

3/2021

ročník 121

ČESKÁ STOMATOLOGIE

A PRAKTICKÉ ZUBNÍ LÉKAŘSTVÍ

CZECH DENTAL JOURNAL



RECENZOVANÝ ČASOPIS / PEER-REVIEWED JOURNAL

Indexováno: Bibliographia Medica Československa, EBSCO Academic Search Complete,
Seznam recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR

ISSN 1213-0613 (Print), ISSN 1805-4471 (Online)

Změny orálního mikrobiomu v průběhu nechirurgické terapie pacientů
s pokročilou parodontitidou
*Changes in oral microbiome during non-surgical therapy of patients
with severe periodontitis*

Proteóm slinných exozómů jako nový prostředek pro diagnostiku orálních
ochorení
Salivary exosome proteome as a new tool for the diagnosis of oral diseases

Ošetření kazu blízkého zubní dřeň a metoda odložené exkavace
Treatment of deep caries lesion and stepwise excavation technique

Sborník abstraktů konference Úsměv 021



Česká stomatologická komora Vás srdečně zve na

PRAŽSKÉ DENTÁLNÍ DNY

Kongres PDD 2021 se bude konat společně s veletrhem Pragodent 2021



15. – 16. října 2021 | PVA EXPO PRAHA, Praha-Letňany

24. ROČNÍK MEZINÁRODNÍHO KONGRESU

V odborném programu vystoupí:

- Jan Derks, DDS, PhD
 - Domenico Ricucci, MD, DDS
 - MUDr. Ladislav Gregor
 - MUDr. Martin Tomeček
 - MUDr. Ivo Marek
 - MUDr. Jiří Zvolánek
- a řada dalších odborníků

REGISTRACE NA PDD STÁLE MOŽNÁ

Přihlášku a podrobný program
najdete na www.dent.cz
(Vzdělávání / Kongres PDD)



ČESKÁ STOMATOLOGIE A PRAKTICKÉ ZUBNÍ LÉKAŘSTVÍ CZECH DENTAL JOURNAL

ročník 121, září 2021, č. 3

První číslo vyšlo v roce 1900

ŠÉFREDAKTOR

doc. MUDr. Jan Veverka, CSc.

ZÁSTUPKYNĚ ŠÉFREDAKTORA

PhDr. Iva Žáková

ČLENOVÉ REDAKČNÍ RADY

doc. MUDr. Pavlína Černochová, Ph.D.
MUDr. Simona Dianišková, Ph.D., MPH (SR)
prof. MUDr. Tatjana Dostálová, DrSc., MBA
prof. MUDr. Jana Dušková, DrSc., MBA
prof. dr. Steven P. Engebretson (USA)
dr. Hans-Rainer Fischer (SRN)
doc. MUDr. et MUDr. Lukáš Hauer, Ph.D.
MUDr. Robert Houba, Ph.D.
MUDr. Martin Kapitán, Ph.D.
MUDr. Ladislav Korábek, CSc., MBA
doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D.
doc. MUDr. Vlasta Merglová, CSc.
stomatolog Yuliya Morozova, Ph.D.
doc. MUDr. Luděk Peřinka, CSc.
prof. MUDr. Antonín Šimůnek, CSc.
doc. MUDr. Roman Šmucler, CSc.
doc. MUDr. Antonín Zicha, CSc.

OBSAH

Slavnostní a odborné události k 30. výročí ČSK	66
Změny orálního mikrobiomu v průběhu nechirurgické terapie pacientů s pokročilou parodontitidou	67
<i>Changes in oral microbiome during non-surgical therapy of patients with severe periodontitis</i> Myšák J., Podzimek Š., Janatová T., Dušková J., Janata J., Najmanová L.	
Proteóm slinných exozómů ako nový prostriedok pre diagnostiku orálnych ochorení	75
<i>Salivary exosome proteome as a new tool for the diagnosis of oral diseases</i> Laputková G., Talian I., Jendrichovská Z., Schwartzová V., Schwartzová Z., Sabo J.	
Ošetření kazu blízkého zubní dřeně a metoda odložené exkavace	83
<i>Treatment of deep caries lesion and stepwise excavation technique</i> Novotná B., Harvan L., Somolová L., Morozova Y., Voborná I.	
Sborník abstraktů konference Úsměv 021	90



Vážené kolegyně, vážení kolegové, v minulém editoriu jsem napsal, že se blýská na lepší časy a že budou krásné letní a podzimní měsíce. Avšak rozmariné léto je někdy opakem strachu a chaosu, dokonce jsme viděli ničivé tornádo. Období koronaviru se v létě opět rozšířilo a komplikovalo výjezdy do zahraničí.

