**МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ КАРАГАНДЫ**

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание академической степени доктор философии PhD

 Байгулакова Азамата Турашевича

на тему:

**«Патоморфологическое обоснование неинвазивного метода лечения кариеса зубов (экспериментальное исследование)».**

|  |  |
| --- | --- |
| Специальность: | 6Д110100 МЕДИЦИНА |
|  |  |
| Направление докторантуры: | Научное и педагогическое |
| Срок обучения в докторантуре: | 3 года |

Научный консультант: Тулеутаева Светлана Толеуовна, к.м.н., профессор Школы стоматологии НАО МУК

Научный консультант: Тусупбекова Майда Масхаповна, д.м.н., профессор кафедры патологии НАО МУК

Зарубежный научный консультант: Адамчик Анатолий Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Караганда 2022 г.

**Актуальность темы**

В связи с высокой распространенностью начального кариеса до настоящего времени происходит поиск новых средств, позволяющих привести к обратному развитию процесса деминерализации эмали. Такая возможность предоставляется благодаря сохранению белковой матрицы эмали. По данным мировой литературы известно, что протеин амелогенин способен остановить и реверсировать образование кариеса путем стимулирования биомиметической реминерализации. Кроме того, он стимулирует построение правильной кристаллической решетки гидроксиапатита из минералов слюны человека. На основе данной решётки идёт процесс восстановления эмалевых призм. Использование синтетического аналога человеческого протеина амелогенина (САЧПА), разработанного казахстанским исследователем (Б.А. Айтуов, 2015 г.), возможно также способно привести к восстановлению эмали, разрушенной в результате кариеса путем неинвазивного и безболезненного нанесения в виде капель.

Однако, данная методика не имеет экспериментальных исследований на животных и имеет недостаточно клинических данных при сравнении с другими неинвазивными методами профилактики и лечения очаговой деминерализации эмали зубов и не имеет морфологического обоснования процессов регенерации эмали. В связи с этим изучение морфологических проявлений структурного состояния эмали при использовании САЧПА является актуальной и позволит более подробно изучить процессы, происходящие в эмали зубов при воздействии указанного препарата.

**Цель исследования**

Патоморфологическое обоснование неинвазивного метода профилактики и лечения кариеса зубов в эксперименте.

**Задачи исследования**

1. Провести комплексную оценку распространенности кариозного процесса у детей, находящихся на ортодонтическом лечении;
2. Провести морфологическую оценку состояния эмали зубов лабораторных крыс до и после лечения кариеса в стадии белого пятна неинвазивными методами в эксперименте;
3. Провести морфологическую оценку состояния эмали удаленных зубов человека до и после лечения кариеса в стадии белого пятна неинвазивными методами
4. Оценить эффективность неинвазивного метода лечения кариеса зубов в эксперименте.

**Научная новизна:**

1. Впервые в эксперименте изучены морфологические изменения эмали зубов лабораторных белых крыс при использовании препарата, содержащего синтетический аналог человеческого протеина амелогенина (САЧПА) и дано морфологическое обоснование эффективности неинвазивного метода лечения;
2. Впервые дана морфологическая характеристика состояния эмали на удаленных зубах человека до и после лечения очаговой деминерализации неинвазивными методами и оценен реминерализующий потенциал с применением препарата, содержащего синтетический аналог человеческого протеина амелогенина.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. При воздействии на эмаль зубов с начальным кариесом у лабораторных крыс препаратом, содержащим синтетический аналог человеческого протеина амелогенина, происходит образование органической матрицы в течение 1 месяца с последующим восстановлением минеральной структуры.
2. При использовании препарата, содержащего САЧПА, на эмали удаленных зубов человека после кислотной деминерализации происходит образование органической матрицы, которая способствует восстановлению минеральной структуры эмали.
3. Реминерализующая способность синтетического аналога человеческого протеина амелогенина при деминерализации эмали продолжается в течение 3-х месяцев после нанесения препарата.

**Практическая значимость работы:** полученные результаты исследования позволят обосновать внедрение в клиническую стоматологическую практику новых данных о возможности применения препарата, содержащего САЧПА при начальных стадиях кариозного процесса и могут служить основой для разработки мер по профилактике и раннему неинвазивному лечению очаговой деминерализации эмали зубов.

