorganisms in children with  
plaque-induced gingivitis 71  
Mitova, N., M. Rashkova, Hr. Popova

Gingival sulcus depth in healthy children with teeth in eruption 79  
Mitova, N., M. Rashkova, Hr. Tankova

***Defended PhD theses at Faculty of Dental Medicine, Medical University – Sofia*** 87

***Author Guidelines*** 95

***Ethical standards for research and publication*** 98

---



**Протетична дентална медицина****Влияние на наклона на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина върху естетиката на усмивката**Павлова, Ж.<sup>1</sup>, Г. Илиев<sup>2</sup>**Influence of canine inclination to sagittal plane on smile aesthetics**Pavlova, J.<sup>1</sup>, G. Iliev<sup>2</sup>**Резюме**

Според съвременните тенденции оценката на естетиката на усмивката става в динамика, като се отчита изгледът в анфас и профил. При изграждане на естетична зъбна композиция, чрез нареждането на кучешките зъби може да се постигнат нюанси, изразяващи индивидуалността на дадено съзъбие.

**Цел:** да се установи значението на наклона на горния кучешки зъб спрямо сагиталната равнина върху естетиката на усмивката, в профил и анфас.

**Методика:** Проведено е анкетно проучване сред 114 лица – 63 студенти по дентална медицина в ФДМ, МУ – София и 51 пациенти с частични или цели протези. Направена е компютърна симулация на наклона на горните кучешки зъби спрямо сагиталната равнина, чрез програмата CorelDRAW Graphics Suite X6. Възпроизведени са пет наклона: 7°, 9°, 11°, 13° и 15°. На анкетиранията лица са предложени два пет-елементни панела от снимки – в профил и анфас, за оценка на естетиката на съзъбието.

**Резултати:** Определени са праговете на приемливост за наклона на кучешкия зъб, чрез оценка на естетиката.

**Заключение:** За постигане на добър естетичен ефект при протезиране, наклонът на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина може да варира в диапазон от 9° до 13°, включително, според желанието на пациента. Наклонът на кучешкия зъб към сагиталната равнина оказва по-голямо влияние върху естетиката на усмивката в профил, отколкото върху естетиката на усмивката в анфас.

**Ключови думи:** естетика на усмивката; горни кучешки зъби; сагитална равнина

**Summary**

Modern tendencies are the assessment of the aesthetics of the smile to be done in dynamics, taking into account the appearance in the full face and profile. When creating an aesthetic dental composition, the canine teeth can give characteristics expressing the individuality of a certain dentition.

**Aim:** Establishing the influence of upper canine inclination relative to sagittal plane on profile and full face smile aesthetics.

<sup>1</sup>Доцент в МУ – София, ФДМ, Катедра Протетична Дентална медицина

<sup>2</sup>Асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Протетична Дентална медицина

<sup>1</sup>Associate professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry

<sup>2</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry

**Materials and methods:** 114 surveyed persons. 63 FDM, MU Sofia students. 51 patients with partially or completely removable dentures. The CorelDRAW Graphics Suite X6 software performed the upper canine inclination relative to sagittal plane simulations. Five types of inclinations were reproduced – 7°, 9°, 11°, 13° and 15°. The respondents assessed the aesthetics of two setups of different profile and full face canine angulation images.

**Results:** Canine inclination introduces different levels of aesthetics evaluation.

**Conclusion:** To achieve good aesthetics during prosthetics treatment, the inclination of the canine tooth relative to the sagittal plane should vary between 9° and 13° to comply with patients' preferences.

The canine inclination relative to the sagittal plane has a bigger impact on profile smile aesthetics than on full face smile aesthetics.

**Key words:** smile aesthetics; upper canines; sagittal plane

Естетичният вид на усмивката е от съществена важност за самочувствието на пациента, оказва психологическо въздействие и има отношение към социалната му реализация. Хората с красиви зъби и усмивки са считани за по-привлекателни, по-интелигентни, и по-популярни пред срещуположния пол [1]. Предложени са различни методи за постигането на тези положителни ефекти. Повечето изследвания са насочени към определяне на атрактивността на усмивка, в анфас, като е оценявано предимно значението на резците – наклон, позиция, съотношения с меки тъкани [2, 3]. Проучвано е влиянието на много фактори върху естетиката на усмивката: различни ширини на диастема и на букални коридори, нива на експозицията на венеца, промени в средната линия и дължината на коронките на горните резци [4, 5, 6, 7].

Geron и Atalia [8] изследват вариациите в наклона на инцизивната равнина и в експозицията на гингивалните ръбове на горните и долните зъби при усмивка.

Естетичните критерии за позиционирането на зъбите трябва да се прилагат в съображение с цялостната визия, като елемент на макроестетиката [9]. Доказано е значението на профила за цялостната естетика на лицето на индивида [10]. Оценката на усмивката трябва да става в динамика, като се отчита изгледът в

анфас, полупрофил и профил [11, 12]. Лекарят по дентална медицина трябва да има предвид както фронталният изглед, така и изгледът в профил при планиране на протетичното лечение, с цел постигане на оптимална естетика [13, 14, 15].

Според Kerns и кол. [14] при някои конфигурации на усмивката визията в профил на пациента има дори по-голямо значение за естетиката, отколкото визията в анфас.

Изследвани са предпочитаните наклони на горните централни резци на усмивки в профил, в съображение с различни позиции на долната челюст. Като неатрактивни са определени най-екстремните отклонения на резците назад при ортогнатно положение на долната челюст [16, 17].

При изграждане на естетична зъбна композиция не може да бъде пренебрегнато значението на кучешките зъби. Те осигуряват поддръжката на меките тъкани в ъглите на устата и коректното определяне на тяхната позиция носи важна информация за изборът на размера на горните предни зъби. Редица анатомични ориентери се използват за нареждане на кучешките зъби за цели протези: ширината на носа, отстояние от *papilla incisiva*, линията, очертана между вътрешният ъгъл на око и крилото на носа [18]. Чрез нареждането на кучешките зъби може да се постигнат

нюанси изразяващи индивидуалността на дадено съзъбие [19].

Проучван е ефектът от различен буколингвален наклон на горните канини върху атрактивността на усмивката в профил. Може да бъде определена като удовлетворителна позиция между  $0^\circ$  и  $7^\circ$  наклон за канините при оценка от ортоданти и съответно от  $3^\circ$  до  $10^\circ$  наклон за канините, когато ги оценяват непрофесионалисти [20].

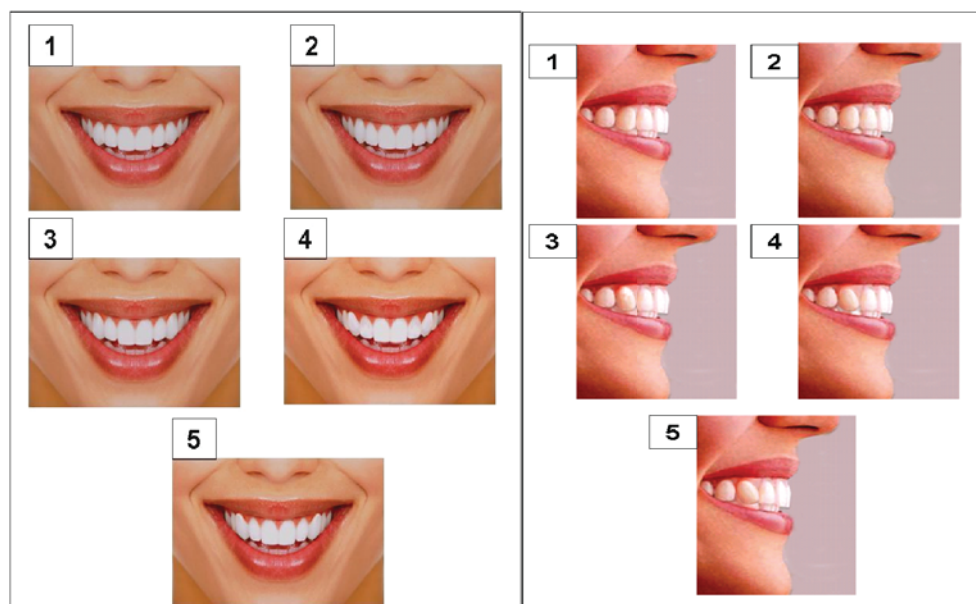
При изследвания на позициите на зъбите спрямо сагиталната равнина са открити повече вътрегрупови различия при оценка по едни и същи критерии [21].

При изграждане на денталната композиция, освен анатомичните дадености трябва да се отчитат и етническите особености, половите и възрастовите различия и желанията на пациента относно естетиката [21, 22].

**Целта на изследването** е да се установи значението на наклона на горния кучешки зъб спрямо сагиталната равнина върху естетиката на усмивката, в профил и в анфас.

### Материал и метод

Проведено е анкетно проучване сред 114 лица – 63 (27 мъже и 36 жени) студенти от 2-ри и 4-ти курс по дентална медицина в ФДМ, МУ – София и 51 (19 мъже и 32 жени) пациенти с частични или цели протези. Студентите от 2-ри курс имат предклиничен опит в изработването на частични и цели протези, а студентите от 4-ти курс имат клиничен опит в протезирането на пациенти с частични и цели протези. На анкетираните лица са предложени два пет-елементни панела от снимки – в профил и анфас, за оценка на естетиката на съзъбието по шестобалната система (фиг. 1).



**Фиг. 1.** Пет-елементни панели от снимки, в анфас и в профил, с компютърна симулация на наклона на кучешките зъби, спрямо сагиталната равнина, съответно: № 1 –  $7^\circ$ ; № 2 –  $9^\circ$ ; № 3 –  $11^\circ$ ; № 4 –  $13^\circ$ ; № 5 –  $15^\circ$

За подготвяне на снимките, включени в панелите беше използвана следната методика: беше избрана жена на 23 г. с интактно съзъбие и ортогнатно разположение на зъбите, без

отклонения от нормата. Целенасочено беше избран пробант, при който при максимална усмивка се експонират всички фронтални зъби до шийките, както в анфас, така и в профил.

Вляво и вдясно на пациента беше установен еднакъв наклон от  $9^\circ$  на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина.

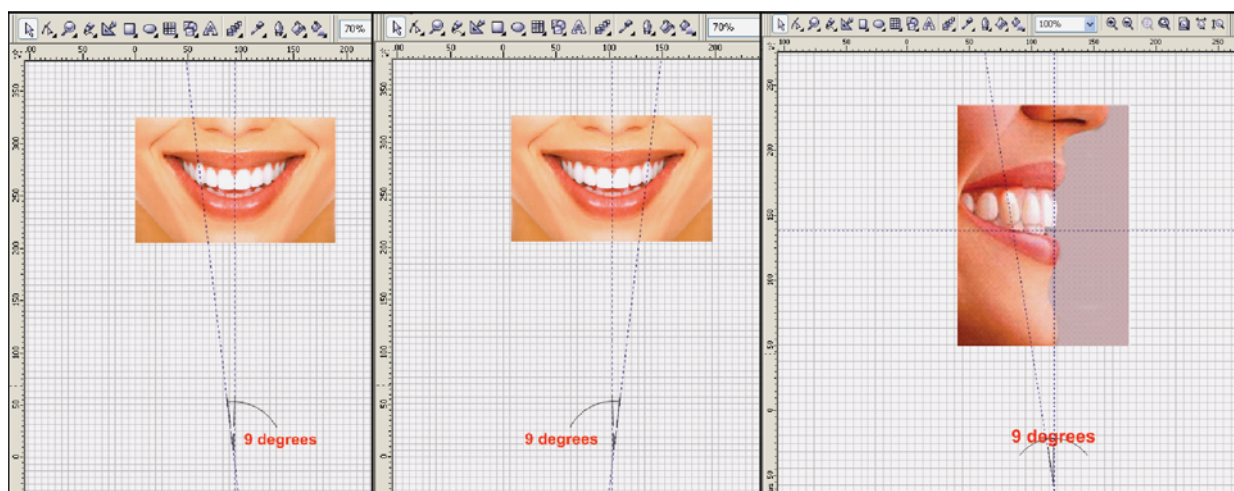
Бяха направени две дигитални фотоснимки – в анфас и в профил, при максимална усмивка и стандартизирани условия с фотоапарат Benq-DC S1230.

Изследваното лице бе поставено на стол така, че Франкфуртската равнина да бъде успоредна на пода и на височина 120 cm от него. Фотоапаратът беше фиксиран на фотографски статив на разстояние 120 cm от пода и на 50 cm от снимания обект.

Според класическия метод за нареждане на зъбите по Гизи [23, 24] наклонът на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина може да варира от  $7^\circ$  до  $10^\circ$ - $11^\circ$ . За целта на изследването върху дигиталните снимки беше направена

компютърна симулация на наклона на горните кучешки зъби спрямо сагиталната равнина, чрез програмата CorelDRAW Graphics Suite X6. Бяха възпроизведени три наклона, характерни за нареждане по Гизи:  $7^\circ$ ,  $9^\circ$  и  $11^\circ$  и два по-екстремни наклона:  $13^\circ$  и  $15^\circ$ , за да се определи границата на приемливост по отношение на естетиката.

В програмата беше импортирана снимка на пациента в анфас и в профил. Върху всяка снимка бяха маркирани: фронталният участък на оклузалната равнина като линия, минаваща през режещите ръбове на инцизивите и средната линия на лицето, минаваща през инцизивната точка. През тях бяха спуснати спомагателни линии (водачи), (фиг. 2). Бяха маркирани още зенита на шийката и върха на кучешките зъби и през тях беше спусната спомагателна линия (водач).



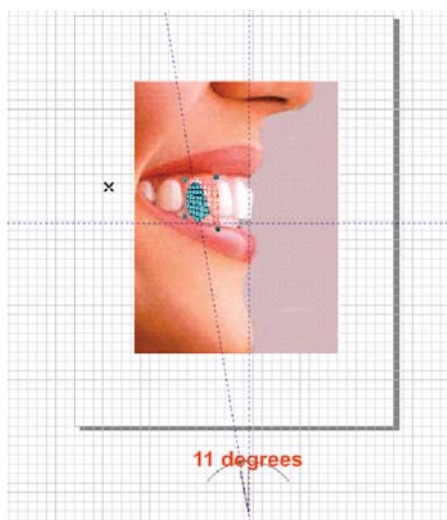
Фиг. 2. Импортирана в програмата снимка на пациента, в анфас и в профил, с поставени спомагателни линии – водачи

Отчитайки факта, че при реална промяна на наклона на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина, върху двуизмерна снимка ще се получи промяна, освен в позицията на зъба и във видимата площ от него, чрез очертаване на контурите на горния кучешки зъб върху снимките в анфас и в профил, беше създаден виртуален обект – контур на горен кучешки зъб (ляв и десен за снимките в анфас), фиг. 3.

При ротация спрямо средната линия със стъпка от  $2^\circ$ , виртуалният образ променя не само позицията си, но съответно на преместването и видимата площ.

Виртуалният образ със съответния наклон беше налаган върху кучешкия зъб на снимката. С помощта на инструментите на програмата CorelDRAW Graphics Suite X6, кучешкият зъб от снимката на пациента беше изрязван, ротиран,

приведен в големина и позиция, съответни на виртуалния образ и отново интегриран в снимката на пациента.



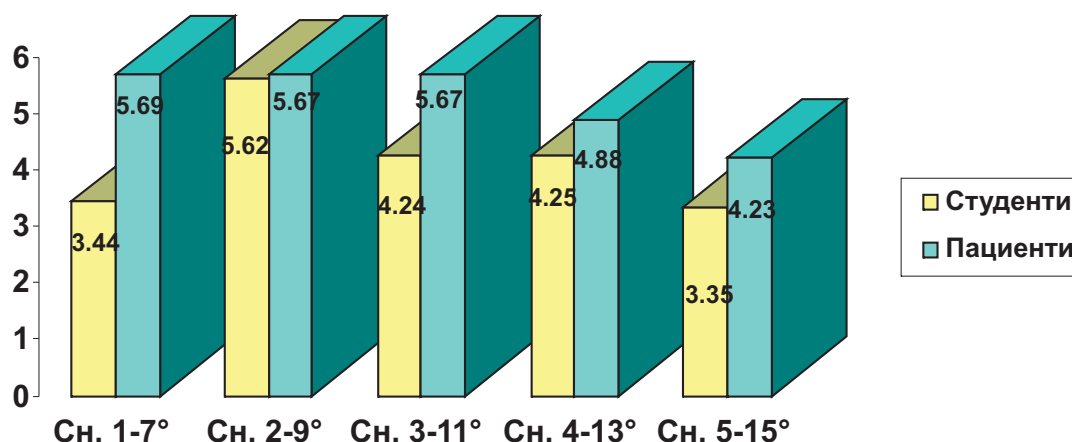
Фиг. 3. Изграждане на виртуален образ на горен кучешки зъб с наклон към сагиталната равнина 11°

Оценките дадени от анкетираните лица за естетиката на така създадените усмивки бяха нанасяни в анкетни карти. Получените данни са обработени статистически с програма Microsoft Office Excel 2010 като е направен корелационен анализ. Като ниво на значимост при статистическата обработка на резултатите беше прието  $\alpha = 0.05$ .

### Резултати

След обработка на данните от анкетата, беше изчислена средна аритметична оценка за всяка снимка, съответно в анфас и в профил (фиг. 4).

Снимка № 1 с наклон на кучешките зъби към сагиталната равнина от 7°, получава средна оценка 3.44 от студентите и „отличен“ 5.69 от пациентите.



Фиг. 4. Средни аритметични оценки на снимките в анфас, получени след анализ на данните от анкетата на студенти и пациенти

Над 2/3 от пациентите определят усмивката на снимка № 1 като много естетична. Тя получава отлична оценка от 37 (72.55%) пациенти, а оценка „много добър“ от 12 (23.53%) от тях (табл. 1). Двама от пациентите (3.92%) я оценяват с „добър“, а средни и слаби оценки на тази снимка в анфас не са поставени.

Доста различно е мнението на студентите относно естетиката на усмивката в анфас

при този наклон на кучешките зъби. Отлична оценка ѝ поставят 9 (14.28%) студенти, а „много добър“ – 6 (9.52%).

Около 60% от студентите я определят за неестетична, като 19 (30.16%) от тях ѝ дават оценка „среден“, а 20 (31.75%) – оценка „слаб“.

Разликата между оценките за естетиката на снимка № 1 в анфас на непрофесионалистите

и студентите по дентална медицина е със статистическа значимост –  $p < 0.05$ .

Това показва, че при изследване на позицията на кучешките зъбите спрямо сагиталната равнина, се откриват повече вътрегрупови различия при оценка по едни и същи критерии, подобно на намерени в денталната литература данни [21].

Усмивката на снимка № 2 с наклон на кучешките зъби към сагиталната равнина от  $9^\circ$ , получава най-високо одобрение на естетиката, както от студентите, така и от пациентите. Средната аритметична оценка на студентите за тази снимка е отличен 5.62, а на пациентите – отличен 5.67. Най-голям брой от студентите – 48 (76.19%) оценяват с „отлична” оценка именно снимка № 2. Същата оценка ѝ поставят и 36 (70.59%) пациенти. Оценка „много добър” дават 9 (14.28%) от студентите и 13 (25.49%) от пациентите, т.е. около 90% от всички

изследвани лица считат, че усмивката в анфас с наклон на кучешките зъби от  $9^\circ$  може да се определи като най-атраaktivна.

Снимка № 3 в анфас, с наклон на кучешките зъби към сагиталната равнина от  $11^\circ$ , получава средна оценка 4.24 от студентите и отличен 5.67 от пациентите.

Тя получават „отлична” оценка от 2/3 – 37 (72.55%) пациенти и от 9 (14.28%) студенти. Останалите 1/3 от пациентите я оценяват с „много добър” – 11 (21.57%) и с „добър” – 3 (5.88%).

Въпреки, че броят на оценките „много добър” е по-голям – 18 (28.57%), средната оценка е по-ниска, тъй като половината от студентите определят естетиката ѝ като не достатъчно атраaktivна и поставят оценки „добър” и „среден”. Разликата в разпределението на оценките „отличен”, „добър” и „среден”, на студенти и пациенти е със статистическа значимост, като  $p < 0,05$ , съответно  $p = 0.0001$ ,  $p = 0.0009$ ,  $p = 0.0004$ .

Таблица 1. Разпределение на оценките за снимките в анфас, по групи на изследваните лица

АНФАС																
СН. №	СН. № 1			СН. № 2			СН. № 3			СН. № 4			СН. № 5			
Наклон на канините	$7^\circ$			$9^\circ$			$11^\circ$			$13^\circ$			$15^\circ$			
Студенти n = 63	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	
Оценка																
6	9	14.28	0.04	48	76.19	0.05	9	14.28	0.04	9	14.28	0.04	4	6.35	0.03	
5	6	9.52	0.03	9	14.28	0.04	18	28.57	0.06	22	34.92	0.06	8	12.70	0.04	
4	9	14.28	0.04	3	4.76	0.03	19	30.16	0.06	12	19.05	0.05	16	25.40	0.05	
3	19	30.16	0.06	3	4.76	0.03	13	20.63	0.05	16	25.40	0.05	13	20.63	0.05	
2	20	31.75	0.06	0	0	0	4	6.35	0.03	4	6.35	0.03	14	22.23	0.05	
Общо	63	100	--	63	100	--	63	100	--	63	100	--	63	100	--	
Пациенти n = 51	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	бр.	%	Sp	
Оценка																
6	37	72.55	0.06	36	70.59	0.06	37	72.55	0.06	18	35.29	0.07	15	29.41	0.06	
5	12	23.53	0.06	13	25.49	0.06	11	21.57	0.05	14	27.45	0.06	4	7.84	0.04	
4	2	3.92	0.03	2	3.92	0.03	3	5.88	0.03	14	27.45	0.06	16	31.37	0.06	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	9.81	0.04	10	19.62	0.05	
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	11.76	0.04	
Общо	51	100	--	51	100	--	51	100	--	51	100	--	51	100	--	

Усмивката на снимка № 4 в анфас, с наклон на кучешките зъби към сагиталната равнина от  $13^\circ$ , получава средна оценка 4.25 от студентите и 4.88 от пациентите.

Снимка № 4 получава отлична оценка от 18 (35.29%) пациенти и само от 9 (14.28%) студенти, като разликата е със статистическа значимост –  $p = 0.0084 < 0.05$ .

С оценка „много добър” я оценяват по-голям брой от студентите – 22 (34.92%) лица и 14 (27.45%) от пациентите.

Прави впечатление, че около  $1/4$  – 25.40% от студентите не одобряват естетиката на усмивка и ѝ поставят оценка „среден”, а 4 (6.35%) я определят като напълно неприемлива и ѝ дават оценка „слаб”. Само 5 (9.81%) пациенти оценяват тази усмивка със „среден”, а оценка „слаб” не е дадена. Разликата в разпределението на средните и слаби оценки между студенти и пациенти и тук е със статистическа значимост –  $p = 0.0328 < 0.05$ .

Усмивката на снимка № 5 в анфас, с наклон на кучешките зъби към сагиталната равнина от  $15^\circ$ , получава средна оценка 3.35 от студентите и 4.23 от пациентите.

Снимка № 5 получава „отлична” оценка от 15 (29.41%) пациенти и едва от 4 (6.35%) от студентите, като разликата е със статистическа значимост –  $p = 0.00086 < 0.05$ .

За  $1/4$  (25.40%) от студентите естетиката на тези усмивка е „добра”, като такава дават и 31.37% от пациентите.

Около 40% от студентите смятат, че естетиката на тази усмивка не е достатъчно добра и я оценяват със „среден” или „слаб”, докато подобно мнение изказват два пъти по-малко пациенти. Разликата в разпределението на слабите оценки, дадени на снимката с най-екстремен наклон на кучешките зъби е статистически значима.

Няма статистическа значима разлика между оценките, дадени от мъже и жени, на снимките в анфас. За всички отговори  $p > 0.05$ .

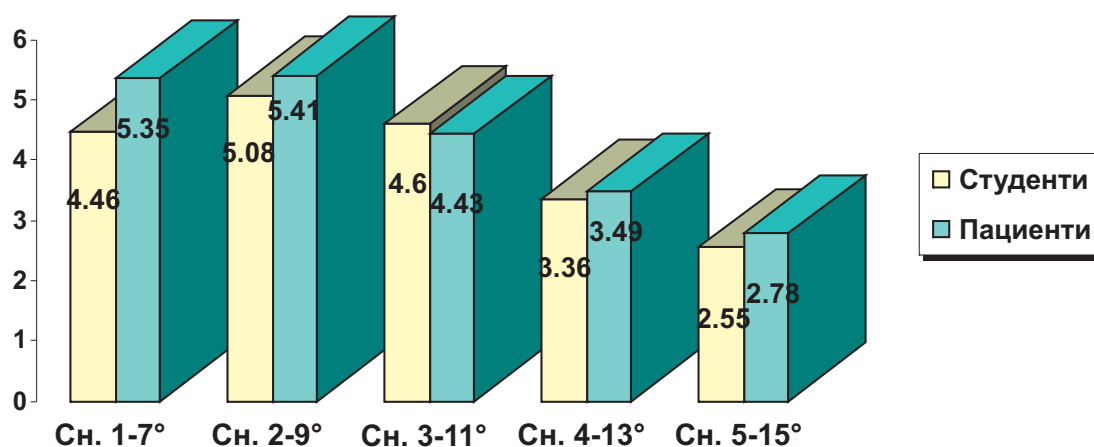
Снимка № 1 получава средна оценка 4.46 от студентите и 5.35 от пациентите. При оценка на снимките в профил, снимка № 1 е определена като такава с „отлична” или „много добра” естетика, от почти половината пациенти – 47.06% и от около  $1/4$  (25.99%) от студентите (табл. 2).

В сравнение с оценката на същата снимка в анфас, одобрението на студентите е по-високо, но все още е почти два пъти по-ниско от това на пациентите. Разликата между оценките на студенти и пациенти и тук е със статистическа значимост –  $p = 0.0024$ .

За 13 (20.63%) от студентите снимка № 1 е с „добра” естетика, 14 (22.23%) я оценяват със „среден”, а за 4 (6.35%) е абсолютно неприемлива и я оценяват със „слаб”.

Само 5.88% от пациентите дават на снимка № 1 оценка под „много добър” и нито един не я оценява със „слаб”.

Снимка № 2 с наклон на кучешките зъби спрямо сагиталната равнина от  $9^\circ$  получава средна оценка 5.08 от студентите и 5.41 от пациентите.



Фиг. 5. Средни аритметични оценки на снимките в профил, получени след анализ на данните от анкетата на студенти и пациенти

Най-голям брой 24 (30.09%) от студентите оценяват тази снимка с „отлична” оценка. Тя получава и значителен брой оценки „много добър” – от 26 (41.27%) студенти. Повече от половината пациенти – 58,82% също дават най-висока оценка на снимка № 2, а 1/3 от тях я преценяват като такава с много добра естетика.

Снимка № 3, с наклон на кучешките зъби от 11° получава средна оценка 4.60 от студентите и 4.46 от пациентите.

Тя е оценена от преобладаваща част от студентите – от 22 (34.92%) лица – с „много добър”, а 1/5 от тях определят естетиката ѝ дори като „отлична”. Около 1/3 (30.16%) смятат, че може да се определи като „добра”.

Таблица 2. Разпределение на оценките за снимките в профил, по групи на изследваните лица

ПРОФИЛ															
СН.№	СН. № 1			СН. № 2			СН. № 3			СН. № 4			СН. № 5		
Наклон на канните	7°			9°			11°			13°			15°		
Студенти n = 63	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp
Оценка															
6	18	28.57	0.06	24	38.095	0.06	13	20.63	0.05	2	3.17	0.02	3	4.76	0.03
5	15	23.81	0.05	26	41.27	0.06	22	34.92	0.06	5	7.94	0.03	3	4.76	0.03
4	13	20.63	0.05	6	9.52	0.03	19	30.16	0.06	14	22.23	0.05	4	6.35	0.03
3	14	22.23	0.05	6	9.52	0.03	6	9.52	0.03	35	55.56	0.06	5	7.94	0.03
2	4	6.35	0.03	0	0	0	2	3.17	0.02	7	11.12	0.04	47	74.60	
Общо	63	100	--	63	100	--	63	100	--	63	100	--	63	100	--
Пациенти n = 51	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp	Бр.	%	Sp
Оценка															
6	22	43.14	0.07	30	58.82	0.07	7	13.725	0.05	4	7.84	0.04	1	1.96	0.02
5	26	50.98	0.07	17	33.34	0.06	15	29.41	0.06	3	5.88	0.03	3	5.88	0.03
4	2	3.92	0.03	4	7.84	0.04	22	43.14	0.07	16	31.37	0.06	4	7.84	0.04
3	1	1.96	0.02	0	0	0	7	13.725	0.05	19	37.25	0.07	19	37.25	0.07
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	17.65	0.05	24	47.05	0.07
Общо	51	100	--	51	100	--	51	100	--	51	100	--	51	100	--

Най-голяма част от пациентите – 22 (43.14%) – оценяват снимка № 3 с „добър”, а 1/3 – с оценка „много добър”.

И студенти и пациенти приемат като снимките в профил с наклон на канните от 11° като достатъчно естетични.

Преобладаващите оценки за естетиката на усмивката в профил при наклон на кучешките зъби спрямо сагиталната равнина от 13° варират между „добър” и „среден”. Снимка № 4, в профил, се оценява от около 20% от студентите с оценка „добър”, а повече от половината студенти – 55.56% ѝ дават оценка „среден”.

Пациентите споделят подобно мнение: 16 (31.37%) я оценяват с оценка „добър”, а 19 (37.25%) ѝ дават оценка „среден”.

Все пак около 11% от студентите и 13% от пациентите определят естетиката на снимката като „отлична” или „много добра” и биха предпочели такова нареждане на зъбите.

Като напълно неприемлива я определят едва 7 (11.12%) от студентите и 9 (17.65%) от пациентите.

Това разпределение на оценките показва, че наклонът на кучешките зъби от 13° се възприема като подходящ и може да бъде предпочетен от някои пациенти като атрактивен при

изграждане на дизайна на усмивката, особено ако се цели придаване на по-естествени вид на протезната конструкция.

Студентите категорично определят снимка № 5 в профил като най-неестетична – 47 (74.60%) ѝ дават оценка „слаб”. Пациентите споделят това мнение, като също почти половината от тях – 47.05% я оценяват с най-ниската оценка. За около 13% от пациентите естетиката на тази усмивка е от „отлична” до „добра”. Също за немалка част от пациентите – 37.25% – естетиката при този наклон на кучешките зъби е относително приемлива и получава оценка „среден”.

Няма статистическа значима разлика между оценките, дадени от мъже и жени, на снимките в профил. За всички отговори  $p > 0.05$ .

### Дискусия

При анализ на данните прави впечатление, че повече пациенти дават по-високи оценки на снимките в анфас с по-голям наклон на кучешките, в сравнение със студентите. Около 1/3 от пациентите дават отлични оценки и на снимките с по-екстремен наклон на кучешките зъби от  $13^\circ$  и  $15^\circ$ .

Например, макар, че мнението на преобладаващата част от пациенти и студенти по отношение на естетичната визия на снимка № 4 в анфас се припокрива, пациентите показват по-висока приемливост към тази позиция на кучешките зъби. Това показва по-толерантното приемане на екстремния наклон от непрофесионалистите.

Вероятно пациентите имат по-нисък праг на чувствителност спрямо този показател при оценка на визията в анфас. Това се потвърждава от факта, че над 70% от пациентите дават „отлична” оценка на 3 от снимките в анфас – с наклони  $7^\circ$ ,  $9^\circ$  и  $11^\circ$ , като 11% от тях определят тези снимки като „еднакви”, т.е. не виждат разликите в наклона на кучешките зъби.

Високите оценки, които получават снимките в анфас, от пациентите, включително тези с по-екстремни наклони на кучешките зъби към сагиталната равнина, показват, че този показател, не оказва съществено влияние върху естетиката на усмивката в анфас за непрофесионалистите.

Интересен е фактът, че студентите оценяват като еднакво неатраaktivни в анфас усмивките с наклон от  $7^\circ$  и тези с наклон от  $15^\circ$ . Предпочитанията на студентите вероятно са повлияни от обучението, относно правилното разположение на кучешките зъби в зъбната редица при ортогнатично съотношение на челюстите.

Анализът на данните от оценка на естетиката в профил показва, че около 30% от снимките с един и същи наклон на кучешките зъби, получават по-ниски оценки, отколкото тези в анфас. Това ни дава основание да считаме, че наклонът на кучешкия зъб към сагиталната равнина оказва по-голямо влияние върху естетиката на профила, отколкото върху визията в анфас.

Потвърждава се мнението на редица автори за значението на позицията на кучешките зъби за постигането на балансирана естетична зъбна композиция, изразяваща индивидуалността на дадено съзъбие [19, 20].

Споделяме съвременното виждане на авторите [10, 13, 14], че визията в профил на пациента е важна за цялостната естетика, и лекарят по дентална медицина трябва да го има предвид при планиране на протетичното лечение.

Поддържаеме становището на Sarver D. M. и Askerman M. B. [15], че при изясняване на изискванията на пациента и определяне на естетичните параметри на бъдещата протезна конструкция е необходимо да се анализират в динамика индивидуалните особености на усмивката като според нас е задължително да се отчитат и особеностите на профила, в частност позицията на кучешките зъби.

От проведено изследване за установяване на значението на наклона на горния кучешки зъб спрямо сагиталната равнина върху естетиката на усмивката, в профил и в анфас, може да бъдат направени следните **изводи**:

1. Като най-естетични са оценени усмивките с наклон на канините към сагиталната равнина от  $9^\circ$ .

2. Като най-неестетични са оценени усмивките с наклон на канините към сагиталната равнина от  $15^\circ$ . Такава оценка дават на снимките в анфас 1/3 от анкетираните лица, а на тези в профил – 2/3 от тях.

3. За постигане на добър естетичен ефект при протезиране, наклонът на кучешкия зъб спрямо сагиталната равнина може да варира в диапазон от 9° до 13°, включително, според желанието на пациента.

4. Наклонът на кучешкия зъб към сагиталната равнина оказва по-голямо влияние върху естетиката на усмивката в профил, отколкото върху естетиката на усмивката в анфас.

### Библиография:

1. Shaw WC, Rees G, Dawe M, Charles CR. The influence of dentofacial appearance on the social attractiveness of young adults. *Am J Orthod.* 1985; 87(1):21-6.
2. Sarver, D. M. The importance of incisor positioning in the esthetic smile: The smile arc. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2001;120(2):98-111.
3. Wolfrat S, Brunzel S, Freitag S, Kern M. Assessment of dental appearance following changes in incisor angulation. *Int. J. Prosthodont.* 2004;17(2): 150-4.
4. Bukhary SM, Gill DS, Tredwin CJ, Moles DR. The influence of varying maxillary lateral incisor dimensions on perceived smile aesthetics. *Br. Dent. J.* 2007; 203(12):687-93.
5. Gracco A, Cozzani M, Elia LD, Manfrini M, Prevada C, Siciliani G. The smile buccal corridors: aesthetic value for dentists and laypersons. *Prog. Orthod.* 2006;7(1):56-5.
6. Pinho S, Ciriaco C, Faber J, Lenza MA. Impact of dental asymmetries on the perception of smile esthetics. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 2007; 132(6):748-53.
7. Ritter DE, Gandini LG, Ados SP, Locks A. Esthetic influence of negative space in the buccal corridor during smiling. *Angle. Orthod.* 2006;76(2): 198-3.
8. Geron S, Atalia W. Influence of sex on the perception of oral and smile esthetics with different gingival display and incisal plane inclination. *Angle. Orthod.* 2005;75(5):778-84.
9. Morley J, Eubank J. Macroesthetic elements of smile design. *J Am Dent Assoc.* 2001; 132(1):39-5.
10. Trehan MZ, Naqvi A, Sharma S. Perception of Facial Profile: How You Feel About Yourself. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2011; 4(2):109-11.
11. Desai S, Upadhyay M, Nanda R. Dynamic smile analysis: changes with age. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009;136(3):310-21.
12. Sarver DM, Ackerman MB. Dynamic smile visualization and quantification: Part 1. Evolution of the concept and dynamic records for smile capture. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2003;124(1):4-12.
13. Flores-Mir C. et al. Lay person's perception of smile aesthetics in dental and facial views. *J Orthod.* 2004;31(3):204-9.
14. Kerns LL et al. Esthetic preference of the frontal and profile views of the same smile. *Esthet. Dent.* 1997;9(2):76-5.
15. Sarver DM, Ackerman MB. Dynamic smile visualization and quantification: Part 2. Smile analysis and treatment strategies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2003;124(2): 116-27.
16. Ghaleb N, Bouserhal J, Bassil-Nassif N. Aesthetic evaluation of profile incisor inclination. *Eur J Orthod.* 2011;33(3):228-35.
17. Zarif Najafi H, Oshagh M, Khalili MH, Torkan S. Esthetic evaluation of incisor inclination in smiling profiles with respect to mandibular position. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015;148(3):387-95.
18. Rahn AO, Heartwell CM Jr. Textbook of complete dentures. 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. pp. 272.
19. Ahmad I. Anterior dental aesthetics: Dental perspective. *British Dental Journal.* 2005;199(3):135-141.
20. Xu H, Han X, Wang Y, Shum R, Jing Y, Tian Y et al. Effect of buccolingual inclinations of maxillary canines and premolars on perceived smile attractiveness. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015;147(2):182-9.
21. Ferrario VF, Sforza Ch, Colombo A, Ciusa V, Serrao G. Three-Dimensional Inclination of the Dental Axes in Healthy Permanent Dentitions – A Cross-Sectional Study in a Normal Population. *The Angle Orthodontist.* 2001;71(4):257-64.
22. Sinavara P, Anunmana Ch, Hossain Sh. The relationship of maxillary canines to the facial anatomical landmarks in a group of Thai people. *J Adv Prosthodont.* 2013;5(4): 369-73.
23. Filtchev, A, R. Ralev. Propaedeutic of Prosthetic dental medicine. Bulgaria 2010, Textbook for students of Dental Medicine. Sofia; p 370.
24. Martinelli N. Dental laboratory technology. Mosby Company: Saint Louis;1970 55-62.