Na základě dosavadních výsledků o efektivitě očkování látkami schválenými Evropskou lékovou agenturou (EMA) se došlo k závěru, že u očkováných osob existuje nízké riziko nákazy, je-li kontakt i s neočkovaným jedincem. Svět se začíná obávat rychle se šířící indické mutace, nyní zvané delta. Rozšířila se zatím do více než sedmi desítek zemí po celém světě. V případě nákazy nenačkovaných osob se pak závažnost průběhu infekce odvíjí zejména od věku osoby a také od dalších rizikových symptomů (horečka, kašel, ztráta čichu). Úspěšné vakcíny produkuje farmaceutické společnosti Pfizer/BioNTech, AstraZeneca, Moderna, Johnson and Johnson.

Přeji vám hezký začátek podzimu, který bude bohatý na odborné události. Užijte si vše ve zdraví a naberte sílu do další práce. Krásné babí léto všem!

doc. MUDr. Jan Veverka, CSc.
šéfredaktor

Uzávěrka čísla: 1. 9. 2021. **Datum vydání:** 13. 9. 2021.

Místo vydání: Praha. **Vydavatel:** Česká stomatologická komora, Slavojska 22, Praha 2, PSČ 128 00, IČO: 00224286.

Náklad: 500 výtisků. **Vychází jako recenzovaný odborný časopis 4x ročně.** ISSN 1213 – 0613 (Print); ISSN 1805-4471 (Online). Evidenční číslo Ministerstva kultury ČR: MK ČR E 102. **Indexováno:** Bibliographia medica Čechoslovaca; EBSCO Academic Search Complete; Seznam recenzovaných neimpaktovaných periodik Rady pro výzkum, vývoj a inovace Úřadu vlády ČR.

Adresa redakce: ČSK, Slavojska 22, 128 00 Praha 2, +420 234 709 625, csk@dent.cz, www.dent.cz.

Redaktorka: Mgr. Stanislava Beranová.

Sekretariát redakce a předplatné: Ing. Jolana Kunrtová, tel.: +420 234 709 630, kunrtova@dent.cz.

Inzerce: Tereza Soukupová, DiS., tel.: +420 770 134 250, soukupova@dent.cz.

Grafický design a sazba: RoonSwenson, s. r. o.

Výroba: Helma Beta, spol. s r. o. **Distribuce:** Česká pošta, s. p.

Fotografie: Archiv autorů odborných sdělení (67–89); Archiv Trojského zámku (s. 66); Ladislav Šolc (s. 65).

Elektronická verze ČSPZL, včetně podmínek pro publikaci: www.prolekare.cz.

SLAVNOSTNÍ A ODBORNÉ UDÁLOSTI K 30. VÝROČÍ ČSK

V letošním roce, přesně 21. září, slaví Česká stomatologická komora 30. výročí svého založení. Zároveň tento den začíná nové funkční období 2021–2025 volených orgánů na centrální úrovni Komory i v Oblastních komorách.

**ČESKÉ
STOMATOLOGICKÉ
KOMORY**
**30
let**

Slavnostní sněm ČSK, který se koná pravidelně každé čtyři roky u příležitosti ukončení stávajícího funkčního období, bude letos nejen poděkováním dosavadním funkcionářům v letech 2017–2021, ale také připomínkou třicetileté novodobé historie stavovské organizace českých zubních lékařů. Uskuteční se v pátek 17. září 2021 v Trojském zámku v Praze. V tomto důležitém okamžiku budou předána ocenění kolegyním a kolegům za jejich celoživotní práci v zubním lékařství. Převezmou čestný titul **Osobnost české stomatologie** nebo některou z dalších forem poděkování.

V říjnu nás pak čeká další významná odborná událost: ve dnech 15. a 16. 10. 2021 pořádá Česká stomatologická komora již 24. ročník mezinárodního kongresu **Pražské**

dentální dny, letos opět společně s veletrhem Pragodent 2021 v PVA EXPO Praha v Letňanech. Připraven je bohatý odborný program v podání domácích a zahraničních přednášejících. Představí se například dr. Jan Derks ze Švédska a dr. Domenico Ricucci z Itálie. Odborné zážitky z přednášek i letos může umocnit nabídka

dalšího zajímavého programu, mimo jiné oblíbených teoretických či praktických workshopů. Nedílnou součástí PDD jsou i páteční společenské večery spojené s koncertem – tentokrát vystoupí akustická hudební skupina Jelen. Více informací najdete na www.dent.cz.

Redakce



Slavnostní sněm ČSK se koná 17. září 2021 v Trojském zámku.