**Внедрение в практику**

Полученные данные внедрены и используются в учебном процессе Школы стоматологии НАО МУК по дисциплинам «Стоматология детского возрастая», «Терапевтическая стоматология», «Патологическая анатомия» и «Клиническая патоморфология». (Акты внедрения в приложении).

**Апробация работы**

Результаты исследования представлены на 18-ом международном стоматологическом конгрессе “18th Debrecen Dental Days” (г. Дебрецен, Венгрия, 30 марта-1 апреля 2017г.); на 8-ой Международной конференции “Social Science and Humanity” (г. Лондон, Великобритания, 23-29 марта 2018г.); на 8-ом международном стоматологическом конгрессе “8th Scientific Congress of Bulgarian Dental Association, Sofia Region Body” (г. София, Болгария, 17-18 ноября 2018г.); на Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 40-летию стоматологического факультета «Стоматология: вчера, сегодня, завтра» (г. Караганда, 22-23 ноября 2018г); на Республиканской научно-практической конференции с международным участием “Актуальные проблемы стоматологии” (г. Бухара, Узбекистан, 29-30 марта 2019г); на Всемирном Стоматологическом Конгрессе “ADA FDI 2019 World Dental Congress” (Сан-Франциско, Калифорния, США, 4-8 сентября 2019г).

**Публикации**

По материалам диссертационной работы опубликованы 11 научных работ, из них: 2 свидетельства на объект интеллектуальной собственности, 4 статьи в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК; 1 статья в журнале “Public Health”, индексируемом в базе данных WoS Q2; 1 статья в сборнике материалов 8-ой Международной конференции “Social Science and Humanity”; 3 тезиса в сборниках материалов международных научных конференций и конгрессов, в том числе 1 тезис, опубликованный в журнале “International Dental Journal”, индексируемом в базе данных WoS Q2, 1 тезис в журнале “Стоматология детского возраста и профилактика”.

**Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 96 страницах компьютерного набора текстового редактора Microsoft Word, состоит из введения, основной части, заключения и списка использованных источников. Диссертация имеет 4 приложения. В работе содержится 25 таблиц и 40 рисунков. Список литературы включает 135 источников на русском и английском языках.

 **Материалы и методы исследования. Дизайн исследования. Критерии включения и исключения.** В основу работы положено эпидемиологическое стоматологическое обследование детей города Караганды, экспериментальное исследование удаленных зубов человека и лабораторных животных.

Отбор материала, включенного в исследование, производился согласно критериям включения и критериям исключения, представленным в таблицах 1, 2, 3.

Таблица 1 – Критерии включения и исключения эпидемиологического стоматологического обследования детей города Караганды.

|  |  |
| --- | --- |
| Критерии включения | Критерии исключения |
| * Дети обоего пола в возрасте 12 и 15 лет без сопутствующей соматической патологии;
* Дети обоего пола в возрасте 12 и 15 лет, находящиеся на этапе ортодонтического лечения;
* Дети, чьи родители дали согласие на участие в исследовании.
 | * Дети, чьи родители отказались от участия в исследовании;
* Дети, которые болеют хроническими заболеваниями, требующих прием ингаляционных препаратов;
* Дети, которые имеют общие соматические патологии.
 |

Таблица 2 – Критерии включения и исключения исследования лабораторных крыс

|  |  |
| --- | --- |
| Критерии включения | Критерии исключения |
| * лабораторные крысы обоих полов;
* лабораторные крысы к 20-25 дню жизни;
 | * лабораторные крысы старше 25 дней
* лабораторные крысы младше 20 дней
 |

Таблица 3 – Критерии включения и исключения исследования удаленных зубов человека.

|  |  |
| --- | --- |
| Критерии включения | Критерии исключения |
| * Удаленные зубы мужчин и женщин;
* Удаленные зубы постоянного прикуса;
* Интактные зубы, удаленные по ортодонтическим показаниям;
* Интактные зубы, удаленные при заболеваниях тканей пародонта;
 | * Удаленные зубы молочного прикуса;
* Удаленные зубы с кариозным поражением;
* Удаленные зубы с пломбой;
* Удаленные зубы с гипоплазией эмали;
* Удаленные зубы с флюорозом;
* Удаленные зубы с клиновидным дефектом;
* Удаленные зубы с эрозией эмали;
 |

В первой части исследования сформированы 2 группы с 2 подгруппами.