### Адрес за кореспонденция:

доц. д-р Ж. Павлова, дм  
Катедра Протетична дентална медицина  
Факултет по Дентална медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски” №1  
1431, София, България  
e-mail: pavlova.j@abv.bg

### Address for correspondence:

Dr. J. Pavlova, PhD  
Department of Prosthetic Dental Medicine  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
e-mail: pavlova.j@ abv.bg

## Промени в слюнката при пациенти, лекувани с двуслойни цели протези, във връзка с развитието на протезен стоматит

Янкова, М.<sup>1</sup>, Б. Йорданов<sup>2</sup>, И. Митов<sup>3</sup>

## Changes in saliva at patients, treated with two-layer complete dentures, in relation to the development of denture stomatitis

Yankova, M.<sup>1</sup>, B. Yordanov<sup>2</sup>, I. Mitov<sup>3</sup>

### Резюме

**Целта** на настоящото *in vivo* изследване е да се проследи промяната в показателите на общата нестимулирана и стимулирана слюнка – слюнчен ток, рН, буферен капацитет при пациенти, лекувани с цели протези, подплатени с еластични материали на силиконова основа, във връзка с развитието на протезен стоматит.

**Материал и методи:** Бяха изследвани 43 изцяло обеззъбени пациенти на възраст от 48 до 90 год. (средна възраст  $68,4 \pm 9,94$ ). Те бяха разделени в три групи (А,В,С) в зависимост от материала, използван за изработване на техните протези. За измерване на слюнчения ток, рН и буферния капацитет беше използван стандартен комплект *Saliva Check – Buffer* на GC, USA. Диагностициране на протезния стоматит и оценяване на неговата степен беше направено по класификацията на Нютон.

**Резултати:** При 34.9% (15/43) от протезираните пациенти (основно в групи А и В), диагностицирахме протезен стоматит. Бяха установени статистически значими промени в рН и буферния капацитет при пациентите от групи А и С на 6 месец след протезиране, но не бяха наблюдавани такива промени в слюнчения ток при нито една от експерименталните групи, за целия период на изследване (6 месеца). Установени бяха статистически значими по-ниски нива преди протезиране при пациенти развили протезен стоматит след протезиране и тенденция към понижаване на нивата на рН и буферен капацитет шест месеца след протетично лечение. Статистически значими по-ниски стойности на нестимулирания слюнчения ток бяха установени при жените.

**Заключение:** Протезирането с двуслойни цели протези създава предпоставка за развитие на протезен стоматит. Изследваните от нас показатели, с изключение на нивата на нестимулирания слюнчен ток, не показаха статистическа значимост за това.

**Ключови думи:** Протезен стоматит, буферен капацитет, рН, слюнчен ток, двуслойни цели протези, меки материали за подплатяване

<sup>1</sup>Асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Протетична Дентална медицина

<sup>2</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Протетична Дентална медицина

<sup>3</sup>Чл. кор. на БАН, професор в МУ – София, МФ, Катедра Медицинска микробиология

<sup>1</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry

<sup>2</sup>Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry

<sup>3</sup>Corr. Mem. of BAN; Professor at MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology

## Summary

*The purpose of this in-vivo study is to explore the changes of whole unstimulated and stimulated saliva – salivary flow, pH and buffer capacity parameters in patients treated with complete dentures, lined with silicone-based elastic materials, with respect to the development of denture stomatitis.*

**Material and methods:** 43 totally edentulous patients at the age 48 to 90 ( $68.4 \pm 9.94$  years on the average) were examined. They were divided into three groups (A, B, C) depending on the material used to fabricate their complete dentures. To measure the salivary flow, pH and buffer capacity, a standard Saliva Check – Buffer set (GC, USA) was used.

The diagnosis denture stomatitis and assessment of its degree was determined after a clinical examination on the third and on the sixth month, according to Newton's classification.

**Results:** Significant changes in pH and buffer capacity were found in group A and C patients 6 months after prosthetic treatment, but no statistically significant changes in saliva flow were observed in any of the experimental groups, throughout the whole study period (6 months). We have found statistically significant lower levels for unstimulated salivary flow before prosthetic treatment in patients developing denture stomatitis six months after denture delivery and a tendency of lowering pH levels and buffer capacity at the sixth month after prosthetic treatment. We have also established significantly lower levels in the unstimulated salivary flow in women.

**Conclusion:** Two-layer complete dentures create favourable conditions for the development of denture stomatitis. The parameters we studied, except for unstimulated salivary flow, did not show any statistical significance for this phenomenon.

**Key words:** Denture stomatitis, buffer capacity, pH, saliva flow, two-layer complete denture, soft denture liner

## Въведение

Двуслойните цели протези са цели протези от твърда акрилова пластмаса, подплатени с еластичен материал. Те се използват при клинични случаи на изцяло обеззъбени пациенти с прекомерна костна резорбция, наличие на болезнени неврогенни точки, с протезно поле покрито с тънка, неподатлива лигавица и наличие на екзостоzi. Тези протезни конструкции разпределят по-равномерно дъвкателното налягане и така намаляват травмата върху лигавицата. Поради по-успешното затваряне на клапаанната зона, те подобряват задържането на протезите, чрез ангажиране на допълнителни ретенционни области [1]. Наред с безспорните им предимства, еластичните материали за подплатяване имат и своите недостатъци, систематизирани добре от R. Basker & J. Devenport [2].

Високата влажност и температура в устната кухина, хигиенният режим, както и количественият и качествен състав на слюнката са предпоставка снематите зъбни протези да бъдат поле за бактериална и гъбична колонизация

в устната кухина [3, 4], а поръзността на еластичните материали за подплатяване увеличава тази възможност. Материали с по-висока финална твърдост задържат по-малко микроорганизми [5, 6]. P. Wright [7] докладва за 9-годишни успешни резултати от използването на Molloplast B. Някои автори докладват за фунгициден ефект на еластичните материали за подплатяване, дължащ се на свойството им да регулират рН на оралната среда [8], ефект който може да бъде намален от стареенето на материалите или използването на неподходящи почистващи разтвори [9].

Едно от най-често срещаните заболявания на оралната лигавица при пациенти, които носят цели или частични снематими протези е протезният стоматит [10]. Той се среща при 15-70% от тях и най-често протича асимтоматично. Обикновено се диагностицира при случаен клиничен преглед. Протезният стоматит се проявява под няколко форми, добре систематизирани от Нютон през 1962 година [11].

Слюнката е течната орална среда с важна функция в оралната хомеостаза. Чрез своите антибактериални системи за защита, тя участва в специфичната защита на зъбите и лигавицата на устната кухина [12, 13].

Слюнката в покой няма смилателна функция, тя има основно овлажняваща и антибактериална функция, а стимулираната почиства устната кухина, отстранява хранителни остатъци и вредни фактори и подпомага храносмилането. Количеството на нестимулирана слюнка е средно 0,3-0,4 ml/min. Обикновено секретцията на стимулирана слюнка 1,59-2,0 ml/min и може да достигне до 7 ml/min. Количества по-малки от 0,1 ml/min за нестимулираната и 0,5 ml/min за стимулираната слюнка, се приемат за критични [14, 15]. Някои автори отбелязват, че при намалено количество слюнка може да се наблюдава неконтролируемо развитие на гъбички [16], а други смятат, че няма връзка между слюнчения ток и развитието на *Candida* в устната кухина [17, 18, 19].

Буферната активност на слюнката включва три големи буферни системи – бикарбонатна, фосфатна и белтъчна [14, 16, 20]. Стойности в норма са в диапазона 10-12 т., а при стойности под 6 т. буферния капацитет се счита за слаб. Поддържане на неутрално рН на слюнката е важна нейна функция. При нормални условия рН на нестимулираната слюнка е около неутралното (средни стойности рН 6,8), а след стимулация концентрацията на хидрогенкарбонатите се увеличава, при което рН може да достигне над 7,4. Ниската буферна активност и ниското слюнчно почистване са предпоставка за намалена резистентност срещу микробни атаки. Буферната активност на слюнката се влияе от хормонални и метаболитни промени, както и от хранителна недостатъчност [21]. Бикарбонатната буферна система е най-важна. Фосфатната буферна система е със слаб буферен капацитет и не зависи от слюнчения ток [16].

**Целта** на настоящото *in vivo* изследване е да се проследи промяната в показателите на

обща нестимулирана и стимулирана слюнка – слюнчен ток, рН, буферен капацитет, при пациенти, лекувани с цели протези, подплатени с еластични материали на силиконова основа, във връзка с развитието на протезен стоматит. За изпълнение на поставената цел бяха формулирани следните задачи:

1. Изследване качествата на слюнката, в период от шест месеца, при пациенти лекувани с двуслойни цели протези;

2. Изследване появата на протезен стоматит и връзката му с качествата на слюнката в, период от шест месеца, при пациенти лекувани с двуслойни цели протези;

## Материал и методи

### Подбор и разпределение на пациентите

Във Факултета по дентална медицина – София бяха протезирани 43 пациента (12 мъже и 31 жени) на възраст от 48 до 90 години (средна възраст  $68.4 \pm 9.94$ ), които бяха разпределени в три групи, в зависимост от материала, от който бяха изработени техните протези.

• **Първа група (контролна група, група С)** – пациенти, лекувани с конвенционални цели протези (изработени само от твърда топлополимеризираща акрилова пластмаса) на горна и долна челюст, (n = 15).

• **Втора група (група А)** – пациенти, лекувани с цели протези – на горна челюст конвенционална протеза, а на долна или горна челюст – протеза подплатена с еластичен топлополимеризиращ материал на силиконова основа (Molloplast B, Detax), (n = 15).

• **Трета група (група В)** – пациенти, лекувани с цели протези – на горна челюст конвенционална протеза, а на долна или горна челюст – протеза подплатена с еластичен студенополимеризиращ материал на силиконова основа (Megabase, Dreve), (n = 13).

### Подбор на пациенти – критерии за изключване

В проучването не бяха включени: пациенти с системни заболявания (астма, захарен диабет тип I, неконтролиран захарен диабет тип II, синдром

на Съогрен, имунодефицитни състояния), пациенти, които са употребявали антибиотици в последните 3 месеца, пациенти на лъче- и химиотерапия през последните 6 месеца и такива с диагностициран протезен стоматит, в резултат на носене на стари плакови протези.

#### Колекция на слюнка

При колекцията на слюнка, пациентът се настаняваше удобно на стоматологичния стол в седнало положение, с глава леко приведена напред. Пробите бяха вземани винаги сутрин между 9,00 и 12,00 часа по стандартизираната схема на A.Vissink [16] като пациентите бяха инструктирани предварително, да не са се хранили, да не са консумирали течности, да не са пушили в последните 2 часа. Общата нестимулирана и стимулирана слюнка беше вземана по метода на плюенето (пациентите събираха слюнката на пода на устната кухина и я изплюваха на всеки 60 s) в специални градуирани контейнери от стандартния кит – Saliva Check – Buffer на GC (USA), като първата порция (т. нар. мъртва слюнка) беше отделяна. Стимулацията на слюнчената секреция беше извършвана чрез дъвчене на специална парафинова дъвка от същия кит. За събиране и измерване на нестимулираната слюнка беше използвана методиката описана от Fenoll-Palomares [22].

За измерване на стимулирания слюнчения ток, рН и буферен капацитет беше използван стандартен кит – Saliva Check – Buffer на GC (USA) при стриктно спазване инструкциите на фирмата производител.

Преди протезиране, на третия и на шестия месец беше измерен слюнчения ток и рН на обща нестимулирана и обща стимулирана слюнка и буферния капацитет на обща стимулирана слюнка (таблица 1, 2, 3). За всеки един от показателите бяха направени общо 129 измервания (43 пациента x 3 проби).

Резултатите са представени като средни стойности (mean)  $\pm$  стандартна грешка на средната стойност (SEM).

#### Диагностициране на протезен стоматит

Преди протезиране, на третия и шестия месец след протезиране на пациентите беше направено клинично диагностициране на наличието или липсата на протезен стоматит и беше определена неговата степен по общоприетата класификация на Нютон [11].

Тип I – локализиран еритемни зони (петехии), разположени обикновено върху небцето, ранен етап на заболяването.

Тип II – дифузна еритема, обхващаща част или цялата лигавица под протезната конструкция.

Тип III – възпалителна нодуларна/папиларна хиперплазия на лигавицата на небцето и алвеоларните гребени.

На шестия месец проследените пациентите бяха разделени на две нови групи – група с протезен стоматит и група без протезен стоматит.

Всички пациенти са подписали информирано съгласие за участие в настоящото изследване. Научното проучване е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания „Кенимус“ (Research Ethics Commission „KENIMUS“) (протокол № 21/2016).

За стандартизиране на фактора хигиена на протезните конструкции, на всички пациенти, включени в настоящото изследване бяха предоставени безвъзмезно за целия период на проследяване (6 месеца) едни и същи почистващи таблетки за зъбни протези (Protifix, Germany).

За статистическия анализ беше използвана компютърна конфигурация SPSS версия 19. За наличие на връзка между категорийни (непараметрични) променливи беше използвана кростабулация,  $\chi^2$  – критерий (chi-square) Pearson's. За обработка на параметричните данни на зависимости извадки беше използван t-тест на Student, а за независими извадки One Way Anova, при 95% доверителен интервал.

#### Резултати

Изследване качествата на слюнката, в период от шест месеца, при пациенти лекувани с двуслойни цели протези:

Таблица 1. Нива на слюнчения ток – преди и след протетично лечение

параметър групи	Слюнчен ток на обща нестимулирана слюнка – ml/min			Слюнчен ток на обща стимулирана слюнка – ml/min			
	Период	Переди лечение	3 месец след лечение	6 месец след лечение	Переди лечение	3 месец след лечение	6 месец след лечение
Група I (C)		0.37 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.44 ± 0.08	1.13 ± 0.12	1.31 ± 0.16	1.18 ± 0.18
Група II (A)		0.37 ± 0.07	0.46 ± 0.09	0.37 ± 0.06	1.09 ± 0.13	1.21 ± 0.12	1.00 ± 0.13
Група III (B)		0.29 ± 0.04	0.31 ± 0.06	0.32 ± 0.06	1.08 ± 0.10	1.39 ± 0.22	0.98 ± 0.12
F/p		F <sub>(2/40)</sub> = 0.680 p = 0.51	F <sub>(2/40)</sub> = 1.033 p = 0.37	F <sub>(2/40)</sub> = 0.630 P = 0.54	F <sub>(2/40)</sub> = 0.048 p = 0.95	F <sub>(2/40)</sub> = 0.285 p = 0.75	F <sub>(2/40)</sub> = 0.577 P = 0.57
t/p Група I (C)		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 0.990; p = 0.34	t <sub>(3M-6M)</sub> = 0.824; p = 0.42		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 1.270; p = 0.22		t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.595 p = 0.13
t/p Група II (A)		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 1.224; p = 0.24	t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.196; p = 0.25		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 1.071; p = 0.30		t <sub>(1M-3 M)</sub> = -1.598; p = 0.13
t/p Група III (B)		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 0.582; p = 0.57	t <sub>(3M-6M)</sub> = 0.385; p = 0.71		t <sub>(1M-3 M)</sub> = 1.295; p = 0.22		t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.713 p = 0.11

Получените от нас стойности за обща нестимулирана слюнка бяха в рамките на нормата и се движеха в диапазона от 0.29 ± 0.04 ml/min до 0.37 ± 0.05 ml/min при норма 0.3-0.5 ml/min. Стойностите за общата стимулирана слюнка, получени в нашето изследване бяха под нормата. Те се разполагаха в границите от 0.98 ± 0.12 ml/min до 1.39 ± 0.22 ml/min при норма 1.5-2.0 ml/min. Не бяха установени статистически значими разлики в нивата на слюнчения ток между групите и при трите измервания (p ≥ 0.05), таблица 1.

В допълнение проверихме дали има полово и възрастова зависимост при нивата на слюнчения ток на обща нестимулирана слюнка (таблицы 2 и 3).

Стойностите при мъжете бяха в диапазона от 0.49 ± 0.08 ml/min до 0.58 ± 0.10 ml/min, а при жените сигнификантно по-ниски от 0.29 ± 0.03 ml/min до 0.33 ± 0.04 ml/min (p < 0.05), таблица 2.

Въпреки, че наблюдавахме тенденция към понижаване на слюнчения ток с възрастта, тя не беше статистически значима (p > 0.05), таблица 3.

Таблица 2. Нива на слюнчения ток на обща нестимулирана слюнка при мъже и жени преди и след протезиране

период пол	Переди протезиране ml/min	3 месеца след протезиране ml/min	6 месеца след протезиране ml/min
мъже	0.49 ± 0.08	0.58 ± 0.10	0.50 ± 0.09
жени	0.29 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.04
F/p	F = 9.449; p = 0.004*	F = 9.506; p = 0.004*	F = 4.327; p = 0.04*

Таблица 3. Нива на слюнчения ток на обща нестимулирана слюнка по възрастови групи

Възрастови групи	Слюнчен ток
48-58 г. n = 6	0.47 ± 0.07
58-68 г. n = 14	0.36 ± 0.04
68-78 г. n = 13	0.31 ± 0.08
78-90 г. n = 10	0.27 ± 0.03
F/p	F = 1.291; p = 0.29

Таблица 4. рН на слюнката – преди и след протетично лечение

параметър групи	рН на обща нестимулирана слюнка			рН на обща стимулирана слюнка			
	Период	Преди лечение	3 месец след лечение	6 месец след лечение	Преди лечение	3 месец след лечение	6 месец след лечение
Група I (C)		6.5 ± 0.1	<b>6.7 ± 0.2</b>	<b>6.4 ± 0.2</b>	7.4 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.2 ± 0.2
Група II (A)		6.6 ± 0.2	6.8 ± 0.1	6.5 ± 0.2	7.5 ± 0.1	<b>7.6 ± 0.05</b>	<b>7.3 ± 0.1</b>
Група III (B)		6.4 ± 0.2	6.5 ± 0.2	6.3 ± 0.2	7.5 ± 0.09	7.4 ± 0.2	7.2 ± 0.2
F/p		F <sub>(2/40)</sub> = 0.233 p = 0.79	F <sub>(2/40)</sub> = 0.744 p = 0.47	F <sub>(2/40)</sub> = 0.210 P = 0.81	F <sub>(2/40)</sub> = 0.170 p = 0.84	F <sub>(2/40)</sub> = 1.057 p = 0.36	F <sub>(2/40)</sub> = 0.132 P = 0.88
t/p Група I (C)		t <sub>(1M-3M)</sub> = 1.585; p = 0.14	t <sub>(3M-6M)</sub> = <b>-2,275;</b> <b>p = 0.04*</b>		t <sub>(1M-3M)</sub> = 0.330; p = 0.75	t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.937; p = 0.07	
t/p Група II (A)		t <sub>(1M-3M)</sub> = 1.399; p = 0.18	t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.967; p = 0.07		t <sub>(1M-3M)</sub> = 1.701; p = 0.11	t <sub>(3M-6M)</sub> = <b>-2.746;</b> <b>p = 0.02*</b>	
t/p Група III (B)		t <sub>(1M-3M)</sub> = 0.626; p = 0.54	t <sub>(3M-6M)</sub> = -1,575; p = 0.14		t <sub>(1M-3M)</sub> = 0.749; p = 0.46	t <sub>(3M-6M)</sub> = -1.145; p = 0,27	

Получените в нашето изследване стойности за рН на общата нестимулирана слюнка, показваха, че изцяло обеззъбените пациенти у нас имат леко кисела слюнка. Нашите данни за общата нестимулирана слюнка бяха в диапазона от 6.3 ± 0.2 до 6.8 ± 0.1 при норма 6.8-7.8, а стойностите на общата стимулирана слюнка – от 7.2 ± 0.2 до 7.6 ± 0.05 при норма над 7.4. На шестия месец след протезиране наблюдавахме тенденция към намаляване на рН стойностите на слюнката при всички групи пациенти. Статистически значими разлики установихме в определените нива на киселинност (рН) на обща нестимулирана слюнка за група C (p < 0.05) и в обща стимулирана за група A (p < 0.05) на шестия месец след протезиране, таблица 4.

Според данните предоставени от фирмата производител на стандарния кит Saliva

Check-Buffer (GC) и получените от нас нива за буферния капацитет, пациентите бяха разпределени в три групи: група 1 – нормален до висок, група 2 – слаб и група 3 – много слаб буферен капацитет, таблица 5.

Установено беше, че буферният капацитет на изцяло обеззъбените пациенти включени в нашето проучване се движи основно в диапазона 6-9 точки, както и в диапазона 0-5 точки. Тези данни говорят за слаб до много слаб буферен капацитет. На третия месец след протезиране се наблюдава завишаване на броя пациенти с слаб буферен капацитет с достоверна разлика от групата пациенти с много слаб буферен капацитет. Шест месеца след протезиране беше отчетено завишаване на броя пациенти с много слаб буферен капацитет, таблица 5.

Таблица 5. Буферен капацитет на слюнката – брой пациенти

	Нива на буферен капацитет на слюнката според инструкциите на Saliva Check-Buffer	Брой пациенти преди протезиране n = 43	Брой пациенти 3 м. след протезиране n = 43	Брой пациенти 6 м. след протезиране n = 43	p
1	10-12 – нормален до висок	4 (9.3%)	3 (7.0%)	2 (4.7%)	p = 0.56
2	6-9 – слаб	22 (51.2%)	25 (58.1%)	18 (41.9%)	p = 0.28
3	0-5 – много слаб	16 (37.2)	15 (34.9%)	<b>23 (53.5%)</b>	p = 0.07
p		p < 0.0001*	p < 0.0001*	p < 0.0001*	
p (2-3)		p = 0.16	<b>p = 0.02*</b>	p = 0.26	

Таблица 6. Буферен капацитет на слюнката – преди и след протетично лечение

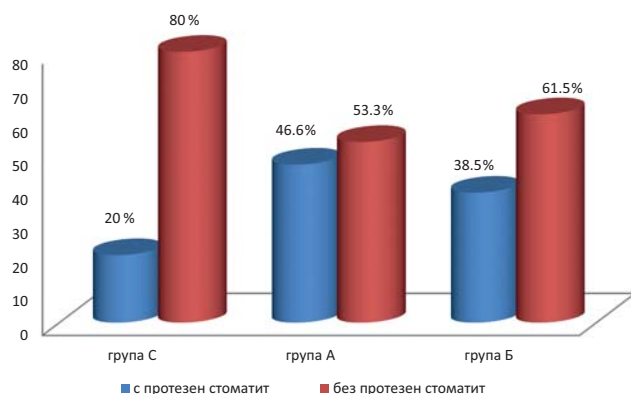
групи период	параметър	Буферен капацитет на обща стимулирана слюнка		
		Преди лечение	3 месец след лечение	6 месец след лечение
Група I (C)		6.5 ± 0.6	<b>6.3 ± 0.6</b>	<b>4.9 ± 0.6</b>
Група II (A)		6.4 ± 0.8	<b>6.5 ± 0.5</b>	<b>4.9 ± 0.5</b>
Група III (B)		6.3 ± 0.5	6.2 ± 0.9	5.8 ± 0.9
F/p		F <sub>(2/40)</sub> = 0.031 p = 0.97	F <sub>(2/40)</sub> = 0.055 p = 0.95	F <sub>(2/40)</sub> = 0.528 P = 0.59
t/p - Група I (C)		t <sub>(1M-3M)</sub> = -0.338; p = 0.75	t <sub>(3M-6M)</sub> = <b>-2.364; p = 0.03*</b>	
t/p - Група II (A)		t <sub>(1M-3M)</sub> = 0.186; p = 0.85	t <sub>(3M-6M)</sub> = <b>-2.477; p = 0.03*</b>	
t/p - Група III (B)		t <sub>(1M-3M)</sub> = -0.210; p = 0.84	t <sub>(3M-6M)</sub> = -0.749; p = 0,47	

При разпределение на пациентите по групи беше наблюдавана тенденция към намаляване на буферния капацитет във всички групи, но сигнификантни разлики ( $p < 0.05$ ) бяха отчетени само в групи А и С, таблица 6.

**Изследване появата на протезен стоматит и връзката му с качествата на слюнката в, период от шест месеца, при пациенти лекувани с двуслойни цели протези:**

На третия месец след протезиране не бяха диагностицирани случаи на протезен стоматит. Пациенти с протезен стоматит бяха установени на шестия месец след протезиране. Те бяха основно от групи А и В (46,6% и съответно 38,5%), като статистически значими разлики между пациентите с и без протезен стоматит имаше в група С и група В ( $p < 0.05$ ), в група А броя на пациентите с не се различаваше достоверно тези без протезен стоматит ( $p > 0.05$ ), диаграма 1.

Диаграма 1. Пациенти с и без протезен стоматит по групи



Измерените от нас параметри на слюнката бяха проследени при двете нови групи пациенти (с и без протезен стоматит). Беше наблюдавана тенденция за по-слаб слюнчен ток при пациенти с протезен стоматит, като разликите бяха достоверни само преди протезиране ( $p < 0.05$ ).

Нивата на рН бяха стабилни през първите три месеца. На шестия месец беше наблюдавано достоверно спадане ( $p < 0.05$ ) и тенденция за по-ниски нива в групата с протезен стоматит, но без статистическа значимост ( $p > 0.05$ ). Слабият буферен капацитет показва достоверно спадане на шестия месец и за двете групи пациенти. И тук беше установена тенденция за по-слаб буферен капацитет при пациентите с протезен стоматит, но без сигнификантна значимост ( $p > 0.05$ ), таблица 7.

### Обсъждане

В нашето изследване ние не установихме влияние на еластичните материали за подплатяване върху нивата на слюнчения ток, но наблюдавахме по-ниски стойности преди протезиране при пациенти, развили протезен стоматит на шестия след протетичното лечение. По-ниските нива на слюнчения ток могат да бъдат от голямо значение за развитието или не на това заболяване, което е в съгласие с редица автори [10, 18, 20], подкрепящи схващането, че хипосаливацията е предразполагащ фактор за намалена резистентност към орални заболявания, каквато е кандидозата.

Таблица 7. Средни стойности на изследваните показатели на слюнката при пациенти с и без протезен стоматит

Показатели $\bar{x} \pm SE\bar{x}$	С протезен стоматит на 6 месец след протезиране			Без протезен стоматит на 6 месец след протезиране			t/p(с/без прот. стом.)
	I	III	VI	I	III	VI	
Нест. сл. ток ml/min	<b>0.26±0.03</b>	0.32±0.04	0.31±0.05	<b>0.39±0.04</b>	0.44±0.06	0.42±0.06	<b>t<sub>(I)</sub> = -2.090; p<sub>(I)</sub> = 0.04*</b> t <sub>(III)</sub> = -1.401; p <sub>(III)</sub> = 0.17 t <sub>(VI)</sub> = -1.304; p <sub>(VI)</sub> = 0.20
t/p <sub>(I-III-VI)</sub>	t <sub>(I-III)</sub> = 1.659; p = 0.11 t <sub>(III-VI)</sub> = -0.204; p = 0.84			t <sub>(I-III)</sub> = 1.053; p = 0.30 t <sub>(III-VI)</sub> = -0.414; p = 0.68			
pH нест. слюнка	6.34±0.15	<b>6.57±0.14</b>	<b>6.28±0.15</b>	6.60±0.11	<b>6.74±0.12</b>	<b>6.47±0.14</b>	t <sub>(I)</sub> = -1.389; p <sub>(I)</sub> = 0.17 t <sub>(III)</sub> = -1.868; p <sub>(III)</sub> = 0.39 t <sub>(VI)</sub> = -1.886; p <sub>(VI)</sub> = 0.38
t/p <sub>(I-III-VI)</sub>	t <sub>(I-III)</sub> = 1.409; p = 0.18 t <sub>(III-VI)</sub> = <b>-3.076; p = 0.008*</b>			t <sub>(I-III)</sub> = 1.309; p = 0.17 t <sub>(III-VI)</sub> = <b>-2.252; p = 0.03*</b>			
Буферен капацитет	6.3±0.7	<b>6.3±0.7</b>	<b>4.6±0.7</b>	6.5±0.5	<b>6.3±0.5</b>	<b>5.4±0.5</b>	t <sub>(I)</sub> = -0.272; p <sub>(I)</sub> = 0.79 t <sub>(III)</sub> = -0.068; p <sub>(III)</sub> = 0.94 t <sub>(VI)</sub> = -0.865; p <sub>(VI)</sub> = 0.39
t/p <sub>(I-III-VI)</sub>	t <sub>(I-III)</sub> = 0; p = 1.0 t <sub>(III-VI)</sub> = <b>-2.214; p = 0.04*</b>			t <sub>(I-III)</sub> = -0.333; p = 0.74 t <sub>(III-VI)</sub> = <b>-2.554; p = 0.02*</b>			

I – преди протезиране; III – 3 месеца след протезиране; VI – 6 месеца след протезиране

Установената от нас полова обусловеност намери потвърждение в достъпната научна литература, а докладваната възрастова обусловеност нямаше статистическа значимост при изследваните от нас пациенти [22, 23]. Възрастовата обусловеност на слюнчения ток се свързва с намаляване на относителния дял на секреторните клетки с възрастта [16], а липсата на такава с наличие на излишък от секреторна тъкан. По-скоро пониските нива на слюнчения ток при възрастни би трябвало да се обясняват с влиянието на други фактори, като напр. прием на различни медикаменти.

Установените от нас ниски нива на рН на общата нестимулирана слюнка и слаб буферен капацитет могат да бъдат предпоставка за увеличаване на количеството на някои видове гъбички, предпочитащи по-кисела среда, като напр. *S. albicans* или по-алкална, като *S. glabrata*. Такива данни ще бъдат представени допълнително в друга наша публикация.

Наблюдаваното от нас понижаване в рН на общата стимулирана слюнка в група А е интересен факт, за който не намерихме потвърждение в достъпната научна

литература. Промяната на този параметър може да се дължи на химичния състав на топлополимеризиращите еластични материали за подплатяване. Поддържането на равномерни нива на киселинност при меките материали за подплатяване на силиконова основа е в съгласие с данните от *in vitro* изследването на Nikaawa и кол. [8]. Установените от нас пониски нива на рН и на буферния капацитет при изцяло обеззъбените пациенти също не намериха потвърждение в достъпната научна литература. Имайки предвид, че буферния капацитет може да бъде повлиян от хормонални промени и хранителна недостатъчност [21], допускаме, че тези фактори могат да бъдат причина за измерените от нас ниски нива. Тъй като изследване на киселинност на слюнка и буферен капацитет при изцяло обеззъбени пациенти се прави за първи път у нас, нямаше възможност да сравним нашите резултати с други такива. Необходимо е такава проучване да бъде направено в по-разширен вариант, за да бъде установено, дали при всички изцяло обеззъбени пациенти нивата на тези параметри са ниски. Получените от подобно проучване данни биха могли да дадат яснота по редица

въпроси, свързани с протетичното лечение на тези пациенти.

Понижаването на параметрите рН и буферния капацитет биха могли да бъдат фактори за увеличаването на гъбичките в слюнката, обаче не са фактори, които са отговорни за развитието на протезен стоматит, защото ние установихме такива промени и при две групи пациенти (с и без протезен стоматит). По-големия брой на пациентите с протезен стоматит в група А не потвърждават наблюденията на Wright [7].

### Заклучение

1. Развитието на протезен стоматит е често явление при протезиране с двуслойни цели протези. Еластичните материали за подплатяване с своята порьозна структура предразполагат към развитие на това заболяване.

2. Изследваните от нас параметри, с изключение на нивата на нестимулирания слюнчения ток биха могли да имат значение за размножаването на гъбичките в слюнката, но не и за развитието на протезен стоматит.

3. Необходимостта от протезиране с двуслойни цели протези при хипосаливация, трябва добре да се обмисли. Предписването на антисептични разтвори за жабурене би могло да реши проблема с развитието на кандидозния протезен стоматит в устната кухина, поради липса на достатъчно слюнка.

### Благодарности:

*Това изследване е финансирано по изследователски проект № № 5085/2016 на Медицински Университет – София.*

*Авторите благодарят на Queisser Pharma, Германия за безвъзмездно предоставените таблетки за почистване на зъбни протези за всички пациенти за целия период на проучването.*

### Библиография:

1. Grant A.A., Heath J.R., McCord J.F.: Complete prosthodontics – problems, diagnosis and management. Wolfe; Jan. 1994:123-125.
2. Basker RM., Davenport JC. Prosthetic Treatment of the Edentulous Patient. Blackwell Publishing Company, Fourth edition 2002; 66:275-84.
3. Valentini F., Luz MS., Boscato N., Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. J Dent. 2013; 41(5):420-27.
4. Nikawa H., Jin C., Makihira S., Egusa H., Hamada T., Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. Gerodontology. 2009; 26(3):210-13.
5. Chaves CA, Machado AL, Vergani CE, de Souza RF, Giampaolo ET. Cytotoxicity of denture base and hard chairside relining materials: A systematic review. J Prosthet Dent. 2012; 107(2):114-27.
6. Mese A., Guzel KG. Effect of storage duration on the hardness and tensile bond strength of silicone- and acrylic resin-based resilient denture liners to a processed denture base acrylic resin. J Prosthet Dent. 2008; 99(2):153-58.
7. Wright PS. Observations on long-term use of a soft-lining material for mandibular complete dentures. J Prosthet Dent. 1994; 72(4):385-92.
8. Nikawa H., Jin C., Hamada T., Murata H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part I. Effects on fungal growth. J Oral Rehabil. 2000; 27(1):41-51.
9. Nikawa H., Jin C., Makihira S., Egusa H., Hamada T., Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. J Oral Rehabil. 2003; 30(3):243-50.
10. Meștecky J., Strober W., Russell M.W., Cheroutte H., Lambrecht B.N., Kelsall B.L. Mucosal immunology. Fourth edition, Elsevier. 2015.
11. Newton A.V. Denture sore mouth. A possible etiology. Br Dent J. 1962; 112:357-360.
12. Garchev R. et al. Physiology of man. Textbook for students of dental medicine and pharmacy. ed: MI ARSO: Sofia; 2016 p. 157-162.
13. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva – the defender of the oral cavity. Oral Dis. 2002; 8(1):12-22.
14. Humphrey SP., Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow and function. J Prosthet Dent. 2001; 85(2):162-69.

15. Edgar M., C. Dawes, D. O'Mullane. Saliva and Oral Health. 4th edition, ed: Stephen Hancocks Limited. 2012 p.10,39,100.
16. Karova E. Saliva – factor for maintaining of the oral homeostasis. ed: Central Medical Library. Sofia; 2013. p. 41-54.
17. Shinozaki S, Moriyama M, Hayashida J-N, Tanaka A, Maehara, Ieda S, Nakamura S.: Close association between oral Candida species and oral mucosal disorders in patients with xerostomia. Oral Diseases. 2012; 18(7): 667-672.
18. Salvatori O., Puri S., Tati S., Edgerton M. Innate Immunity and Saliva in Candida albicans-mediated Oral Diseases. J Dent Res. 2016; 95(4):365-71.
19. Karbach J, Walter C, Al-Nawas B. Evaluation of saliva flow rates, Candida colonization and susceptibility of Candida strains after head and neck radiation. Clin Oral Investig. 2012; 16(4):1305-12.
20. De Almeida PDV. et al. Saliva Composition and Function: A Comprehensive Review. J Contemp Dent Pract. 2008; 9(3):072-80.
21. Peneva M, Tzolova E, Kabakchieva R, Rashkova M. Oral embryology, histology and biology. Textbook of Pediatric Dentistry. ed: East-West: Sofia; 2009 p. 191-204.
22. Fenoll-Palomares C, Muñoz Montagud JV, Sanchiz V, Herreros B, Hernández V, Mínguez M et al. Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. Rev Esp Enferm Dig. 2004; 96(11):773-83.
23. Nagler RM., Hershkovich O. Age-related changes in unstimulated salivary function and composition and its relations to medications and oral sensorial complaints. Aging Clinical and Experimental Research. 2005; 17(5):358-66.

**Адрес за кореспонденция:**

Д-р Мариана Янкова  
Катедра Протетична дентална медицина  
Факултет по Дентална Медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски” №1  
1431, София, България  
e-mail: m.jankova@abv.bg.

**Address for correspondence:**

Dr. Mariana Yankova  
Department of Prosthetic Dental Medicine  
Faculty of Dental Medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
e-mail: m.jankova@abv.bg

---

**Орална и лицево-челюстна хирургия**

---

**Косвени методи за изследване на стабилността на имплантати (литературен обзор)**

Инджова, Ж.

**Indirect methods for implant stability measurements (literature review)**Indjova, J.

---

**Резюме**

*При косвените методи за оценка на стабилността на имплантите необходимата информация се добива не чрез прякото ѝ измерване, а чрез изследване състоянието на структурите от имплантологичната ложка. Някои от методите са приложими в ежедневно работата с пациенти, например направата на образни изследвания, други са приложими предимно в експериментални условия, например анти – торг метода и др. И едните, и другите са полезни и са намерили приложение в различните периоди от развитието на методите и свързаните с тях устройства за изследване на стабилността на имплантите.*

**Ключови думи:** *кост, оздравителен процес, стабилност на имплантат, рентгеново изследване, анти-торг метод*

**Summary**

*In indirect methods for assessing the implant stability the information is obtained not by direct measurement, rather by examining the condition of the structures around the implant. Some of the methods are applicable in everyday work with patients, such as radiographic assessment, others are applicable mainly in experimental conditions, such as reverse torque method and others. They both are useful and have found application in different periods of development of methods and related devices for testing the implant stability.*

**Key words:** *bone, healing process, implant stability, radiographic assessment, reverse torque test*

Качеството и количеството на костта в областта на поставяне на имплантата, нейната плътност и съотношение между кортикална и спонгиозна кост са фактори от първостепенно значение за стабилността на даден имплантат [1, 2]. Неговата първичната стабилност се дължи на механичното закотвяне на имплантата в подготвената костна ложа и основно зависи от кортикалната кост. Вторичната стабилност е биологично обусловена и основно зависи от спонгиозата и процесите протичащи в нея [3]. Първичната, биомеханичната стабилност е необходимото условие за възникване и развитие на вторичната, биологичната стабилност обусловена от остеоинтеграцията на имплантата. В наши експериментални и клинични изследвания доказваме, че първичната стабилност независимо от пол, възраст, вид на имплантата и на челюстта има системно значение за вторичната стабилност [4].

Посочват се две класификации за костна плътност. Едната е на Lekholm и Zarb и е описана 1985 г. Описва четири вида качество на костта в предните отдели на челюстите. Първо качество кост представлява хомогенна компактна кост. Второ качество кост представлява сърцевина/вътрешност от плътна трабекуларна кост, която е заобиколена от дебел слой компактна кост. Трето качество кост е плътна и устойчива трабекуларна кост, която е обградена от тънък слой кортикална кост. Четвърто качество кост представлява сърцевина от трабекуларна кост с ниска плътност, заобиколена от тънък слой кортикална кост [5].