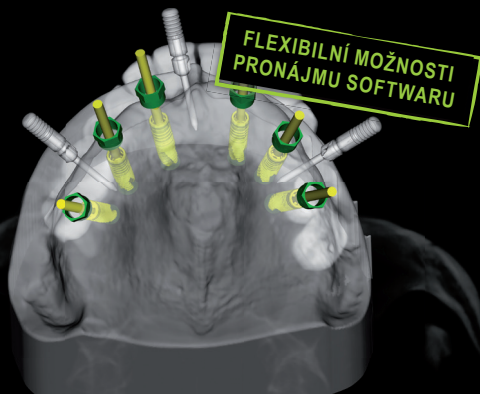
Zirkonzahn®

ZIRKONZAHN.IMPLANT-PLANNER



**SPOLEHLIVÁ SPOLUPRÁCE MEZI ZUBNÍM
LÉKAŘEM A ZUBNÍM TECHNIKEM**

STÁHNĚTE SI BEZPLATNOU DEMOVERZI SOFTWARE



Zirkonzahn Worldwide – info@zirkonzahn.com – www.zirkonzahn.com

ZMĚNY ORÁLNÍHO MIKROBIOMU V PRŮBĚHU NECHIRURGICKÉ TERAPIE PACIENTŮ S POKROČILOU PARODONTITIDOU

Původní práce, klinická studie

CHANGES IN ORAL MICROBIOME DURING NON-SURGICAL THERAPY OF PATIENTS WITH SEVERE PERIODONTITIS

Original article, retrospective study

Myšák J.¹, Podzimek Š.¹, Janatová T.¹, Dušková J.¹, Janata J.², Najmanová L.²

¹Oddělení parodontologie, Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy
a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

²Mikrobiologický ústav, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

SOUHRN

Úvod a cíl práce: Parodontitida, která u dospělé populace patří mezi onemocnění s hromadným výskytem, ve svých důsledcích představuje u osob starších než 35 let téměř stejně častý důvod ztráty zubu jako následky zubního kazu.

Cílem této studie bylo zhodnotit využitelnost sekvenčních metod nové generace jako nástroje pro komplexní charakterizaci subgingiválního bakteriálního biofilmu u pacientů s pokročilou parodontitidou a pro sledování dynamiky změn složení subgingiválního bakteriálního biofilmu v průběhu terapie. Předpokládá se, že sekvenční metody nové generace poskytnou novou kvalitu sledování průběhu léčby a nabídnou parodontologům nástroj pro objektivní hodnocení účinnosti zvoleného terapeutického postupu a volbu další léčby.

Metody: Do studie vstoupilo 43 pacientů s diagnózou pokročilé parodontitidy. Pacienti byli rozděleni do dvou podskupin a léčeni jednou ze dvou standardně schválených metod – pouze deep scaling a root planing (podskupina A – 20 pacientů) a deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou terapii (podskupina B – 23 pacientů). Stav jejich parodontu byl hodnocen parodontálními indexy PPD (periodontal pocket depth), BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss) před léčbou a dva týdny, tři měsíce a 18 měsíců po léčbě. Každému pacientovi byla ve shodných časových intervalech odebrána sada čtyř vzorků z nejhlubšího parodontálního chobotu pro stanovení složení mikrobiomu.

Výsledky: V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálních indexů BOP, CAL a PPD u obou podskupin pacientů. V průběhu léčby došlo také k významnému poklesu indexu parodontálního rizika R/G. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik (podskupina B) došlo 14 dní po léčbě k významně vyššímu poklesu R/G indexu v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing. Tři měsíce a 18 měsíců po léčbě byly hodnoty indexu parodontálního rizika R/G u obou podskupin pacientů obdobné.

Závěr: Taxonomická charakterizace mikrobiomu vyjádřená formou R/G indexu umožňuje monitorovat dynamické změny v průběhu léčby, na rozdíl od pouhého sledování klinických parametrů ukazuje jednoznačné rozdíly mezi skupinami s použitím a bez použití antibiotik v čase 14 dnů po terapii deep scaling a root planing. S ohledem na klinické parametry obou skupin, které se po třech ani 18 měsících v podstatě neliší, je ovšem na místě velmi pečlivě zvážit, zda je antibiotická podpora terapie deep scaling a root planing přínosem, neboť existuje nezanedbatelné riziko rozvoje a šíření rezistencí. Použití antibiotik v parodontologii by mělo být podloženo podrobným klinickým, mikrobiologickým a celkově medicínským vyšetřením.

Klíčová slova: pokročilá parodontitida, orální mikrobiom, antibiotika, deep scaling, root planing

SUMMARY

Introduction, aim: Periodontitis, which is one of the most common diseases in the adult population, is almost as common cause of tooth loss in people over the age of 35 as it is due to tooth decay. The aim of this study was to evaluate the utility of new-generation sequencing methods as a tool for complex characterization of subgingival bacterial biofilm in patients with advanced periodontitis and for monitoring the dynamics of changes in the composition of subgingival bacterial biofilm during therapy. We assume that next-generation sequencing methods will provide a new quality of monitoring the course of treatment and offer periodontologists a tool for objective evaluation of the effectiveness of the chosen therapeutic procedure and choice of further treatment.