Распределение по группам проводилось с соблюдением критериев однородности выборки с учетом критериев включения и исключения.

1. Группа 1, (Гр. 1) - составили 200 детей в возрасте 12 лет г. Караганды;

Группа 1, подгруппа 1 (Гр. 1.1) – дети 12 лет без проведения ортодонтического лечения;

Группа 1, подгруппа 2 (Гр. 1.2) – дети 12 лет находящиеся на этапе активного ортодонтического лечения;

Группа 1, подгруппа 3 (Гр. 1.3) – дети 12 лет, закончившие активное ортодонтическое лечение, находившиеся в ретенционном периоде;

1. Группа 2, (Гр. 2) - составили 200 детей в возрасте 15 лет г. Караганды;

Группа 2, подгруппа 1 (Гр. 2.1) – дети 15 лет без проведения ортодонтического

 лечения;

Группа 2, подгруппа 2 (Гр. 2.2) – дети 15 лет находящиеся на этапе активного ортодонтического лечения;

Группа 2, подгруппа 3 (Гр. 2.3) – дети 15 лет, закончившие активное ортодонтическое лечение, находившиеся в ретенционном периоде.

Во второй части исследования объект был разделен на 4 группы (таблица 4).

Таблица 4 - Схема разделения по группам удаленных зубов лабораторных крыс



Распределение по группам проводилось с соблюдением критериев однородности выборки с учетом критериев включения и исключения.

1. 80 зубов лабораторных крыс после 2-х месяцев кариесогенной диеты через 1 месяц после обработки препаратом, содержащим синтетический аналог человеческого протеина амелогенина;
2. 80 зубов лабораторных крыс после 2-х месяцев кариесогенной диеты через 3 месяца после обработки препаратом, содержащим синтетический аналог человеческого протеина амелогенина;
3. 80 зубов лабораторных крыс после 2-х месяцев кариесогенной диеты, обработанных синтетической смолой «ICON» по общепринятой методике;
4. 80 зубов лабораторных крыс после 2-х месяцев кариесогенной диеты без реминерализующей или инфильтрационной терапии.

Объект третьей части исследования был разделен на 4 группы, из которых первая и третья группы подразделены на 2 подгруппы (Таблица 5).

Таблица 5 - Схема распределения по группам и подгруппам исследования удаленных зубов человека



Распределение по группам в третьей части исследования также проводилось с соблюдением критериев однородности выборки с учетом критериев включения и исключения.

* 1. Группа 1, подгруппа 1 (Гр. 1.1) - составили 100 удаленных зубов после кислотной деминерализации перед обработкой препаратом САЧПА и наблюдением в течение 1 месяца;
	2. Группа 1, подгруппа 2 (Гр. 1.2) - 100 удаленных зубов после кислотной деминерализации через 1 месяц после обработки зубов препаратом САЧПА;
	3. Группа 2 (Гр. 2) - 100 удаленных зубов без обработки через 1 месяц после кислотной деминерализации;
	4. Группа 3, подгруппа 1 (Гр. 3.1) - 100 удаленных зубов после кислотной деминерализации перед обработкой препаратом САЧПА и наблюдением в течение 3 месяцев;
	5. Группа 3, подгруппа 2 (Гр. 3.2) - 100 удаленных зубов после кислотной деминерализации через 3 месяца после обработки зубов препаратом САЧПА;
	6. Группа 4 (Гр. 4) 100 удаленных зубов без обработки через 3 месяца после кислотной деминерализации.

**Этическое одобрение**

Этическое одобрение исследования было выдано Комитетом по биоэтике Карагандинского государственного медицинского университета, протокол № 26 от 20.12.2017 года. Выполнение данной научной работы предусматривает работу с лабораторными животными - белыми крысами. Исследование также проводится на удаленных зубах пациентов с очаговой деминерализацией эмали зубов. Эпидемиологическое стоматологическое обследование детей проводилось с получением письменного информированного согласия их родителей.

 **Методы исследования**

 1. Эпидемиологическое стоматологическое обследование.