Втората класификация, на Misch, описва 5 вида костна плътност – D1, D2, D3, D4 и D5. Те са групирани въз основа на макроскопските характеристики на кортикалната и спонгиозна кост в обеззъбени участъци от горна и долна челюсти. D1 представлява предимно плътна кортикална кост. Най-често се среща в предните участъци на долна челюст. D2 представлява вътрешност от едра/груба трабекуларна кост, която е обвита от плътна до порьозна кортикална

кост. Най-често се среща в предните и дистални отдели на долна челюст и предни отдели на горна челюст. D3 съдържа фина трабекуларна кост, обградена от тънък порьозен кортикален слой. Най-често се среща в предни и дистални отдели на горна челюст и дистални отдели на долна челюст. D4 почти не притежава кортикален слой. Най-често се среща в дистални отдели на горна челюст. Описана е още една плътност на костта – D5. Това е мека кост с незавършена минерализация и големи интратрабекуларни пространства. Този тип кост е характерен при аугментация на пода на максиларен синус, който е в процес на развитие [5]. Различната плътност на алвеоларната кост на долна и горна челюст оказват влияние върху стабилността на имплантата [6]. Не се установява разлика в стабилността между имплантати, поставени в кост тип 2 и тип 3. Значителна е разликата, която се установява между измерваните стойности на имплантатна стабилност поставени в кост тип 3 и 4. Получената разлика в стойностите обяснява и разликата в успеваемостта на имплантати поставени в кост тип 1, 2 или 3 в сравнение с тези поставени в кост тип 4 [7]. Получените резултати показват, че стойностите на Перитеста (ПТС/PTV) и коефициента на стабилност на имплантата (КСИ/ISQ) се повлияват от състоянието на наличната кост [8]. Друг метод, който дава по обективна информация и потвърждава резултатите, които са получени под формата ПТС и КСИ е да се направи компютърна томография на костни образци с различно качество на костта [9]. Отчитат се и различия в стабилността на съседни имплантати, дължащи се на различната костна структура в близки участъци на една и съща челюст.

Кортикалната кост е важна за поддържане на стабилността на имплантата и е от особено значение в периода непосредствено след оперативната интервенция. В следващия период нараства значението на спонгиозата. Sennerby и сътр. правят експеримент, при които

поставят имплантати в долни крайници на зайци. Сравняват стабилността на имплантати поставени в тибия и в спонгиозната кост в съседство на колянната им става [10]. Направено е сравнително изследване и е установена корелация между измерения торг/сила необходими за развинтване, за да се отстрани титанов имплантат и количеството на заобикалящата ги компактна кост. С напредване на оздравителните процеси, имплантатите, които са поставени в преобладаващо спонгиозна кост, достигат същите нива на стабилност, като на имплантати, поставени в преобладаващо компактна кост [10]. Т. е. механичните качества на костта на мястото на имлантиране могат да се подобрят по време на оздравителния период, защото е възможно меката, спонгиозна кост да се трансформира в плътна кортикална кост в съседство с повърхността на имплантата. При имплантат, който е поставен в плътна кортикална кост не настъпват големи промени в плътността на заобикалящата го кост, освен изпълването с костна тъкан на празните пространства между нарезите на имплантата [11].

#### **Косвени методи за изследване на стабилността на имплантат**

При косвените методи заключението за стабилността на имплантата е въз основа на анализиране на състоянието на костта и/или на връзката ѝ с имплантата. Резултатите не отразяват директно стабилността на имплантата.

Описаните в литературата индиректни/косвени методи могат да се групират както следва:

- **косвени неинвазивни** – образни изследвания: рентгенографско изследване, КТ изследване, МР изследване, видеодензитометрия, перкутиране със затъпен инструмент;

- **косвени инвазивни неструктивни** – торг – метода, изследване на импулсното колебание на формата на вълната;

- **косвени инвазивни деструктивни** – анти торг метода, теглене и вклиняване, хистологични и хистоморфометрични изследвания.

#### **Косвени неинвазивни методи**

##### **Образни изследвания:**

**Рентгенографията** е най-често използвания неинвазивен метод за оценка на имплантат-тъканната връзка, като се отчитат просветлявания около имплантата, както и нивото на маргиналната кост [2, 3, 12, 13]. Методът може да послужи още за предоперативна оценка на мястото на имплантирането и за доброто прилягане на надстройката към имплантата. Може да бъде направена по всяко време на оздравителния процес [3]. Една от проекциите, които се използват е ретроалвеоларната рентгенография в захапка (Bitewing view) [14]. Методът има няколко недостатъка: първият е, че образът е двуизмерен и самият имплантат може да маскира локален дефект като се насложи върху него [1, 2, 13]. Причина за това е, че конвенционалните периапикални и панорамни проекции не дават достатъчно информация за състоянието на лицевата/вестибуларно и лингвално разположена кост спрямо имплантата. Вестибуларната костна загуба предшества костната загуба медиално и/или дистално на имплантата. Т. е. тя е изпреварващо информативна за настъпила медиално или дистално костна загуба [15]. Втори недостатък е липсата на стандартизиран метод, който да осигурява добра възпроизводимост/възможност за повторение на рентгенографията под същия ъгъл за по точно проследяване на състоянието на тъканите около имплантата [1, 12]. Промените в нивото на алвеоларния гребен могат да бъдат проследени без отклонение ако централния лъч на рентгеновия източник е абсолютно перпендикулярен на обекта и плоскостта на рентгеновия филм или сензор. Това е възможно ако се изработят персонални шаблони, които ще позволят повтаряемост на изследването на даден имплантат под един и същ ъгъл [16]. Приема се, че това е непрактично от клинична гледна точка [3]. Трети недостатък е, че само въз основа на рентгенографско изследване не може

да се предвиди как ще се промени с времето стабилността на имплантата [3]. Този трети недостатък съвпада с резултата от изследване на Sundén и сътр. Те стигат до заключението, че рентгенографското изследване е точно от диагностична гледна точка за състоянието на костта, но не може да предвиди бъдеща загуба на стабилност. Към това ние добавяме и конкретна информация за стабилността на имплантата в момента на изследването. За проследяване на нивото на алвеоларния гребен и настъпващите промени в нивото на костта се прави опит да се преброят резбите на имплантата, които са над това ниво. През първата година на функционално натоварване на остеоинтегриран имплантат се очаква рентгенографски установима разлика в нивото на алвеоларния гребен от 1,5 mm и по 0,1 mm за всяка следваща година [17]. Според Albrektsson и сътр. [18] и Smith и Zarb [17] критерии за успех на имплантат, след първата година, в която е натоварен е 0.2 mm средна костна загуба на година. С това е свързан и следващия недостатък. Вероятността клиницистът да долови рентгенографска разлика в нивото

на костта от 0,1 mm е незначителна. Това би станало възможно ако измерванията се правят с помощта на компютър. В такъв случаи се отчита стандартно отклонение от 0,1 mm (0,01 до 0,51 mm) [13]. Пети недостатък се основава на това, че промени в минерализацията на костта се установяват рентгенографски при напреднала деминерализация над 40.

Използваните в наши разработки съвременни дигитални рентгенографски изследвания позволяват установяване на промени, които са обективно доказателство за нарастване на контактната повърхност между новообразуваните костни структури и имплантатите, а това води до нарастване на стабилността на имплантата [4]. Рентгенографското изследване на 18 имплантата непосредствено след поставянето им в долни челюсти на три кучета показва, че винтовете им спирали са впити в съседната кост, но техните камери (фиг. 1) не са изпълнени с кост. Освен това в апикалната част на някои от имплантатите се вижда процеп между тях и съседната кост (фиг. 2). Девет месеца по-късно костта е изпълнила въпросните камери и е в непосредствен

Табл. № 1. Стабилност на имплантати поставени по три протокола в ложи с контролиране на оздравителния процес чрез НКР\*+Bio Oss+Emdogain

Посока на измерване стабилността	Етап	Оперативен протокол		
		Имедиатен протокол	Отложен имедиатен протокол	Конвенционален протокол
Буко-лингвална	X**	81.56 ± 1.33	71.56 ± 1.24	88.44 ± 1.33
	X+9***	94.56 ± 1.13	94.67 ± 1.23	95.44 ± 1.33
p ↓		<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>
Лингво-букална	X	84.22 ± 1.56	70.11 ± 1.05	88.11 ± 1.45
	X+9	94.22 ± 0.83	94.33 ± 1.23	94.89 ± 0.78
p ↓		<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>
Медио-дистална	X	86.44 ± 1.51	71.11 ± 1.07	88.56 ± 1.42
	X+9	94.56 ± 0.53	93.67 ± 0.50	95.11 ± 0.78
p ↓		<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>
Дисто-медиална	X	87.33 ± 1.23	69.78 ± 1.86	88.78 ± 1.72
	X+9	94.56 ± 1.13	95.56 ± 1.33	95.56 ± 0.53
p ↓		<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>	<b>p &lt; 0.001</b>

\* НКР – направлявана костна регенерация

\*\* X – стабилност веднага след поставяне на имплантатите

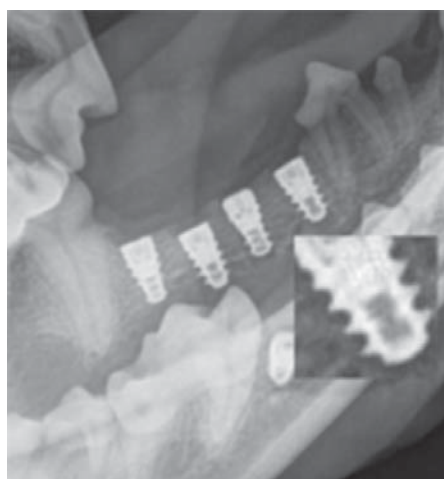
\*\*\* X+9 – стабилност 9 месеца след поставяне на имплантатите

контакт с повърхността на цялата интраосална част на имплантатите (фиг. 3). Няма ивица на просветление по цялото протежение на контактната зона кост-имплантат. На увеличената дясна фигура на имплантат, в лявата най-апикална камера на имплантата се вижда кортикализация на повърхността на новообразуваната кост (стрелката на фиг. 3). Независимо от оперативния протокол за поставяне на имплантати и посоката на

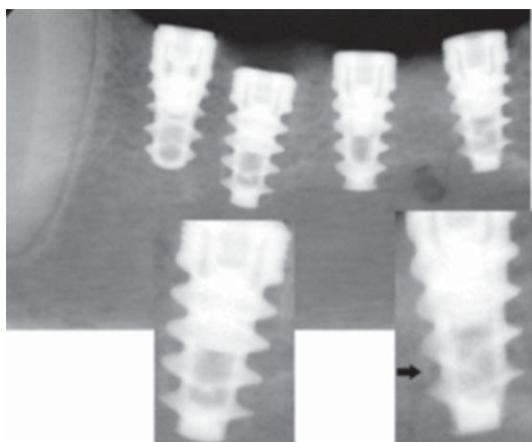
измерване на стабилността им с Osstell в ISQ/КСИ тя е нарастнала в значими граници ( $p < 0.001$  – табл. № 1). Това е типичен пример за косвено заключение за положителна промяна в стабилността на имплантата въз основа на рентгенографски установими промени в контакта между имплантата и новообразуваната кост. Същите зависимости установяваме и при измерване на стабилността с Periosteš M.



**Фиг. 1.** Схема на винтова спирала на имплантат: в – връх на спиралата, у – улей на спиралата, к – камера на спиралата



**Фиг. 2.** Имплантати непосредствено след поставянето им



**Фиг. 3.** Имплантати 9 месеца след поставяне и евтаназия на кучето

**Панорамната рентгенография/Ортопантомографията** е рентгенографско изследване, което дава полезна информация при планиране на имплантологично лечение, достъпно е и може да спести допълнителни

изследвания. Предимство на метода е, че една плака дава информация, както за горната и долна челюсти, така и за разположението на максиларен синус, носна кухина, ментален форамен и долночелюстния канал. Недостатък

е увеличението на структурите, което варира до 25%, като това в хоризонтална посока е по-голямо в сравнение с увеличението на образа във вертикална посока – 16% срещу 10% [19]. В резултат на това, може да се получи линейно увеличаване на образа до 3 mm, което при ограничен обем на алвеоларна кост и/или близост до мандибуларния канал или максиларен синус е обезпокоителна неточност. Точността на метода във вертикална посока може да се увеличи ако рентгенографията се направи с плака с включени в нея метални сфери с познат диаметър. Това ще направи възможно да се изчисли разстоянието във вертикална посока от върха на алвеоларния гребен до дадена анатомична структура. Това изследване не дава достатъчно информация: в хоризонтална посока – не може да се прецени близостта на анатомична структура или разстоянието до съседен зъб; за дебелина на алвеоларен гребен; за костна плътност [20].

Други възможности за визуализиране на имплантатно-тъканния комплекс дават **компютърната томография и ядрено магнитния резонанс** [21, 22]. Те позволяват триизмерен поглед, както предоперативно на костната тъкан, така и следоперативно на имплантата и заобикалящата го тъкан. Недостатъците на метода идват от трудностите да се визуализират метални обекти, поради артефактите, които се получават [1, 12].

**Видеоденситометрията (videodensitometry)** е неинвазивен метод, който дава информация за костната плътност [12]. Тя е важно условие за постигане на стабилност на имплантата, но сама по себе си тя не е непосредствена информация за това

Едни от най-лесните методи за оценка на стабилността и степента на остеоинтеграция са **перкутиране със затъпен метален инструмент на имплантата/надстройката или неговото придвижване към една страна с помощта на дръжките на две стоматологични огледала** [9]. В основата на

този метод са вибрационно-акустичната наука и теорията за отговора получен въз основа на определено въздействие [3]. Първоначално се е смятало, че остеоинтеграцията може да бъде преценена по този начин, като се е разчитало на произведения от перкутирането звук. Това са субективни и недостатъчно чувствителни методи, при които се разчита на зрителния и тактилен усет на оператора. Човешкото ухо не е достатъчно чувствително, за да може да разграничи амплитудата на произведения звук, дали е ясен или с приглушен тон. Перкутирането не произвежда достатъчно енергия, която да се прехвърли върху имплантата за едно по-точно измерване. Имплантата, заедно с надстройката представляват сложна система, чието точно оценяване не е възможно да се прецени по този опростен метод [2, 9]. Малко доказателства за достоверността на този метод се срещат в литературата [23].

### **Косвени инвазивни недеструктивни методи**

#### **Торг – метод**

Измерване на **съпротивлението по време на създаване и оформяне на костната ложа на имплантата (cutting resistance measurement) и измерване на торга/необходимата сила при завинтване/въвеждане на имплантата в костната ложа (cutting torque measurement)** са методи, които едни автори причисляват към инвазивните методи [24], докато други ги причисляват към неинвазивните методи [2, 11]. Ние определяме тези методи като инвазивни, недеструктивни, поради това, че изрязването на костни структури е част от медикобиологичното изпълнение на лечебния метод. Причина да се описват като инвазивни е измерване на съпротивлението по време на създаването на костна ложа при първия метод и измерването на торга по време на въвеждане на имплантата в костната ложа при втория метод. Причина да се причисляват към неинвазивните методи е, че това е част от хирургичния протокол за поставяне на имплантат и не

причинява необратима повреда на костната ложа [2]. Методът е разработен от Johansson и Strid [25]. В по-късен период е доразвит от Friberg и сътр. [26].

#### **Измерване на съпротивлението по време на създаване на костната ложа за имплантата**

Усещането за съпротивление, което се създава при оформяне на костната ложа е субективно и зависимо от остротата на инструмента/фрезата и дали се използва винтонарез или самонарязващ резбата си имплантат [2].

#### **Измерване на торга при завинтване/въвеждане на имплантата в костната ложа**

Употребената сила за завинтване на имплантата дава информация за първичната стабилност на имплантата [27] и качеството на костта – нейната плътност на мястото на поставяне на имплантата. Усета за степента на стабилност на имплантата се основава на съпротивлението при неговото поставяне. Това е еднократен метод, който дава информация само при поставянето на имплантата [2, 24]. Торг – методът не може да послужи за проследяване на стабилността на имплантатите, но осигурява ценна информация за определяне на продължителността на оздравителния период преди включването им във функция [2, 26].

По-голямата плътност на костта е благоприятно условие, без да е гаранция за успех. Може обаче да послужи като фактор за определяне на продължителността на оздравителния период. Методът притежава, както предимства, така и някои ограничения. Предимство е, че позволява да се прецени костната плътност. Недостатък в тази връзка е, че това е възможно чак и единствено в етапа на оформяне на костната ложа. Предимство е, че има съвпадение между съпротивлението по време на оформяне на костната ложа и поставяне на имплантата с качеството на костта [3]. Недостатък е, че при анализа на това съпротивление не може да се определи

най-ниската критична стойност на торга, т. е. стойността при която имплантата би се преценил като рисков. Предимство е, че позволява да се прецени първичната стабилност при поставяне на имплантата. Недостатък е, че последващи данни за оздравителния процес не могат да бъдат получени. Misch описва 6 етапа от оздравителния процес на имплантатите, в които може да се загуби имплантат – /1/ – хирургичен, /2/ – оздравителен процес на костта около поставения имплантат, /3/ – етап на ранно натоварване на имплантата, /4/ – междинен етап, /5/ – късен етап, /6/ – в дългосрочен план [28]. Най-голям процент на неуспешни имплантати са наблюдава през първите 3 от описаните по горе етапи. Методът, при който се получава информация за съпротивлението по време на работа дава информация само за първите два етапа. Останалите 3 етапа не трябва да се пренебрегват, за което са създадени и се развиват други методи за изследване на стабилността на имплантатите [3].

Методът, в основата на който е изследване на **импулсно колебание във формата на вълната (pulsed oscillation waveform)** е разработен от Kaneko [29]. В основата на метода е анализиране на вибрацията на имплантата чрез по-продължително възбуждане/въздействие върху имплантата [23]. Някои автори го причисляват към неинвазивните [12], въпреки че сондата за измерване минава през лигавицата, други към неструктивните методи [29]. За нас, както и за Т. Kaneko [29] методът е инвазивен, защото сондата, която улавя вибрациите на въздействия имплантат се поставя през лигавицата в костта, но не е деструктивен защото не пронизва костта по повърхността на имплантата. В неговата основа е оценяване/определяне на честотата и амплитудата на вибрация на имплантата, породени от импулси с малка сила [3]. Устройството има няколко съставни части – акусто-електрически драйвър, акусто-електрически приемател, генератор на импулси

и осцилоскоп. Акусто-електрическият драйвър и акусто-електрическият приемател се състоят от пиезоелектричен елемент и игла за пункция [3]. Върху имплантата се прилага високо честотна вибрация [12]. Методът анализира механично вибрационната характеристика на връзката между костта и имплантата [3]. Иглите/сондите проникват през лигавицата и леко контактуват с имплантата. Автори считат, че само по този начин може да се различи имплантат здраво свързан с околната кост от имплантат само в контакт с нея [12]. Иглите са свързани с пиезоелектрични елементи. По този начин те предават високочестотна импулсната сила от около 1 kHz към имплантата [3, 29]. Полученият резонанс и генерираната вибрация се преобразува от акусто-електрическият приемател, сигнала се усилва и изписва на екрана на осцилоскопа [12]. Измерена е резонансна честота [23]. Резултатите се получават под формата на крива, чиято амплитуда се измерва [12]. Капекко посочва като недостатък на метода, че натоварването упражнено върху имплантата причинява вибрация на костта около него, особено ако тя е спонгиозна [12, 29]. Резултатите показват, че импулсното колебание на формата на вълната е зависимо от посоката на натоварване/въздействие [29]. Чувствителността на метода по отношение на промените в тъканите заобикалящи имплантата се счита за недостатъчна [3, 12].

### **Косвени инвазивни деструктивни методи**

#### **Анти – торг метод**

Методът, при който се прилага и изследва необходимия торг, за да се премахне/развие имплантат е деструктивен метод [30]. Предложен е от Roberts и сътр. и доразвит от Johansson и Albrektsson [31]. В литературата са описани различни инструменти, с които този торг да бъде измерен. Такива са: ръчен динамометричен ключ, ръчно управляем уред за измерване (Tohnichi torque gauge; Токуо; Japan), електронно управляем мотор. При

ръчния динамометричен ключ съществува риск стойността да не може да се регистрира точно, защото торга ще се приложи прекалено бързо, за да може този, който работи с инструмента да го регистрира точно. Johansson и Albrektsson са едни от първите, които използват ръчно управляемия уред за измерване (Tohnichi torque gauge), за да установят необходимия торг за премахване на имплантат [31]. За разлика от ръчния динамометричен ключ, този уред позволява прилаганата сила да бъде увеличавана бавно, за да бъде регистрирана с по-голяма точност. Carlsson при *in vitro* изследване използват тежести, за да натоварят лостовото рамо на уреда и по този начин да преценят точността на метода. Третият метод, чрез който може да се регистрира необходимата сила е създаден от Johansson и сътр. Те конструират инструмент задвижван от мотор, с който по електронен път да се определи и регистрира приложената сила [32].

Съществуват публикации, в които автори прилагат този метод върху титанови винтови имплантати за преценяване на нивото на остеоинтеграция на етапа на поставяне на надстройката, преди натоварване на имплантата [33]. Силата, която прилагат е 20 Ncm в посока обратна на часовниковата стрелка, като при имплантати с дължина 13 и 15 mm, приложената сила е по-голяма [33]. Имплантати, които се ротират при прилагане на сила от 20 Ncm се отстраняват. По данни на Sullivan и сътр. всяка стойност на торг обратен на часовниковата стрелка по-голям от 20 Ncm е критерии за успешна остеоинтеграция. Според други този праг от 20 Ncm не е подкрепен с достатъчно научни доказателства [3].

Необходимата сила на развинтване, която ще разруши връзката между костта и имплантата е изследвана многократно. По данни на Branemark дори и малка приложена сила за развиване на имплантат ще доведе до необратима пластична деформация [2]. Освен дължината на имплантата, други особености,

който влияят върху граничният праг, при който ще се развие или не даден имплантат, са качеството и количеството на костта. Например, в по-мека кост-тип 4, необходимият торг за отстраняване на имплантат е по-малък в сравнение с този при имплантат поставен в кост с по-голяма плътност [3]. При имплантат в процес на остеоинтеграция е възможно дори неговото фрактуриране [11]. В изследване на Johansson и Albrektsson са поставени имплантати в тибии на зайци. Методът, при който се измерва необходимия торг за отстраняване на имплантат е приложен на 1, 3, 6 и 12 месеци. Измерените стойности при изследването, потвърдени и от хистологичните резултати показват, че колкото е по-дълъг оздравителния период, толкова по-плътен е контакта, в смисъл на остеоинтеграция, между имплантата и костта [3].

От данни на изследване върху 404 остеоинтегрирани имплантата при хора, стойността на необходимия торг за отстраняване на имплантат се движи в границите между 45 и 48 Ncm. Това е метод, който не дава достатъчно информация за връзката между имплантата и костта. Той не може да разграничи степента на оздравителен процес и костообразуване около имплантата. Информацията, които ни дава този метод е остеоинтегриран или не е имплантата. Затова, понастоящем се използва в експериментални условия върху животни [3]. Присъединяваме се към мнението на [11], че след завършване на протетичното лечение методът на антиторг е неприложим.

**Теглене (pull-through) и вклиняване (push-through)** са други два инвазивни биомеханични метода. Dhert и сътр. [34] и Shirazi-Adl и сътр. [35] са имена на автори, които изучават този метод. Намерил е приложение в изучаване на влиянието на неравностите по повърхността на цилиндричните имплантати [2]. Както тези, така и по-горе описаните

методи са свързани със загубата на имплантата, което прави невъзможно по-нататъшното проследяване на оздравителния процес и етапа на функциониране на имплантата. Това прави и двата метода неприложими в клиничната практика [36].

Два инвазивни деструктивни метода, които дават точна и количествена информация за контакта между имплантата и костта са **хистологичните и хистоморфометричните изследвания** [1]. **Хистоморфометричното изследване** е метод за количествено оценяване на контакта на имплантата с костта в проценти. За направата на такова изследване е необходимо изработване на образци-препарати. При изработването на препаратите се срещат трудности, които се дължат на разликата във физичните свойства на имплантата и заобикалящите го тъкани. Автори [2] описват техника за шлайфане за получаване на 10-µm срезове за изработване на препарати за светлинна микроскопия. С помощта на два метода – флуоресцентно маркиране на костта и микрорадиография е установено, че на третия ден от оздравителния процес започва образуването на влакнеста кост в близост до имплантатната повърхност. Sennerby и сътр. [37] установяват, че голямо количество многоядрени гигантски клетки се заселват по имплантатно-тъканната връзка на петия ден от поставянето на имплантата. Sennerby и сътр. също така отбелязват, че намалявайки с времето гигантските клетки, се увеличава контакта между костта и титановата повърхност на имплантата.

Като недостатъци на тези изследвания могат да се изброят следните: и хистологичните, и хистоморфометричните изследвания не могат да бъдат повторени повече от един път върху един и същ образец, както и, че не са приложими в клинични условия [1]. Въпреки че в литературата е описано разнообразие от

методи, не са много тези, който осигуряват всички необходими удобства необходими по време на клинична работа с пациенти. Едновременно с това голямото разнообразие на фактори, които повлияват измерванията при различните методи прави трудно тълкуването и интерпретирането на стабилността на имплантата от една единствена измерена стойност. Да се систематизира класификация на различни коефициенти на стабилност на имплантата, въз основа на различни клинични ситуации би било сложна задача. За да имат изследванията по-голяма достоверност, трябва да се взимат под внимание различните за всеки метод особености. Също така за подобряване на прогностичната стойност на всеки от методите са важни сравнителните изследвания между тях и потвърждаването им с хистологични изследвания [3].

### Заклучение

Описаните по-горе косвени методи дават възможност за различни подходи при изследването на стабилността на имплантатите и състоянието на тъканите около тях. В основата на всеки от методите стои надеждна и добре аргументирана теория. Общ белег на косвените, непреките неинвазивни методи е това, че при тях е възможно многократно повтаряне, без това обаче да дава непосредствена количествена информация за стабилността на имплантата. При косвените инвазивни методи информацията е за моментното състояние на имплантата. Тя не може да послужи за коригиране и направляване на клиничното поведение на оператора и лечебния алгоритъм за конкретния случай. Въпреки това на този етап от развитието си, нито един метод не осигурява цялата необходима информация за състоянието на даден имплантат от момента на поставяне до първото и последващо

функционално натоварване. Необходимо е, данните от един метод да се потвърждават с данни от друг, примерно с комбинация от Osstell ISQ и Periotest M.

### Библиография:

1. Gedrange T, Hietschold V, Mai R, Wolf P, Nicklisch M, Harzer W. An evaluation of resonance frequency analysis for the determination of the primary stability of orthodontic palatal implants. A study in human cadavers. *Clin. Oral Impl. Res.* 2005; 16: 425-431.
2. Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont.* 1998; 11: 491-501.
3. Atsumi M, Park SH, Wang HL. Methods used to assess implant stability: current status. *The International Journal of Oral Maxillofacial Implants.* 2007; 22(5): 743-754.
4. Indjova Jermen Borisova, Guided bone regeneration and monitoring the stability of intraosseous dental implants with electronic devices. [Dissertation]. Sofia, 2016.
5. Misch C. E. Bone Density: A Key Determinant for Treatment Planning. In: Misch C. E. *Contemporary implant dentistry.* Third edition. Mosby Elsevier; 2008. p. 130-146.
6. Lachmann S, Jäger B, Axmann D, Gomez-Roman G, Groten M, Weber H. Resonance frequency analysis and damping capacity assessment. Part I: an in vitro study on measurement reliability and a method of comparison in the determination of primary dental implant stability. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17: 75-79.
7. O'Sullivan D, Sennerby L, Jagger D, Meredith N. A Comparison of Two Methods of Enhancing Implant Primary Stability. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2004; 6(1): 48-57.
8. Huang HM, Chiu CL, Yeh CY, Lin CT, Lin LH, Lee SY. Early detection of implant healing process using resonance frequency analysis. *Clin. Oral Impl Res.* 2003; 14: 437-443.
9. Oh JS, Kim SG, Lim SC, Ong JL. A comparative study of two noninvasive techniques to evaluate implant stability: Periotest and Osstell Mentor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107: 513-518.
10. Sennerby L, Thomsen P, Ericsson L. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992; 7: 62-71., цит по

- O'Sullivan D, Sennerby L, Jagger D, Meredith N. A Comparison of Two Methods of Enhancing Implant Primary Stability. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2004; 6(1): 48-57.
11. Sennerby L, Meredith N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. *Periodontology 2000*. 2008; 47: 51-66.
  12. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Implants Res*. 1996; 7: 261-267.
  13. Wyatt CCL, Pharoah MJ. Imaging Techniques and Image Interpretation for Dental Implant Treatment. *Int J Prosthodont*. 1998; 11: 442-452.
  14. Attard NJ, Zarb GA. Long-term treatment outcomes in edentulous patients with implant-fixed prostheses: The Toronto study. *Int J Prosthodont*. 2004; 17: 417-424.
  15. Misch C. E. An implant is not a tooth: A comparison of periodontal indexes. In: Misch C. E. *Dental Implant Prosthetics*. Elsevier Mosby; 2005. p. 18-31.
  16. Indjov Boris Mindov, Stabilization of teeth with impaired parodont. [Dissertation]. Sofia, 1993.
  17. Smith DE, Zarb GA. Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. *J Prosthet Dent*. 1989; 62: 567-572.
  18. Albrektsson T, Zarb GA, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: A review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986; 1: 11-25.
  19. Reddy MS, Mayfield-Donahoo T, Vanderven FJ, Jeffcoat MK. A comparison of the diagnostic advantages of panoramic radiography and computed tomography scanning for placement of root form dental implants. *Clin Oral Implants Res*. 1994; 5: 229-238.
  20. Salvi G, Lang NP. Diagnostic parameters for monitoring peri-implant conditions. *Int J Oral maxillofac Implants*. 2004; 19 (suppl): 116-127.
  21. Yovchev D. Application of CBCT in dental implantology, pp. 33-48 in Yovchev D. *CBCT in dental imaging*. Publisher „Medicina i Fisicatura“. First edition, 2015.
  22. Stoichkov B., Sapundjiev P. [Precision of computer tomography examinations in dental implant treatment: review of the literature.] *Problems of dental medicine*. 2014; 40(2): 62-69. Bulgaria.
  23. Barewal RM, Oates TW, Meredith N, Cochran DL. Resonance Frequency Measurement of Implant Stability In Vivo on Implants with a Sandblasted and Acid-Etched Surface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18: 641-651.
  24. Valderrama P, Oates TW, Jones AA, Simpson J, Schoolfield JD, Cochran DL. Evaluation of Two Different Resonance Frequency Devices to Detect Implant Stability: A Clinical Trial. *J Periodontol*. 2007; 78: 262-272.
  25. Johansson P, Strid K. Assessment of bone quality from cutting resistance during implant surgery. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1994; 9: 279-288
  26. Friberg B, Sennerby L, Roos J, Lekholm U. Identification of bone quality in conjunction with insertion of titanium implants. A pilot study in jaw autopsy specimens. *Clin Oral Implants Res*. 1995; 6: 213-216.
  27. Aparicio C, Lang N, Rangert B. Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17 (2): 2-7.
  28. Misch C. E., Meffert RM. Implant quality of health scale: A clinical assessment of the health disease continuum. In: Misch C. E. *Dental Implant Prosthetics*. St. Louis: Elsevier Mosby; 2005. p. 596-603.
  29. Kaneko T. Pulsed oscillation technique for assessing the mechanical state of the dental implant-bone interface. *Biomaterials*. 1991; 12: 555-560., цит по Meredith N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont*. 1998; 11: 491-501.
  30. Meredith N, Book K, Friberg B, Jemt T, Sennerby L. Resonance frequency measurement of implant stability in vivo. A cross-sectional and longitudinal study of resonance frequency measurement on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. *Clin Oral Impl Res*. 1997; 8: 226-233.
  31. Johansson CB, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit: A one-year follow-up of removal torque of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1987; 2: 69-75.
  32. Johansson CB, Sennerby L, Albrektsson T. A removal torque and histomorphometric study of bone tissue reactions to commercially pure titanium and Vitallium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1991; 6: 437-441.
  33. Sullivan DY, Sherwood RL, Collins TA, Krogh PHJ. The reverse-torque test: A clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996; 11: 179-185.
-

34. Dhert WJA, Verheyen CCPM, Braak LH. A finite element analysis of the push-out test: Influence of test conditions. *J Biomed Mater Res* 1992; 26: 119-130.
35. Shirazi-Adl A. Finite element stress analysis of push-out test. Part 1: Fixed interface using stress compatible elements. *J Biomech Eng.* 1992; 114: 114-118.
36. Meredith N, Shagaldi F, Alleyne D, Sennerby L, Cawley P. The application of resonance frequency measurements to study the stability of titanium implants during healing in the rabbit tibia. *Clin Oral Impl Res.* 1997; 8: 234-243.
37. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone. Part 1: Light microscopic observations. *J Mater Sei Mater Med* 1993; 4: 240-250.

**Адрес за кореспонденция:**

д-р Жермен Инджова, дм  
Катедра Орална и лицево-челюстна хирургия  
Факултет по дентална медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски” № 1  
1431, София, България  
тел. 0888241475  
e-mail: indjovaj@yahoo.com

**Address for correspondence:**

Dr. Jermen Indjova, PhD  
Department of Oral and maxillofacial surgery  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0888241475  
e-mail: indjovaj@yahoo.com

---

## Влияние на растежния фактор VEGF върху стволовоклетъчните свойства и диференциацията на клетки от периодонтален лигамент in vitro

Михайлова, З.<sup>1</sup>, Н. Ишкитиев<sup>2</sup>, П. Станимиров<sup>3</sup>, Р. Цукангелова<sup>4</sup>, В. Митев<sup>5</sup>, Н. Гатева<sup>6</sup>, Е. Алексиев<sup>7</sup>

## Effect of VEGF on stem cell and differentiation properties of periodontal ligament cells in vitro

Mihaylova, Z.<sup>1</sup>, N. Ishkitiev<sup>2</sup>, P. Stanimirov<sup>3</sup>, R. Tsikandelova<sup>4</sup>, V. Mitev<sup>5</sup>, N. Gateva<sup>6</sup>, E. Aleksiev<sup>7</sup>

### Резюме

**Цел.** Целта на настоящото изследване е да се разкрие ефектът на Съдово-ендотелиалния растежен фактор – Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) върху стволовоклетъчните свойства и диференциацията на стволови клетки от периодонтален лигамент.

**Материали и методи.** Стволови клетки от периодонтален лигамент са получени от рутинно екстрахирани човешки трети молари. Клетките, използвани в проучването са между 2-ри и 4-ти пасаж. Стволовите клетки са култивирани за период от 48 ч. до 3 седмици в зависимост от дизайна на експериментите. VEGF в концентрация 50 ng/mL е добавен към културелната среда.

Ефектът на VEGF върху експресията на стволовоклетъчни маркери (CD71, CD90 и CD271) е изследвана чрез имунофлуоресценция и флуцитометрия. Продукцията на тотален разтворим колаген при периодонтални стволови клетки е изследвана след едноседмично третиране на клетките с VEGF и посредством Sircol Collagen Assay Kit. Потенциалът на клетките да формират минерални нодули е оценена след оцветяване с Ализарин ред.

**Резултати.** Резултатите от проучването разкриват, че VEGF е способен селективно да потиска експресията на мезенхимни стволовоклетъчни маркери при човешки периодонтални клетки. Колагеновият синтез не изглежда да е повлиян от активността на растежния фактор, докато остеогенната диференциация е значително увеличена след триседмично култивиране на клетките с VEGF.

<sup>1</sup>Асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Орална и лицево-челюстна хирургия

<sup>2</sup>Главен асистент в МУ – София, МФ, Катедра Медицинска химия и биохимия

<sup>3</sup>Доцент в МУ – София, ФДМ, Катедра Орална и лицево-челюстна хирургия

<sup>4</sup>Биолог в МУ – София, МФ, Катедра Медицинска химия и биохимия

<sup>5</sup>Професор в МУ – София, МФ, Катедра Медицинска химия и биохимия

<sup>6</sup>Доцент в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска дентална медицина

<sup>7</sup>Асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Орална и лицево-челюстна хирургия

<sup>1</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Oral and maxillofacial surgery

<sup>2</sup>Head Assistant Professor at MU – Sofia, Medical Faculty, Department of Medical chemistry and biochemistry

<sup>3</sup>Associate Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Oral and maxillofacial surgery

<sup>4</sup>Biologist at MU – Sofia, Medical Faculty, Department of Medical chemistry and biochemistry

<sup>5</sup>Professor at MU – Sofia, Medical Faculty, Department of Medical chemistry and biochemistry

<sup>6</sup>Associate Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric dentistry

<sup>7</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Oral and maxillofacial surgery

**Заклучение.** VEGF е един от растежните фактори, които се отделят от активираните тромбоцити. Въз основа на получените резултати можем да направим извод, че VEGF играе важна роля в тъканната регенерация, проявявайки силен индуктивен ефект върху остеогенната диференциация на периодонтални стволови клетки *in vitro*.

**Ключови думи:** стволови клетки от периодонтален лигамент, съдово-ендотелиален растежен фактор, стволовоклетъчни маркери, минерализация

## Summary

**Aim.** The aim of the present study is to reveal the effect of the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) on the stem cell properties and differentiation capacity of human periodontal ligament stem cells.

**Materials and methods.** Human periodontal ligament stem cells were obtained from routinely extracted third molars. Cell cultures between 2nd and 4th passages were used for the purpose of the research. Stem cells were cultured for a period of 48 h to 3 weeks, depending on the experimental design. The cell culture media was supplemented with VEGF in concentration of 50 ng/mL.

The effect of VEGF on stem cell markers (CD71, CD90 and CD271) expression was revealed via immunofluorescence and flow-cytometry. The total soluble collagen production in PDL stem cells was assessed after 1 week treatment with VEGF, using Sircol Collagen Assay Kit. The stem cells mineralization capacity was examined with Alizarin red staining.

**Results.** Our results reveal that VEGF selectively suppresses the expression of mesenchymal stem cell markers in human PDL cells. Collagen synthesis does not seem to be affected by the growth factor, whereas the osteogenic differentiation of PDL stem cells was significantly enhanced after 3 weeks incubation with VEGF.