Methods: The study included 43 patients with a diagnosis of advanced periodontitis. Patients were divided into two subgroups and treated with one of two standard approved methods – deep scaling and root planing only (subgroup A – 20 patients) and deep scaling and root planing supplemented with antibiotic therapy (subgroup B – 23 patients) – and their periodontal status was assessed

by periodontal indices BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss) a PPD (periodontal pocket depth) before treatment and two weeks, three months and 18 months after therapy. A set of four samples was taken from each deepest periodontal pocket at equal time intervals to determine the microbiome composition.

Results: During treatment, there was a significant decrease in the periodontal indices PPD, BOP and CAL in both subgroups of patients. There was also a significant decrease in the periodontal risk index R/G during treatment. In addition, the subgroup of patients treated with deep scaling and root planing with antibiotics (subgroup B) had a significantly higher decrease in R/G index 14 days after treatment compared to subgroup A treated with deep scaling and root planing alone. Three months and 18 months after treatment, the periodontal risk index R/G values were similar in both subgroups of patients.

Conclusion: Taxonomic characterization of the microbiome expressed in the form of R/G index allows to monitor dynamic changes during treatment, in contrast to mere monitoring of clinical parameters shows clear differences between groups with and without antibiotics at 14 days after deep scaling and root planing therapy. However, given the clinical parameters of the two groups, which do not differ significantly after three or 18 months, it is appropriate to carefully consider whether antibiotic support for deep scaling and root planing is beneficial, as there is a significant risk of developing and spreading resistance. The use of antibiotics in periodontology should be based on detailed clinical, microbiological and general medical examination.

Key words: severe periodontitis, oral microbiome, antibiotics, deep scaling, root planing

Myšák J, Podzimek Š, Janatová T, Dušková J, Janata J, Najmanová L.

Změny orálního mikrobiomu v průběhu nechirurgické terapie pacientů s pokročilou parodontitidou.

Čes stomatol Prakt zubní lék. 2021; 121(3): 67–74. doi: 10.51479/cspzl.2021.009

ÚVOD A CÍL

Parodontitida, která u dospělé populace patří mezi onemocnění s hromadným výskytem, ve svých důsledcích představuje u osob starších než 35 let téměř stejně častý důvod ztráty zubu jako následky zubního kazu. Gingivitida, nejmírnější forma parodontálního onemocnění, je velmi rozšířená a snadno léčebně ovlivnitelná účinnou ústní hygienou. Přesto u vnímavých jedinců může přetrvávající gingivitida vést k parodontitidě, která působí nevratnou destrukci parodontální tkáně [1]. Parodontitida byla podle klasifikace z roku 1999 členěna na agresivní a chronickou [2]. Vzhledem k podstatným překryvům v symptomatických projevech a ne zcela zřetelnému patobiologickému rozdílu mezi oběma formami onemocnění bylo v roce 2017 rozhodnuto, že se tato dvě onemocnění nepovažují za samostatné nozologické jednotky [3]. Projekt byl zahájen ještě před změnou klasifikace a byl zaměřen na mladší pacienty se závažnými symptomy a rychlým nástupem onemocnění, tedy podle původní klasifikace na pacienty s agresivní parodontitidou. Podle nové klasifikace se bude v následujícím textu pro tuto formu onemocnění parodontu používat termín pokročilá parodontitida. Pokročilá parodontitida je v mnoha ohledech podobná chronické parodontitidě, ale obě formy mají řadu významných klinických rozdílů, mezi něž patří: věk nástupu, rychlost progresu, postup destrukce atd. [4].

Parodontitida je charakterizována akumulací bakterií v parodontálním prostředí s tvorbou zánětlivého infiltrátu vedoucí k destrukci junkč-

ního epitelu, resorpci alveolární kosti a popřípadě až ke ztrátě zubu [5]. Konverze junkčního epitelu na epitel parodontálního chobotu je považována za charakteristický znak ve vývoji parodontitidy. Destrukce strukturální integrity spojovacího epitelu, která zahrnuje narušení kontaktů mezi buňkami a oddělení od povrchu zubu, narušuje obranný systém parodontu. Apikální prohloubení chobotu a také horizontální expanze biofilmu na kořeni zubu akceleruje destruktivní proces. Obranné buňky a makromolekuly vnikají do parodontálního chobotu a většina epitelálních buněk čelí přímo vlivu mikrobiálních buněk obsažených v biofilmu. Destrukci tkáně způsobuje reakce imunitního systému iniciovaná bakteriemi biofilmu, která vede k rozvoji zánětu. Ztenčení epitelu a jeho ulcerace zvyšují šanci na invazi mikroorganismů a jejich produktů do měkké pojivové tkáně [6]. Terapie parodontitidy vede k reparaci nebo k regeneraci parodontálních tkání. Při reparaci se nevytvoří kolagenní vlákna periodontia a vzniká neplnohodnotné spojení mezi kořenem zubu a okolními strukturami, např. alveolární kostí. Při regeneraci se obnovují všechny tkáně parodontu včetně kolagenních vláken.

