

# **Применение метода полимеразной цепной реакции для диагностики пародонтопатогенных микроорганизмов при ортопедическом лечении больных сахарным диабетом 2 типа съёмными акриловыми протезами**

## **Шевкунова Н. А.**

*Шевкунова Наталья Алексеевна / Shevkunova Nataliy Alekseevna - кандидат медицинских наук, доцент, кафедра ортопедической стоматологии, стоматологический факультет, Ижевская государственная медицинская академия, г. Ижевск*

**Аннотация:** актуальность выбранной темы обусловлена необходимостью проведения противовоспалительных мероприятий при обострении заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом 2 типа в период адаптации к съёмным акриловым протезам. К выбору антимикробных препаратов необходимо подходить с учетом, обнаруженных в слюне больных пародонтопатогенов и их чувствительности к антибиотикам.

**Abstract:** the relevance of the topic chosen due to the need for anti-inflammatory activities in the exacerbation of periodontal disease in patients with type 2 diabetes in the period of adaptation to a removable acrylic dentures. By the choice of antimicrobial drugs should be approached based on the detected in the saliva of patients parodontopathogenus and their sensitivity to antibiotics.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, частичная адентия, анализ ПЦР.

**Keywords:** type 2 diabetes partially, edentulous, PCR analysis.

### **Введение.**

Каждые 10-15 лет число больных сахарным диабетом (СД) удваивается, в основном за счёт увеличения количества больных, страдающих сахарным диабетом 2 типа (СД2) [7, с.115]. Известно, что СД2 в большинстве случаев встречается у пациентов старше 40 лет и оказывает неблагоприятное влияние на ткани пародонта и целостность зубов, что приводит к раннему образованию дефектов зубных рядов и увеличению обращаемости таких больных за стоматологической помощью, при этом 54 % нуждаются в ортопедической стоматологической помощи [3, с.34].

Зубные протезы создают ретенционные пункты для образования зубного налета, что приводит к обострению заболеваний пародонта, а это в свою очередь, помимо общего фактора - диабета, является сложной проблемой для любого стоматолога при реабилитации данной категории пациентов [1, с.90; 4, с.28; 8, с.935]. В ряде случаев успешному лечению пародонтита мешает патогенная микрофлора полости рта. На сегодняшний день качественный состав основных «провокаторов» развития пародонтита известен. В эту группу входят *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* [9, с.2111; 10, с.111]. Молекулярно-генетический метод количественного анализа анаэробных пародонтопатогенных микроорганизмов - ПЦР (полимеразная цепная реакция) позволяет обнаружить не только «маркеров» пародонтита, но также и гены, кодирующие резистентность к антибиотикам [6, с.520; 5, с.2]. Благодаря анализу полученных результатов, стоматолог может выбрать необходимый препарат для проведения противовоспалительных мероприятий в каждом конкретном случае [5, с.3].

**Цель исследования** – определить эффективность применения ПЦР для определения состава пародонтопатогенных микроорганизмов слюны при ортопедическом лечении больных СД2 типа частичными съёмными акриловыми протезами.

### **Материалы и методы.**

В исследование были включены 43 человека в возрасте от 48 до 60 лет, которые были разделены на 2 группы. Первую группу составили 19 больных СД 2 типа (12 женщин и 7 мужчин). В обследование включались пациенты с отсутствием более 6 зубов на одной из челюстей 1 или 2 классов по Кеннеди. Среднее число отсутствующих зубов составляло  $12,2 \pm 1,6$ . Длительность заболевания СД 2 типа была в среднем  $6,8 \pm 1,7$  года. Контроль уровня сахара в крови осуществлялся пациентами индивидуальными гликометрами, средний уровень сахара в исследуемой группе составлял  $9,5-1,2$  ммоль/л.

Вторая группа состояла из 24 пациентов (15 женщины и 9 мужчин) с аналогичными дефектами зубного ряда при отсутствии инфекционных и другие соматические заболеваний.

Ортопедическое стоматологическое лечение всем пациентам проводилось с применением частичных съёмных протезов с акриловым базисом. Перед лечением проводились санация и профессиональная гигиена полости рта. Частичные съёмные пластиночные протезы были изготовлены из базисной пластмассы одного производителя в зуботехнической лаборатории Республиканской стоматологической поликлиники г. Ижевска.