**Conclusion.** VEGF is one of the growth factors delivered from activated human platelets. Based on our findings we can conclude that VEGF plays an important role in tissue regeneration as the growth factor manifests its positive effect on osteogenic differentiation in PDL stem cells *in vitro*.

**Key words:** periodontal ligament stem cells, vascular endothelial growth factor, stem cell markers, mineralization

## Въведение

Стволовите клетки са основен елемент в регенеративните процеси. Те са недиференцирани, делят се неограничено без настъпване на малигна трансформация, способни са да се самовъзпроизвеждат и да се превръщат в различни типове клетки [1, 2]. Свойствата на стволовите клетки се запазват дори след продължително култивиране *in vitro*. Към момента са описани три основни типа стволови клетки: ембрионални, соматични (мезенхимни) и индуцирани плурипотентни стволови клетки. В известна степен техният диференциационен потенциал се различава. До този момент най-подробно изследвани са мезенхимните стволови клетки (МСК) от костен мозък. Доказано е, че те могат да се диференцират до фибробласти, остеобласти, хрущялни, мастни, нервни клетки и др. [3].

МСК са изолирани от много тъкани и органи в тялото, в това число и от зъбни структури. От зъбен произход са идентифицирани 5 различни типа: стволови клетки от зъбна пулпа на временни и постоянни зъби, стволови клетки от периодонтален лигамент (ПДЛ), стволови клетки от апикална зъбна папила и прогениторни клетки от зъбен фоликул [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Тези клетки се съхраняват в зъбните структури през целия живот, осъществявайки пластична и репаративна функция. Всяка промяна в условията на средата като дразнене от възпалителни сигнали, промяна в рН, отделяне на растежни фактори, може да индуцира процеси на диференциация, делене, синтез на протеини или минерализация в стволовите клетки. МСК от зъбен произход се получават посредством много по-малко инвазивни

техники в сравнение с костномозъчните. По тази причина денталните МСК се разглеждат като надеждни кандидати за бъдещото развитие на стволовоклетъчната терапия и регенеративната медицина.

В тъканната регенерация освен недиференцирани (стволови) (I) клетки участват още два основни компоненти: екстрацелуларен матрикс (II) и ензими, протеини, индуциращи клетъчна сигнализация за клетъчна диференциация, сигнални молекули и др. (III) [10, 11]. Главните морфогени, отговорни за нормалното протичане на оздравителните процеси са растежните фактори. Те се отделят основно от активирани имунни клетки и тромбоцити, а в по-малка степен и от други клетки. Съдово ендотелиалният растежен фактор (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF) е един от растежните фактори с висока биологична активност. Той е отговорен за нормалното реализиране на процеси на ангиогенеза и остеогенеза в тъканите [12]. VEGF участва още в адипогенната диференциация на стволови клетки, изолирани от мастна тъкан [13]. Данните в литературата относно ефекта на VEGF върху денталните МСК са оскъдни. Има единични изследвания, целящи да докажат, че растежният фактор предизвиква процеси на остеогенеза в периодонтални МСК [14].

Обект на нашето изследване са периодонталните МСК и ефектите на VEGF върху тях. Seo и кол., първи доказват наличието на МСК в ПДЛ [6]. Авторите ги дефинират като клетки, които експресират мезенхимните стволовоклетъчни маркери STRO-1 и CD146 [6]. Според тях, при подходящи условия МСКПДЛ могат да се диференцират до циментобластоподобни, адипоцити и клетки, синтезиращи колаген. Те имат потенциала да изграждат комплекс от цимент/ПДЛ и да стимулират пародонталната тъканна регенерация, след трансплантирането им в имунокомпрометирани мишки [6]. Въпреки че този тип стволови клетки могат да бъдат

изолирани сравнително лесно, въвеждането им в тъканната регенерация трябва да става след предварително размножаване и диференциация *in vitro*. Основавайки се на опита, който имаме до момента и данни от литературните източници предполагахме, че третирането на МСК от ПДЛ с избрания растежен фактор ще индуцира специфични процеси на диференциация.

*Целта на проучването е изолирането на стволови клетки от периодонтален лигамент и изследване ефекта на растежния фактор VEGF върху свойствата им.*

*За изпълнението на целта са поставени три задачи: 1. Изолиране на стволови клетки от периодонтален лигамент и изследване ефекта на VEGF върху експресията на маркери; 2. Изследване ефекта на VEGF върху синтеза на колаген от клетките; 3. Изследване ефекта на VEGF върху остеогенната диференциация на периодонталните стволови клетки.*

#### **Материали и методи**

*Изолиране на първични МСК от ПДЛ на постоянни зъби.*

Клетките бяха изолирани от кореновата повърхност на рутинно екстрахирани ретенирани и полуретенирани трети молари (n = 6) на пациенти между 18 и 40 години. Всеки пациент беше подписал предварително информирано съгласие (с разрешение на КЕНИМУС). Биологичният материал беше събиран от средната трета на корена чрез внимателно остъргване със стерилни лезвиета. Следва ензимна обработка с разтвор на 3 mg/mL колагеназа тип I (Wako Pure Chemicals, Осака, Япония) и 4 mg/mL диспаза (Wako Pure Chemicals) за 1 час на температура 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 50% влажност в инкубатор. След центрофугиране за 3 минути при 3000 оборота/мин, тъканните експлантати бяха засявани при стандартни условия за култивиране: в пластмасови петриеви панички (d = 2 cm) (Greiner Bio – One, Frickenhausen, Germany)

с хранителна среда Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM/F12) high glucose (AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany) и добавени антибиотик/актиномикотик (100 U/mL пеницилин, 100 µg/ml стрептомицин, 0,25 µg/mL амфотерицин) и 20% фетален телешки серум (ФТС) (Sigma – Aldrich, St. Louis, USA).

#### *Култивиране на клетките в среда с VEGF*

Експериментите бяха проведени с клетки между 2-ри и 5-ти пасаж. Култивирането и подготовката на клетките за експерименти се проведоха в безсерумна хранителна среда. Като заместител на ФТС беше използван инсулин-трансферин-селен – 1% insulin-transferrin-selenium (ITS) (Gibco Life Technologies Inc., Grand Island, NY, USA). Растежният фактор беше добавен към средата в концентрация от 50 ng/mL. Клетките бяха култивирани за период от 48 ч. до 3 седмици в зависимост от дизайна на експеримента. Като контрола послужиха клетки, отглеждани в безсерумна хранителна среда, към която не е прибавян VEGF. Всеки експеримент беше проведен минимум трикратно, за да се получат достатъчно данни за статистическа обработка и анализ.

#### *Имунофлуоресценция*

Имунофлуоресценцията е качествен метод за изследване на експресирани клетъчни маркери при *in vitro* селектирана клетъчна култура. Клетките бяха засяти на 12-яковки плаки (TPP®, Трасадинген, Швейцария). Бяха използвани следните материали: 4% параформалдехид, Tween 20 (ICN Biomedical Inc, Аурора, САЩ), Triton X-100 (Calbiochem-Merck, Дармщад, Германия), BSA (bovine serum albumin, телешки серумен албумин) (Miltenyi Biotec, Бергих Гладбах, Германия), нуклеинови бои – 4,6-диамидино-2-фенил-индол дихидрохлорид (ДАПИ) (Invitrogen) за визуализиране на клетъчното ядро. В експеримента се използва моноклонално антитяло срещу маркер CD71 (Santa Cruz, Santa Cruz, САЩ).

**CD71** има следните характеристики: нарича се още Transferrin receptor; отговорен е за приемът на желязо от клетката; участва с еритропоезата и във формирането на нервната система. Експресията му в тумори се свързва с прогрес, дисеминация на неоплазмите, развитие на метастази и лоша прогноза. CD71 се асоциира с недиференцирани МСК.

Препаратите се наблюдават с конфокален, флуоресцентен микроскоп (Leica, DMRE, Leica Microsystems GmbH, Germany) и с IN Cell Analyzer 6000 imaging system (GE Healthcare, Pittsburgh, PA, USA).

#### *Флуоцитометрия*

Флуоцитометрията е метод, който позволява изследване и анализ на редица клетъчни характеристики. За целта клетките трябва да бъдат в суспензия и да бъдат белязани с флуоресцентни антители.

Клетките бяха засяти в 175 cm<sup>2</sup> матраци (Greiner Bio – One, Frickenhausen, Germany) с гъстота 5000 клетки/cm<sup>2</sup>. Първоначално те бяха засяти при стандартни условия – DMEM с добавени антибиотици и 10% ФТС. След 24 ч средата беше сменена с DMEM и 1% ITS. Към хранителната среда беше добавен РФ VEGF в концентрация 50 ng/mL. Освен експресия на CD71, в този експеримент беше изследвана също експресия на маркерите CD90 (Santa Cruz) и CD271 (Miltenyi Biotec).

**CD90** – повърхностен клетъчен протеин; експресира се по повърхността на тимоцитите; експресията му е типична и за мезенхимни стволови клетки, както и за аксонални израстък на матурирани неврони. Функциите на този протеин още не са напълно изследвани, но вероятно играе роля в междуклетъчната сигнализация, процеси на апоптоза, туморогенеза, фиброза и др.

**CD271** – рецептор за невротрофини; стимулира невроналните клетки да се делят и диференцират; има високи нива на експресия при костномозъчни, мастни МСК, МСК от зъбен произход, включителни и тези от ПДЛ.

Като негативна контрола послужиха клетки, белязани с CD4. Това е маркер, който доказано не се експресира от МСК.

Клетки бяха изследвани с Navios Flow Cytometer (Beckman Coulter International SA, Nyon, Switzerland) и анализирани с Kaluza Analysis Software Cytometer (Beckman Coulter International SA).

*Определяне продукцията и секрецията на общ колаген в клетките*

Изследването на способността на клетките да синтезират колаген се проведе чрез кита Sircol Collagen Assay Kit (Biocolor Ltd, Carrickfergus, United Kingdom) съгласно инструкциите на производителя. Количеството тотален колаген в супернатанта (отделеният в средата над клетките) беше анализирано чрез Micro Plate reader (Varioscan, Thermo, USA). Флуоресценцията беше отчетена при дължина на вълната от 555 nm.

*Изследване ефекта на VEGF върху остеогенната диференциация*

Способността на стволовите клетки от ПДЛ да образуват минерални нодули след третиране с VEGF беше отчетена чрез оцветяване с Alizarin red. Това е качествен метод за остеогенна диференциация. Клетките бяха култивирани в безсерумна среда с 50 ng/mL VEGF за период от 3 седмици.

За извършването на експеримента беше използван Alizarin Red S (AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany) в концентрация 2 g/mL, приготвен според инструкциите на производителя.

Оцветените препарати бяха снимани макроскопски и наблюдавани с фазово – контрастен микроскоп (Leica, DMRE, Leica Microsystems GmbH, Germany)

*Статистически анализ*

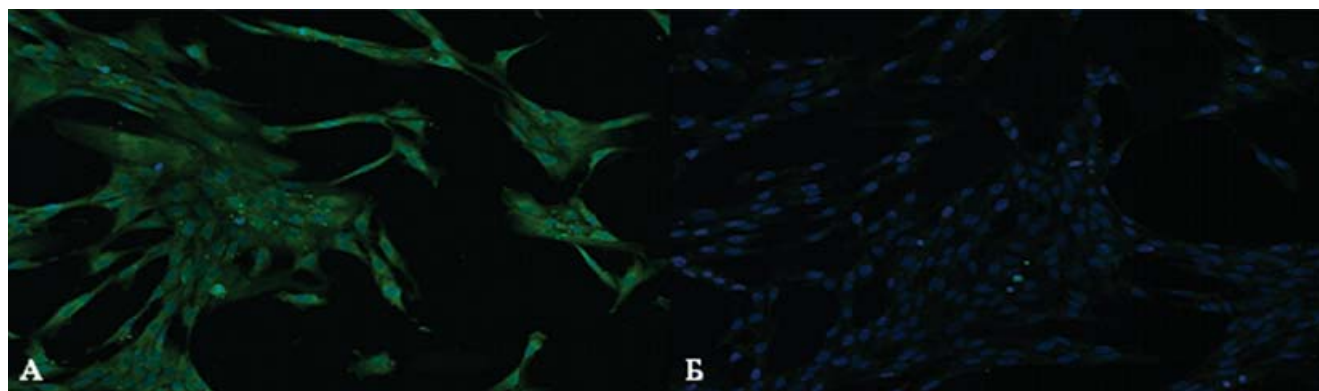
В изследването е приложен Т-тест. Използваното критично ниво на значимост е  $\alpha = 0,05$ . Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато Р стойността (P-value) е по-малка от  $\alpha$ . За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS версия 13.0.

## Резултати

1. В проведеното изследване се изолират периодонтални стволови клетки и се установява ефекта на VEGF върху различни клетъчни процеси. Средно около 3-4 дни след посяването на лизирани тъканни експлантати започват да се наблюдават първите единични прилепнали клетки към дъното на пластмасовите петрита. В рамките на 7-10 дни се наблюдава оформянето на първите колонии.

*Качествена характеристика на експресия на стволовоклетъчни маркери*

Резултатите от имунофлуоресценцията са представени на фиг. 1.



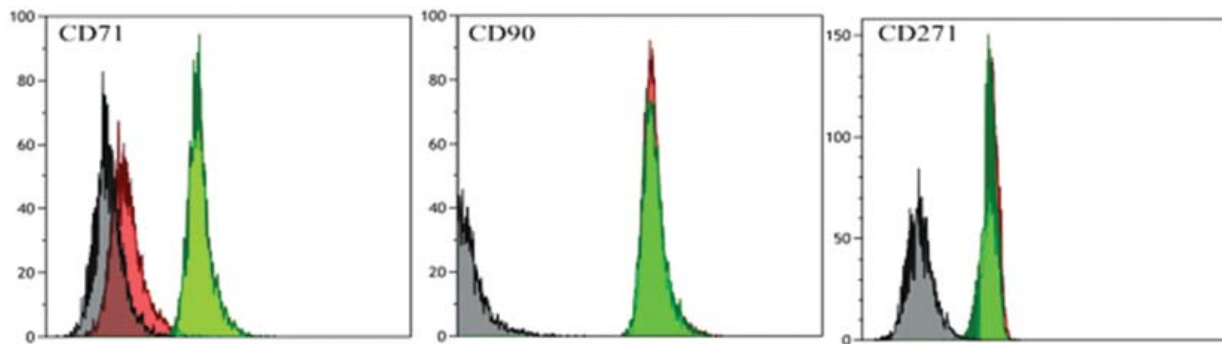
**Фиг. 1.** Имунофлуоресценция – експресия на маркер CD71 при периодонтални МСК; А-клетки, култивирани в среда без VEGF, Б-клетки, култивирани в среда с VEGF

Става ясно, че при МСК от ПДЛ, третирани с VEGF експресията на стволовоклетъчния маркер CD71 е потисната.

#### Количествена характеристика на експресираните маркери

Резултатите от проведеният флоуцитометричен анализ са представени на фиг. 2.

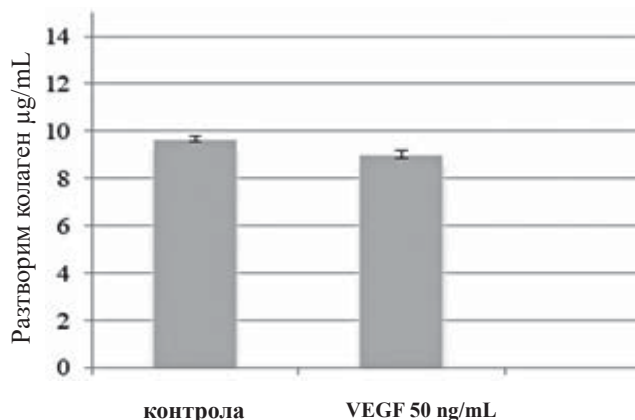
Резултатите показват, че експресията на маркер CD71 е потискана след третиране на клетките с VEGF, докато експресията на другите два маркера (CD90 и CD271) остава неповлияна. Следователно VEGF има способността избирателно да инхибира експресията само на някои стволовоклетъчни маркери.



**Фиг. 2.** Флоуцитометричен анализ на стволови клетки от ПДЛ, показващ ефекта на VEGF върху експресията на стволовоклетъчни маркери. Зелена хистограма-контрола от клетки, култивирани в безсерумна хранителна среда; в червена хистограма-клетки, култивирани в безсерумна среда с добавен VEGF; в сива хистограма-негативна контрола от клетки, маркирани с антитяло CD4

#### 2. Количествено определяне на синтеза на колаген

Резултатите са представени на фиг. 3.

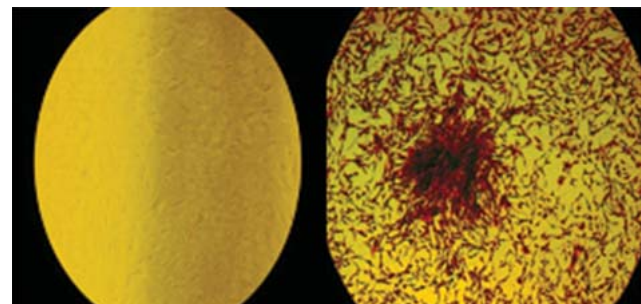


**Фиг. 3.** Синтез на общ колаген в клетъчна култура от ПДЛ след култивиране с VEGF

Не се установява статистически значима промяна в продуцирания общ колаген от клетките в супернатанта.

#### 3. Остеогенна диференциация

Резултатите от изследването са показани на фиг. 4.



**Фиг. 4.** Остеогенна диференциация – клетки от ПДЛ се обагряват в керемиденочервен цвят след триседмично култивиране в безсерумна среда с VEGF

Данните от експериментите доказват, че VEGF стимулира остеогенната диференциация на хетерогенна клетъчна култура от ПДЛ. При клетките, култивирани с VEGF се забелязва интензивно обагряне.

## Обсъждане

В настоящото проучване се постигна успешно изолиране и култивиране на периодонтални МСК. Добре усвоените и оптимизирани техники на работа с клетъчни култури позволиха получаването на достатъчно биологичен материал за провеждане на експериментите.

Обект на изследването е клетъчният отговор от страна на периодонталните МСК спрямо активността на растежния фактор VEGF. Изследван е ефектът на активната молекула към експресията на стволовоклетъчни маркери, продукцията на колаген и минерализацията. Към момента в литературата не са намерени данни, които да разкриват ефекта на VEGF върху запазването на стволовоклетъчния фенотип. В нашето изследване установяваме влиянието на растежния фактор върху клетъчната дедиференциация чрез два различни метода – имунофлуоресценция и флоуцитометрия. Наблюдава се тенденция към понижаване експресията на стволовоклетъчния маркер CD71 при МСК от ПДЛ след култивиране в среда с VEGF. Това означава, че изследваният растежен фактор се асоциира по-скоро с процеси на клетъчна диференциация. В предишни наши проучвания беше установено, че друг растежен фактор – PDGF (platelet-derived growth factor, тромбоцитен растежен фактор) е способен да поддържа клетките недиференцирани. Следователно всяка активна молекула проявява специфична индивидуална активност върху МСК.

Колагенът е основен структурен протеин в човешкото тяло. Той е основен елемент в екстрацелуларния матрикс (ЕЦМ) на съединителната тъкан, включително и в ПДЛ. Установено е, че колагенът съставлява приблизително 25-35% от тоталния протеин в организма. Потенциалът на клетките да синтезират и секретират колаген се асоциира със способността им да участват в изграждането на пълноценен ЕЦМ. По този начин клетките допринасят на оптималното протичане на тъканнорегенеративните процеси. От друга страна прекомерното отлагане на колаген се

асоциира с процеси на фиброза и тъканно „стареене“. В проведените от нас експерименти се установява, че VEGF в концентрация 50 ng/mL не влияе върху синтеза и секрецията на колаген при периодонтални МСК.

VEGF инициира и поддържа ангиогенезата. Доказано е, че освен от тромбоцити растежният фактор се отделя още от остеобласти, ендотелиални клетки, мезенхимни клетки и др. [15]. Участието на VEGF в процесите на остеогенеза на този етап е добре известно. Има доклади в литературата, които потвърждават че остеобластите притежават два типа рецептори за VEGF [16]. Същите автори съобщават за наличието на такива рецептори и по клетките, изграждащи стените на кръвоносните съдове. Следователно, от една страна растежният фактор стимулира диференциацията на прогениторни клетки до остеобласти, а от друга – подпомага образуването на нови кръвоносни съдове, подобрява трофиката и оксигенацията на тъканите. Това означава, че VEGF активно участва в изграждането на костите и в регенеративните процеси при мекотъканни травми и фрактури.

Други автори също докладват активното участие на VEGF в остеогенните процеси и минерализацията на тъканите [17]. Те изследват ефекта на растежния фактор върху периодонтални МСК и стволови клетки от костен мозък. Повишената активност на ензима алкална фосфатаза и генната експресия на Runx2 при клетките, третирани с VEGF са доказателство, че растежният фактор има остеогенна активност.

Нашето изследване потвърждава цитираните в литературата научни доказателства относно индуцираната остеогенна диференциация на стволови клетки под действието на VEGF.

## Заклучение

С настоящото изследване се доказва, че от ПДЛ на човешки постоянни зъби могат да бъдат успешно изолирани и култивирани в *in vitro*

условия МСК. Тези недиференцирани клетки са чувствителни към промените в условията на средата на култивиране. Включването на растежни фактори може изцяло да промени техния фенотип и функция.

Растежният фактор VEGF е високо активна молекула, участваща в тъканната регенерация, понижава експресията на стволовоклетъчни маркери при периодонтални МСК, следователно стимулира тяхната диференциация. Растежният фактор не влияе върху колагеновата продукция, но значително увеличава остеогенната диференциация в клетъчните култури.

#### **Благодарности:**

*Изследването беше финансирано по договор ДФНИ Б02/15 от 12.12.2014 г.*

#### **Библиография:**

- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*. 2000; 100:157-168
- Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontology* 2000. 2012; 59: 203-227.
- Ito T, Sawada R, Fujiwara Y, Tsuchiya T. FGF-2 increases osteogenic and chondrogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells by inactivation of TGF-beta signaling. *Cytotechnology*. 2008; 56:1-7.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97:13625-13630.
- Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 100:5807-5812.
- Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 2004; 364:149-155.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang CY, Wang S, Shi S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One*. 2006; 1:e79.
- Peneva M, Mitev V, Ishkitiev N. Isolation of mesenchymal stem cells from pulp of deciduous teeth. *Modern Stomatology* 2009, 40:14-23.
- Peneva M, Mitev V, Ishkitiev N. Characterization of mesenchymal stem cells from pulp of deciduous teeth after incubation with growth factors. *Modern Stomatology* 2009, 24-37.
- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*. 1993; 260:920-926.
- Nor JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent*. 2006; 31:633-642.
- Quarto N, Longaker MT. FGF-2 inhibits osteogenesis in mouse adipose tissue-derived stromal cells and sustains their proliferative and osteogenic potential state. *Tissue Eng*. 2006; 12:1405-1418.
- Fukumura D, Ushiyama A, Duda DG, Xu L, Tam J, Krishna V, Chatterjee K, Garkavtsev I, Jain RK. Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during in vivo adipogenesis. *Circ Res*. 2003; 93:e88-e97.
- Lee J H, Um S, Jang JH, Seo BM. Effects of VEGF and FGF-2 on proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Cell tissue res*. 2012; 348:475-484.
- Song SY, Chung HM, Sung JH. The pivotal role of VEGF in adipose-derived-stem-cell-mediated regeneration. *Expert Opin Biol Ther*. 2010; 10:1529-1537.
- Jacobsen KA, Al-Aql ZS, Wan C, Fitch JL, Stapleton SN, Mason ZD, Cole RM, Gilbert SR, Clemens TL, Morgan EF, Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Bone formation during distraction osteogenesis is dependent on both VEGFR1 and VEGFR2 signaling. *J Bone Miner Res*. 2008; 23:596-609.
- Lee JH, Um S, Jang JH, Seo BM. Effects of VEGF and FGF-2 on proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Cell Tiss Res*. 2012; 348:475-484.

#### **Адрес за кореспонденция:**

д-р Зорница Михайлова, дм  
Катедра Орална и лицево-челюстна хирургия  
Факултет по дентална медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски” № 1  
1431, София, България  
тел. 0882492209  
e-mail: zorrymihaylova@gmail.com

#### **Address for correspondence:**

Dr. Zornitsa Mihaylova, PhD  
Department of Oral and maxillofacial surgery  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0882492209  
e-mail: zorrymihaylova@gmail.com

**Консервативно зъблечение**

In vitro изследване на биодеградацията на два нискосвиваеми композита в среда от изкуствена слюнка

Янчева, С.<sup>1</sup>, Р. Василева<sup>2</sup>, В. Лозанов<sup>3</sup>

In vitro biodegradation of two low-shrinkage composite materials during artificial saliva storage

Yantcheva, S.<sup>1</sup>, R. Vasileva<sup>2</sup>, V. Lozanov<sup>3</sup>

**Резюме**

Дискусиите около безопасността на амалгамата фокусират вниманието на научните среди и обществеността към безопасността на денталните композити, които в наши дни са алтернатива на амалгамените възстановявания. Проведено е 6-месечно *in vitro* изследване в среда от изкуствена слюнка на продуктите от биодеградацията на два нискосвиваеми композита: Filtek Ultimate и Filtek Silorane. Анализът е направен чрез високоразделителна маспектроскопия в комбинация с ултрависоко ефективна хроматографска система. Направен е сравнителен СЕМ-анализ на повърхността от образци, преди и след престоя в изкуствена слюнка. Установява се отделяне на Urethane dimethacrylate и Ethyl-4-dimethylaminobenzoate от Filtek Ultimate. От биоинформационния анализ на Filtek Silorane не са установени отделящи се в синтетичната слюнка компоненти.

**Ключови думи:** биодеградация, композити материали, отделяне на (ко)мономери

**Summary**

Discussions regarding potential toxicity of dental amalgam led on a increased focus on the safety of dental resin composites. The *in vitro* elution of components of two low shrinkage composites: Filtek Ultimate and Filtek Silorane were assessed during artificial saliva storage for 6 months. Eluted monomers were analyzed by HPLC-MS. The results showed elution of Urethane dimethacrylate and Ethyl-4-dimethylaminobenzoate from Filtek Ultimate. No elution components were detected for Filtek Silorane. SEM analysis was performed and surfaces of the samples were compared before and after artificial saliva storage.

**Key words:** biodegradation, dental composites, elution of (co)monomers

<sup>1</sup>Асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Консервативно зъблечение

<sup>2</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Консервативно зъблечение

<sup>3</sup>Доцент в МУ – София, МФ, Катедра Медицинска химия и биохимия

<sup>1</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

<sup>2</sup>Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

<sup>3</sup>Associate professor at MU – Sofia, Faculty of Medicine, Department of Medical chemistry and biochemistry

## Въведение

Отношението към денталната амалгама като obtуровъчен материал е противоречиво въпреки доказаната дълготрайност и устойчивост на възстановяванията, проверени във времето [1, 2, 3]. Най-разпространените аргументи срещу денталната амалгама са замърсяването на околната среда и възможните вреди за здравето, предизвикани от отделянето на живак. Дискусиите около безопасността на амалгамата фокусират вниманието на научните среди и обществеността към безопасността на денталните композити, които в наши дни са алтернатива на амалгамените възстановявания [3, 4].

В денталната практика навлизат нови композитни материали. Целта на разработките е намаляване на полимеризационното свиване и генерираният полимеризационен стрес. Това се постига по два основни начина: 1. Увеличаване относителният дял на пълнежните частици на материала. 2. Промени в органичния матрикс на композитите [5].

Увеличаването на относителният дял на пълнежните частици е постигнато чрез въвеждането на нанотехнологиите и създаването на нанокомпозитите. Тези материали са изградени от наномерни частици и нанокластери. Размерът на частиците е 5-75 nm, а на кластерите е 0.6 µm [3, 6]. Това позволява неорганичната фаза на композита да достигне 79 тегл %. Полимеризационното свиване е редуцирано до около 1.9% [3, 6]. Типичен представител на тази група материали е Filtek Ultimate (3M-ESPE). Матриксът тук е изграден от диметакрилатни мономерни, полимеризиращи чрез радикална присъединителна реакция.

Композит основан на променена матриксна химия е силорановият. Полимеризацията се осъществява чрез катионна пръстен отваряща реакция. Този механизъм на изграждане на полимерна мрежа намалява полимеризационното свиване под 1% [5]. Единствен представител на тази група

материали е Filtek Silorane LS (3M-ESPE). По отношение на неорганичната си фаза той спада към групата на микрохидридите с едрина на частиците средно 0.5 µm и изпълване на матрикса от 76 тегл. % [7].

Изследванията показват, че не настъпва пълна конверсия на мономерите при формиране на полимерна структура. Доказано е, че нивото на конверсия на мономерите при формиране на полимерната мрежа достига 40-75% [8, 9, 10].

25-50% [8] от метакрилатните групи могат да останат нереагирани, като само около 2-7-10% от нереагиралите мономерни дифундират в заобикалящите ги структури [11, 12] – дентин, зъбна пулпа, гингива, устна кухина. Този процес може да повлияе негативно върху биопоносимостта на материалите [13, 14]. Научни анализи сочат за алергичен [15], цитотоксичен и генотоксичен ефект на остатъчните мономерни и продукти от биодеградацията на денталните композити [16, 17, 18]. Все още малко се знае за метаболизма, системното разпределение и евентуалната бъдеща вреда за организма, която може да бъде предизвикана от елементите, отделени от композитните материали [2, 4, 19, 20].

В научните среди се коментира фактът, че производителите на дентални естетични материали не предоставят пълна информация за състава им [15, 21]. Именно това прави проучването на отделените мономерни и продукти необходимост, отнасяща се до здравето на пациентите и денталния екип.

**Целта на настоящото изследване** е да се идентифицират *in vitro* продуктите от деградацията (качествен анализ) на два нискосвиваеми композита – **Filtek Ultimate** (3M-ESPE) и **Filtek Silorane LS** (3M-ESPE) за 6-месечен период от време в среда от изкуствена слюнка.

## Материал и методи

Основните характеристики на изследваните материали са посочени в таблица 1.

Табл. 1. Материали, включени в изследването/състав

Състав Материали	Полимерен матрикс	Неорганична фаза
2. Filtek Ultimate; A3body (3M-ESPE)	Bis-GMA; TEGDMA; Bis-EMA; UDMA	Наномерен КМ Напълнен 79 тегл. %
4. Filtek Silorane LS; A3 (3M-ESPE)	Silorane	Микрохибриден КМ Напълнен 76 тегл. %

➤ *Подготовка на образците за изследване*

От всеки материал са изработени по 6 диска. За целта материалите са нанесени в метални цилиндри с диаметър 5 mm и височина 2 mm. Горната и долната повърхности на цилиндрите са свободни. Цилиндрите са поставени върху стъклена основа, от свободната (горна) повърхност е нанесен материалът. Нанасянето става наведнъж до изпълване на целия цилиндър (2 mm). След изпълване на цилиндъра повърхността, през която е нанесен материалът, се покрива с предметно стъкло и материалът се полимеризира. Полимеризацията се извършва с лампа Elipar Freelight II (3M-ESPE) и режим мек старт на фотоактивация за 20 sec. Следва обръщане на диска и директна полимеризация в същия режим за още 20 sec (общо 40 sec). След полимеризацията дисковете са извадени от цилиндрите, групирани по материали и по този начин – готови за изследване. По един диск от всеки материал е отделен за СЕМ анализ и база за сравнение.

➤ *Изследване на продуктите от биодеградацията на подобрите композитни материали*

В 6-ямкови плаки бяха поставени поединично по 5 диска от всеки материал, след което във всяка ямка са добавени по 5 ml синтетична слюнка, приготвена по следната прескрипция:

Компоненти	Концентрация (mg/1000 ml)
Карбоксиметил целулоза	2
Калиев хлорид (KCl)	0.62
Натриев хлорид (NaCl)	0.87
Магнезиев хлорид (MgCl <sub>2</sub> )	0.06
Калциев хлорид (CaCl <sub>2</sub> )	0.17
Дикалиев фосфат (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0.8
Монокалиев фосфат (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0.3
Натриев флуорид (NaF)	0.0044
Натриев бикарбонат (NaHCO <sub>3</sub> )	0.33

В нулевия момент от началото на експеримента от течността във всяка ямка са взети по 100 µl, които са използвани при последващите експерименти.

По време на целия експеримент изследваните материали са съхранявани на тъмно при постоянна температура 25 ± 1°C. През определени времеви интервали (24 часа, 48 часа, 5 дни, 10 дни, 14 дни, 1 месец, 2, 3, 4, 5, 6 месеца) са взимани 100 µl аликвоти от течността и изкуствената слюнка е сменяна с нови 5 ml/ямка. Взетите аликвоти са съхранявани при -20°C преди да бъдат анализирани.

На 6-ия месец от началото на експеримента, изкуствената слюнка е премахната и по 1 диск от изследваните материали е подложен на микроскопски анализ. Направено е сравнение на състоянието на образците с тези, отделени в началото на експеримента, преди потапяне в среда от изкуствена слюнка.

Всички взети проби са анализирани чрез високоразделителна маспектроскопия (HPLC-MS).

➤ *Маспектроскопски анализ*

Всички взети в хода на експеримента проби са анализирани за наличие на мономери, фотоиницииращи компоненти и разпадни продукти чрез високоразделителна маспектроскопия на Q Exactive™ (ThermoScientific) хибриден мас-анализатор, оборудвана с нагреваем електроспрей модул HESI II и TurboFlow (ThermoScientific) ултрависоко ефективна хроматографска система.

Хроматографското разделяне бе осъществено на аналитична колона Synchronis C18 50 x 2.1 mm, с 1.7  $\mu\text{m}$  размер на частиците (ThermoScientific) при скорост на потока 0.300 ml/min.

Подвижната фаза е със състав: (А) 0.1% мравчена киселина във вода и (В) 0.1% мравчена киселина в ацетонитрил. Елуирането на аналитите е осъществено при използването на следния бинарен градиент: 0% В в продължение на 2 min; 0-15% В за 3 min, 15-90% В в рамките на 30 min; 90% В за 1 min; 90-0% В за 2 min и 0% В в продължение на 3 min.

Маспектралният анализ е реализиран при следните условия: пълен скан в областта 120-1800 m/z в положителен и отрицателен режим на работа; разделителна способност 140 000; максимално йонизационно време 200 милисекунди; температура на трансферна капиляра 300 С; температура на нагревателя 350 С; напрежение на спрея – 3.8 kV.

#### ➤ Биоинформационен анализ

Получените от маспектроскопския анализ сурови данни са обработени чрез софтуерния пакет SIEVE 2.2 за диференциален анализ на немаркирани проби. Този софтуер е предназначен за обработка на големи масиви от маспектроскопски данни, като позволява:

- идентификация на всички индивидуални вещества, налични в дадена серия от проби;
- **относителна** количествена оценка на всеки индивидуален компонент;
- статистическа оценка на целия масив от данни и на индивидуалните компоненти (PCA and trend analyses, T-test and ANOVA);
- идентификация на индивидуални вещества чрез търсене в бази данни (собствени или интернет базирани).

Два независими анализа на суровите данни са реализирани – за спектрите, получени при положителен, и за спектрите, получени при отрицателен режим на работа. Това е задължително, тъй като повечето от търсените вещества дават сигнал само в един

от използваните режими на работа на мас-анализатора.

При относителна количествена и статистическа оценка за данните като контролна позиция са използвани резултатите, получени за пробите, взети в изходния (нулевия) времеви интервал от експеримента.

## Резултати

### • Резултати от биоинформационния анализ на Filtek Ultimate

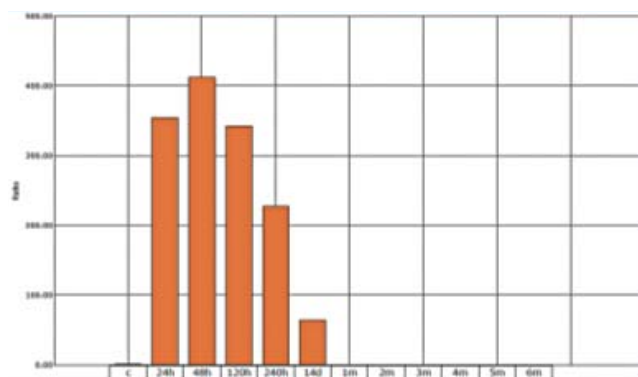
Идентифицирани са следните компоненти, отделящи се в синтетичната слюнка:

➤ Urethane dimethacrylate; UDMA; Oligomers (фигура 1).

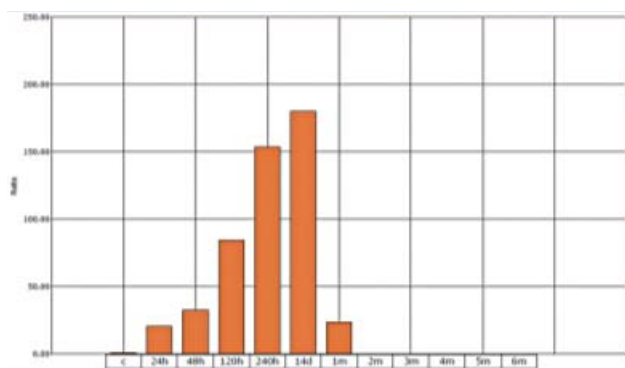
➤ Ethyl-4-dimethylaminobenzoate; EDB (фигура 2).

UDMA е един от основните мономери, присъстващи в състава на Filtek Ultimate. Неговото отделяне започва още от 24-ия час, достига максимума си след 48 часа и присъства като продукт, отделен в синтетичната слюнка до 14-ия ден от началото на експеримента. От 1-ия до 6-ия месец не се установява UDMA, отделена от Filtek Ultimate.

Ко-инициаторът на полимеризационния процес Ethyl-4-dimethylamino benzoate се открива сред субстанциите, отделени от Filtek Ultimate на 24-ия час. Количеството му нараства постепенно, като достига своят пик на 14-ия ден. От 2-рия месец до края на експеримента не се установява EDB отделен от Filtek Ultimate.