Parodontitida se dává do souvislosti s řadou závažných systémových onemocnění a stavů, nejčastěji je zmiňována souvislost s kardiovaskulárními onemocněními a s diabetes mellitus [7]. Parodontitida je multifaktoriální onemocnění, při kterém se uplatňuje genetická predispozice a zdravotní stav hostitele, ale zároveň aktivní role subgingiválního bakteriálního

biofilmu při poškození tkáně je jedním z dominantních faktorů patogeneze. Onemocnění parodontu má polymikrobiální etiologii. V roce 1991 Socransky a kol. odhalili, že počty přítomných mikroorganismů byly obecně vyšší u pacientů s tímto onemocněním v porovnání se zdravými osobami [8]. V roce 1998 Socransky a kol. definovali soubor tří druhů mikroorganismů vykazujících silnou souvislost s parodontálním onemocněním: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* a *Tannerella forsythia* [9]. Následně byl tento seznam potenciálních patogenů rozšířen pomocí molekulární taxonomie založené na 16S rDNA sekvencích, ale tyto rané studie nemohly poskytnout komplexní pohled na bakteriální komunitu; jednoduše nebylo ekonomicky možné získat dostatek sekvenčních informací o celkové rozmanitosti bakterií přítomných v subgingiválním prostředí [10–12].

Skutečný zlom nastal po roce 2005 s využitím sekvenačních metod nové generace (NGS) umožňujících sběr tisíců sekvencí z jednoho vzorku a poskytujících možnost komplexně studovat složení bakteriálních komunit na úrovni druhů [13, 14]. V roce 2010 byla zřízena veřejně dostupná online databáze Human Oral Microbiome Database (HOMD), která shromažďuje 16S rDNA sekvence přibližně 1200 orálních taxonů pokrývajících téměř 700 druhů, z nichž jsou dvě třetiny nekultivovatelné [15]. Přibližně 400 druhů bylo identifikováno ze vzorů odebraných z parodontálních chobotů, nicméně v jednom odběru u konkrétního pacienta bývá identifikováno jen několik desítek různých taxonů zároveň. V posledních několika letech byly publikovány desítky vědeckých studií využívajících NGS pro charakterizaci mikrobiomu ústní dutiny. Přístup s využitím NGS metod se jeví za určitých předpokladů jako nadějný do budoucna pro rutinní použití při sledování terapie parodontitidy a pro screening jedinců s rizikem rozvoje parodontálních onemocnění. Například Griffen a kol. dokumentovali vyšší diverzitu mikrobiálního společenství u pacientů v porovnání se zdravými osobami (123 druhů versus 53 druhů) [16]. Mnoho bakteriálních druhů popsanych v souvislosti s parodontitidou však bylo identifikováno i ve tkáních zdravého parodontu. Nelze tedy jednoznačně tvrdit, že určitý bakteriální druh nebo skupina druhů způsobují parodontitidu. Spíše se jedná o komplexní vztahy mezi jednotlivými bakteriálními druhy, jejich poměrné zastoupení a pravděpodobně o vzájemné vztahy mezi mikrobiotou a hostitelským imunitním systémem. S postupným vznikem dysbiózy, kdy jsou druhy asociované se zdravým parodontem na-

hrazovány taxony typickými pro parodontitidu, je velmi důležitá relativní četnost neboli abundance, která říká, jak je daný taxon zastoupený ve vzorku vůči ostatním bakteriálním taxonům. Ovšem ani zde není výsledek jednoznačný, protože u některých bakteriálních taxonů patřících do červeného komplexu může být relativní abundance nízká (<1 %), přesto však může znamenat riziko pro tkáň parodontu. Naopak existují taxony (např. rod *Fusobacterium*), které se objevují i v určité „přechodové zóně“, kdy lze předpokládat, že vyšší relativní abundance může být varovným signálem pro rozvoj nebo progresi parodontitidy [17]. Z toho důvodu má diagnostika parodontitidy založená na identifikaci omezeného počtu vybraných taxonů své limity a s ohledem na technologický pokrok lze očekávat, že bude postupně nahrazena metodami založenými na komplexní charakterizaci celého mikrobiálního společenstva, ideálně ještě v kombinaci s hodnocením imunitní odpovědi hostitele [17].