Для определения видового состава микрофлоры слюны использовали молекулярно-генетический метод обнаружения микроорганизмов - полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей обратной

ДНК-гибридизацией с праймерами пародонтопатогенных бактерий. Забор материала и исследование производили в «Центре новых диагностических технологий. Медицинская лаборатория» г. Ижевска. ПЦР диагностику проводили у каждого пациента два раза - до ортопедического лечения и спустя месяц после наложения съёмных пластиночных протезов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Statistica 6.0» Рассчитывались среднеарифметические значения количественных показателей, представленных в тексте в виде  $M \pm m$ , где  $M$  - среднее выборочное,  $m$  - ошибка средней. Проверка гипотезы о равенстве генеральных средних в двух сравниваемых группах проводилась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни для независимых выборок. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

#### **Результаты и обсуждение.**

При осмотре полости рта перед ортопедическим воспалительные изменения в тканях пародонта встречались у больных СД2 в 100 % случаев: у 44,3 % пациентов данные изменения соответствовали лёгкой степени поражения пародонта, у 53,6 % пациентов были выявлена средняя степень тяжести и у 2,1 % – тяжёлая. При этом наблюдалась прямая зависимость тяжести поражения пародонта от уровня сахара крови: при легкой степени он составлял  $7,2 \pm 1,2$  ммоль/л., при средней  $9,1 \pm 2,4$  ммоль/л., при тяжелой  $12,4 \pm 1,6$  ммоль/л., что согласуется с литературными данными [2, с.10]. У пациентов без соматической патологии воспалительные изменения в тканях пародонта встречались в 32,8% случаев. Легкая степень поражения наблюдалась в 24,4% случаев ( $p < 0,05$ ), средняя в 8,4% ( $p < 0,01$ ), тяжелая степень не диагностировалась.

В результате проведенных исследований методом мультипраймерной ПЦР слюны у пациентов с дефектами зубного ряда до ортопедического лечения из всех пародонтопатогенов наиболее часто встречалась *P. gingivalis* - у 44,74% больных СД2 и 41,18% в группе сравнения ( $p > 0,02$ ). На втором месте по частоте обнаружения у больных СД2 - *T. denticola* - 54,39 %, при 15,29 % у лиц без диабета ( $p < 0,01$ ). Частота встречаемости *P. intermedia* 24,21% и 28,10% соответственно ( $p < 0,05$ ), а *A. Actinomycetemcomitans* (31,11% и 36,49% ) практически не отличалась в исследуемых группах ( $p > 0,02$ ). *B. forsythus* чаще обнаруживался у пациентов без диабета (29,41%), чем у пациентов с СД2 (12,35%,  $p < 0,01$ ).

При ортопедическом лечении на этапах коррекции зубного протеза были выявлены воспалительные изменения в виде гиперемии, эрозий и язв на слизистой оболочке протезного ложа в области границ протеза, а также в области повышенного давления базиса протеза у пациентов обеих групп. У больных СД2, использующих частичный съёмный протез, признаки механической травмы встречались в 80 % случаев, а в группе сравнения в 30 % случаев ( $p < 0,01$ ). После рациональной коррекции зубных протезов данные симптомы обнаружены не были.

Заболевания пародонта через месяц после наложения зубных протезов у больных СД2 диагностировались в 15,2 % в лёгкой степени ( $p < 0,001$ ), в 73,1 % случаев была выявлена средняя степень ( $p < 0,05$ ) и в 11,7 % – тяжёлая ( $p < 0,01$ ). В группе сравнения при пользовании частичными съёмными акриловыми протезами воспалительные изменения в тканях пародонта встречались в 47,2% случаев: легкая степень поражения наблюдалась в 28,8% ( $p < 0,05$ ), средняя в 18,4% ( $p < 0,01$ ).