Фиг. 1. Отделяне на Urethane dimethacrylate; UDMA от Filtek Ultimate



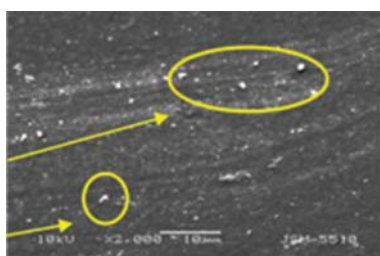
Фиг. 2. Отделяне на Ethyl-4-dimethylamino benzoate; EDB от Filtek Ultimate

### • Резултати от биоинформационния анализ на Filtek Silorane

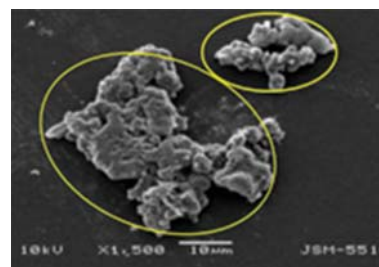
Несаустановени отделящи се в синтетичната слюнка компоненти.

На СЕМ-снимки е показан образ от повърхността на образци от F. Ultimate и F. Silorane, заснет преди потапяне в изкуствена слюнка и след период на биодеградация за 6 месеца в изкуствена слюнка (фиг. 3).

#### Повърхност от F. Ultimate преди потапяне в изкуствена слюнка

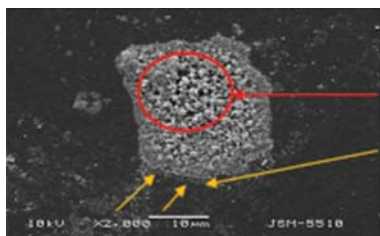


а) Общ изглед на повърхността, полимеризирана под предметно стъкло (x 2000). Гладка повърхност с проминирание на нанокластери



б) Проминират нанокластери, обвити от пластмаса.

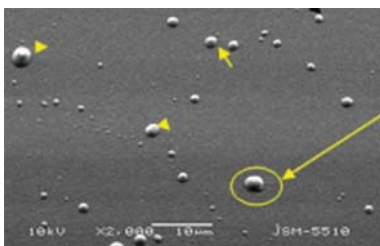
#### Повърхност от F. Ultimate след 6-месечен престой в изкуствена слюнка



Личат свободни пространства между кластерите.

Наличие на пукнатини

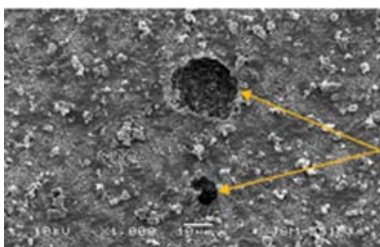
#### Повърхност от Filtek Silorane преди потапяне в изкуствена слюнка



Гладка повърхност

Проминират частици, покрити от матрикс.

#### Повърхност от Filtek Silorane след 6-месечен престой в изкуствена слюнка



По-отчетливо проминирание на компоненти от неорганичната фаза, забелязва се разграпяване и отпадане на частици.

Фиг. 3. СЕМ-сравнителен анализ на образци от композиционните материали преди и след 6-месечния престой в изкуствена слюнка

От фигура 3 се вижда как преди потапяне в изкуствена слюнка повърхностите на образците са гладки и на места проминират компоненти от неорганичната фаза, покрити с полимерен матрикс. След шестмесечен престой в изкуствена слюнка повърхностите на образците загубват гладкост: ясно личат отпаднали частици, компонентите от неорганичната фаза на композитите проминират по-отчетливо, при Filtek Ultimate се наблюдават пукнатини в полимерния матрикс.

### Обсъждане

Като аналитичен метод, в настоящото проучване е използвана високоразделителна маспектрометрия в комбинация с ултрависоко ефективна хроматография. Това е високочувствителен и надежден аналитичен метод, утвърден като изключително подходящ за идентифициране на продукти, отделени от денталните полимери [16, 19, 21]. Чрез него могат да бъдат намерени както високомолекулни мономери, така и нискомолекулни компоненти, активатори, стабилизатори и инхибитори на полимеризационния процес [14, 16, 19]. Не могат да се идентифицират отпаднали неорганични компоненти.

Обменът на слюнка е характерен за оралната среда, поради тази причина като биомиметична среда на експозиция беше избрана изкуствена слюнка. В научната практика присъстват лабораторни изследвания, проведени с подмяна на течната среда [21], и такива без периодично възобновяване [16, 19] за периода на изследване. Смятаме, че при провеждане на по-продължително изследване, правилният подход е да има опресняване на течната среда, в която са инкубирани образците от материали, с цел постигане на реалистични резултати. В настоящото шестмесечно проучване е правено периодично подновяване на разтвора от изкуствена слюнка, всеки път след вземане на проби за анализ.

Най-често в литературата се срещат изследвания, определящи отделянето на продукти от композитните материали за кратки периоди от време (една седмица) [2, 16]; малко са изследванията, визиращи по-дълги периоди:

21 дни [19]; 30 дни [22]; 6 месеца [23]; 12 месеца [21]. Според Ferracane [8] отделянето на 50% от нереагиралите продукти от композитите става през първите 3 до 24 часа от полимеризацията. Други изследователи намират, че отделянето на продукти завършва до 7 дни [12, 16]. Съществуват индикации, че този процес продължава за по-големи периоди от време [9, 10, 19, 21]. Такива са резултатите от нашето проучване. Композиционните материали са неразтворими, стабилни структури и процесите на дифузия на орални течности е бавен. С течение на времето настъпва механична ерозия, задълбочават се пукнатини, възникнали по време на полимеризацията и пр., което прави отделянето на компоненти от тяхната структура бавен процес [9, 23].

Действително в настоящото проучване отделянето на (ко)мономери започва още в първите 24 часа след полимеризация и инкубация в синтетична слюнка. Отделянето на продукти в синтетична слюнка е продължителен процес: 14 дни за UDMA от F.Ultimate; един месец за EDB от F.Ultimate.

UDMA присъства като базов мономер в състава на Filtek Ultimate. Поради непълната полимеризация на композитите [24], наличието на хидрофилни връзки в UDMA, по-ниско молекулно тегло на мономера в сравнение с Bis-GMA (512 g/mol Bis-GMA// 470 g/mol UDMA) той по-лесно се извлича и се намира във водни разтвори и разтвори на синтетична слюнка [21, 23, 24].

Изследователи откриват отделяне на инициатори, стабилизатори и инхибитори на полимеризационния процес [9]. Ние установяваме отделяне на аналогични вещества в изкуствена слюнка: Ethyl-4-dimethylamino benzoate (EDB), който представлява аминов синергист, ко-инициатор и стабилизатор на полимеризационния процес. Използван е често в комбинация с камфорохвинон [24]. Според някои научни публикации тези липофилни, по-нискомолекулни компоненти имат афинитет към клетъчните мембрани и при натрупване на по-големи количества могат да имат цитотоксичен ефект [25]. Отделянето на EDB се изчерпва след първия месец от престоя в изкуствена слюнка. Активаторите и стабилизаторите на

полимеризационния процес се добавят в малки количества към композиционните материали (около 1% от състава). Те са нискомолекулни, неподвижни, на което смятаме в случая че се дължи изчерпването до 1 месец в слюнчена среда.

Не установяваме отделяне на TEGDMA от F. Ultimate в изкуствена слюнка.

TEGDMA е сред мономерите, традиционно присъстващи в състава на композитите и проявяващ по-силно изразен цитотоксичен [17, 26] и мутагенен ефект [17]. Предполага се, че TEGDMA засилва пролиферацията на кариогенни микроорганизми [27] (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus sorbinus*).

Според информацията на производителите [6] на Filtek Ultimate има промени в състава на полимерния им матрикс в сравнение с предходни аналози на продуктите (Z100, Filtek Supreme). Промените се изразяват в намаляване на количеството на TEGDMA и заместването му с UDMA, Bis-EMA и PEGMA. Тази промяна е направена за намаляване на полимеризационното свиване, от една страна, а от друга, за увеличаване устойчивостта на обтурациите в оралната среда, чрез увеличаване дела на по-хидрофобните и повисокомолекулни мономерни.

**Липсата** на TEGDMA в пробите от изкуствена слюнка отдаваме същевременно на високо ниво на полимеризация, постигнато при облъчване за 40 sec. с диодна лампа (Elipar Freelight 2,3 M-ESPE). Научни доказателства с основание твърдят, че степента на полимеризация на композитите е сред основните фактори, определящи устойчивостта им на биодеградация [16, 19, 21, 28].

При биоинформационния анализ на Filtek Silorane не се установяват отделящи се в синтетичната слюнка компоненти. Това наше наблюдение е в корелация с констатациите на други изследователи, които не регистрират познати компоненти, отделени от Filtek Silorane във вода [29]. След експозицията във вода, изследователите потапят пробите от Filtek Silorane в разтвор на 75% етанол и на 38-та минута регистрират отделяне на непознати субстанции. Тъй като няма данни за отделената субстанция, е заключено, че тя е свързана със

силорановия мономер. Същите изследователи се позовават на друго изследване, установяващо отделяне на непознат мономер в разтвор вода:етанол 75%, където отново се изказва предположение, че става дума за отделяне на компонент от силорановия матрикс.

Същевременно, ако сравним СЕМ снимките, направени на образци от Filtek Silorane преди имерсията в изкуствена слюнка и след престой от 6 месеца, констатираме разлики. След половин година престой в течна среда, образците са загубили гладкост, отпаднали са или проминират частици, наблюдават се пукнатини в матрикса. Тези разлики, въпреки липсата на регистрирано мономерно отделяне идват в потвърждение на научните факти, доказващи, че процесите на деградация на материалите не са чисто химични. Съществува механична ерозия под влияние на течната среда, отделят се микросегменти от материала, нарушава се връзката матрикс-частици [25, 30, 31]. Полимеризационното напрежение дава отражения вътре в самия материал между матрикса и частиците, появяват се разкъсвания; микропукнатини в матрикса и пр. Тези явления допринасят за стареене на материалите.

Механична ерозия наблюдаваме и при Filtek Ultimate. Тук промените не са така демонстративни. За това допринася облата форма на наночастиците, които създават пониско напрежение в полимерните структури [6, 32]. Нанокластерите са изградени от индивидуални наночастици, които се отделят една по една от по-голямата структура-тази иновация се оказва реално предимство за стабилността на нанокompозитите.

### Изводи

1. Отделянето на остатъчни продукти от композитите с конвенционален диметакрилатен матрикс, в среда от изкуствена слюнка е продължителен процес.

2. Не се установяват компоненти, отделени от Filtek Silorane в изкуствена слюнка.

3. Процесите на биодеградация на композитите не са чисто химични. Механичната ерозия присъства като процес, водещ до нарушаване на повърхностната цялост на

КОМПОЗИТИТЕ, ПОСТАВЕНИ В СРЕДА ОТ ИЗКУСТВЕНА СЛЮНКА ЗА ПО-ДЪЛЪГ ПЕРИОД ОТ ВРЕМЕ, ДОРИ ПРИ ЛИПСА НА ДАННИ ЗА ОТДЕЛЯНЕ НА (КО)МОНОМЕРИ.

### Библиография

- Kavlakova, M., I. Stamatova, G. Bekiarov, St. Vladimirov. Spectrometric investigation of dental amalgam ingredients migrated in different liquids. *Dental medicine*, 2008, 90, 1, 30–33.
- Michelsen, V. B., H. Lygre, R. Skalevik, A. B. Tveit, E. Solheim. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci*, 2003, 111, 263-271.
- Schmalz, G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Euro J Oral Sci*, 1998, 106, 696-706.
- Koin, P. J. et al. Analysis of the degradation of a model dental composite. *J Dent Res*, 2008, 87 (7), 661-665.
- Weinmann, W., C. Thalacker, R. Guggenberg. Siloranes in dental composites. *Dent Mater*, 2005, 21, 68-74.
- 3M ESPE Filtek Ultimate Universal Restorative System (technical product profile). 3M, 2010.
- 3M ESPE Filtek Silorane-Low Shrink Posterior Restorative/Silorane System Adhesive-Self-Etch Primer & Bond (technical product profile). 3M, 2007.
- Ferracane, J. L. Elution of leachable components from composites. *J of Oral Rehabilitation*, 1994, 21, 441-452.
- Oilo, G. Biodegradation of dental composites/glass-ionomer cements. *Adv Dent Res*, 1992, 6, 50-54.
- Ruytter, I. E. Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in aqueous environment. *Adv Dent Res*, 1995, 9 (4), 344-347.
- Inoue, K., I. Hayashi. Residual monomer (Bis-GMA) of composite resins. *J of Oral Rehabilitation*, 1982, 9, 493-review.
- Tanaka, K., M. Taira et al. Residual monomers (TEGDMA and BisGMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J of Oral Rehabilitation*, 1991, 18, 353-361.
- Geurtsen, W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2000, 11 (3), 333–355.
- Santerre, J. P., L. Shajii, B. W. Leung. Relation of dental composite formulations to their degradation and release of hydrolyzed polymer-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001, 12 (2), 136-151.
- Van Landuyt, K. L. et al. How much do resin-based dental materials release? *Dent Mater*, 2011, 27, 723-747.
- Durner, J., J. Obermaier, M. Draenert, N. Ilie. Correlation of degree of conversion with the amount of elutable substances in nano-hybrid dental composites. *Dent Mater*, 2012, 28, 1146-1153.
- Garcia-Godoy, F. et al. Long-term degradation of enamel and dentin bonds: 6-year results in vitro vs in vivo. *Dent Mater*, 2010, 26, 1113-1118.
- Yilirim-Bicer, A.Z. et al. In vitro cytotoxicity of indirect composite resins: Effect of storing in artificial saliva. *Indian J Dent Res*, 2013, 24 (1), 81-86.
- Altintas, S. H., A. Usumez. Evaluation of TEGDMA leaching from four resin cements by HPLC. *Eur J Dent*, 2012, 6, 255-262.
- Soderholm, K.J., A. Marotti. Bis-GMA-based resins in dentistry: Are they safe? *JADA*, 1999, 1 (30), 201–209.
- Polydorou, O., A. Konig, E. Hellwig, K. Kummerer. Long term release of monomers from modern dental-composite materials. *Eur J Oral Sci*, 2009, 117, 68-75.
- Lee, S. Y. et al. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and resultant composite strength. *J of Oral Rehabilitation*, 1998, 25, 575-588.
- Ortengren, U., H. Wellendorf, S. Karlsson, I. E. Ruyter. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in aqueous environment. *J of Oral Rehabilitation*, 2001, 28, 1106-1115.
- Ferracane, J. L. New Polymer Resins for Dental Restoratives. *Oper Dent*; 2001; 6, 3, 199-210.
- Eliades, G., W. A. Brantley, D. C. Watts. *Dental Materials In Vivo: Aging and Related Phenomena*. Quintessence Publishing, London UK, Quintessence Publishing Co, Inc. Copyright, 2003.
- Goldberg, M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin composites: a review. *Clin Oral Invest*, 2008, 12, 1-8.
- Lin, B. A., F. Jaffer, M. D. Duff, Y. W. Tang, J. P. Santerre. Identifying enzyme activities within human saliva which are relevant to dental resin composite biodegradation. *Biomaterials*, 2005, 26, 4259-4264.
- Filipov, I. A., S. B. Vladimirov. Residual monomer in a composite resin after light-curing with different sources, light intensities and spectra of radiation. *Braz Dent J*, 2006, 17, 1, 34-38.
- Kopperud, H. M., M. Schmidt, I. S. Kleven. Elution of substances from a silorane-based dental composite. *Eur J Oral Sci*, 2010, 118, 100-2. [PubMed: 20156272]
- Drummond, J. L. Degradation, fatigue and failure of resin dental composite materials. *J Dent Res*, 2008, 87 (8), 710-719.
- Ferracane, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater*, 2006, 22, 211-222.
- Sakaguchi, R. L., J. M. Powers. *Craig's Restorative Dental Materials*. Philadelphia, USA, Elsevier Mosby, 13th ed., 2012, XVI, 400.

### Адрес за кореспонденция:

д-р Севда Янчева, дм  
Катедра Консервативно зъболечение  
Факултет по дентална медицина, МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски“ № 1  
1431, София, България  
тел. 0888675874  
e-mail: sevda.yancheva@gmail.com

### Address for correspondence:

Dr. Sevda Yantcheva, PhD  
Department of Conservative Dentistry  
Faculty of Dental medicine, MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0888675874  
e-mail: sevda.yancheva@gmail.com

## Приложение на модифицирани крайници на пулсов оксиметър за диагностика на състоянието на зъбната пулпа

Костурков, Д.<sup>1</sup>, Ц. Узунов<sup>2</sup>

## Application of modified probes of pulse oximeter for diagnosis of the condition of the pulp

Kosturkov, D.<sup>1</sup>, Ts. Uzunov<sup>2</sup>

### Резюме

Пулсовата оксиметрия е неинвазивен метод, чрез който се измерва насищането с кислород на кръвта в тъканите. За да се прилага в денталната медицина е необходимо да се използват специализирани крайници на апарата за приложение върху различните групи зъби. Целта на настоящото изследване е да се проучи ефективността на крайници за пулсов оксиметър специално модифицирани за изследване на фронтални зъби, премолари и молари. За реализирането ѝ са изследвани 638 зъба в горна и долна челюст на 86 пациенти на възраст 18-26 г. Зъбите са разделени на три групи – фронтални, премолари и молари. На всяка група е проведено изследване със стандартен и с модифициран крайник на пулсов оксиметър. При фронтални зъби са получени следните резултати:  $84,42 \pm 7,14$  (стандартни крайници),  $83,26 \pm 4,27$  (модифицирани крайници),  $p$ -стойност: 0,04. При премолари са получени следните резултати:  $84,36 \pm 4,21$  (стандартни крайници),  $83,94 \pm 3,44$  (модифицирани крайници),  $p$ -стойност: 0,25. При молари са получени следните резултати:  $84,46 \pm 4,10$  (стандартни крайници),  $84,78 \pm 3,58$  (модифицирани крайници),  $p$ -стойност: 0,39. Използването на модифицирани крайници улеснява диагностичния процес и повишава точността на получените резултати.

**Ключови думи:** пулпа, диагностика, пулсова оксиметрия, модифицирани крайници

### Summary

Pulse oximetry is a non-invasive method by which the oxygen saturation in the tissues is measured. For its application in dentistry custom-modified probes for different groups of teeth are needed. The purpose of this study is to evaluate the effectiveness of specially modified probes of pulse oximeter for frontal teeth, premolars and molars. To realize the aim, 638 teeth in upper and lower jaws of 86 patients aged 18-26 are examined. The teeth are divided into three groups – frontal, premolar and molar. Each group is tested with a standard and modified pulse oximeter probe. The following results are obtained from the group of frontal teeth:  $84,42 \pm 7,14$  (standart probes),  $83,26 \pm 4,27$  (modified probes),  $p$ -value: 0,04. The following results are obtained from the group of premolars:  $84,36 \pm 4,21$  (standart probes),  $83,94 \pm 3,44$  (modified probes),  $p$ -value: 0,25. The following results are obtained from the group of molars:  $84,46 \pm 4,10$  (standart probes),  $84,78 \pm 3,58$  (modified probes),  $p$ -value: 0,39. The use of modified probes facilitates the diagnostic process and increases the accuracy of the results.

**Key words:** pulp, diagnosis, pulse oximetry, modified probe

<sup>1</sup>Редовен докторант в МУ – София, ФДМ, Катедра Консервативно зъболечение

<sup>2</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Консервативно зъболечение

<sup>1</sup>PhD Student at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

<sup>2</sup>Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Conservative Dentistry

## Въведение

Пулсовата оксиметрия е неинвазивен метод, който позволява да се измери индиректно насищането с кислород на кръвта в тъканите. Това се реализира чрез пропускане през тях на червена и инфрачервена светлина от диоди в крайника на апарата. Преминалата през тъканите светлина се регистрира от специален фотодетектор. На базата на съотношението в абсорбираната червена и инфрачервена светлина се изчислява оксигенацията на кръвта в тъканите. По нея може да се съди за функционалното им състояние [1].

В денталната медицина към настоящия момент приложението на пулсовата оксиметрия е ограничено поради трудната апликация на стандартните крайници на съществуващите апарати върху зъбите. За да може да се използва успешно диодите и фотодетектора трябва да бъдат закрепени успоредно и неподвижно върху зъбната повърхност в областта на шийката на зъба. Различните зъбни групи, зъбни форми и повърхности създават затруднения при приложението на стандартните крайници на апарата. За по-прецизни измервания е необходимо да се създадат специални приспособления, които да закрепят успоредно и неподвижно диодите и фотодетектора на апарата в областта на зъбната шийка.

Стабилността на диодите и фотодетектора, поставени върху зъбната повърхност, определят точността и надеждността на резултатите. Необходимостта за изработване на специални за дентална употреба крайници на пулсов оксиметър е потвърдена в много публикации по темата [2, 3, 4].

Някои автори прилагат директно стандартните крайници на пулсовия оксиметър за изследване на зъбите – Sadique и Siddheswaran [5, 6]. Други – редуцират външните размери на стандартните крайници – Goho или прикрепват стандартните чрез гума [7, 8].

Kahan и колектив създават адаптират рефлексивен крайник чрез клампа за

кофердам и метална пластинка [9]. Клампа за кофердам използва и Noblett в ин витро експеримент [10]. Подобна модификация чрез щипка от неръждаема стомана и клампа за кофердам е направил и H. Karayilmaz [11].

Gabriela Ciobanu прикрепва диодите и фотодетектора към зъбната повърхност с помощта на две пластмасови пластини и свързващ винт [12].

Gopikrishna и колектив модифицират крайника на пулсов оксиметър чрез задържане на диодите и фотодетектора с пластинки и дентална пинсета [13]. Друг автор – Nafiseh Dashtmalchi, използва хирургична пинсета за задържане на диодите и детектора [14].

Някои автори използват специална скоба-държач, на която се монтират диодите и фотодетектора – Maria Helena Pozzobon, J. Stella, Giovanella [3, 15, 16].

## Цел

Да се проучи ефективността на крайници за пулсов оксиметър специално модифицирани за изследване на фронтални зъби, премолари и молари.

## Материал и методи

За реализиране на целта са изследвани 638 зъба в горна и долна челюст на 86 пациенти на възраст 18-26 г. В горна челюст са изследвани 318 зъба, а в долна – 320. От тях 216 са фронтални зъби (по 108 в горна и долна челюст), 212 са премолари (105 в горна челюст, 107 в долна челюст), 210 са молари (по 105 в горна и долна челюст).

*Критерии за включване в изследването:*

- Пациенти без общи, системни, хронични заболявания и без прием на медикаменти
- Пациенти на възраст между 18 и 26 г.
- Интактни зъби, без провеждано лечение, без данни за наличие на кариозен процес или пулпна патология

Изследваните зъби са разделени в 3 групи: фронтални зъби (включваща централни,

латерални резци и кучешки зъби), премолари и молари. На всяка група зъби са направени по две изследвания с пулсов оксиметър Contec CMS 8000. Първото от изследванията е проведено със стандартен накрайник към апарата, а второто – със специално модифициран накрайник за съответната група зъб.

*Методика на изследване на зъби с пулсов оксиметър:*

– Зъбът се подсушава  
– При изследване със стандартен накрайник, той се позиционира в шийката на

зъба. От вестибуларната страна се поставят диодите, а от оралната – фотодетектора, така че двете части на накрайника да бъдат успоредни.

– При изследване с модифициран накрайник се използва този, който е предназначен за съответната група зъби – фронтални, премолари и молари. Позиционира се така, че от вестибуларната страна са диодите, а от оралната – фотодетектора (фиг. 1).

– След като премине времето за калибрация на апарата се отчита стойността (от 0 до 100),



**Фиг. 1.** Приложение на модифицирани накрайници за пулсов оксиметър върху: а) фронтални зъби; б) премолари; в) молари

изписана на екрана, която съответства на сатурация на кръвта в пулпата в проценти

*Статистически методи:*

Проведен е Т-тест за извеждане на средните стойности на сатурация и стандартните отклонения при изследваните групи зъби

Използван е F-тест за хомогенност на дисперсиите, като част от ANOVA анализ. Зададена е нулева хипотеза, че двата реда от данни произлизат от разпределения с еднаква дисперсия.

## Резултати

Резултатите от изследването на фронтални зъби в горна и долна челюст със стандартните и модифицирани накрайници са представени в таблица № 1.

При изследване на фронтални зъби със стандартните накрайници за пулсов оксиметър са получени следните нива на сатурация на пулпата:

$84,42 \pm 7,14$ , а при изследване с модифицираните –  $83,26 \pm 4,27$ . Получената р-стойност от 0,042 дава основание да се отхвърли нулевата хипотеза, че двата реда данни произлизат от разпределения с еднаква дисперсия.

Резултатите от изследването на премолари в горна и долна челюст със стандартните и модифицирани накрайници са представени в таблица № 2.

При изследване на премолари със стандартните накрайници за пулсов оксиметър са получени следните нива на сатурация на пулпата:  $84,36 \pm 4,21$ , а при изследване с модифицираните –  $83,94 \pm 3,44$ . Получената р-стойност от 0,25 не дава основание да се отхвърли нулевата хипотеза, че двата реда данни произлизат от разпределения с еднаква дисперсия.

Резултатите от изследването на молари в горна и долна челюст със стандартните и модифицирани накрайници са представени в таблица № 3

**Таблица № 1.** Изследване на фронтални зъби със стандартен и модифициран накрайник за пулсов оксиметър – средна стойност на сатурацията и стандартно отклонение

Исследване / Накрайник	Брой изследвани зъби	Средна стойност на сатурация на пулпата и стандартно отклонение	ANOVA F-value	ANOVA P-value
Стандартни накрайници	216	84,42 ± 7,14	4,125174	0,042869
Модифицирани накрайници	216	83,26 ± 4,27		

**Таблица № 2.** Изследване на премолари със стандартен и модифициран накрайник за пулсов оксиметър – средна стойност на сатурацията и стандартно отклонение

Исследване / Накрайник	Брой изследвани зъби	Средна стойност на сатурация на пулпата и стандартно отклонение	ANOVA F-value	ANOVA P-value
Стандартни накрайници	212	84,36 ± 4,21	1,32	0,25
Модифицирани накрайници	212	83,94 ± 3,44		

**Таблица № 3.** Изследване на молари със стандартен и модифициран накрайник за пулсов оксиметър – средна стойност на сатурацията и стандартно отклонение

Исследване / Накрайник	Брой изследвани зъби	Средна стойност на сатурация на пулпата и стандартно отклонение	ANOVA F-value	ANOVA P-value
Стандартни накрайници	210	84,46 ± 4,10	0,73	0,39
Модифицирани накрайници	210	84,78 ± 3,58		

При изследване на молари със стандартните накрайници за пулсов оксиметър са получени следните нива на сатурация на пулпата: 84,46 ± 4,10, а при изследване с модифицираните – 84,78 ± 3,58. Получената р-стойност от 0,39 не дава основание да се отхвърли нулевата хипотеза, че двата реда данни произлизат от разпределения с еднаква дисперсия.

### Дискусия

Разработените от нас накрайници могат да адаптират диодите и фотодетектора плътно към зъбната корона на фронтални зъби, премолари и молари, защото са разработени съобразно средностатистическата форма и размери на тези зъбни групи. Освен това те се прикрепят пасивно чрез механизъм за заключване в подекваторната зона на зъбната корона. По този начин се намаляват вибрациите върху накрайника и респективно – рискът за компрометиране на резултатите.

Нашите изследвания потвърждават факта, че плътната адаптация на диодите и фотодетектора към зъбната повърхност води до по-прецизни резултати. Това се вижда от по-малките стандартни отклонения на стойностите, измерени чрез модифицираните накрайници в сравнение със стандартните. Това е особено видимо в групата на фронталните зъби, където измерванията са затруднени от по-малкия обем на пулпната камера. При тях, резултатите показват, че има статистически значима разлика между двете групи изследвания. По-прецизно е измерването направено с модифицирани накрайници.

Получените от изследването средни стойности на сатурацията при различните групи зъби са сходни с тези получени в други изследвания [3, 6, 11, 12]. Малко автори съобщават за по-високи или по-ниски резултати [7, 9, 18].

От проучената достъпна литература става ясно, че само един от посочените механизми

за закрепване на диодите и фотодетектора на пулсовия оксиметър позволява пасивна апликация на накрайника. Това е важно условие за елиминиране на човешката намеса и риск от компрометиране на резултатите в следствие от създаване на вибрации в накрайника. Механизмът за закрепване на диодите и детектора с клампа от кофердам и метална щипка е създаден като универсален вариант. Той обаче не позволява добра адаптация на накрайника към всички видове зъби и може да затрудни приложението на метода.

Затова е по-добре да се използват накрайници, подходящи за различните зъби – фронтални, премолари или молари, каквито са създадените от нас. По този начин могат да бъдат изследвани с по-голяма точност посочените групи зъби.

### Заклучение

Използването на специализирани накрайници на пулсов оксиметър, модифицирани за приложение върху различните групи зъби улеснява и прецизира значително диагностичния процес. Освен това приложението им води до намаляване на възможността за компрометиране на резултатите. Това се дължи на понижения риск от движение на диодите и сензора, когато са прикрепени към зъбната повърхност. Следствие от това е повишаването на точността на измерването на сатурацията на зъбната пулпа.

### Благодарности

*Настоящото изследване е проведено във връзка с реализирането на проект от конкурс „Млад изследовател – 2017 г.“ на МУ – София, ДОГОВОР № Д – 148/02.05. 2017 г., ПРОЕКТ вх. № 8410/08.12.2016 г. за реализиране на научни проекти на докторанти от СМН, МУ – София.*

*Изказваме благодарност на екипа на фирма „Оптика лазер“ за разработването на прототипи*

*на накрайници за пулсов оксиметър, специализирани за изследване на фронтални зъби, премолари и молари.*

### Библиография:

1. Košťurkov D, Latkovska A, Uzunov Ts. Methods for assessing the condition of the pulp. Dental medicine, 2014, 96 (3), 242-250.
2. Košťurkov D, Uzunov Ts. Pulse oximetry – new diagnostic method in dental medicine. Dental medicine, 2015, 97 (2), 163-170.
3. Pozzobon M. Assessment of pulp blood flow in primary and permanent teeth using pulse oximetry. Dental Traumatology 2011, 27, 184-188.
4. Radhakrishnan S, Munshi AK, Hedge AM. Pulse oximetry: a diagnostic instrument in pulpal vitality testing. The Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 2002, 26, 141.
5. Siddheswaran V, Adyanthaya R, Shivanna V. Pulse Oximetry: A Diagnostic Instrument in Pulpal Vitality Testing – An in vivo Study. World Journal of Dentistry, July-September 2011, 2(3), 225-230.
6. Sadique M et al. Evaluation of Efficacy of a Pulse Oximeter to Assess Pulp Vitality. Journal of International Oral Health, 2014, 6(3), 70-72.
7. Goho C. Pulse oximetry evaluation of vitality in primary and immature permanent teeth. Pediatric Dentistry, 1999, 21, 125
8. Kataoka S et al. Pulp Vitality in Patients with Intraoral and Oropharyngeal Malignant Tumors Undergoing Radiation Therapy Assessed by Pulse Oximetry. JOE 2011, 37 (9), 1197-1200
9. Kahan RS, Gulabivala K, Snook M, Setchell DJ. Evaluation of a pulse oximeter and customized probe for pulp vitality testing. J Endod, 1996, 22, 105-9.
10. Noblett WC, Wilcox LR, Scamman F, Johnson WT, Diaz-Arnold A. Detection of pulpal circulation in vitro by pulse oximetry. Journal of Endodontics, 1996, 22, 1-5.
11. Karayilmaz H, Kirzioglu, Z. Evaluation of Pulpal Blood Flow Changes in Primary Molars with Physiological Root Resorption by Laser Doppler Flowmetry and Pulse Oximetry. The Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 2011, 36 (2), 139-44.
12. Ciobanu G, Ileana I, Ungureanu L. Testing of pulp vitality by pulsoximetry. International Journal of Medical Dentistry, 2012, 2 (2), 94-98.
13. Gopikrishna V, Tinagupta K, Kandaswamy D. Comparison of Electrical, Thermal, and Pulse Oximetry Methods for Assessing Pulp Vitality in Recently Traumatized Teeth. JOE, 2007, 33, 5, 531-535.

14. Daştmalchi N, Jafarzadeh H, Moradi S. Comparison of the Efficacy of a Custom-made Pulse Oximeter Probe with Digital Electric Pulp Tester, Cold Spray, and Rubber Cup for Assessing Pulp Vitality. JOE, 2012, 38 (9), 1182-1186.
15. Giovanella L et al. Assessment of Oxygen Saturation in Dental Pulp of Permanent Teeth with Periodontal Disease. JOE, 2014, 40 (12), 1927-31.
16. Stella J et al. Oxygen Saturation in Dental Pulp of Permanent Teeth: Difference between Children/Adolescents and Adults. JOE, 2015, 41(9), 1445-1449.
17. Karayilmaz H, Kirzioglu, Z. Comparison of the reliability of laser Doppler flowmetry, pulse oximetry and electric pulp tester in assessing the pulp vitality of human teeth. Journal of Oral Rehabilitation, 2011, 38, 340-347.
18. Stella J et al. Oxygen Saturation in Dental Pulp of Permanent Teeth: Difference between Children/Adolescents and Adults. JOE, 2015, 41(9), 1445-1449.

**Адрес за кореспонденция:**

Д-р Димитър Костурков  
Катедра Консервативно Зъблечение  
Факултет по Дентална Медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски“ № 1  
1431, София, България  
тел. 0883445441  
e-mail: D.Kosturkov@gmail.com

**Address for correspondence:**

Dr. Dimitar Kosturkov  
Department of Conservative Dentistry  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0883445441  
e-mail: D.Kosturkov@gmail.com

---

## Биодеградация на композиционни материали

(литературен обзор)

Янчева, С.

## Biodegradation of Composite Materials

(literature review)

Yantcheva, S.

---

### Резюме

*Денталните композити са неразтворими структури с голяма химична и термична стабилност. Поставени в устната кухина обаче те могат да абсорбират вода и химични субстанции от заобикалящата ги биологична среда, също така, да отделят компоненти към нея. В устата материалите са подложени на въздействието на различни ендогенни и екзогенни фактори. Композитите претърпяват биодеградация. В настоящият обзор се анализират факторите, които обуславят биодеградацията на композитите като: структурни особености на материалите; влияние на състава им; роля на слюнката и микроорганизмите от оралната среда; въздействие на термичните и химични промени в устната кухина; дъвкателно натоварване. Разгледани са продуктите от биодеградацията на композитните материали.*

**Ключови думи:** биодеградация, отделяне на мономери, сорбция, композити

### Summary

*Dental composite materials are insoluble structures with high chemical and thermal stability. Placed in the oral environment composites are not inert. They can absorb water and chemicals from the environment and release components, initially dye incomplete polymerization, later dye degradation. In the oral cavity the materials are exposed to a rather complex milieu that comprises different endogenous and exogenous factors. These components establish a complex interaction, which result in a general biodegradation of the resin composite. In the current revue are analyzed multiple factors involved in composite biodegradation, such as: composite structure; saliva; microorganisms; thermal and chemical dietary changes; chewing forces. Special attention was pawed on biodegradation products eluted from the dental composites.*

**Key words:** biodegradation, monomer release, water sorption, resin composites

В днешно време има тенденция за по-ограничено използване на денталната амалгама като възстановителен материал. Това се дължи, от една страна, на общественото становище за нейната вреда върху човешкото здраве и замърсяването на околната среда, от друга, на нарастващите изисквания на пациентите за естетика. От композитите се очаква да заместят амалгамата и да се наложат като основен възстановителен материал за цялото съзъбие.

Денталните композити са неразтворими структури с голяма химична и термична стабилност. Поставени в устната кухина обаче те могат да абсорбират вода и химични субстанции от заобикалящата ги биологична среда, също така, да отделят компоненти към нея. В устата материалите са подложени на въздействието на различни ендогенни и екзогенни фактори. Композитите претърпяват биодеградация.

**Биодеградацията** е процес на необратимо влошаване на качествата на материалите под въздействие на специфична биологична активност [1].

Повечето изследвания се концентрират върху влошаването на физичните качества на композиционните материали, което настъпва с течение на времето: размекване, умора, фрактури, износване. Тези процеси се подпомагат от биодеградацията [2, 3, 4].

Явленията на сорбция и разтворимост се явяват прекурсори на различни химични и физични процеси, които пораждат съмнения относно биологичната инертност на полимерите [5]. Те същевременно нанасят вреда върху структурата и функцията на полимерните материали. Тук можем да изброим обемни промени като хидролитична експанзия, физични промени като пластификация и размекване, химични промени като окисление и хидролиза. Качествата на полимерната мрежа могат да бъдат променени от тези процеси, а трайността и устойчивостта на материалите, компрометирани [2, 6, 7].

Тревога буди фактът, че сорбцията на разтворители и хидролитичната деградация водят до скъсяване на живота на композитните обтурации. По-тревожно е това, че при тези процеси от материалите могат да бъдат отделени субстанции, които да доведат до промени в реактивността на клетки, тъкани и да нанесат вреда на човешкия организъм [5, 6, 8, 9, 10].

### **Фактори, които имат отношение към биодеградацията на композитните материали**

#### **1. Структурни особености на композитите**

Сорбцията на вода е присъща на КМ. Тя се осъществява от органичния матрикс и е в зависимост от **степената на полимеризация** [7, 9, 11, 12, 13]. По-пълната полимеризация намалява сорбцията на вода и последващата деградация на материала. При сорбция на вода се увеличава обемът на материала. Пример за това е проминирването на ръбове на обтурацията над съседната зъбна повърхност, въпреки че първоначално са били добре адаптирани към периферната връзка [10, 14].

Сорбцията на вода варира от 5 до 17  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$  при хибридните композити и от 26 до 30  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$  при микрофилните композити. Разликата в стойностите е поради по-малкото процентно съдържание на полимерен матрикс при хибридните композити [5]. Според други автори по-високият относителен дял на пълнежната фаза, не повлиява сорбцията на вода [10].

Сорбцията на вода не би могла да компенсира полимеризационното свиване, тъй като сорбцията е по-бавен процес в сравнение със свиването [14]. Ако започнем да измерваме хигроскопичната експанзия 15 min след полимеризация, за постигане на равновесие на материала са необходими 7 дни и от 2 до 4 дни за достигане на максимално разширение [12].

Основен проблем на КМ е това, че тяхната полимеризация не е пълна. Степента на полимеризация достига 60-75% [9, 11, 15, 16, 17]. Светлинната полимеризация не разрешава

този проблем. Появяват се някои фактори, които усложняват ситуацията: интензитет на светлинния източник, време на облъчване, отдалеченост от източника на светлина, посока на облъчване и др. Непълната полимеризация оставя нереагирани мономери, които могат да бъдат разтворени във влажна среда [2, 16].