Cílem této studie bylo zhodnotit využitelnost metod NGS jako nástroje pro komplexní charakterizaci subgingiválního bakteriálního biofilmu u pacientů s pokročilou parodontitidou a pro sledování dynamiky změn složení subgingiválního bakteriálního biofilmu v průběhu terapie. Předpokládá se, že NGS metody poskytnou novou kvalitu sledování průběhu léčby a nabídnou parodontologům nástroj pro objektivní hodnocení účinnosti zvoleného terapeutického postupu a volbu další léčby.

SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Do studie vstoupilo 43 pacientů (průměrný věk 33 let) s diagnózou pokročilé parodontitidy, která byla potvrzena na základě klinického vyšetření, zahrnujícího zjištění hloubky parodontálního chobotu (periodontal pocket depth – PPD >5 mm), BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss), a rentgenologického vyšetření, v němž převažovaly vertikální infraalveolární parodontální choboty. Pacienti nebyli v posledních třech měsících před začátkem studie podrobeni antibiotické léčbě ani parodontální terapii a nebyli léčeni v souvislosti se systémovým onemocněním. Pět pacientů bylo kuřáků (3–10 cigaret/den). Pacienti s pokročilou parodontitidou byli v rámci iniciační fáze terapie parodontitidy léčeni jednou ze dvou standardně schválených metod v rámci konzervativní terapie (buď pouze deep scaling a root planing, nebo deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou terapii). Stav parodontu byl hodnocen před léčbou a dva týdny, tři měsíce

a 18 měsíců po konzervativní terapii deep scaling a root planing. Chirurgická terapie parodontitidy nebyla ani u jednoho zařazeného pacienta do studie aplikována. Zařazení pacientů do podskupiny A nebo B bylo provedeno randomizací pomocí generování náhodných čísel. Podskupina A byla vytvořena 20 pacienty (10 mužů, 10 žen, průměrný věk: 32,2 let) léčenými pouze deep scaling a root planing, který byl doplněn o výplach ústní vodou obsahující 0,2 % chlorhexidini digluconati dvakrát denně po dobu 10 dnů. Podskupina B byla tvořena 23 pacienty (13 mužů, 10 žen, průměrný věk byl 31 let) léčenými stejně jako pacienti podskupiny A, avšak navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (Amoksiklav 1 g; jedna tableta každých 12 hodin a Entizol 250 mg; dvě tablety každých 8 hodin) a podáním první dávky 48 hodin před léčbou deep scaling a root planing.

U všech pacientů byla v průběhu terapie (před léčbou a dva týdny, tři měsíce a 18 měsíců po léčbě) zjištěna hodnota parodontálních indexů BOP, CAL a PPD. Každému pacientovi byla v průběhu terapie odebrána sada čtyř vzorků z nejhlubšího a vždy stejného parodontálního chobotu pro stanovení složení mikrobiomu. Během počátečního vyšetření při vstupu pacienta do studie byl pacient poučen o správné ústní hygieně. První vzorek (1) byl odebrán bezprostředně před provedením deep scaling a root planing pro podskupinu A a jeden den před per os aplikací první dávky antibiotik pro podskupinu B. Vzorky 2 a 3 byly u obou podskupin pacientů odebrány dva týdny, resp. tři měsíce po léčbě metodou deep scaling a root planing. Po 18 měsících od léčby metodou deep scaling a root planing byl u obou podskupin pacientů odebrán vzorek 4 k dlouhodobému monitorování k posouzení rizika remise pokročilé parodontitidy. Všechny vzorky byly odebrány z nejhlubšího parodontálního chobotu neinvazivní bezbolestnou technikou sterilními endodontickými papírovými čepy velikosti ISO 40. Odebrané čepy byly vždy umístěny do sterilní mikrozkuřavky a předány do laboratoře k izolaci mikrobiální DNA. Pro izolaci mikrobiální DNA byl použit kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, GmbH, Hilden, Německo), přesný popis je uveden v publikaci Najmanova a kol. [17]. Izolovaná DNA byla uložena při -20 °C pro sekvenční analýzu.

Illumina MiSeq 2×250 pair-end protokol byl použit pro sekvenování variabilní oblasti IV až V 16S rDNA. Taxonomické složení orálního mikrobiomu bylo stanoveno porovnáním získaných výsledků s databází HOMD (Human oral microbiome database). Tento přístup umožnil charakterizovat orální mikrobiom v jednotlivých