 2. Витальное окрашивание раствором кариес маркера;

 3. Лазерная детекция кариеса зубов с помощью лазера “Diagnodent” фирмы «Kavo”;

 4. Морфологические методы: сбор материала для гистологического исследования, материал фиксировался в 10% нейтральном забуферном растворе формалина, с дальнейшей обработкой по общеизвестной методике в тканевом процессоре карусельного типа по этаблированному протоколу с последующим изготовлением парафиновых блоков и срезов толщиной 5-6 микрон, окраска гематоксилином и эозином, гистологическое описание полученного материала;

 5. Электронная микроскопия и спектральный анализ.

 6. Статистический анализ: пакеты компьютерных программ для проведения методов непараметрической статистики (SPSS 21).

 **Результаты исследования.**

 Распространенность начального кариеса в стадии меловидного пятна значительно выше у детей обеих возрастных групп при наличии несъемного ортодонтического аппарата и составила 75,5% (95%ДИ:71-80) у детей 12 лет и 72% (95%ДИ:68-76) у детей 15 лет. Распространенность кариеса в стадии меловидного пятна у детей без ортодонтического лечения значительно ниже и составила 28% (95%ДИ:25-31) и 23% (95%ДИ:18-26) у детей 12 и 15 лет соответственно. В период ретенции после активного этапа ортодонтического лечения распространенность заболеваний твердых тканей зубов увеличивалась за счет прогрессирования кариозного процесса, в то время как распространенность заболеваний тканей пародонта при этом уменьшалась. Распространенность кариеса в стадии меловидного пятна у детей в ретенционный период заметно уменьшилась и составила 33% (95%ДИ:29-37) в 12 лет и 26,5% (95%ДИ:22-31) в 15 лет. Это объясняется, по-видимому, прогрессированием кариеса в стадии меловидного пятна в стадию пигментированного пятна, либо с образованием кариозной полости, либо реверсированием кариозного процесса при улучшении гигиены полости рта и реминерализацией начального кариеса у детей в ретенционном периоде.

По итогам второго этапа исследования выявлено, что 66 зубов лабораторных крыс (82,50%) первой группы были здоровы (Код - 0), а 14 зубов (17,50%) имели признаки кариозного процесса внутри эмали (Код - 1). Во второй группе распространенность кариозного процесса была наименьшей: 78 зубов (97,50%) были здоровыми (Код - 0), 2 зуба (2,50%) имели признаки кариозного процесса эмали (Код - 1). В третьей контрольной группе, 74 зуба (92,50%) имели здоровое состояние (Код - 0), что незначительно больше, чем в первой группе и сравнительно меньше, чем во второй группе. При этом в 6 зубах третьей группы (7,50%) наблюдался кариес поверхностных слоев эмали (Код - 1). В четвертой группе распространенность кариозного процесса была самой высокой: лишь 11 зубов (13,75%) были здоровыми (Код - 0), а 69 зубов (86,25%) имели выраженные признаки кариеса эмали (Код - 1).

По итогам третьего этапа исследования выявлено, что 81 зуб (81%) первой группы был здоров (Код - 0), а 19 зубов (19%) имели признаки очаговой деминерализации внутри эмали (Код -1), в то время как, только 36 зубов второй группы (36%) имели здоровое состояние (Код - 0), а 64 зуба (64%) имели выраженную очаговую деминерализацию поверхностных слоев эмали (Код - 1). В третьей группе распространенность очаговой деминерализации была наименьшей: 93 зуба (93%) были здоровыми (Код - 0), 7 зубов (7%) имели очаговую деминерализацию эмали (Код - 1). В четвертой группе распространенность деминерализации была самой высокой: 32 зуба (32%) были здоровыми (Код - 0), 68 зубов (68%) имели выраженные очаги деминерализации эмали (Код - 1).