Времето на облъчване играе съществена роля върху деградацията и отделянето на мономери. За нанохибридни материали е установено, че нарастването на времето на облъчване намалява деградацията [18, 19].

Друга възможност за атака на полимерната мрежа са гъсто разположените хидрофилни връзки, които са обект на хидролиза или окисление. Това води до деградация [16].

Полимерната мрежа съдържа празни пространства и пори между веригите, особено в регионите на близко разположени напречни връзки. Високото ниво на порьозност или наличието на шупли при нанасянето на композита, улеснява навлизането на течности към полимерната структура и разтварянето на ненапълно реагирани продукти. След тяхното отделяне в устната среда може да настъпи намаляване на обема на obturation [15, 20, 21].

Обемните промени се отразяват на връзката между obturation и стените на кавитета. Като се има предвид полимеризационното свиване, допълнителните обемни промени от сорбцията на вода и отделянето на непълноценни продукти могат да засилят напрежението на границата кавитет/obturation и да допринесат за отделянето на възстановяването от стените на кавитета [4].

**Съставът на матрикса** оказва влияние върху процесите на деградация. Например TEGDMA има висок афинитет към водните молекули, по този начин присъствието на този мономер увеличава сорбцията на вода и хидролизата. Мономерите UDMA и Bis-GMA са много по-стабилни във водна среда [15], но при тях също съществуват уретанови и хидроксилни групи, привличащи водата. И

при трите споменати мономера хидрофилните естерни връзки са тези, които най-силно привличат водните молекули и правят мономерите по-уязвими за ензимна хидролиза при физиологично pH [5].

Изследвания степенуват по следния начин склонността за сорбция на вода: TEGDMA > Bis-GMA > UDMA > Bis-EMA [9, 15, 16].

Структурните различия сред търговските продукти КМ водят до различни нива на сорбция, разтворимост и деградация поради разликата в мономерния състав и съотношенията на съставните компоненти [6, 7, 21, 22, 23].

Наличието на **пълнежни частици в КМ** може да намали значително сорбцията на вода и на разтворимостта основно редуцирайки цялостния обем на абсорбиращия полимер [9].

Композити с кварцови и силициеви частици са почти инертни във вода, но съдържанието на рентгеноконтрастни стъклени частици води до увеличаване на разтворимостта във вода и слюнка. Потенциалната уязвимост на стъклените частици е фактор, доказващ необходимостта от тяхното силанизиране като бариера срещу въздействието на устната среда [9, 11, 21].

Има доказателства, че **качеството на силанизиране** на частиците и връзката силан – полимерна структура, определят устойчивостта на материала към разтворители [4, 6, 9, 15]. Силаните са органични силикони, съдържащи винилни групи, които реагират с органичния матрикс и метокси групи, които чрез хидролиза, образуват силанолови групи, реагиращи с неорганичните частици. Те осигуряват целостта на полимерната система, намаляват сорбцията на вода и дезинтеграцията във влажна среда на матрикса и частиците. Недоброто или липсващо силанизиране води до възникване на ниско енергийни зони за проникване на разтворители [9, 21].

В тази връзка от микрохибридите, нанохибридите и нанофилните материали се

очаква най-висока хидролитична стабилност. Стремежът към максимално насищане на матрикса с частици може да доведе до струпвания, недобро силанизиране, непълноценно свързване на силанизирани частици с матрикса и съответно по-високо ниво на деградация на композита [24].

## 2. Слюнката като фактор

Човешката слюнка е сложна смес, състояща се от хипотонични течности и специфични компоненти, продукти на слюнчените жлези, гингивалната кревикуларна течност, оралните микроорганизми, полиморфоядрените левкоцити, епителните клетки и хранителните остатъци [2].

Слюнката съдържа приблизително 99% вода, която е водещ фактор в биодegradацията на КМ. Оралната среда улеснява проникването на вода от слюнката към композитите. Получава се набухване на материала. От друга страна, сорбцията на вода води до дифузия на нереагирани/несвързани мономерни от полимерната мрежа към устната кухина, като празните пространства се заемат от вода. За водните молекули стават достъпни по-дълбоки зони от obturацията, по този механизъм, макар бавно, напредва процесът на деградация [2, 5, 15, 25].

Сорбцията на вода следва закона на Фик за дифузия. Като следствие на това може да се очаква един композиционен материал да достигне равновесно насищане с вода за 1-2 месеца след поставянето [5, 11].

Полимерните структури на композиционните материали деградират освен чрез пасивна хидролиза и чрез **ензимни реакции** [1, 5, 15, 26].

**Естеразите** от слюнката са ензимите, участващи в разрушаването на композиционните материали. Те атакуват страничните вериги на матрикса, като водят до образуване на вредни, разпадни продукти. Тъй като слюнката постоянно обмива устната кухина, включително obturациите, продуктите от биодegradацията на композитите могат да бъдат установени от слюнчени проби [2, 8, 27,

28]. Анализът се осъществява най-често чрез HPLC (high performance liquid chromatography).

Доказателство за ензимно участие са изследвания *in vitro* върху Bis-GMA/TEGDMA композити. При пробите инкубирани с естерази се наблюдава по-голяма редукция в масата на образците, в сравнение с пробите инкубирани в чист буфер [7, 9, 26]. При поставяне на образци на композити, адхезивно свързани към дентин в разтвор на холин/псевдохолин естерази, с нива, имитиращи интраорални условия се установява следното. Първо – отделяне на бисхидрокси-пропокси-фенил-пропан (bisHPPP), продукт от деградацията на Bis-GMA. Второ – увеличаване на дълбочината и обема на микропроцепа, между композита и дентинната повърхност [7, 15, 26, 29].

Мономерният състав на материалите е от ключово значение, когато става въпрос за ензимно участие в биодegradацията. Изследвания показват по-голям афинитет на холинестеразите към Bis-GMA и на псевдохолинестеразите към TEGDMA [21, 30]. Комбинацията холин/псевдохолинестерази синергично разгражда Bis-GMA/TEGDMA и уретан модифицирана Bis-GMA/TEGDMA/BisEMA полимерни композитни мрежи [5, 21, 27].

Ефектите от ензимната деградация се отразяват неблагоприятно на механичните качества на композитите. Достига се до намаляване на повърхностната твърдост и износоустойчивост [2, 5, 21].

## 3. Роля на микроорганизмите

Съществуват данни за участие на орални микроорганизми в процесите на деградация на денталните композити, макар за момента да няма достатъчно доказателства.

*Streptococcus mutans* – основният микроорганизъм, присъстващ в етиологията на зъбния кариес, е сред първите микроби, колонизиращи микропроцепа. Той проявява засилен афинитет към композиционните материали, в сравнение с афинитета си към емайла, керамиките и металите [15].

*Streptococcus mutans* показва засилен растеж върху дентални композити in vitro. Не е ясно дали това се дължи на нереагиралите мономери, отделящи се от материалите или на повърхностната грапавост, улесняваща колонизацията на микроорганизмите [9]. Установено е също, че *Streptococcus mutans* увеличава повърхностната грапавост на композиционни материали, като спомага за тяхната деградация [31]. Скорошни проучвания показват, че *Streptococcus mutans* притежава естеразна активност в степен, позволяваща му да участва в деградацията на композитите и адхезивните системи [15].

Има данни за това, че продукти от деградацията на композиционните материали, стимулират растежа на *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus* [15, 22, 32].

Гладкостта след полиране намалява възможността за колонизиране на микроорганизми [33, 34]. Композитите с по-високо съдържание на частици и по-високи възможности за добро полиране водят до намаляване задръжането и колонизирането на микроорганизми [34].

#### **4. Дъвкателни сили и деградация на композитите**

Деградацията на материалите в устната кухина се дължи и на механична умора, настъпваща под въздействието на сравнително слаби, повтарящи се натоварвания, резултат от дъвкателния акт [12]. Непрекъснатото въздействие на механични и биохимични процеси води до прогресивно износване, поява или нарастване на пукнатини. Тези процеси се благоприятстват от наличието на празнини, получени при нанасянето на обтурацията, от остатъчен стрес следствие на полимеризацията. Това може да доведе до проблеми на обтурацията [2, 4, 15, 20, 35].

Разрушаване на денталните композити може да се предизвика от влошаване качествата на матрикса и нарушаване на връзката му с частиците, причинени от механично

натоварване, в комбинация с химичните и биологични фактори от устната среда. Стига се до междуповърхностно отделяне, микропукнатини и фрактури на частици. Това според някои автори е водеща причина за неуспех на композитните обтурации [4, 9, 36].

Сорбцията на течности причинява пластификация, първоначално на повърхността на композитната обтурация. Пластификацията води до по-бързо изтриване при дъвчене заради липса на достатъчна твърдост. С течение на времето пластификацията обхваща по-дълбоки зони на полимерната мрежа и може да се отрази на цялостното състояние на композитното възстановяване [2, 5, 15, 36, 37].

#### **5. Термични и химични фактори**

Интраоралните температурни промени са резултат от ежедневния прием на храни и напитки. Температурните промени не се отразяват благоприятно на композиционните материали, тоест те имат различен коефициент на термична експанзия в сравнение с естествените зъбни тъкани [2, 4]. Температурните флукуации могат да доведат до възникване на напрежение поради високи температурни градиенти близо до повърхността. Механичният стрес, индуциран от температурните промени, може директно да причини пукнатини във връзката композит/зъб и да наруши адхезията [1, 2, 4, 5].

Деградацията на композиционните материали може да се появи и като резултат от пренагриване на обтурациите по време на полиране. Достига се до деполимеризация и формиране на мономерни сегменти. Тези сегменти могат да бъдат разтворени, като направят повърхността на възстановяването по-пореста. Това улеснява навлизането на течности, причиняващи напредък в деградацията [9].

Храните и напитките могат директно да въздействат върху материалите чрез своите съставки, като етанол например, и със своя капацитет да променят стойностите на рН в устата [1, 2, 38].

### Продукти на биодеградацията

При полимеризацията на композиционните материали остават нереагирани мономери, олигомери и инициатори. От полимерната мрежа могат да се отделят неорганични частици. Изследванията показват, че на практика всеки компонент на композиционния материал може да се отдели в разтвор [5, 16, 28, 39, 40]. Композитите могат да деградират под въздействие на различни химични агенти и страничните продукти от деградацията могат да бъдат екстрахирани (извлечени) от разтворите.

Отделянето на продукти от композитите не е голямо: 0.05-2% от теглото на образците, като екстракцията в алкохол и други органични разтворители е по-високо: 2-6%. Inoue и Hayashi [41] твърдят, че само 10% от нереагираният мономер може да бъде разтворен. Според Ferracane [42] загубата на мономери е 8%.

Разтварянето за повечето субстанции настъпва бързо и завършва напълно за 1 до 3 дни [9]. Други вещества изискват по-дълъг период на екстракция. Разтворимостта за дълъг период от време (110 дни) варира за различните видове композити, включва органични и неорганични компоненти и допълва деградацията с около 1% [11, 39].

При недобра полимеризация има по-високи нива на отделяне. Площта на образците също влияе на количествата отделени продукти. Това се доказва от изследвания, направени със смлени материали [16, 39].

#### 1. Мономери

Още през 1981 година е използвана инфрачервена спектроскопия (IR) за установяване на продукти от деградацията на Bis-GMA и UDMA композити, които са били във вода за 6 месеца. Въпреки несъвършенствата на метода се установява отделяне на мономери и олигомери [5, 16].

Чрез високо чувствителна течна хроматография (HPLC) Inoue и Hayashi [41] установяват отделяне на Bis-GMA и други мономери от 10 изследвани търговски продукта

на дентални композити, престояли 2 седмици във вода. Ултравioletова спектроскопия (UVS) е използвана от Thompson, Miller, Bowels [19] за идентифициране на мономери от ортодонтични композити, потопени за 48 часа в разтвор на 50% вода: 50% етанол. Те установяват, че този разтвор е по-подходящ за извличане на продукти от деградацията на композитите в сравнение с водата. 80-90% от разтворените компоненти са извлечени за няколко часа.

Чрез HPLC са идентифицирани Bis-GMA и TEGDMA както и хидрокинон, от два композита, поставени във воден разтвор за 72 часа. Изследванията показват по-бързо отделяне на нискомолекулната TEGDMA [6, 15, 22, 27] в сравнение с по-високомолекулната и по-стабилна Bis-GMA. Изследвана е разтворимостта на композиционни материали в различни органични разтворители. Установено е отделяне на Bis-GMA, а също така на стабилизатора бензофенон, който не е взел участие в полимеризацията [16].

Количеството на отделени мономери намалява с времето. Отделянето продължава за дълъг период от време [2]. Изследване, включващо образци от obturации, свалени от екстрахирани зъби след многогодишен престой в устата, установява отделяне на Bis-GA, Bis-GMA, Bis-DMA, дори след 9 годишно пребиваване в устната кухина [13].

Lee et al. [30] установяват нарастване на отделените във времето (30 дни) мономери, като количествата, отделени на 30-ия ден са били 5-7 пъти по-високи от количествата, отделени на 7-ия ден. Друго изследване [5] показва максимално отделяне на мономери на 21-ия ден от експозицията им във 25% дейонизирана вода: 75% етанол (измерванията са правени периодично от 10-та минута до 21-ия ден). Пик на отделяне на Bis-GMA е установен на 14-ия ден [43].

Видът на разтворителя има значение за деградацията. Органичните разтворители предизвикват по-високи нива на деградация.

Като много подходящ разтворител, имитиращ условията в агресивната устна среда е възприет разтворът вода–етанол (75%) [16, 42].

Във всички разтворители има деградация. Дълбочината на образувалите се дефекти зависи от състава на материалите и агресивността на разтворителя. Според едно проучване натриевата основа (pH 13) предизвиква най-силна и бърза ерозия с отделяне на разпадни продукти. Млечната киселина проявява най-слаба активност [6]. Негативните ефекти се отдават на присъствието на TEGDMA и bis-EMA.

## 2. Частици

Докладва се за отделяне на частици от композити, съхранявани във вода за 60 дни. Използвани са оптична спектрография и атомна абсорбираща спектроскопия за идентифициране на силиций, стронций и барий, отделени от пълнежната фаза. Направен е извод, че композитите, съдържащи кварцови частици, са по-стабилни в сравнение с тези, съдържащи различни силикатни стъкла [9, 16]. Ruyter и Oysaed потвърждават, че елементите, които по-бързо се отделят във вода, са от композити, съдържащи цинк, бариеви и стронциеви стъкла [44]. По-стабилни са материалите, съдържащи кварцов диоксид.

## 3. Активатори и инхибитори на полимеризацията

Изследвания използват газ-течност хроматография и мас-спектрометрия (GC-MS) за идентифициране на продукти от деградацията на различни композити, престояли във вода и в метанол. Освен остатъчни мономери се установяват инициатори и инхибитори на светлинната полимеризация [16, 42]. В потвърждение на това има и други изследвания [9, 45].

## 4. Остатъчни продукти

Интерес буди стабилността на полимерната мрежа и формирането на остатъчни продукти от нейната деградация.

Установено е, че кислородът може да реагира с метакрилатните групи и да доведе до образуването на формалдехид.

Oysaed, Ruyter, Sjøvik Kleven [44] използват HPLC и UV-спектроскопия и установяват отделяне на *формалдехид* от 10 фото- и химиокомпозити, съхранявани във вода за 115 дни. Те установяват, че отделянето на формалдехид от композитите е по-голямо при наличието на кислород-инхибиран слой. Намира се, че при полимеризация, елиминираща образуването на кислород-инхибиран слой (материалът е притиснат и полимеризиран през матрична лента), или след отстраняването му (финиране и полиране) се намалява значимо отделянето на формалдехид [9, 16, 40]. Формалдехид се образува от окисление на остатъчни мономери. Той се отделя в началните периоди от изследването и все още присъства след няколко месеца [46]. Количествата на този продукт са ниски (0.1-0.5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), за да предизвикат токсична реакция, но са достатъчни за провокиране на алергична такава [15, 16, 46].

*Метакрилова киселина (МА)* се изолира от композити, инкубирани в присъствие на ензими. Предполага се, че произлиза от мономери, свързани само с една група към матрикса – ензимите атакуват ненапълно свързаните (висящи) метакрилатни групи или е отделена от ненапълно реагирани мономери. Изследване показва, че количеството на отделена метакрилова киселина намалява с изчерпване на отделянето на TEGDMA от полимерната мрежа [2].

Композити с органичен матрикс, съдържащ Bis-GMA и TEGDMA (Z250), дават като продукти на хидролиза метакрилова киселина (МА), *бисхидрокси-пропокси-фенил-пропан (bisHPPP)* и TEGDMA. Композити с органичен матрикс, съдържащ уретан-модифицирана Bis-GMA (uBis-GMA) и Bis EMA, като Spectrum TPH имат същите продукти на деградация и освен тях – *етоксилиран бисфенол А (EBP-A)*. Всеки от тези продукти е маркер за биодеградация [47].

**Бисфенол А (ВРА)** е безспорно продуктът с най-лоша слава, който може да се намери, отделен от композиционните материали. Докладва се, че той има естрогенна активност, има също така връзка с токсични процеси, водещи до увеличена клетъчна пролиферация. Това доведе до искания за забрана на използването му в производството на бебешки шишета, а също така до тенденция за избягването му в производството на опаковки за съхранение на хранителни продукти.

Композитите могат да съдържат **ВРА** като остатъчен примес от процеса на синтез на Bis-GMA. Има доказателства, че той може да бъде излъчен като продукт от деградацията на Bis-GMA [18, 43, 48].

ВРА е открит като продукт на деградация, изолиран от силанти [18]. Този продукт е бил открит в слюнка за кратък период от време (1-3 часа) в нива, много по-ниски от тези, способни да причинят локална токсична реакция [18, 49, 50].

ВРА не е открит в кръвообращението [49], което означава, че системния риск от денталните силанти е много нисък [9, 12, 16].

В литературата има противоречиви данни за количествата на ВРА, които могат да бъдат отделени и фармакокинетиката на този ксено-естроген. Van Landuyt et al. (2011) на база от данни, получени от обширен метаанализ, правят следните изчисления. Нивата на отделен ВРА от дентални възстановявания е 0.1 nmol/mm<sup>2</sup> или една коронка на молар би отделила средно 57.38 nmol. Според Европейската агенция за безопасност на храните допустимият дневен прием на ВРА на ден е 10 µg/kg храна (= 43.8 nmol) или 0.05 mg ВРА/kg тегло на ден (= 220 nmol). Това показва, че ако има ВРА в дентални композити, то количествата му са изключително ниски и могат да се приемат за безопасни [51].

Изследвания на биодеградацията на композиционните материали не установяват наличие на ВРА във вече полимеризирани материали [43, 52].

Някои изследователи са притеснени относно безопасността на приложението на композитни силанти в детската възраст [18, 42].

Налагането на композитите в денталната практика, бързото навлизане на нови търговски разработки фокусира вниманието на научните среди върху процесите на биодеградация и отделяне на остатъчни продукти от тези материали. Това са сложни и комплексни процеси, водещи до стареене и намаляване трайността на композитните възстановявания. Отделените продукти могат да бъдат потенциално вредни за оралните тъкани и човешкият организъм. Тяхното изучаване и познаване е от полза за създаването на нови материали, притежаващи по-голяма стабилност в устната среда. Обменните процеси между композитните възстановявания и заобикалящите ги структури могат да бъдат използвани за включване в състава им на компоненти, притежаващи антибактериален и кариес-профилактичен ефект.

#### Библиография:

1. Smith, R., C. Oliver, D. F. Williams. The enzymatic degradation of polymers in vitro. *J Biomed Mater Res*, 1987, 21 (8), 911-1003.
2. Bettencourt, AF. et al. Biodegradation of acrylic based resins: A review. *Dental Materials*, 2010, 26, e171-e180.
3. Dogon, I. L. Present and future value of dental composite materials and sealants. *J Technol Asses Health Care*, 1990, 6, 369-377.
4. Drummond, J. L. Degradation, fatigue and failure of resin dental composite materials. *J Dent Res*, 2008, 87 (8), 710-719.
5. Ferracane, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater*, 2006, 22, 211-222.
6. Bagheri, R., M. Y. Tyas, M. F. Burrow. Subsurface degradation of resin-based composites; *Dent Mater*, 2007, 23, 944-951.
7. Santerre, J. P., L. Shajii, B. W. Leung. Relation of dental composite formulations to their degradation and release of hydrolyzed polymer-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001, 12 (2), 136-151.
8. Carvalho, F. G. Effect of chemical and mechanical degradation on surface roughness of three glass-

- ionomers and a nanofilled resin composite, *Operative Dentistry*, 2012, 37 (5), 509-517.
9. Eliades, G., W. A. Brantley, D. C. Watts. *Dental Materials In Vivo: Aging and Related Phenomena*. Quintessence Publishing, London UK, Quintessence Publishing Co, Inc. Copyright, 2003.
  10. Filipov, I., Y. Uzunova, S. Vladimirov, L. Lukanov. Water sorption and solubility of 3 types dental composites polymerized with halogen curing unit. *Balkan Journal of Stomatology*, 2007, 11, 30-34.
  11. Oilo, G. Biodegradation of dental composites/glass-ionomer cements. *Adv Dent Res*, 1992, 6, 50-54.
  12. Sakaguchi, R. L., J. M. Powers. *Craig's Restorative Dental Materials*, Philadelphia, USA, Elsevier Mosby, 13th ed., 2012, XVI, 400.
  13. Topaloglu, A. A. et al. Monomer release from resin based dental materials cured with LED and halogen lamps. *Eur J Dent*, 2010, 4, 34-40.
  14. Injov, B. *Obturatio cavi dentis*. 1-st edition, S., Injident, 2009.
  15. Delaviz, Y., Y. Finer, J. P. Santerre. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dent Mater*, 2014, 30, 16-32.
  16. Ferracane, J. L. Elution of leachable components from composites. *J of Oral Rehabilitation*, 1994, 21, 441-452.
  17. Uzunova, Y., L. Lukanov, I. Filipov, S. Vladimirov. HPLC determination of unreacted monomers and other residues contained in dental composites. *J Biochem Biophys Methods*, 2008, 70, 883-888.
  18. Kloukos, D. N., T. Pandis, T. Eliades. In vitro bisphenol-A release from dental pit and fissure sealants. *J of Dentistry*, 2013, 41 (8), 659-667.
  19. Thompson, L. R., F. G. Miller, W. H. Bowels. Leaching of unpolymerised materials from orthodontic bonding resin. *J of Dent Res*, 1982, 61, 989 [abstract].
  20. Bayne, S. C. Dental biomaterials: Where are we and where are we going? *J Dent Educ*, 2005, 69 (5), 571-585.
  21. Finer, Y., F. Jaffer, J. P. Santerre. Mutual influence of cholesterol esterase et pseudocholinesterase on the biodegradation of dental composites. *Biomaterials*, 2004, 25 (10), 1787-1793.
  22. Altintas, S. H., A. Usumez. Evaluation of TEGDMA leaching from four resin cements by HPLC. *Eur J Dent*, 2012, 6, 255-262.
  23. Yantcheva, S., R. Vasileva. Sorption and solubility of low-shrinkage resin-based dental composites. *J of IMAB*, 2016 Apr-Jun, 22 (2), 1114-1119.
  24. Illie, N., R. Hickel. Resin composite restorative materials. *Australian Dent J*, 2011, 56 (1 suppl), 59-66.
  25. Nayif, M. et al. Long-term water sorption of three resin-based restorative materials. *Int J Dent*, 2005, 5, 1-6.
  26. Finer, Y., J. P. Santerre. Salivary esterase activity and its association with the biodegradation of dental composites, 2004, 83 (1), 22-26.
  27. Lin, B. A., F. Jaffer, M. D. Duff, Y. W. Tang, J. P. Santerre. Identifying enzyme activities within human saliva which are relevant to dental resin composite biodegradation. *Biomaterials*, 2005, 26, 4259-4264.
  28. Michelsen, V. B., H. Lygre, R. Skalevik, A. B. Tveit, E. Solheim. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci*, 2003, 111, 263-271.
  29. Kermanshahi, S., J. P. Santerre, D. G. Cvitkovich, Y. Finer. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res*, 2010, 89 (9), 996-1001.
  30. Lee, S. Y. et al. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and resultant composite strength. *J of Oral Rehabilitation*, 1998, 25, 575-588.
  31. Park, J. W. et al. The effect of surface roughness of composite resin on bio-film formation of *Str. mutans* in the presence of saliva. *Operative Dent*, 2012, 37 (5), 532-539.
  32. Goldberg, M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin composites: a review. *Clin Oral Invest*, 2008, 12, 1-8.
  33. Giacomelli, L. et al. Surface roughness of commercial composites after different polishing protocols: an analysis with atomic force microscopy. *The Open Dentistry J*, 2010, 4, 191-194.
  34. Ionescu, A. et al. Influence of surface properties of resin-based composites on in vitro *S. mutans* biofilm development. *Eur J Oral Sci*, 2012, 120, 458-465.
  35. Fan, P. L., J. M. Powers. Wear of aged dental composites. *Dent Mater*, 1981, 68, 241-248.
  36. Hurley, R. K., J. L. Drummond, G. C. Viana, M. T. Galang. The effects of environment and cyclic fatigue on the mechanical properties of an indirect composite. *J of Dentistry*, 2012, 40, 787-792.
  37. Condon, J. R., J. L. Ferracane. In vitro wear of composite with varied cure, filler level and filler treatment. *J Dent Res*, 1997, 76 (7), 1405-1411.
  38. Almeida, G. S., L. T. Poskus, J. G. A. Guimaraes, E. M. Da Silva. The effect of mouth-rinses on salivary sorption, solubility and surface degradation of a nanofilled and a hybrid resin composite. *Operative Dentistry*, 2010, 35 (1), 105-111.
  39. Filipov, I. A., S. B. Vladimirov. Residual monomer in a composite resin after light-curing with different sources, light intensities and spectra of radiation. *Braz Dent J*, 2006, 17 (1), 34-38.
  40. Kopperund, H. M., I. S. Kleven, H. Wellendorf. Identification and quantification of leachable substances

- from polymer-base orthodontic base-plate materials. *Euro J of Orthodontics*, 2011, 33, 26-31.
41. Inoue, K., I. Hayashi. Residual monomer (Bis-GMA) of composite resins. *J of Oral Rehabilitation*, 1982, 9, 493–review.
42. Ferracane, J. L. Developing a more complete understanding of stresses produced in dental composites during polymerization. *Dent Mater*, 2005, 21, 36-42.
43. Koin, P. J. et al. Analysis of the degradation of a model dental composite. *J Dent Res*, 2008, 87 (7), 661-665.
44. Oysaed, H., I. E. Ruyter, I. J. Sjøvik Kleven. Release of formaldehyde from dental composites. *J of Dent Res*, 1988, 67, 1289 [abstract].
45. Elsayad, I. Cuspal movement and gap formation in premolars restored with preheated resin composite. *Operative Dentistry*, 2009, 34 (6), 725-731.
46. Ruytter, I. E. Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in aqueous environment. *Adv Dent Res*, 1995, 9 (4), 344-347.
47. Tabatabaei, M. H. et al. Effect of food simulated liquids and thermocycling of the monomer elution from a nanofilled composite. *The Open Dentistry J*, 1013, 7, 62-67.
48. König, P., O. Kummerer. Long-term release of monomers from modern dental-composite materials. *Eur J Oral Sci*, 2009, 117, 68-75.
49. Olea, N. et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect*, 1996, 104 (3), 298-305.
50. Fung, E. Y. et al. Pharmacokinetics of Bisphenol A released from a dental a sealant. *J Am Dent Assoc*, 2000, 131 (3), 108-118.
51. Van Landuyt, K. L. et al. How much do resin-based dental materials release? *Dent Mater*, 2011, 27, 723-747.
52. Fonseca, A. S., Q. da Silva et al. Do new matrix formulations improve resin composite resistance to degradation processes? *Braz Dent Res*, 2013, 27 (5), 410-416.

Адрес за кореспонденция:

д-р Севда Янчева, дм

Катедра Консервативно зъболечение

Факултет по дентална медицина

МУ – София

бул. „Св. Г. Софийски“ № 1

1431, София, България

тел. 0888675874

e-mail: sevda.yancheva@gmail.com

Address for correspondence:

Dr. Sevda Yantcheva, PhD

Department of Conservative Dentistry

Faculty of Dental medicine

MU – Sofia

„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1

1431, Sofia, Bulgaria

tel. 0888675874

e-mail: sevda.yancheva@gmail.com

**Детска дентална медицина****Микробни асоциации от субгингивални микроорганизми при деца с плаково индуциран гингивит**Mitova, N.<sup>1</sup>, M. Rashkova<sup>2</sup>, Hr. Popova<sup>3</sup>**Microbial associations of subgingival microorganisms in children with plaque-induced gingivitis**Mitova, N.<sup>1</sup>, M. Rashkova<sup>2</sup>, Hr. Popova<sup>3</sup>**Резюме**

**Въведение:** Пародонталните заболявания в детско-юношеска възраст са предимно възпалителни, рядко възпалително-деструктивни, при които денталният биофилм е водещ етиологичен и/или рисков фактор.

**Цел:** Оценка на субгингивалната микрофлора при здрави деца и деца с плаково индуциран гингивит с установяване на микробните асоциации в хода на формиране на постоянно съзъбие.

**Задачи:**

1. Идентифициране на видовете микробни асоциации при изследваните деца (здравни и с плаково индуциран гингивит)

2. Относителен дял на микробните асоциации според броя на изолираните микроорганизми при изследваните деца (здравни и с плаково индуциран гингивит).

**Материал и методи:** Обект на наблюдение бяха 60 деца (30 момичета и 30 момчета) между 10 и 14 г., без системни заболявания и прием на антибиотици в последните 3 месеца, разделени на две групи – без гингивит (до 25% Papilla Bleeding index-Saxer & Mulheman); с плак-индуциран гингивит (над 25% Papilla Bleeding index-Saxer & Mulheman). Бяха взети проби за PCR–Real Time изследване с книжни щифтчета от гингивален сулкус на 6 зъба за изследване на 9 контролни щамма (сборна проба). Пробите се изпращаха в стандартизирани контейнери за изследване.

**Резултати:** При здравите деца се наблюдават асоциации до 4 микроорганизми, като половината от децата са с асоциации от по два микроорганизма. При децата с гингивит се наблюдава по-голямо разнообразие от микроорганизми, като половината от децата са с микробни асоциации от по 5-7 микроорганизми. При здравите деца се срещат микроорганизми от оранжевия комплекс и такива, които участват в процесите на коагрегация (*F.nucleatum*, *C.gingivalis*). При децата с гингивит субгингивалната микрофлора се усложнява като се изолират микроорганизми от червения комплекс (*P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia*) и се повишава честотата на присъствие на микроорганизми от оранжевия комплекс.

**Ключови думи:** субгингивална микрофлора, гингивит, зъбен пробив

<sup>1</sup>Главен асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска Дентална медицина

<sup>2</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска Дентална медицина

<sup>3</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Пародонтология

<sup>1</sup>Ass. prof. at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

<sup>2</sup>Prof. at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

<sup>3</sup>Prof. at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Periodontology

## Summary

**Introduction:** Periodontal diseases in childhood are predominantly inflammatory, less often inflammatory-destructive, where dental biofilm is the leading etiological and / or risk factor.

**Aim:** Evaluation of subgingival microflora in healthy children and children with plaque-induced gingivitis with establishment of microbial associations during permanent dentition formation.

**Tasks:**

1. Identification of the types of microbial associations in the studied children (healthy and plaque-induced gingivitis)

2. Relative share of microbial associations according to the number of isolated microorganisms in the studied children (healthy and plaque-induced gingivitis).

**Material and Methods:** The object of the study were 60 children (30 girls and 30 boys) between 10 and 14 years, without systemic diseases and antibiotic in the last 3 months, divided into two groups – without gingivitis (up to 25% Papilla Bleeding index-Saxer & Mulhean); with plaque-induced gingivitis (over 25% Papilla Bleeding index-Saxer & Mulhean). Gingival sulcus samples were taken with a paper pin from up to 6 teeth for a PCR – Real Time research of 9 control strains (a comprehensive sample). Samples were sent for research in standardized containers.

**Results:** In healthy children there are associations of up to 4 microorganisms, with half of the children with associations of two microorganisms. In children with gingivitis there is a wider variety of microorganisms, with half of the children having microbial associations of 5-7 microorganisms. In healthy children, microorganisms of the orange complex and those involved in coaggregation processes (*F.nucleatum*, *C.gingivalis*) are found. In gingivitis children, the subgingival microflora is complicated by isolating microorganisms from the red complex (*P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia*) and increasing the incidence of microorganisms present in the orange complex.

**Key words:** subgingival microflora, gingivitis, eruption

Пародонталните заболявания в детско-юношеска възраст са предимно възпалителни и много по-рядко възпалително-деструктивни, при които денталният биофилм е водещ етиологичен и/или рисков фактор. Те са хронични, прогресиращи във времето, с начало много често в детството и/или юношеството [1].

Според съвременната концепция за патогенезата на пародонталните заболявания тези инфекции са опортюнистични, причиняват се от бактерии, които са част от оралната микрофлора, но проявяват патогенност при повишени нива и в определени локални условия като живеят в определени „консорциуми“ в денталния биофилм [1].

Socransky е основоположника на съвременната пародонтална бактериология, която търпи бързо развитие поради нови молекулярно-биологични методи (PCR-метод) за идентификация на пародонтопатогенните

микроорганизми. През (1998) той проучва патогенния потенциал на субгингивалния биофилм, като чрез Real-time PCR и DNA-DNA хибридизация идентифицира повечето микроорганизми в денталния биофилм и ги групира в 5 комплекса – лилав, жълт, оранжев, зелен и червен, съобразно едновременното им присъствие в денталния биофилм и патогенност [2].

В научната литература се открива малко информация за микроорганизмите (МО) в субгингивалната област при децата в процеса на пробив на постоянните зъби, но има данни, че съставът на субгингивалния биофилм се променя с растежа и развитието на детето във връзка с отговора на организма, хормоналните промени, пробива на зъбите, присъствие на гингивално възпаление. В периода на формиране на микробната екология, възпалителни промени в гингивата могат

да са свързани с присъствието на патогенен субгингивален биофилм и с композицията на субгингивалната микрофлора [3, 4, 5].

Микробиологичната диагностика на субгингивалната микрофлора при пародонтални заболявания поставя множество проблеми поради невъзможност да бъдат идентифицирани чрез култивиране всички пародонтопатогени, организирани в микробни консорциуми. [6].

Още през 1983 г. при изследване на субгингивалната микрофлора на преден план излиза разработеният от Kary Mullis Polymerase Chain Reaction (PCR). Реакцията се счита за най-добрия метод към днешна дата за откриване на микробното разнообразие, базирайки се на изолацията на специфична микробна ДНК. PCR се определя като високо специфичен, силно чувствителен и бърз метод за откриване на пародонтопатогените в реално време [7].

Проучването на състава на микробните асоциации на субгингивалната микрофлора в процеса на формиране на постоянното съзъбие при деца с плаково индуциран гингивит ще даде възможност за оценка на риска от прогресия на базата на находката и планиране на профилактиката и лечението на пародонталните заболявания в детска възраст.

### Цел

Оценка на субгингивалната микрофлора при здрави деца и деца с плаково индуциран гингивит с установяване на микробните асоциации в хода на формиране на постоянното съзъбие.

### Задачи:

1. Идентифициране на видовете микробни асоциации при изследваните деца (зdravi и с плак-индуциран гингивит)

2. Относителен дял на микробните асоциации според броя на изолираните

микроорганизми при изследваните деца (зdravi и с плаково индуциран гингивит);

### Материал и методи

Обект на изследването бяха 60 деца на възраст между 10 и 14 години, които се намират в процес на полово съзряване и формиране на постоянно съзъбие, без наличие на системни заболявания и прием на антибиотици в последните 3 месеца. Децата бяха разпределени в две групи:

– 30 деца без гингивит (до 25% Papilla Bleeding index (PBI) Saxer & Mulheman (spread) и добра орална хигиена – средно OHI-Green Vermillion simplified = 0,56, Hygiene Index (HI) = 80,3;

– 30 деца с плаково индуциран гингивит (над 25% Papilla Bleeding index (PBI) Saxer & Mulheman (spread)) – средно OHI-Green Vermillion simplified = 2,15, Hygiene Index (HI) = 32,2.

При всички деца беше регистриран клиничен статус чрез използване на изготвена за целта карта, базирана на картата за пародонтално изследване на дете, приет в катедрата по ДДМ, ФДМ – София.

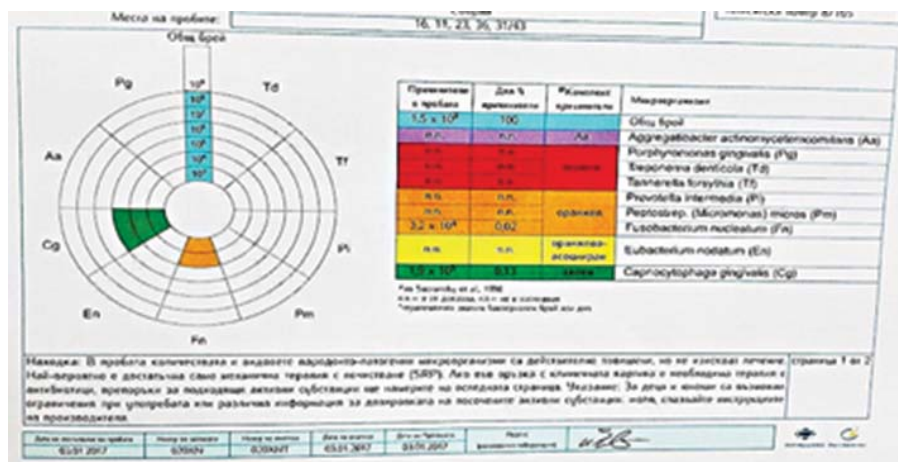
За идентифициране на основни субгингивални пародонтопатогени и определяне на техните количества беше използван PCR – Real Time метод, като бяха взети проби с книжни щифтчета от гингивален сулкус на 6 зъба (16, 13, 11, 26, 36, 43). Пробите бяха взети сутрин – около 9-10 ч. най-малко 1 час след хранене и 1/2 час след измиване на зъбите, след което се изпращаха в стандартизирани контейнери за изследване (сборна проба). Бяха изследвани 9 контролни щама, представени на табл. 1.