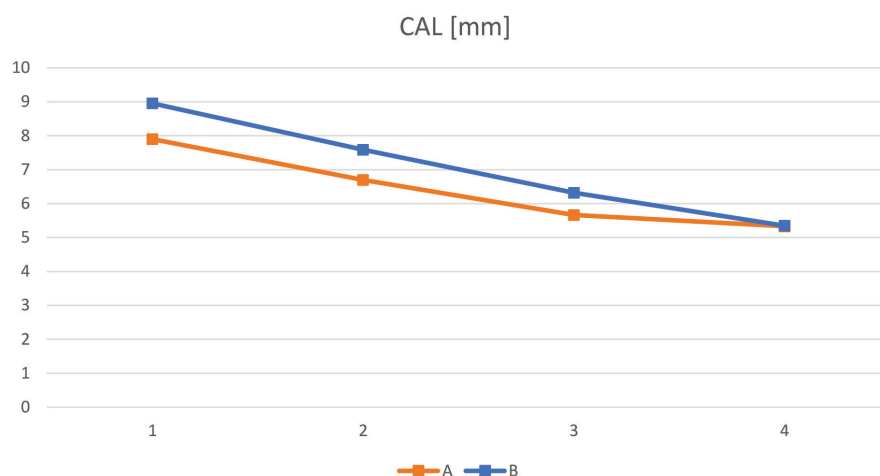
vzorcích na úrovni rodů i druhů. Primární i sekundární PCR amplifikace byly provedeny přesně podle popisu uvedeného v publikaci Najmanova a kol. [17]. Purifikované roztoky tagovaných ampliconů testovaných vzorků se dále smísily v ekvimolárních koncentracích a s použitím TruSeq DNA Library Preparation Kit v2 (Illumina, San Diego, Kalifornie, USA) a byl připraven aplikovaný výzkum. Vlastní sekvenace proběhla na přístroji Illumina MiSeq platform protokolem paired-end reads, 2×250 bp. Sekvenční data byla vyhodnocena s použitím veřejně dostupné platformy Seed 2.0 postupem popsaným v publikaci Najmanova a kol. [17].

V tomto projektu byla použita metodika stanovení R/G indexu parodontálního rizika, která byla navržena v publikaci Najmanova a kol. [17]. Metodika je založena na stanovení poměru souhrnné relativní abundance taxonů jednoznačně přiřaditelných k parodontitidě (R) a souhrnné relativní abundance taxonů jednoznačně přiřaditelných k parodontálnímu zdraví (G), tzv. R/G index. Predikční síla R/G indexu, tedy správnost určení pacienta s parodontálním zdravím nebo s parodontitidou na základě stanovení tohoto indexu, byla 95 %.

VÝSLEDKY

V **grafu 1** jsou znázorněny hodnoty parodontálního indexu CAL (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu CAL u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k vyššímu poklesu z hodnoty $8,955 \pm 1,838$ mm (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) na hodnotu $5,348 \pm 1,774$ mm v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $7,900 \pm 1,252$ mm na hodnotu $5,333 \pm 1,414$ mm.

V **grafu 2** jsou znázorněny hodnoty hloubky parodontálního chobotu PPD (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu PPD u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu 10 dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k vyššímu poklesu z hodnoty $8,455 \pm 2,041$ mm (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) na hodnotu $3,435 \pm 1,199$ mm v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $7,450 \pm 1,276$ mm na hodnotu $3,700 \pm 0,923$ mm.



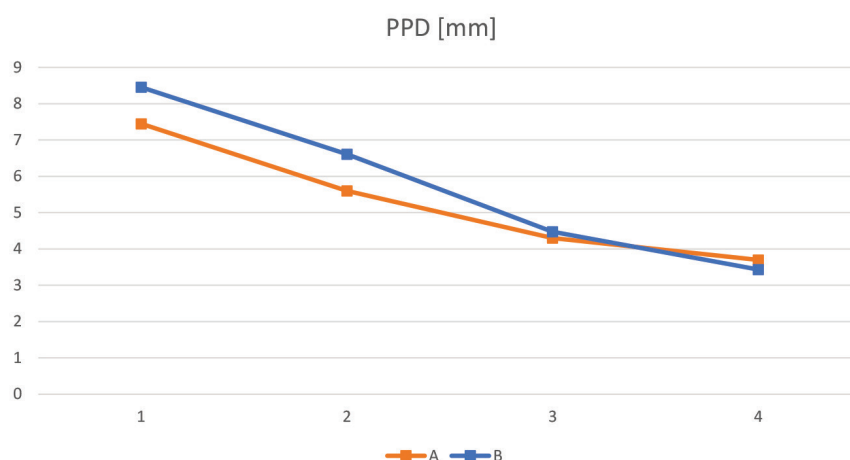
Graf 1 Parodontální index CAL v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v mm)

Graph 1 Periodontal index CAL during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in mm)

V **grafu 3** jsou znázorněny hodnoty parodontálního indexu BOP (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu BOP u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu 10 dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k nižšímu poklesu z hodnoty $68,391 \pm 31,080$ % (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka) na hodnotu $15,826 \pm 16,972$ % v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $77,150 \pm 29,283$ % na hodnotu $18,750 \pm 12,523$ %.