При исследовании слюны больных СД2 спустя месяц после ортопедического лечения частичными съёмными акриловыми протезами, состав пародонтопатогенных бактерий изменялся в сторону увеличения концентрации *T. denticola* (81,3%) и *P. gingivalis* (68,1%) ( $p < 0,01$ ), при частоте встречаемости *B. forsythus* (14,6%), *P. intermedia* (26,8%) и *A. actinomycetemcomitans* (34,8%) ( $p < 0,05$ ).

В группе сравнения наибольшее увеличение частоты встречаемости наблюдалось *B. forsythus* (75,9%), незначительное *P. intermedia* (35,2%), *A. actinomycetemcomitans* (47,3%) и *P. gingivalis* (48,4%) ( $p < 0,05$ ), при отсутствии достоверных изменений *T. denticola* (16,7% ( $p > 0,01$ )).

#### **Выводы.**

Таким образом был изучен видовой состав основных пародонтопатогенов (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*) у больных СД2 при ортопедическом лечении частичными съёмными акриловыми протезами с помощью ПЦР метода. Установлено, что наиболее часто у данной категории пациентов встречается бактериальный синергизм *P. gingivalis* и *T. Denticola*, что согласуется с данными литературы [11, с.113]. При пользовании частичными съёмными акриловыми протезами количество *P. gingivalis* и *T. Denticola* увеличивается в 1,5 раза. Ухудшение состояния тканей пародонта при пользовании съёмными акриловыми протезами проявлялось в увеличении в 5 раз числа пациентов с тяжелой степенью пародонтита.

Исходя из результатов исследования, можно сделать вывод о том, что в данном случае ПЦР используется как специфический метод диагностики пародонтопатогенных микроорганизмов, который помогает врачу – ортопеду дифференцированно подходить к выбору схемы лечения в зависимости от выявленных в слюне пародонтогенных микроорганизмов и их чувствительности к антибиотикам. Полученные данные состава микробиоценоза слюны, при средней и тяжелой степенях пародонтита,

позволяют своевременно назначать адекватную антибактериальную терапию, что дает возможность избежать осложнений при адаптации и пользовании съёмными акриловыми протезами у больных СД 2 типа.

### *Литература*

1. *Бадалов Р. М.* Адаптация больных сахарным диабетом к съёмным конструкциям зубных протезов из акриловых пластмасс. / Р. М. Бадалов, З. И. Гараев / *Стоматология нового тысячелетия: Сб. тез.* - М., - 2000, С.90-91.
2. *Доржиева З.В.* особенности клиники и патогенеза хронического генерализованного пародонтита у больных сахарным диабетом: Автореф. дис. ...канд.мед.наук. –Иркутск, 1997. – С.17.
3. *Жирнова А.И., Щербаков А.С., Червинец Ю.В.* Клинические особенности тканей полости рта у пациентов с сахарным диабетом, проходящих ортопедическое стоматологическое лечение протезами из различных конструкционных материалов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 4. - С.34
4. *Звигинцев М.А.* Стоматологическая реабилитация больных сахарным диабетом / М.А. Звигинцев // - Омск, - 1998. С. 1-43.
5. *Костюк С.А., Кулага О.К., Хворик Д.Ф.* Новые аспекты клинического применения полимеразной цепной реакции. – «Медицинские новости» <#"justify">.
6. *Рибриков Д.В., Трофимов Д.Ю.* ПЦР «в реальном времени»: подходы к анализу данных. *Прикладная биохимия и микробиология.* 2006.- № 42. -С.520—528.
7. *Фурцев Т.В.* Нуждаемость и состояние ортопедической стоматологической помощи у больных сахарным диабетом /Т.В. Фурцев, Г.Т. Салеева // - Казань, - 2009 – С. 115-117.
8. American Academy of Periodontology. Diabetes and periodontal disease (position paper). - 1999.-Vol. 70.- P.935-949.
9. *Maiden M.F., Cohee P., Tanner A.C.* Proposal to conserve the adjectival form of the specific epithet in the reclassification of *Bacteroides forsythus* Tanner et al. gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; 53:2111—2112.
10. *Simonson L.G., McMahon K.T., Childers D.W., Morton H.E.* Bacterial synergy of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in a multinational population. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 111—112.
11. *Socransky S.S., Haffajee A.D., Dzink J.L., Hillman J.D.* Associations between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3:113.