Табл. 1. Изследваните микроорганизми, групирани според Socransky

A. actinomycetemcomitans,	
P.gingivalis, T.denticola, T.forsythia,	Червен комплекс
P.intermedia, P.(micromonas) micros, F.nucleatum, E.nodatum,	Оранжев комплекс
C.gingivalis.	Зелен комплекс

Пробите се изпращаха в стандартизирани контейнери за изследване в Германия чрез MiP

Pharma. Резултатите се получаваха за всяко изследвано дете както е показано на фиг. 1.



Фиг. 1. Резултати PET-тест

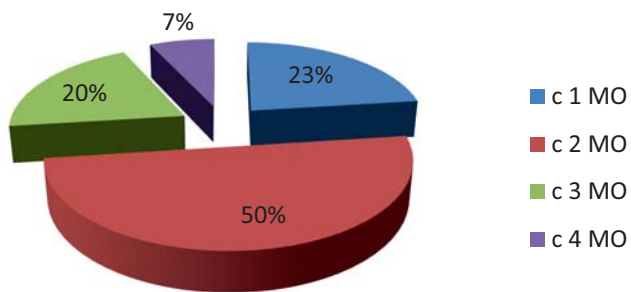
Получените данни бяха статистически обработени (SPSS-19).

**Резултати**

**1. Микробни асоциации при изследваните деца**

Бяха проучени честотата и вида на микробните асоциации от изследваните микроорганизми при децата със и без плаково индуциран гингивит.

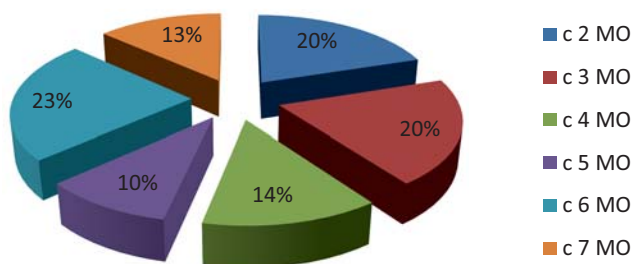
**1.1. Честота на микробните асоциации при изследваните деца**



Диагр. 1. Микробни асоциации според брой микроорганизми при здрави деца

От представената диаграма се вижда, че при половината от изследваните здрави деца се откриват микробни асоциации от два от изследваните видове микроорганизми. При една четвърт се изолира само 1 вид от

изследваните микроорганизми. В останалите случаи се идентифицират микробни асоциации с по 3 или 4 от изследваните микроорганизми.



Диагр. 2. Микробни асоциации на изследваните микроорганизми от субгингивалната микрофлора при деца с плаково индуциран гингивит

Вижда се, че при децата с плак-индуциран гингивит се наблюдава по-голямо разнообразие от микробни асоциации, с по-голям брой микроорганизми. В 1/5 от случаите това са комбинации от по 6, 3 и 4 от изследваните микроорганизми, останалите асоциации с по 4, 5 и 7 от изследваните микроорганизми се срещат в около 10-14% от децата.

**2.2. Микробни асоциации според вида на изследваните субгингивални микроорганизми**

– при здрави деца

Табл. 3. Видове микробни асоциации при здрави деца

	Видове микробни асоциации			общо	
		N	%	N	%
c 1 MO	<i>C.gingivallis</i>	7	23,3	7	23,3
c 2 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i>	13	43,3	15	50
	<i>C.gingivallis</i> + <i>T.denticola</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>P.intermedia</i>	1	3,3		
c 3 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i>	4	13,3	6	20
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>T.denticola</i>	1	3,3		
c 4 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3	2	6,7
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i>	1	3,3		

Данните в таблицата показват, че при всички изследвани здрави деца се изолира *C.gingivallis* (зелен комплекс) едновременно с *F.nucleatum*. С покачване на възрастта (при 14 г. деца), микробните комплекси се усложняват, като се откриват други микроорганизми

(*P. micros*, *P. intermedia*) и в единични случаи се идентифицират микроорганизми от червения комплекс (*T.forsythia* и *T.denticola*). *A.actinomycetemcomitans* не се открива в нито един от случаите.

– при деца с гингивит

Табл. 4. Видове микробни асоциации при деца с плаково индуциран гингивит

	Видове микробни асоциации			общо	
		N	%	N	%
c 2 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i>	6	20	6	20
c 3 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i>	2	6,6	6	20
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>T.denticola</i>	2	6,6		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	2	6,6		
c 4 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3	4	13,3
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.gingivalis</i> + <i>T.denticola</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3		
c 5 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3	3	10
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	2	6,7		
c 6 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3	7	23,3
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>P.gingivalis</i>	2	6,7		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i> + <i>P.gingivalis</i>	2	6,7		
c 7 MO	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>E.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i>	1	3,3	4	13,3
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>E.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i> + <i>P.gingivalis</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.micros</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i> + <i>P.gingivalis</i>	1	3,3		
	<i>C.gingivallis</i> + <i>F.nucleatum</i> + <i>P.intermedia</i> + <i>T.denticola</i> + <i>T.forsythia</i> + <i>P.gingivalis</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	1	3,3		

От представената таблица се вижда, че при всички изследвани деца с гингивит се изолира *C.gingivalis* (зелен комплекс), който се открива в микробни асоциации с *F.nucleatum* (оранжев комплекс), като само при 1/5 от децата с гингивит те са единствените открити микроорганизми. В останалите случаи се наблюдават асоциации с по-голям брой микроорганизми.

Микроорганизми от червения комплекс се срещат в почти всички от показаните комбинации където има поне 3 участващи микроорганизма – *T.denticola* и *T.forsythia*, както и *P.gingivalis*. *A.actinomycetemcomitans* се открива в седем от комбинациите, като това са предимно по-многобройните микробни асоциации.

### Обсъждане

Изследваните микроорганизми се срещат в микробни асоциации от по 1 до 7 микроорганизми. При здравите деца се наблюдават асоциации до 4 микроорганизми, като половината от децата са с асоциации от по два микроорганизма.

По отношение на видовото разнообразие на изолираните пародонтопатогени, при децата без гингивит и малко количество плака се срещат микроорганизми от оранжевия комплекс с – *P.intermedia*, *P.micros*, и такива, включени в процесите на коагрегация (*F.nucleatum*, *C.gingivalis*). Единични са случаите с идентифициране на микроорганизми от червения комплекс (*T.forsythia* и *T.denticola*).

При децата с гингивит се наблюдава по-голямо разнообразие от микроорганизми, като половината от децата са с асоциации от по 5-7 микроорганизми. Субгингивалната микрофлора се усложнява като се изолират МО от червения комплекс (*P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia*) и се повишава честотата на микроорганизми от оранжевия комплекс.

При всички изследвани деца се изолира *Capnocytophaga gingivalis* (зелен комплекс), следван от *F.nucleatum* (оранжев комплекс). *Capnocytophaga* е коменсален вид от зеления комплекс по Socransky, считан за опортюнистичен патоген. Този микроорганизъм участва в различни видове инфекции, чиято тежест зависи от имунния статус на пациента. При податливи пациенти тези микроорганизми могат да участват в пародонтални заболявания. *Capnocytophaga* се открива по-често във връзка с началото на гингивалното кървене [8, 9].

*F.nucleatum* принадлежи към рода *Bacteroidaceae* и е грам-отрицателен анаероб. *F. nucleatum* е важен за бактериалната колонизация в субгингивалната област чрез способността му да осигурява връзката с други пародонтопатогени чрез механизмите на коагрегация. Това го определя и като междинен колонизатор и посредник между бенефициалната микрофлора и пародонтопатогенните щамове [10, 11].

*Prevotella intermedia* е следващият по честота МО от оранжевия комплекс по Socransky, също от групата на *Bacteriodes*, наричани в близкото минало черно-пигментирани микроорганизми. Тези МО колонизират субгингивалните екологични ниши в ранното детство и се откриват в големи количества при пародонтални заболявания у деца още преди пубертета. Mombelli ги открива често при деца, като нивата им корелират със степента на тежест на гингивита [12, 13].

(Г-) анаеробни МО от червения комплекс (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*) колонизират последни във формирането на субгингивалния биофилм и се характеризират със значителен патогенен потенциал във връзка с гингивално възпаление и пародонтална деструкция [14, 15].

Нашите резултати показват, че тези МО се появяват в единични случаи при здрави деца и тяхната честота нараства при деца с гингивит и при микробните асоциации с повече видове МО. Според Ezzo PJ присъствието на *T.forsythia* и *T.denticola* дори и в минимални количества и при единични случаи са рисков фактор за инициране на пародонтални заболявания при деца в пубертета [16].

*P. gingivalis* се изолира при 1/4 от децата с гингивит и е с много висока степен на асоциация с пародонталните заболявания, силно инвазивен за пародонталните тъканите. Установява се, че *P.gingivalis*, който се среща само при 7 деца с гингивит, показва най-високите средни количества.

### Изводи

1. Изследваните микроорганизми се срещат в микробни асоциации от по 1 до 7 вида микроорганизми. При здравите деца се наблюдават асоциации до 4 микроорганизми, като половината от децата са с асоциации от по два микроорганизма;

2. При децата с гингивит се наблюдава по-голямо разнообразие от микроорганизми, като половината от децата са с микробни асоциации от по 5-7 микроорганизми;

3. При здравите деца се срещат микроорганизми от оранжевия комплекс и такива, които участват в процесите на коагрегация (*F.nucleatum*, *C.gingivalis*);

4. При децата с гингивит субгингивалната микрофлора се усложнява като се изолират микроорганизми от червения комплекс (*P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia*) и се повишава честотата на присъствие на микроорганизми от оранжевия комплекс.

5. *A.actinomycetemcomitans* се появява само при деца с гингивит и то в предимно многобройни микробни асоциации.

**Публикацията е в резултат на изследване по проект, финансиран от Съвета по медицинска наука към МУ – София.**

### Библиография:

1. Rashkova M. Periodontal diseases in children and adolescents. Sofia: Direct Services; 2016.
2. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998; 25(2): 134-144.
3. Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Wang H-L. Influence of sex hormones on the periodontium. Journal of Clinical Periodontology 2003; 30(8):671-681.
4. Holt SC, Ebersole JL. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. Periodontol 2000 2005; 38(1):72-122.
5. Papaioannou W, Gizani S, Haffajee AD, Quirynen M, Mamai-Homata E, Papagiannoulis L. The microbiota on different oral surfaces in healthy children. Oral Microbiol Immunol 2009; 24(3):183-189.
6. Jervøe Storm PM, Koltzsch M, Falk W. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2005; 32:778-783.
7. Jervøe Storm PM, Koltzsch M, Falk W. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2005; 32:778-783.
8. Kumar P. Sex and the subgingival microbiome: Do female sex steroids affect periodontal bacteria?. Periodontology 2000, 2013; 61:103-124.
9. Kulekci G, Leblebicioglu B, Keskin F, Ciftci S, Badur S. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. Anaerobe 2008; 14(1):49-54.
10. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. Annu Rev Microbiol, 2000; 54: 413-437.
11. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egdall PG, Foster JS, Palmer RJJ. Communication among oral bacteria. Microbiol Mol Biol Rev, 2002; 66(3): 486-505.
12. Mombelli A, Gusberti EA, Oosten MAC van, Lang NP. Gingival health and gingivitis development during

- puberty. A 4-year longitudinal study. *J Clin Periodontol* 1989; 16:451-456.
13. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000* 2002; 28(1): 12-55.
14. Ning-Yan Y, Quan Z, Jin-Lu L, Sheng-Hui Y, Qing S. Progression of periodontal inflammation in adolescents is associated with increased number of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, and *Fusobacterium nucleatum*. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2013; 24(3):226-233.
15. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000* 2005; 38(1):72-122.
16. Ezzo PJ, Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2003, 32 (1); 24-35.

**Адрес за кореспонденция:**

д-р Надежда Митова, дм  
Катедра Детска дентална медицина  
Факултет по Дентална медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски“ № 1  
1431, София, България  
тел. 0886216886, 9533475  
e-mail: nadia\_bm@abv.bg

**Address for correspondence:**

Dr. Nadezhda Mitova, PhD  
Department of Pediatric Dentistry  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0886216886, 9533475  
e-mail: nadia\_bm@abv.bg

---

## Дълбочина на гингивален сулкус при здрави деца със зъби в пробив

Митова, Н.<sup>1</sup>, М. Рашкова<sup>2</sup>, Хр. Танкова<sup>3</sup>

## Gingival sulcus depth in healthy children with teeth in eruption

Mitova, N.<sup>1</sup>, M. Rashkova<sup>2</sup>, Hr. Tankova<sup>3</sup>

### Резюме

**Въведение:** С пробива на постоянните зъби постепенно се формира пародонта за различните групи зъби. В тази възраст е трудно да се прави реална оценка и изследване на гингивален сулкус, особено ако се базираме на стандартите за норма при възрастни.

**Цел:** Изработване на клинични критерии за оценка на дълбочина на гингивален сулкус в период на зъбен пробив при здрави деца.

### Задачи:

1. Изследване на дълбочина на гингивален сулкус при зъби в пробив, чрез използване на електронна сонда Parometer (Orange);

2. Сравнителен анализ на дълбочината на гингивален сулкус между групите зъби, според степенята на пробив.

**Материал и методи:** Обект на наблюдение бяха 30 деца (15 момичета и 15 момчета) между 6 и 14 г., без системни заболявания и прием на антибиотици в последните 3 месеца, без гингивит (до 25% Papilla Bleeding index – Saxer & Mulheman (spread)) и добра орална хигиена. Децата бяха клинично изследвани – зъбен статус; степен на зъбен пробив (до 1/3 от клиничната корона; между 1/3 и 2/3; над 2/3; достигане на контакт с антагониста); дълбочина на гингивалния сулкус. Данните бяха обработени статистически (SPSS 19).

**Резултати:** При начален пробив гингивалният сулкус достига 3,08 мм за горните кучешки зъби, а при останалите зъби е под тази стойност. При влизане в оклузия се наблюдава стабилизиране на пародонта, като гингивалният сулкус достига средни стойности близки до стандарта за възрастни. Стабилизирането на пародонта за първи молари и премолари и резците е до 11-12 г., а за кучешките зъби, вторите премолари и молари до 14 г.

**Ключови думи:** сондиране, гингивален сулкус, пробив

<sup>1</sup>Главен асистент в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска Дентална медицина

<sup>2</sup>Професор в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска Дентална медицина

<sup>3</sup>Специализант в МУ – София, ФДМ, Катедра Детска Дентална медицина

<sup>1</sup>Assistant professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

<sup>2</sup>Professor at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

<sup>3</sup>Post-graduate student at MU – Sofia, Faculty of Dental Medicine, Department of Pediatric Dentistry

## Summary

**Introduction:** The periodontium is gradually formed for the different teeth groups with the process of eruption of the permanent teeth. It is difficult to make a real evaluation and study of gingival sulcus at this age, especially if we are based on adult standards.

**Aim:** Development of clinical criteria for assessing gingival sulcus depth in the period of permanent tooth eruption in healthy children.

### Tasks:

1. Investigation of gingival sulcus depth in erupting teeth, using a Parometer (Orange) electronic probe;
2. Comparative analysis of gingival sulcus depth between the teeth groups, according to the stages of eruption.

**Material and Methods:** The object of the study were 30 children (15 girls and 15 boys) between 6 and 14 years old, without systemic disease and antibiotic treatment in the last 3 months, without gingivitis (up to 25% Papilla Bleeding index – Saxer & Mulheman) and good oral hygiene. The children were clinically tested – tooth status; stages of permanent teeth eruption (up to 1/3 of the clinical crown, between 1/3 and 2/3, over 2/3, in occlusion contact); gingival sulcus depth. Data was processed statistically (SPSS 19).

**Results:** At an initial eruption, the gingival sulcus reaches 3.08 mm for the upper canines, and for the rest of the teeth it is below this value. When reaching the occlusion contact periodontal stabilization occurs and gingival sulcus average values are close to the adult standard. The stabilization of the periodontium for the first molars and premolars and incisors is up to 11-12 years, and for the canines, the second premolars and molars up to 14 years age.

**Key words:** probing, gingival sulcus, eruption

Детско-юношеската възраст се характеризира с динамични промени в развитието на организма като цяло и в частност променяща се орална среда свързана със смяната на двете съзъбия, формиране и стабилизиране на пародонта, формиране на субгингивална микрофлора и др. [1].

Периодът на смесено съзъбие е много динамичен по отношение на промени в оралната среда, в посока повишаване на риска от орална (пародонтална) патология. С пробива на постоянните зъби постепенно се формира пародонта (гингивален сулкус и аташман), за различните групи зъби, в различни времеви периоди. В тази възраст е трудно да се прави реална оценка и изследване на гингивален сулкус и ниво на съединителнотъканно прикрепване, особено ако се базираме на стандартите за норма при възрастни [2].

Сондирането се използва за определяне на дълбочината на гингивалния сулкус (дълбочина на джоба), цялост и ниво на аташман, оценка на провокирано гингивално кървене. Различни индекси обективизират състоянието на

пародонта и правят възможно да се контролира ефекта от лечението.

Carranza в Clinical Periodontology твърди: “Единственият точен метод за откриване и измерване на пародонтални джобове е пародонталното сондиране.” Според Darby парадонталното сондирането е императив при оценка на риска от парадонтални заболявания и неправилното му провеждане се определя като една от десетте най-чести причини за неуспех в денталната практика [3].

Понастоящем дълбочината на сондиране, загубата на съединително-тъканен аташман и кървенето при сондиране са най-често използвани за оценка на тежестта на възпалението и отговора към терапията. Според Berendregt парадонталната сонда остава най-важния диагностичен инструмент при пародонталните заболявания. В детска възраст този тип изследвания изискват специфичен подход и все още липсват обективни стандарти за сравнение и оценка на пародонталния статус при здрави индивиди със зъби в пробив и деца с начални пародонтални заболявания [4, 5, 6].

Налага се необходимостта от създаване на стандарти за детския пародонт в норма, с цел регистриране на физиологичните промени по време на зъбен пробив на постоянните зъби и началните възпалителни промени в детската гингива.

**Цел** на настоящето проучване е да се изработят клинични критерии за оценка на дълбочина на гингивален сулкус в период на зъбен пробив при здрави деца.

За постигане на тази цел си поставихме следните **задачи**:

1. Изследване на дълбочина на гингивален сулкус при зъби в пробив, чрез използване на електронна сонда **Parometer (Orange)**;

2. Сравнителен анализ на дълбочината на гингивален сулкус между групите зъби, според степента на пробив.

### Материал и методи

Обект на наблюдение бяха 30 деца на възраст между 6 и 14 години (15 момичета и 15 момчета), които се намират в процес на формиране на постоянно съзъбие, без наличие на системни заболявания и прием на антибиотици в последните 3 месеца. В проучването бяха включени деца, без гингивит (до 25% Papilla Bleeding index (PBI) Saxer & Mulhean (spread)) и добра орална хигиена.

### Методика за клинично изследване на децата

Включените в проучването деца бяха клинично изследвани и данните бяха регистрирани в изготвена за целта карта, базирана на картата за пародонтално изследване на дете, приета в катедрата по ДДМ – ФДМ, МУ София;

На всяко дете бяха извършени:

- Регистрация на зъбен статус;
- Регистриране на степента на зъбен пробив, чрез измерване дължината на клиничната корона на всеки зъб с градуирана пародонтална сонда от маргиналната гингива до режещия ръб

по аксиалната ос на клиничната корона. Бяха формирани 4 групи според степента на пробив:

- 1 степен – пробив до 1/3 от клиничната корона;
- 2 степен – пробив между 1/3 и 2/3 от клиничната корона;
- 3 степен – пробив над 2/3 от клиничната корона;
- 4 степен – достигане на контакт с антагониста.

Измерванията на дълбочината на гингивалния сулкус беше извършено с помощта на електронна сонда трето поколение **Parometer (Orange)**. Чрез електронната сонда беше измерена и дълбочина на сондиране на гингивалния сулкус на наличните постоянни зъби в различни степени на пробив.

**Parometer (Orange)** се съобщава като нова електронна сонда трето поколение. Като предимства се изтъкват точността в корелация с дозирания натиск (20 грама), незабавно регистриране на данните, което прави изследването по-лесно, бързо, стандартизирано и точно. Звуковата и визуалната обратна връзка ни позволява винаги да знаем къде сме, а софтуерът може да бъде модифициран според различни схеми на измерване като автоматично прехвърля данните на docking станцията и визуализира статуса, което позволява сравняване на последните данни с предишни измервания. Малкият диаметър на сондата я прави по-малко инвазивна и по-удобна за употреба в допълнение с ергономичен и безжичен дизайн [7].

На всеки един от изследваните постоянни зъби беше определена дълбочина на сондиране в 6 точки – дистовестибуларно (DV), вестибуларно (V), медиовестибуларно (MV), медииорално (MO), орално (O) и дистииорално (DO).

Най-дълбоката от изследваните 6 точки беше определяна като максимална дълбочина на сондиране за съответния зъб и беше използвана



**Фиг. 1.** Електронна сонда трето поколение Parometer (Orange)

като показател за анализиране на дълбочината на гингивалния сулкус при съответната степен на пробив на зъбната група.

Данните бяха статистически обработени с SPSS 19, като беше използван Independent T-тест на Fisher с 95% интервал на доверителност ( $P < 0.05$ ).

## Резултати

### 1. Определяне на максимална дълбочина на гингивален сулкус (ГС) при сондиране според степента на зъбен пробив

– при зъби с пробив до 1/3 от клиничната корона

Резултатите са представени на следващата таблица.

При пробив до 1/3 от зъбната корона са наблюдава средна дълбочина на гингивалния сулкус  $2,67 \pm 0,57$  mm в горната челюст и  $2,53 \pm 0,26$  mm в долната челюст ( $p > 0.05$ ). Най-голяма е дълбочината при кучешките зъби в горната челюст ( $3,07 \pm 0,15$  mm), достоверно по-голяма от същата група зъби в долната челюст ( $2,59 \pm 0,26$ ) ( $p < 0.05$ ). Най-ниски са стойностите на ГС при премоларите, като те не се различават съществено между двете челюсти (средно  $2,33 \pm 0,20$  mm).

**Табл. 1.** Максимална дълбочина на сондиране при пробив до 1/3 от клиничната корона

възраст	Горна челюст		Долна челюст		общо		Ind T-test
	N	Mean $\pm$ SD	N	Mean $\pm$ SD	N	Mean $\pm$ SD	
молари (1)	6	$2,71 \pm 0,41$	5	$2,58 \pm 0,24$	11	$2,65 \pm 0,33$	$t = 0,659$ $p = 0,527$
премолари (2)	15	$2,31 \pm 0,19$	7	$2,39 \pm 0,21$	22	$2,33 \pm 0,20$	$t = -0,876$ $p = 0,392$
кучешки (3)	7	$3,07 \pm 0,15$	12	$2,59 \pm 0,26$	19	$2,56 \pm 0,46$	$t = 7,433$ $p = 0,000$
резци (4)	8	$2,97 \pm 0,93$	3	$2,57 \pm 0,21$	11	$2,86 \pm 0,81$	$t = 0,730$ $p = 0,474$
общо (5)	36	$2,67 \pm 0,57$	27	$2,53 \pm 0,26$	63	$2,55 \pm 0,48$	$t_{1,2} = 1,199$ $p = 0,235$
Ind T-test	$t_{1,2} = 3,175$ $p = 0,005$	$t_{1,3} = 2,156$ $p = 0,054$	$t_{1,4} = 1,790$ $p = 0,074$	$t_{2,3} = 9,172$ $p = 0,000$	$t_{2,4} = -2,726$ $p = 0,013$	$t_{3,4} = 0,270$ $p = 0,791$	$t_{1,2} = 1,520$ $p = 0,159$
							$t_{1,3} = 0,103$ $p = 0,919$
							$t_{1,4} = 0,080$ $p = 0,939$
							$t_{2,3} = 2,138$ $p = 0,047$
							$t_{2,4} = 1,281$ $p = 0,236$
							$t_{3,4} = 0,191$ $p = 0,852$
							$t_{1,2} = 3,516$ $p = 0,001$
							$t_{1,3} = 0,966$ $p = 0,342$
							$t_{1,4} = 0,795$ $p = 0,436$
							$t_{2,3} = 5,609$ $p = 0,000$
							$t_{2,4} = 2,965$ $p = 0,006$
							$t_{3,4} = 0,467$ $p = 0,644$

В горната челюст, след кучешките зъби, по дълбочина на ГС следват резците, моларите и премоларите. В долната челюст ГС като цяло е по-плитък, като също се запазват най-ниски стойности при премоларите, а при останалите групи зъби стойностите не се различават съществено помежду си ( $p > 0.05$ ).

Независимо, че зъбите са в начален етап на зъбен пробив, средната дълбочината на ГС

е в приетите граници при възрастни (2.00-3 mm). В долната челюст разликите между зъбите са минимални за разлика от горната челюст, където кучешките зъби и резците са с максимална сулкусна дълбочина.

– при зъби с пробив до 2/3 от клиничната корона

В долна челюст, максималната дълбочина на сондиране при пробив до 2/3 от клиничната

Табл. 2. Максимална дълбочина на сондиране при пробив до 2/3 от клиничната корона

възраст	Горна челюст		Долна челюст		общо		Ind T-test
	N	Mean $\pm$ SD	N	Mean $\pm$ SD	N	Mean $\pm$ SD	
молари (1)	20	2,43 $\pm$ 0,56	30	2,47 $\pm$ 0,71	50	2,45 $\pm$ 0,65	t = 0,256 p = 0,779
премолари (2)	23	2,38 $\pm$ 0,59	20	2,44 $\pm$ 0,32	43	2,40 $\pm$ 0,48	t = -0,446 p = 0,658
кучешки (3)	19	3,07 $\pm$ 0,52	14	2,44 $\pm$ 0,34	33	2,80 $\pm$ 0,55	t = 3,962 p = 0,000
резци (4)	20	2,79 $\pm$ 0,77	29	2,33 $\pm$ 0,55	49	2,51 $\pm$ 0,68	t = 2,430 p = 0,019
общо	82	2,65 $\pm$ 0,67	93	2,42 $\pm$ 0,54	175	2,52 $\pm$ 0,61	t = 2,542 p = 0,012
	$t_{1,2} = 0,288$ p = 0,774 $t_{1,3} = -3,711$ p = 0,001 $t_{1,4} = 1,695$ p = 0,098 $t_{2,3} = -3,988$ p = 0,000 $t_{2,4} = -1,979$ p = 0,055 $t_{3,4} = 1,341$ p = 0,188	$t_{1,2} = 0,197$ p = 0,845 $t_{1,3} = 0,188$ p = 0,852 $t_{1,4} = 0,878$ p = 0,383 $t_{2,3} = 0,038$ p = 0,970 $t_{2,4} = 0,822$ p = 0,415 $t_{3,4} = 0,674$ p = 0,504	$t_{1,2} = 0,411$ p = 0,682 $t_{1,3} = -2,526$ p = 0,013 $t_{1,4} = -0,452$ p = 0,653 $t_{2,3} = -3,347$ p = 0,001 $t_{2,4} = 0,882$ p = 0,380 $t_{3,4} = 2,013$ p = 0,047				

корона е относително еднаква при всички групи зъби. В горната челюст, ГС се запазва с най-голяма дълбочина при кучешките зъби (до 3,07 mm), като в сравнение с моларите и премоларите разликите са статистически достоверни ( $p < 0,05$ ). При сравнение между стойностите на максималната дълбочина на сондиране между двете челюсти се откриват достоверни разлики, като при горната челюст се достига средна дълбочина на ГС до 2,65  $\pm$  0,67 mm, а в долната до 2,42  $\pm$  0,54 mm. Тези разлики идват от кучешките зъби и резците ( $p < 0,05$ ), докато при премолари и молари разликите са минимални ( $p > 0,05$ ).

В този етап на зъбен пробив се наблюдава плавно намаляване на дълбочината на ГС, като се запазват зависимостите наблюдавани при по-ранния етап на пробив до 1/3 от клиничната

коронка. При долните зъби СГ става по-плитък и разликите с горната челюст остават достоверно значими за резците и кучешките зъби ( $p < 0,05$ ).

– при зъби с пробив над 2/3 от клиничната корона

В горната челюст максималната дълбочина на сондиране се запазва най-голяма при кучешките зъби, като тя намалява от предходния етап на пробив (2,88 mm  $\pm$  1,04). Между премоларите и резците се наблюдава и статистически достоверни разлики ( $p < 0,05$ ).

В долната челюст, максималната дълбочина на сондиране се запазва относително еднаква при повечето групи зъби с изключение на групата на резците, при които дълбочината на СГ рязко спада (2,04  $\pm$  0,57 mm) и се приближава максимално до средните стойности при

Табл. 3. Максимална дълбочина на сондиране при пробив над 2/3 от клиничната корона

възраст	Горна челюст		Долна челюст		общо		Ind T-test
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	
молари (1)	57	2,55 ± 0,86	63	2,52 ± 0,69	120	2,54 ± 0,65	t = 0,230 p = 0,840
премолари (2)	131	2,45 ± 0,49	117	2,31 ± 0,56	248	2,78 ± 0,48	t = -0,980 p = 0,328
кучешки (3)	41	2,88 ± 1,04	59	2,29 ± 0,51	100	2,51 ± 0,55	t = 3,986 p = 0,000
резци (4)	78	2,41 ± 0,60	118	2,04 ± 0,57	196	2,19 ± 0,68	t = 4,344 p = 0,000
общо	307	2,43 ± 0,72	357	2,25 ± 0,60	664	2,33 ± 0,61	t = 3,499 p = 0,000
	t <sub>1,2</sub> = 3,084 p = 0,002 t <sub>1,3</sub> = -1,677 p = 0,097 t <sub>1,4</sub> = 1,100 p = 0,273 t <sub>2,3</sub> = -5,296 p = 0,000 t <sub>2,4</sub> = -2,186 p = 0,030 t <sub>3,4</sub> = 3,059 p = 0,003	t <sub>1,2</sub> = 2,233 p = 0,028 t <sub>1,3</sub> = 2,479 p = 0,015 t <sub>1,4</sub> = 4,995 p = 0,000 t <sub>2,3</sub> = 0,724 p = 0,470 t <sub>2,4</sub> = 3,630 p = 0,000 t <sub>3,4</sub> = 2,333 p = 0,021	t <sub>1,2</sub> = 3,792 p = 0,000 t <sub>1,3</sub> = 0,291 p = 0,771 t <sub>1,4</sub> = 4,412 p = 0,000 t <sub>2,3</sub> = -3,077 p = 0,002 t <sub>2,4</sub> = 1,590 p = 0,112 t <sub>3,4</sub> = 3,701 p = 0,000				

възрастни. Наблюдават се достоверно значими разлики с групата на премоларите и моларите, които остават с по-високи стойности ( $p < 0,05$ ).

Наблюдава се намаляване на сулкусната дълбочина в сравнение с по-ранните етапи на зъбен пробив, като достоверно по-високи остават стойностите при кучешките зъби на горната челюст, а резците в долната челюст стават с най-плитък ГС ( $p < 0,05$ ). В групата на премоларите и моларите и в двете

челюсти дълбочината на ГС не се различава съществено.

При пробив на зъбите над 2/3 от клиничната корона общо се намалява дълбочината на ГС, като най-бавно това става при кучешките на горната челюст, следвани от молари и премолари на двете челюсти и най-бързо на долните резци, които достигат до дълбочина на ГС –  $2,04 \pm 0,57$  mm.

– при зъби в контакт с антагонисти

Табл. 4. Максимална дълбочина на сондиране при пробив до достигане на контакт с антагониста

възраст	Горна челюст		Долна челюст		общо		Ind T-test
	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	
молари (1)	102	2,36 ± 0,55	114	2,34 ± 0,55	216	2,35 ± 0,53	t = 0,298 p = 0,766
премолари (2)	13	2,20 ± 0,43	10	2,00 ± 0,36	23	2,07 ± 0,12	t = 0,967 p = 0,346
кучешки (3)	12	1,88 ± 0,46	10	2,24 ± 0,45	22	1,90 ± 0,25	t = 2,834 p = 0,012
резци (4)	181	2,22 ± 0,41	178	1,98 ± 0,44	359	2,11 ± 0,44	t = 5,340 p = 0,000
общо	308	2,27 ± 0,45	312	2,12 ± 0,51	620	2,20 ± 0,49	t = 3,002 p = 0,003
	t <sub>1,2</sub> = 0,319 p = 0,750 t <sub>1,3</sub> = 0,852 p = 0,395 t <sub>1,4</sub> = 2,481 p = 0,014 t <sub>2,3</sub> = 1,250 p = 0,338 t <sub>2,4</sub> = -0,152 p = 0,879 t <sub>3,4</sub> = 2,849 p = 0,005	t <sub>1,2</sub> = 0,871 p = 0,386 t <sub>1,3</sub> = 0,797 p = 0,427 t <sub>1,4</sub> = 6,049 p = 0,000 t <sub>2,3</sub> = 1,250 p = 0,338 t <sub>2,4</sub> = 0,050 p = 0,960 t <sub>3,4</sub> = 1,713 p = 0,088	t <sub>1,2</sub> = 0,929 p = 0,364 t <sub>1,3</sub> = 0,852 p = 0,395 t <sub>1,4</sub> = 5,953 p = 0,000 t <sub>2,3</sub> = 1,250 p = 0,338 t <sub>2,4</sub> = -0,152 p = 0,879 t <sub>3,4</sub> = -0,483 p = 0,643				

При достигане до контакт с антагониста, изследваните групи зъби показват допълнително намаляване на дълбочината на гингивалния сулкус с още средно 0,20 mm, в сравнение с предходния етап на зъбен пробив, като общо ГС достига до  $2,27 \pm 0,45$  mm за горна и  $2,12 \pm 0,51$  mm за долна

челюст. Дълбочината на ГС в долната челюст се запазва по-малка в сравнение с горната за всички групи зъби с изключение на кучешките зъби, при които горните кучешки изпреварват долните кучешки зъби ( $p < 0,05$ ).

Обобщавайки представените таблици може да се каже, че:

При пробив до 1/3, при молари и премолари се регистрира динамика в дълбочината на ГС средно от около 0,3 mm, докато при резците и кучешките зъби, тя е над 0,7 mm.

При пробив от 2/3 от клиничната коронка, дълбочината на ГС се запазва както при пробива до 1/3, като единствено при резците по-рязко намалява.

При пробив над 2/3 от клиничната коронка, дълбочината на ГС се изравнява между молари и кучешки зъби, а в същото време при премоларите и резците ГС намалява повече и също се изравнява.

При зъби в оклузия се запазва по-дълбок сулкус при моларите ( $2,35 \pm 0,53$ ), докато при останалите групи зъби, ГС се стабилизира и достига дълбочина 2,03-2,11 mm.

### Обсъждане

Създаването на клинични критерии за отдиференциране на патологични пародонтални промени от физиологичните възрастови особености на пародонта в периода на зъбен пробив и стабилизиране на пародонта дават възможност за ранна диагностика и превантивен подход при лечение в детско-юношеска възраст, който е основна цел в детската дентална медицина.

За първи път у нас, се прави проучване на дълбочината на гингивалния сулкус в периода на пробив на постоянните детски зъби, като целта е да се определят физиологичните граници на промени в ГС в хода на зъбния пробив. За целта беше използвана електронна сонда – **Parometer (Orange)** от трето поколение.

За разлика от възрастните, при децата в различни възрасти и при различните групи зъби, бяха създадени клинични показатели за здрав пародонт, повлиян от различни физиологични процеси (зъбен пробив, хормонални промени в пубертета).

В литературата се срещат много малко проучвания за създаване на стандарти за дълбочина на ГС в хода на зъбен пробив, като преобладава становището, че с началото на пробив ГС претърпява съществени промени и от дълбочина 7-8 mm, той достига до дълбочина 2-3 mm и пародонта се стабилизира доста след като зъбите са влезли в оклузия [8, 9].

Нашето проучване показва, че тези срокове не са толкова продължителни и че дори при начален пробив (1/3 от клиничната коронка), дълбочината на ГС не надвишава 3,07 mm и то само при горните кучешки зъби. При всички останали зъби, средната дълбочина на ГС е в приетите граници за норма при възрастни (2,00-3 mm). В долната челюст разликите между зъбите са минимални за разлика от горната челюст, където кучешките зъби и резците в началото са с максимална сулкусна дълбочина (съответно 3,07 и 2,97 m).

При пробив до 2/3 на зъбите, се наблюдава плавно намаляване на дълбочината на ГС, като се запазват зависимостите наблюдавани при по-ранния етап на пробив до 1/3 от клиничната коронка и промените са минимални.

При зъби в оклузия се запазва по-дълбок сулкус при моларите ( $2,35 \pm 0,53$ ), докато при останалите групи зъби, ГС се стабилизира и достига дълбочина 2,03-2,11 mm. В долната челюст ГС е по-плитък от горната. Интересен е фактът, че при кучешките зъби, при които ГС е най-дълбок в началото, в оклузия дълбочината му става с най-ниските средни стойности в цялото съзъбие  $1,88 \pm 0,46$  mm.

По отношение на различните групи зъби, от самото начало на пробива дълбочината се запазва относително стабилна при молари и премолари, както в различните степени на пробив, така и между горна и долна челюст. Същевременно при кучешките зъби и резците се наблюдава по-голяма динамика в ГС от повече от 1,5 mm, като в края на пробива се достига до дълбочина близка с останалите групи зъби.

Разлики се наблюдават и между зъбите на горна и долна челюст, като в долната, ГС е по-плитък и разликите между групите зъби са по-незначителни. Това говори за по-слаба динамика на формиране на пародонта и по-стабилни показатели в долната челюст.

От 6 до 11,5 годишна възраст има постоянни зъби, които са в начален период на зъбен пробив, който продължава различно за различните групи зъби. Нашето проучване показва, че при влизане в оклузия, всички групи зъби са с ГС с дълбочина максимално близка до средната за

възрастни (от 2,35 mm при моларите до 2,03 mm при кучешките зъби).

Получените от нас резултати се разминават с цитираните в единични статии, според които при долно-челюстните резци, всички кучешки зъби, първите кътници и втори премолари, стабилизирането на ГС става на 12 годишна възраст, а при останалите зъби, стабилизирането завършва на 16-годишна възраст [8, 10, 11].