Проведенная сравнительная оценка содержания микроэлементов в зубах человека в группах при спектральном анализе установила значимые различия в состоянии эмали удаленных зубов человека при их обработке препаратом, содержащим синтетический аналог протеина амелогенина в сравнении с контрольными группами. Уровень содержания кальция через 1 месяц после нанесения препарата САЧПА (Гр.1) в среднем составил 6,5%, что выше в 1,85 раз, чем в группе через 1 месяц без обработки препаратом САЧПА (3,5%) (Гр.2) и более, чем в 6 раз больше, чем в группе через 3 месяца без обработки препаратом САЧПА (1,0%), (Гр.4). Уровень фосфора также выше в первой группе (7,5%), (Гр.1) в среднем более, чем в 5 раз по сравнению со второй контрольной группой (1,5%), (Гр.2) и в 15 раз по сравнению с четвертой контрольной группой (0,5%), (Гр.4). Уровни содержания кальция и фосфора продолжают расти со временем и через 3 месяца после обработки САЧПА (Гр.3) уровень кальция в среднем составил 37,5% что соответствует средним показателям нормы и более, чем в 5 раз выше по сравнению с уровнем кальция в группе через 1 месяц после обработки препаратом САЧПА (6,5%), (Гр.1). Уровень фосфора в третьей группе составил 23,0 % (Гр.3), что выше по сравнению с первой группой (7,5%) более, чем в 3 раза и соответствует норме.

Результаты сравнительной оценки картины электроннограмм и ультраструктурных изменений удаленных зубов человека показали, что происходит частичное восстановление эмали через 1 месяц после обработки препаратом САЧПА, а через 3 месяца после обработки данного препарата происходит полное восстановление поверхностного слоя деминерализованной эмали с образованием однородной структуры и эмалевых призм, расположенных равномерно параллельными рядами.

 При этом в контрольных группах без проведения лечения наблюдались выраженные очагами деминерализации с нарушениями в поверхностных слоях эмали. Высокий процент здоровой эмали первой и третьей исследуемых групп зубов по сравнению с контрольными группами можно объяснить высокой реминерализующей способностью синтетического аналога человеческого протеина амелогенина путём восстановления органической матрицы эмали, которая способствует встраиванию минералов из раствора искусственной слюны.

**Выводы**:

1. В ключевых возрастных группах по ВОЗ распространенность начального кариеса в стадии меловидного пятна во время ортодонтического лечения в возрасте 12 лет составила 75,5% (95%, ДИ:71-80); в возрасте 15 лет соответствовала 72% (95%ДИ:68-76).
2. Выявлены статистически значимые различия в состоянии эмали зубов лабораторных крыс через 1 месяц после нанесения препарата, содержащего САЧПА (группа I) в сравнении с контрольной группой (группа IV) при отсутствии лечения (χ2=75,73; p=0,00000), при этом здоровая эмаль крыс получена в 82,50% случаях; установлено, что более эффективное восстановление эмали происходит через 3 месяца после нанесения препарата (группа II) в сравнении с контрольной группой (χ2=113,66;p=0,0000), что наблюдалось в 97,50% случаях и статистически значимо отличалось от группы I (χ2=10,00; p=0,00157);
3. В эмали на удаленных зубах человека полное восстановление эмали получено через 1 месяц после нанесения препарата в 81% случаях, что статистически значимо отличается от контрольной группы (χ2 =41,70; p=0,00000); через 3 месяца полное восстановление эмали наблюдалось в 93 % случаях, что также статистически значимо отличается от контрольной группы (χ2 =79,38; p=0,00000);

4. При спектральном анализе имеются значимые различия в содержании кальция и фосфора в эмали удаленных зубов человека при их обработке препаратом, содержащим САЧПА в сравнении с контрольными группами. Уровень содержания кальция через 1 месяц после нанесения препарата САЧПА (Гр.1) в среднем составил 6,5%, что выше в 1,85 раз, чем в группе через 1 месяц без обработки препаратом САЧПА (3,5%) (Гр.2) и более, чем в 6 раз больше, чем в группе через 3 месяца без обработки препаратом САЧПА (1,0%)(Гр.4). Уровень фосфора также выше в первой группе (7,5%) (Гр.1) в среднем более, чем в 5 раз по сравнению со второй контрольной группой (1,5%) (Гр.2) и в 15 раз по сравнению с четвертой контрольной группой (0,5%) (Гр.4). Уровни содержания кальция и фосфора продолжают расти и через 3 месяца после обработки САЧПА (Гр.3) уровень кальция составил 37,5% что в 5 раз выше по сравнению с уровнем кальция в группе через 1 месяц после обработки препаратом САЧПА (6,5%) (Гр.1). Уровень фосфора в третьей группе составил 23,0% (Гр.3), что выше по сравнению с первой группой (7,5%) более, чем в 3 раза.