Нашето проучване показва, че стабилизирането на ГС за всички зъби завършва на 14г. възраст, като за първата група зъби (6, 1, 2, 4 зъб) то е до 11-12 г., а за втората (3, 5, 7 зъб) до 14 г. Това ни дава основание да конкретизираме индикациите за използване на различни пародонтални индекси подходящи за детската възраст. Пародонталните индекси, които използват репрезентативни зъби – резците и първите молари могат успешно да се прилагат от 8 г. възраст, когато е пробил над 2/3 от клиничната коронка и размерът на ГС при здрав пародонт достига своята оптимална дълбочина.

#### Изводи:

1. В процеса на пробив, ГС се формира при различните групи зъби с различна динамика, като средните стойности не надвишават приетите за норма при възрастни.

2. При начален пробив, максималната дълбочина достига 3,08 mm за горните кучешки зъби, а при останалите зъби е под тази стойност;

3. При влизане в оклузия се наблюдава стабилизиране на пародонта, като ГС достига средни стойности близки до стандарта за възрастни;

4. Формиране на ГС за резците и кучешките зъби е по-динамично във времето, като са останалите зъби промените са по-плавни и с по-малки отклонения;

5. Стабилизирането на пародонта за първи молари и премолари, и резците е до 11-12 г., а за кучешките зъби, вторите премолари и молари до 14 г.

6. Пародонталните индекси, които използват репрезентативни зъби – резците и първите молари могат успешно да се прилагат от 8 г. възраст.

**Публикацията е в резултат на изследване по проект, финансиран от съвета по медицинска наука към МУ – София.**

#### Библиография:

1. Rashkova M. Periodontal diseases in children and adolescents. Sofia: Direct Services; 2016.
2. Weinberg M, Westphal C., Froum S., Palat M., Schoor R. Comprehensive Periodontics 3rd ed. Boston: Pearson, 2010.
3. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Carranza's clinical periodontology 10th ed. St Louis: Saunders, 2006: 550.
4. Darby M. My favorite probe. Friends of Hu-Friedy. 2010, Available from: <http://www.friendsofhu-friedy.com/resources/InstrumentoftheMonth.asp>.
5. Darby M, Walsh M. Dental hygiene theory and practice 3rd ed. St. Louis: Saunders, 2010.
6. Hefti A. Periodontal probing. Crit Rev Oral Biol Med 1997; 8:336-356.
7. Barendregt DS, Van der Velden U, Timmerman MF, van der Weijden GA. Comparison of two automated periodontal probes and two probes with a conventional readout in periodontal maintenance patients. Journal of Clinical Periodontology 2006; 33:276-282.
8. Martu A, Nitescu C, Nicalaiciuc O, Popa C, Stefanache T, Ursarescu I et al. Comparative study of efficiency of periodontal probing with electronic periodontal probe versus conventional periodontal probe. International Journal of Medical Dentistry 2014, 4:309-312.
9. Emmerling H, Standley E. Probing into Probes, Measuring the Choices. CDHA Journal 2010, 25:15-19.
10. Bimstein E, Matsson L. Growth and development considerations in the diagnosis of gingivitis and periodontitis in children. Pediatr Dent 1999, 21:186-191.
11. Barendregt DS, Van der Velden U, Timmerman MF, van der Weijden GA. Comparison of two automated periodontal probes and two probes with a conventional readout in periodontal maintenance patients. Journal of Clinical Periodontology 2006, 33:276-282.

#### Адрес за кореспонденция:

д-р Надежда Митова, дм  
Катедра Детска дентална медицина  
Факултет по Дентална медицина  
МУ – София  
бул. „Св. Г. Софийски“ № 1  
1431, София, България  
тел. 0886216886, 9533475  
e-mail: nadia\_bm@abv.bg

#### Address for correspondence:

Dr. Nadezhda Mitova, PhD  
Department of Pediatric Dentistry  
Faculty of Dental medicine  
MU – Sofia  
„Sv. G. Sofiiski Blvd” 1  
1431, Sofia, Bulgaria  
tel. 0886216886, 9533475  
e-mail: nadia\_bm@abv.bg

**Защитени дисертации за придобиване на образователна и научна степен „доктор“ във Факултет по дентална медицина на МУ – София**



**Д-р Виолета Димитрова Доганджийска, дм**

На 21.03.2016 г. успешно беше защитен дисертационен труд на тема „**ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА ФОТОАКТИВИРАНА ДЕЗИНФЕКЦИЯ И ER:YAG ЛАЗЕР ПРИ ДЪЛБОКИ КАРИОЗНИ ЛЕЗИИ** (експериментални и клинично-лабораторни изследвания)“ от д-р Виолета Димитрова Доганджийска, катедра Консервативно зъболечение, ФДМ, МУ – София с научен ръководител проф. д-р Славчо Димитров, дм и проф. д-р Цонко Узунов, дм. На д-р Виолета Доганджийска бе присъдена образователна и научна степен „доктор“.

Дисертационният труд се състои от 178 страници и е онагледен с 22 таблици, 27 фигури и 2 приложения. В библиографията са включени 330 литературни източници, от които 53 на кирилица и 277 на латиница.

**Целта** на дисертационния труд е проучване въздействието на фотоактивираната дезинфекция и високоенергийния Er:YAG лазер при дълбоки кариозни лезии.

Проведени са експериментални и клинично-лабораторни изследвания с обект:

- **Клетъчни култури** – фибробластни клетъчни линии Balb/c 3T3 (clone 31). Използвани са 33 броя 96-ямкови плаки (Orange Scientific). Изследвани са клетъчни култури в 792 броя ямки с размер 5 mm.

- **Опитни животни** – 72 бели мъжки плъха порода “Wistar” с тегло 200-250 g. Материал за хистологично изследване е взет от 144 участъка. Подготвени и микроскопски изследвани са 430 хистологични препарата.

- **Екстрахирани интактни човешки зъби** – 26 броя (10 молара и 16 премолара).

- **Референтни бактериални шамове** – 4 вида (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*). Използвани са 23 броя 12-ямкови плаки.

Изследвани са посеви в 270 броя ямки с размер 22 mm.

- Пациенти – препарирани са 50 кавитета (I и II клас) на 50 пациенти (30 мъже и 20 жени) с дълбоки, акутни кариозни лезии. Изследвани са 85 микробиологични проби – посеви в 85 броя пластмасови петрита с размер 90 mm.

За целите на изследванията са използвани:

- **Фотосенсибилизатори** – три Zn-съдържащи новосинтезирани фотосенсибилизатори ( $\alpha$  Gal-ZnPc,  $\beta$  Gal-ZnPc и ZnPc; БАН); галий-съдържащ новосинтезиран фотосенсибилизатор (GaPc; БАН); комерсиален фотосенсибилизатор Фотосан (FotoSan, Agent High, Denmark).

- **Лазерни източници** – диоден лазер с дължина на вълната  $\lambda = 635$  nm (БАН); диоден лазер с  $\lambda = 665$  nm (ЛАХТА-МИЛОН); Nd: YAG лазер с  $\lambda = 1064$  nm (Fotona, AT Fidelis); Er: YAG лазер с  $\lambda = 2940$  nm (Fotona, AT Fidelis).

- **Разтвори** – Тубулицид – син (Tubulicid Blue label, Dental therapeutics); Aqua destillata (Sofarma).

- **Хранителни среди** – кръвен агар с 5% овнешка кръв; Мак Конки агар; Сабуро агар; бульон на Тароци; шоколадов агар с ванкомицин; соево-казеинов агар с добавка

0.5% дрождев екстракт (Trypticase® Соев агар).

• **Инфрачервена термовизионна камера** – Flir A310 (FLIR Systems, Inc., 27700 SW Parkway Avenue, Wilsonville, OR 97070).

Приложени са лабораторни методи (изследване за цито- и фототоксичност върху клетъчни култури, хистологични, микробиологични методи, термографско изследване), клинично-лабораторни (кавитетна препарация и микробиологично изследване) и статистически методи.

За реализиране на целта на дисертационния труд бяха поставени следните **6 задачи**:

1. **In vitro** изследване за цитотоксичност на различни фотосенсибилизатори (Zn-съдържащи ФС, GaPc, Fotosan) върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка.

2. **In vitro** изследване за фототоксичност на лазерно лъчение с различни дължини на вълната (Er:YAG, Nd:YAG и диоден лазер) върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка.

3. **In vivo** изследване на биологичната поносимост (цитотоксичност и фототоксичност) на ФС и лазерно лъчение върху опитни животни.

4. Изследване на антимикробната активност на ФАД върху референтни бактериални щамове (*S. mutans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*).

5. **In vitro** изследване на температурните промени при кавитетна препарация с високоенергиен Er:YAG лазер.

6. Сравнително **клинично-лабораторно** изследване на антимикробната активност на ФАД, конвенционални препарати и Er:YAG лазер върху микроорганизми, изолирани от дълбоки кариозни лезии.

Разработването на задачите и анализът на получените резултати даде основание да бъдат направени следните **изводи**:

1. Изследването за цитотоксичност върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка установи липса на

тъмнинна токсичност за Zn-съдържащи ФС и Fotosan (Agent High) и наличие на такава при GaPc. След облъчване с лазер с  $\lambda = 635 \text{ nm}$  най-ниска токсичност прояви Fotosan (Agent High), най-висока – GaPc, а при Zn-съдържащи ФС бе доказан дозозависим цитотоксичен ефект.

2. Не е установен фототоксичен ефект върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка при облъчване с диоден, Nd:YAG и Er:YAG лазер ( $\lambda = 665 \text{ nm}$ ,  $1064 \text{ nm}$  и  $2940 \text{ nm}$ ) през дентинови шлифове с дебелина  $1 \text{ mm}$  при използваните параметри. Лазерното лъчение с дължина на вълната  $665 \text{ nm}$  не предизвиква фототоксичен ефект и в подкожната съединителна тъкан на опитни животни.

3. Установени са добра биологична поносимост на подкожната съединителна тъкан и липса на остра тъканна и алергична реакции при макроскопското и хистоморфологичното изследване на тъкани на опитни животни, третирани с ZnPc и GaPc при изследваните концентрации. Най-силно изразени са промените при прилагане на търговския препарат Fotosan, което вероятно се дължи на високия му вискозитет и на по-големия лумен на иглите за субкутанното му инжектиране.

4. Кавитетна препарация с Er:YAG лазер при посочените параметри ( $1.2 \text{ W}$ ;  $120 \text{ mJ}$ ;  $10 \text{ Hz}$ ; SP), подходящ водно-въздушен спрей и остатъчна дебелина на надпулпния дентин  $1-1.5 \text{ mm}$  не води до статистически значимо повишаване на температурата над  $5.5^\circ\text{C}$  и е безвредна за ЗП.

5. Антимикробната активност на ФАД зависи от химичната структура и концентрацията на използвания ФС, от характеристиките на използвания светлинен източник, както и от особеностите на микробните клетки. Най-податливи на ФАД са МО от групата на *S. mutans*, следвани от MRSA и *E. Faecalis*, а най-устойчиви са МО от групата на *C. albicans*. Най-бърз и значим антимикробен ефект е установен при прилагане на Fotosan, с изключение на

пробите с *C. albicans*, които се повлияват най-добре от ZnPc.

6. Изолираната от дълбоки, акутни кариозни лезии флора е полимикробна, с преобладаване на Грам (+), аеробни или факултативно анаеробни МО.

7. Най-силно изразен е антибактериалният ефект на ФАД (82.35% елиминиране на МО), следван от Тубулицид (80%), а най-слабо изразено антиминобно действие има Er:YAG лазерът (46.67%) – разликата с ФАД е статистически значима. Препоръчваме след лазерна подготовка допълнителна медикация на кавитета преди обтуриране.

**Приносите** на дисертационния труд са:

#### **Приноси с оригинален характер**

1. За първи път е изследвана цитотоксичност на синтезирани от екип на БАН нови металфталоцианинови ФС (Zn-съдържащи ФС и GaPc) върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка.

2. За първи път в България е изследвана цитотоксичност на FOTOSAN (Agent High) върху клетъчни култури от ембрионални фибробласти от мишка.

3. Установена е липсата на фототоксичност при облъчване с лазер с дължина на вълната 665, 1064 и 2940 nm през дентинови шлифове с дебелина 1 mm при използваните параметри.

4. Проведено е сравнително хистоморфологично изследване на биологична поносимост на подкожната съединителна тъкан на опитни животни спрямо новосинтезирани металфталоцианинови ФС (ZnPc и GaPc) и търговския препарат FOTOSAN (Agent High).

5. Проведено е сравнително изследване на антиминобния ефект на новосинтезирани металфталоцианинови ФС (ZnPc и GaPc) и

FOTOSAN (Agent High) спрямо четири референтни бактериални щама.

6. За първи път в България е извършено регистриране на температурните промени при кавитетна подготовка с Er:YAG лазер с инфрачервена камера.

7. За първи път е проведено сравнително изследване на антиминобната активност на ФАД с ФOTOSAN, Тубулицид и Er:YAG лазер. Установено е, че ФАД и Тубулицид имат мощен, а Er:YAG лазерът – средно изразен антибактериален ефект.

#### **Приноси с потвърдителен характер**

1. Установено е, че най-податливи на ФАД са МО от групата на *S. mutans*, следвани от MRSA и *E. Faecalis*, а най-устойчиви са *C. albicans*.

2. Доказано е, че при антигъбичната ФДТ са необходими по-високи концентрации на ФС и по-мощна светлинна доза.

3. Установено е, че антиминобната активност на ФАД зависи от химичната структура и концентрацията на използвания ФС, от характеристиките на използвания светлинен източник, както и от особеностите на микробните клетки.

4. Потвърдено е, че кавитетната подготовка с Er:YAG лазер не води до статистически значимо повишаване на температурата над 5.5°C. При правилна техника на работа и подходящи параметри спрямо клиничната находка кавитетната подготовка с високоенергиен лазер е безвредна за ЗП.

5. Потвърдено е, че изолираната от дълбоки, акутни кариозни лезии флора е полимикробна, с преобладаване на Грам (+), аеробни или факултативно анаеробни МО.

6. Установен е статистически значим антибактериален ефект при прилагане на ФАД с FOTOSAN, Тубулицид и Er:YAG лазер.



**д-р Жермен Борисова Инджова, дм**

*На 28. 03. 2016 г. е защитен дисертационен труд на тема „НАПРАВЛЯВАНА КОСТНА РЕГЕНЕРАЦИЯ И МОНИТОРИНГ НА СТАБИЛНОСТТА НА ИНТРАОСАЛНИ ДЕНТАЛНИ ИМПЛАНТАТИ С ЕЛЕКТРОННИ УСТРОЙСТВА“ от д-р Жермен Борисова Инджова, Катедра по Орална и ЛЧХ към ФДМ, МУ – София с научни ръководители доц. д-р Ходор Факих, дм и доц. д-р Димитър Сиврев, дм. На д-р Жермен Борисова Инджова е присъдена образователна и научна степен „доктор“.*

Дисертационният труд е написан на 358 страници и съдържа 82 таблици, 170 фигури и 3 приложения. Библиографията включва 380 литературни източника, от които 27 на кирилица и 353 на латиница.

Целта на дисертационния труд е проследяване на оздравителните процеси в изкуствено създадени костни дефекти, лекувани с направлявана костна регенерация и ксенографти - Bio Oss и Emdogain, както и на динамиката на стабилността на интраосални дентални имплантати в експериментални (in vivo) и клинични условия.

Систематизирани са следните задачи:

1. Проследяване на оздравителните процеси в изкуствени костни дефекти в дълги кости на зайци лекувани с НКР и ксенографти Bio Oss и Emdogain в различни комбинации.

2. Проучване на остеоинтеграцията на титанова пластина с новообразувани костни структури в изкуствени костни дефекти в дълги кости на зайци третирани с НКР и ксенографти Bio Oss и Emdogain в различни комбинации.

3. Компютър-томографско изследване на плътността на новообразувани костни структури в изкуствени костни дефекти в дълги кости на зайци лекувани с НКР и ксенографти Bio Oss и Emdogain в различни комбинации.

4. Направлявана костна регенерация и мониторинг на стабилността на интраосални дентални имплантати в експеримент върху кучета.

5. Мониторинг на стабилността на имплантати и на влиянето на различни фактори върху нея (клинични изследвания).

За осъществяване на експерименталната част от разработката в задачи 1, 2 и 3 са използвани 10 заека, върху долните крайници на които са направени 40 костни дефекта. За задача 4-3 кучета, на които са поставени 18 имплантата. Клиничната част е проведена върху 67 пациента, на които са поставени 171 имплантата.

За осъществяване на поставените задачи са проведени метрични, клинични, макроскопски, светлинномикроскопски, хистоморфометрични, рентгенографски, компютър-томографски, ултраструктурни и сканиращи електронно микроскопски изследвания.

Изводи

1. Комбинация от НКР+Bio Oss+Emdogain е подходяща за лечение на костни дефекти с критични размери около имплантати и за ограничаване резорбтивните промени след екстрация на зъб/и.

2. Новообразуваните костни структури с посочената комбинация има по-висока плътност от тази при естествен оздравителен процес чрез НКР+коагулум, но нейната „функционалност“ не е достатъчна до края на четвъртия месец.

3. Мониторингът на стабилността на имплантати в клиниката показва нарастване на стабилността и след натоварване като системно е влиянието на първичната стабилност, на дължината и диаметъра на имплантатите върху вторичната стабилност.

### Научни приноси

#### Научно-теоретични:

1. Проведен е комплексен експеримент върху кучета, при който чрез електронните устройства Osstell ISQ и Periotest M е осъществено мониториране на стабилността на интраосални дентални импланти, поставени по три оперативни протокола, през пет последователни периода на наблюдение от поставянето им до и след функционалното им натоварване чрез единични коронки, при контролиране на оздравителните процеси в костта чрез НКР от коагулум и НКР в комбинация с Bio Oss+Emdogain, като са установени особености в протичането на оздравителните процеси и стабилизиране на имплантите в зависимост от оперативния протокол и средата, въз основа на които са съставени възможни „графики на успешни импланти“.

2. Bio Oss е подходящ вехикул за Emdogain при лечение на костни дефекти с метода на направляваната костна регенерация.

3. Комбинацията от Bio Oss+Emdogain води до кортикализация на новата кост по повърхността на титановите импланти и не възпрепятства остеоинтеграцията им.

4. Плътността на новообразуваната композиционна кост с участие на НКР+Bio Oss+Emdogain измерена в НУ/ХЕ върху компютър томографски образи е по-голяма от тази образувана със самостоятелното участие на НКР+Bio Oss и НКР+Emdogain, както и от костта, резултат от оздравителен процес от НКР+коагулум.

#### Методични приноси:

1. Подходящ срок за достигане на надеждна функционална плътност на новообразуваната композиционна костна структура с участието на Bio Oss+Emdogain са поне 9 месеца.

2. Едновременното използване на двата електронни уреда Osstell и Periotest за мониториране стабилността на имплантите е препоръчително за научно изследователска и клинична дейност, предвид принципните и функционални разлики между тях.

3. Съставените "графики на успешни импланти" в експериментални и клинични

условия могат да послужат като ориентири, когато се проследява стабилността на имплантите с Osstell ISQ и Periotest M.

#### Научно-приложни приноси:

1. Комбинацията от НКР с Bio Oss и Emdogain е подходяща за лечение на костни дефекти с критични размери около имплантите поставени по имедиатен протокол, както и за третиране на алвеоли след екстракция на зъби.

2. Регенеративните процеси в костни дефекти с НКР+Bio Oss+Emdogain протичат основно под формата на дистанционна остеогенеза.

3. Мониторирането на стабилността на имплантите през първата година след поставянето и функционалното им натоварване е обективна възможност за оценка на резултата от лечението и предприемане на профилактични и лечебни решения основани на доказателства.

4. Забавената буколингвална стабилизация в сравнение с дистомедиалната на имплантите по ИП и ОИП изисква или удължаване на оздравителния период, в смисъл на придържане към горната граница на препоръчания от 3 до 6 месеца оздравителен период преди натоварване или при възможност – линейна или дъгова стабилизация.

5. За преценката на момента за функционално натоварване на имплантите е удачно съобразяване с това, че въпреки по-интензивното нарастване на стабилността на имплантите поставени в дистални части на горната челюст при мъже и жени, при различните дължини и диаметри на имплантите, вторичната им стабилност остава по-малка от тази на имплантите от долната челюст.

#### Приноси с потвърдителен характер:

1. Стабилността на имплантите намалява спрямо първоначалната няколко седмици след поставянето им, независимо от приложения оперативен протокол.

2. Вторичната стабилност е по-голяма от първичната.

3. Нарастването на стабилността на имплантите в кост богата на спонгиоза протича по-бързо от тази на импланти поставени в по-компактна кост.

4. Дължината и диаметърът на имплантата имат по-голямо значение за вторичната отколкото за първичната стабилност.



### Д-р Надежда Георгиева Митова, дм

На 07.07.2016 г. успешно беше защитен дисертационен труд на тема „**МИНИМАЛНО ИНВАЗИВЕН ПОДХОД КЪМ ДЕНТИНОВИЯ КАРИЕС НА ПОСТОЯННИ ДЕТСКИ ЗЪБИ**“ от д-р Надежда Георгиева Митова, катедра Детска Дентална медицина, ФДМ, МУ – София с научен ръководител проф. д-р Мая Раикова, д.м. На д-р Надежда Георгиева Митова е присъдена образователна и научна степен „доктор“.

Дисертационният труд е написан е на 276 страници и е онагледен с 70 таблици, 21 фигури, 53 диаграми и 4 приложения. Библиографията включва 344 литературни източници, от които 33 на кирилица и 311 на латиница.

Целта на дисертационния труд е проучване на разпространението на дентинов кариес в детска възраст, съвременни методи на контролирана екскавация и минимално инвазивен подход при лечение.

Клиничните и епидемиологичните проучвания по задачите на дисертационния труд са проведени върху 577 деца на възраст от 3 до 12 години – 501 деца за епидемиологично проучване, 76 деца с 80 дентинови кариозни лезии за проспективно клинично проучване. При провеждането на клиничното проучване за период от 3 месеца бяха взети 165 проби кариозен дентин за микробиологично проучване от 60 кариозни лезии.

За осъществяване на сравнително проучване *in vitro* на различни методи на контрол и екскавация при лечение на дентинов кариес с минимална интервенция бяха използвани 96 екстрахирани зъба с наличие на дентинови кариозни лезии (96 лезии).

За характеризиране на дентинови повърхности при *in vitro* екскавация с различни методи за минимална интервенция, чрез атомно-силова микроскопия (AFM) и сканираща електронна микроскопия (SEM) бяха използвани 6 образци от дентинови

повърхности, екскавирани до афектиран и здрав дентин, чрез механична екскавация, лазерна екскавация и химио-механична екскавация с Carisolv.

Бяха поставени следните 5 задачи:

1. Епидемиологично проучване на разпространението на дентинов кариес в детска възраст (при начален диагностичен праг D1b) в зависимост от общата кариозност на деца в различни възрастови групи:

1.1. Кариозност и орално-хигиенен статус на изследваните деца;

1.2. Характеристика на регистрираните дентинови кариозни лезии (D3) при временни и постоянни зъби.

2. Клинично проучване:

2.1. Изработване на критерии за флуоресцентен контрол и цетова скала за оценка на инфектиран и афектиран дентин, в клинични условия;

2.2. Проспективно клинично проучване за лечение на дентинов кариес с минимална интервенция чрез двустъпков метод при постоянни детски зъби.

3. Микробиологично проучване на *S.mutans* и *L.acidophilus* в хода на лечение на дентинов кариес при постоянни зъби при деца:

3.1. При екскавация до афектиран дентин;

3.2. При екскавация до частично инфектиран дентин.

4. Експериментално проучване на промените в цвета на дентина при различни методи на

екскавация и контрол при лечение на дентинов кариес с минимална интервенция:

4.1. При механична екскавация (здрав и афектиран дентин);

4.2. При приложението на различни методи за екскавация и флуоресцентен контрол;

4.3. Характеристика на екскавирани дентинови повърхности (in vitro) чрез атомно-силова микроскопия (AFM) и сканираща електронна микроскопия (SEM).

5. Изработване на клиничен протокол за лечение с минимална интервенция на дълбок дентинов кариес на постоянни зъби при деца.

Разработването на задачите даде основание да бъдат направени следните изводи:

1. Кариозните лезии D3 заемат между 1/3 и 1/4 от всички лезии при временните зъби и до 1/2 от кариозните лезии при постоянните детски зъби.

2. Както при постоянните, така и при временните зъби преобладават тъмните цветове на кариозния дентин, независимо от локализацията на лезиите.

3. В различните етапи на екскавация флуоресценцията е с различен интензитет – от ярко червено до бледо розово, като изчезва при относително твърдия светло кафяв дентин, различаващ се от здравия;

4. Предложената от нас цветова визуална скала за оценка на кариозен дентин или използването на флуоресцентен контрол са подходящи методи за контролирана екскавация;

5. Стъпковата контролирана екскавация показва стационаране на кариозния процес и липса на растеж на остатъчни кариесогенни МО за период от три месеца при първоначална екскавация до афектиран и частично инфектиран дентин;

6. Частично инфектираният дентин след три месечен период на лечение показва промяна към достоверно по-светъл цвят и консистенция, характерни за некариозния дентин;

7. Характеристиките на дентин, при който изчезва флуоресценцията (с Proface контрол)

се различават от този на здравия дентин по степента на остатъчна деминерализация;

8. Флуоресцентният контрол дава възможност за избирателна и щадяща екскавация;

9. Препоръчва се използването на пощадящи методи на екскавация (лазерна, химиомеханичната екскавация, ръчни екскаватори), самостоятелно или в комбинация с механична екскавация;

10. SEM и AFM анализите показват по-голямо разнообразие в релефа на образците, екскавирани до афектиран дентин чрез Carisolv, последвани от екскавирани с Er: YAG лазер;

11. Предложеният от нас клиничен протокол за лечение на дълбоки дентинови кариозни лезии е подходящ за приложение при минимално инвазивен подход за лечение на кариеса в дентина.

Приносите на дисертационния труд са:

*Приноси с оригинален характер*

1. Изработени бяха критерии за флуоресцентен контрол на екскавация с използване на ProFace кариес детектор и оценка на различни видове дентин в клинични условия;

2. Създадена беше авторска методика за анализ и оценка на дентина при дълбок дентинов кариес при ин-витро условия, чрез използването на високо-специализирана фотографска техника и дигитален софтуер;

3. Чрез микробиологично проучване на *S.mutans* и *L.acidophilus* в хода на микроинвазивно лечение на дълбок дентинов кариес, беше доказано стационаране на микробния растеж при запазване на частично инфектиран или афектиран дентин, за период от 3 месеца;

4. Приложена беше авторска методика за in vitro проучване на промените в цвета на дентина, регистрирани със система HSB за проследяване степента на деминерализация в дълбочина на кариозния процес.

*Приноси с потвърдителен характер*

5. В експериментално проучване беше доказано, че лазерната и химио-механичната екскавация е по-щадяща в сравнение с конвенционалната, което прави двата метода подходящи за микроинвазивното лечение на дентиновия кариес;

6. Чрез AFM и SEM анализ беше проучен релефът на дентинови повърхности след екскавация до афектиран и инфектиран дентин с Carisolv, Er: YAG лазер и конвенционални средства.

*Приноси с практично-приложен характер*

7. Изработена беше цветова скала за визуална оценка на афектиран и инфектиран

дентин в клинични условия, която може да се прилага в клиничната практика;

8. Създадените критерии за флуоресцентен контрол с ProFace кариес детектор при екскавация в дентина бяха приложени при лечение на дълбок дентинов кариес с минимална интервенция чрез контролирана екскавация;

9. Създаден беше протокол за микроинвазивно лечение на дълбок дентинов кариеса с флуоресцентен контрол на екскавацията до афектиран или частично инфектиран дентин, като бяха определени индикациите съответно за едносеансово или двусеансово лечение, базирани на собствени научни доказателства.

---

## ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ

за публикуване в сп. „Проблеми на денталната медицина”

Списание “Проблеми на денталната медицина” се издава от ФДМ – МУ София, от 1973 г. по две или три книжки годишно. Приемат се за печат научни разработки свързани с денталната медицина, като преподавателите от ФДМ са с предимство при отпечатване.

Материалите са представят в два екземпляра на български език, формат А4 с подписите на всички автори на последната страница. На последната страница трябва да бъде посочен пълен адрес, телефон и e-mail на отговорния автор за кореспонденция на български и на английски език. Същият следва да съгласува препоръките за корекции/направени от рецензентите и редколегията/ с всички съавтори.

Авторите попълват уверение (типова бланка), че научните материали не са предложени за публикуване и не са публикувани в друго списание, не са нарушени принципите на авторското право и тези на научната етика. С подаването на ръкописа авторите автоматично се съгласяват да предоставят изключителни авторски права на Факултета по дентална медицина – МУ София върху него, ако се приеме за публикуване. Материалите и процедурите, използвани в научните изследвания, трябва да отговарят на установените етични критерии при експерименти с хора или животни и да са в съответствие с Правилника за работата на Комисията по етика на научните изследвания в Медицински университет – София (КЕНИМУС) и да имат разрешение от тази комисия. Пациентите не трябва да се посочват с имена, инициали или фотографии, чрез които могат да бъдат идентифицирани.

Авторите са отговорни за всички твърдения, становища, изводи и методи на представяне на данните от техните изследвания в дадените ръкописи.

Предложените научни материали се публикуват само след рецензиране и одобряване от Редакционната колегия на списанието.

### Изисквания към научните материали

Настоящите изисквания са в съответствие с Recommendation for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, Updated December 2013, [www.icmje.org](http://www.icmje.org) и „Единни изисквания към ръкописи предложени за отпечатване в биомедицински списания” – N Engl J Med 1997; 336: 309-15.

Приемат се за публикуване следните видове научни материали: **Оригинални научни статии** – до 10 стандартни страници /30 реда, 60 знака на една страница включително таблици, фигури и друг онагледяващ материал и библиография; **Литературни научни обзори** – до 15 стандартни; машинописни страници за обзори, включително таблици, фигури и друг онагледяващ материал. **Казуистика** – до 3 стандартни машинописни страници, включително таблици, фигури и друг онагледяващ материал и библиография.

Ръкописите следва да бъдат напечатани или принтирани едностранно на стандартна машинописна бяла хартия А 210 x 297 mm). Шрифт Times New Roman, 12 pt, междуредие 1,5, полета от ляво и дясно – 2 cm; от горе и долу – 2,5 cm. Страниците трябва да бъдат номерирани долу дясно;

### Първа страница:

Заглавие на български и на английски език, език без съкращения, в Volt;

Имената на авторите изписани с пълно име и презиме, също на български и на английски, като под черта (Footnote) се изписват академичните длъжности и научни степени на авторите и тяхната месторабота - Медицински Университет София, след което се изписва Факултет по дентална медицина и съответната катедра.

**Резюме:** трябва да бъде на отделна страница (отделен файл), на български и на английски език, с изписаните по същия начин автори и месторабота. Обемът на резюмето да не надхвърля 250 думи. Резюмето да включва въведение, цел, материал и методи, резултати, Ключови думи (да се използват термини цитирани в MEDLINE или от рубриците на Index Medicus).

Обръщаме внимание, че резюмето и ключовите думи евентуално ще бъдат индексирани и цитирани в базите данни за които ще кандидатстваме.

**Структурата на оригинална научна статия.** Статията трябва да включва: въведение, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи/заключение и библиография. Отбелязването в текста на номера на цитираните литературни източници да се поставя в квадратни скоби и да е с размера на шрифта на самия текст, пример: [1]. Не се приема за научно доказателство представянето на материал в абсолютни стойности, без статистическа обработка. Неправилно е да се дублира един и същи материал представен в таблица и графика. В текста не следва да се повтаря цифровата информация показана в таблицата, а да се направи анализ на информацията. Допуска се използването само на стандартни общоприети съкращения, като не се допускат съкращения в заглавието и резюмето.

Таблицы, фигури, снимки, диаграми и други онагледяващи материали трябва да бъдат дадени в текста и на отделен файл (на електронен носител). Таблиците трябва да се номерират с арабски цифри, като се започне от 1 в последователността на позоваването им в текста. Тази номерация трябва да бъде независима от номерацията на фигурите. Заглавието на таблицата се разполага в средата над таблицата например: **Таблица № 1 – Механични свойства**

Първата дума от наименованието на всяка колона или ред трябва да започва с главна буква. Когато в дадена колона или ред се използват единици на величини, те трябва да се записват в средата на колоната под наименованието на колоните със светъл шрифт (в Si система). Данните трябва да се представят в лесноразбираема и прегледна форма. Използването на големи и сложни таблици трябва да се избягва, например чрез представяне на данните в две или повече прости таблици.

#### **Статистическа обработка:**

Да се опише статистическият метод, да се дефинират статистическите термини и използват общовалидни статистически съкращения и символи. Да се посочи нивото на значимост; задължително е спазването на условните знаци при попълване мрежата на таблицата, а именно: при промили, процедимили и т.н. не се използва точка или запетая, а разредка от един знак. Напр. един милион Цифровите резултати да се дават освен като деривати (напр. в проценти) и в средни стойности – 1 000 000.

**Структура на литературен обзор.** Литературният обзор трябва да представлява аналитичен преглед на литературата по определени научни теми свързани с денталната медицина. Трябва да бъде представена актуална информация (50% от последните 5 години) в логична последователност, като определени научни тези трябва да бъдат подкрепени от научни доказателства цитирани в съответните научни статии. Добре е да бъдат цитирани нови методики, обем изследван материал въз основа на който се правят съответните научни изводи. Трябва да се цитират проучвания за и против съответната теза, както и мнението на автора на обзора.

Препоръчваме използването на принципите на изработване на мета-анализ при представяне на обзорен материал по определена научна тема.

**Структура на казуистика.** Казуистиката е представяне на добре документирани, интересни клинични случаи. Статията трябва да е по-кратка (до 3-4 страници). Въведението трябва да е по-разширено в сравнение с това на оригинална научна статия, като трябва да бъде кратък литературен обзор по темата на представения казус. Не трябва да следва структурата на научна статия. Представения клиничен случай трябва да следва класическата схема за клинично изследване и документиране.

**Книгопис:** Библиографията се изписва на латиница и следва текста на статията. Всеки източник се номерира с арабска цифра и се подрежда последователно според появата в текста по фамилията на първия автор. **Важно!** Литературните източници на кирилица трябва да бъдат преведени на латиница (на английски език), като заглавието се поставя в квадратни скоби, а накрая се изписва името на държавата, от която е списанието. Данните се оформят по следния начин:

– **Статии от списания:** Фамилия име на авторите. Заглавие. Заглавие на списанието (чуждестранните списания се дават съгласно възприетите съкращения в MEDLINE), година; том, (№...), страници:... – ... . Изписват се фамилията и инициалите на първия автор и всеки следващ до шести автор, а след това et al., ако има повече автори. Ако има идентификационен номер за цитиране може да се изпише в края.

**Пример:** Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347(4):284-7.

– **Книги, монографии: Автор/и/.** Заглавие. Място на публикуване /град/: издателство; година на издаване. страници. Ако има редактор той се вписва след заглавието. **Пример:** *Peneva M, Tzolova E, Kabakchieva R, Rashkova M. Oral embryology, histology and biology. Textbook of Pediatric Dentistry. ed: East-West: Sofia; 2009 p. 232.*

– **Глава от книга и статии от непериодични сборници: Автор/и/.** Заглавие на главата. In: Автор/и/ заглавие на книгата. Поредност на изданието. Място на издаване /град/: издателство; година на издаване. страници /от-до/. **Пример:** *Kraševa-Panova, A. Summary of changes in the oral cavity and subjective complaints. In: Kraševa-Panova, A, A. Kisselova-Yaneva, B. Girova, Vl. Panov, Ad. Krateva, An. Bobeva. Edited by Zahari Krašev. Oral lesions. Sofia: Ivan Sapundziev; 2011. p. 240-248.*

– **Дисертации:** Фамилия, име и презиме. Заглавие, следвано от обяснение в средни скоби [dissertation]. Град, година. **Пример:** *Kirov Dimitar Nikiforov, Diagnosis and prevalence of temporomandibular disorders. [dissertation]. Sofia, 2014*

#### **От Интернет:**

а/ електронна книга – Фамилия, име. Заглавие. [Online]. – Седалище, (електронно) издателство, година на публикуване. Available from: <пълен веб-адрес> [дата на последно посещение].

Bergman, Ronald A., Adel K. Afifi, Ryosuke Miyauchi. Illustrated Encyclopedia of Human Anatomic Variation. [Online]. – Last rev. 2006. // Anatomy atlases: A digital library of anatomy information. Curated by Ronald A. Bergman. 1995-2011. Available from: <<http://www.anatomyatlases.org/AnatomicVariants/AnatomyHP.shtml>> [25.05.2011].

б/ институционален веб-сайт – Пример: World Health Organization. Home page. 2011. Available from: <<http://www.who.int/en/>> [25.05.2011].

в/ публикация онлайн – Пример: The International Pharmacopoeia. 4. ed. (incl. First Supplement). WHO, 2008. Available from: <<http://apps.who.int/phint/en/p/about/>> [25.05.2011].

Справката е изготвена според International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals: Sample References. Повече подробности може да откриете на съответния сайт.

**ЕТИЧНИ НОРМИ ЗА ИЗСЛЕДВАНИЯ И ПУБЛИКУВАНЕ**

Материалите и процедурите, използвани в научните изследвания, трябва да отговарят на установените етични критерии при експерименти с хора или животни. Пациентите не трябва да се посочват с имена, инициали или фотографии, чрез които могат да бъдат идентифицирани.

Материалите не трябва да са предложени в друго списание по време на разглеждането им в сп. „Проблеми на денталната медицина“, както и да не са публикувани на по-ранен етап в друго печатно или електронно издание. Това се удостоверява с декларация.

Материалите да отговарят на закона за авторското право и сродните му права и тези на научната етика.

Авторите са отговорни за всички твърдения, становища, изводи и методи на представяне на данните от техните изследвания в дадените ръкописи.

**ETHICAL STANDARDS FOR RESEARCH AND PUBLICATION**

Materials and procedures used in the research must meet the established ethical criteria in experiments with humans or animals. Patients should not be mentioned by name, initials or photographs, through which they can be identified.

Entries may not be offered in another journal during their consideration in the journal. „Problems of Dental Medicine“. They should not be published at an earlier in other printed or electronic edition. This is certified by a declaration.

The materials meet the law on copyright and related rights and those of scientific ethics. The authors are responsible for all statements, opinions, conclusions and methods of data presentation of their research in the given manuscripts.

---