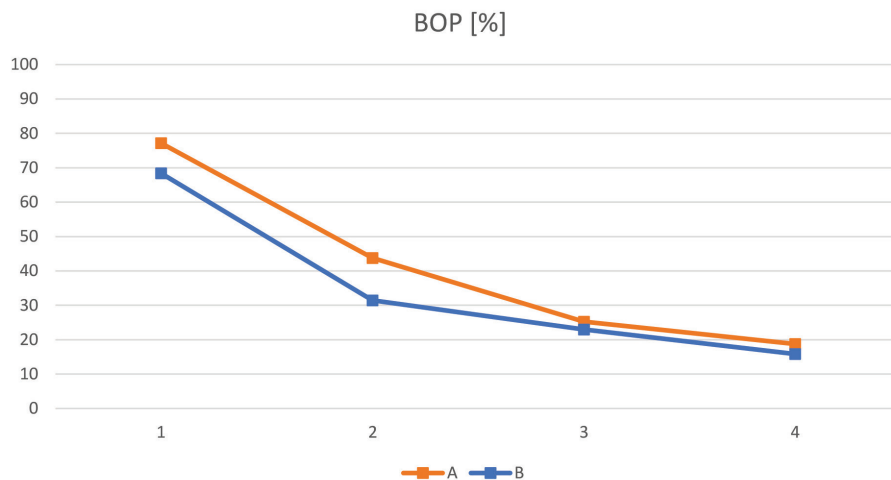
V **grafu 4** jsou znázorněny hodnoty indexu parodontálního rizika R/G (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu inde-

xu parodontálního rizika R/G. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (podskupina B) došlo 14 dní po léčbě k významně vyššímu poklesu R/G indexu v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing ($R/G = -0,890 \pm 1,395$ vs. $R/G = 1,071 \pm 1,672$) (aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka). Tři měsíce po léčbě byly hodnoty indexu parodontálního rizika R/G u obou podskupin pacientů obdobné ($R/G = 0,511 \pm 1,276$ vs. $R/G = 0,683 \pm 1,200$) a 18 měsíců po léčbě jsme pozorovali nižší hodnotu průměru R/G indexu u podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik (podskupina B, $R/G = 0,587 \pm 1,550$) v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing ($R/G = 1,107 \pm 1,725$).



Graf 2 Parodontální index PPD v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v mm)

Graph 2 Periodontal index PPD during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in mm)



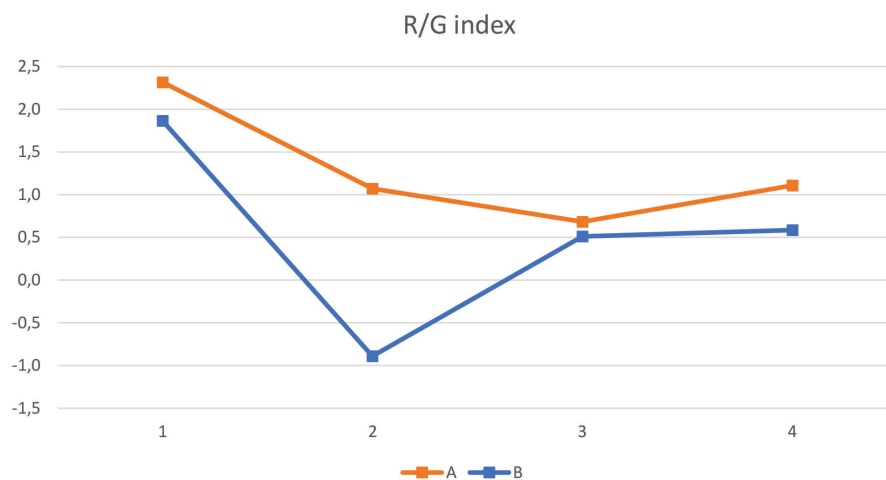
Graf 3 Parodontální index BOP v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v %)
Graph 3 Periodontal index BOP during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in %)

DISKUSE

Systémově podaná antibiotika jsou dnes oblíbenou součástí parodontologické léčby, jak uvádějí četné studie [18–21]. Ve studii mezi oběma testovanými skupinami, tedy u pacientů léčených v rámci konzervativní terapie pouze deep scaling a root planing a deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou suplementaci, nebyl shledán podstatný rozdíl v klinických parametrech.

Komplexní charakterizace mikrobiomu ukázala, že v případě podpory deep scaling a root planing léčby systémovými antibiotiky došlo po 14 dnech k výraznému posunu taxonomického složení směrem k vysloveně zdravému charakteru orální mikrobioty, ovšem po dalších třech měsících se tento rozdíl zcela smazal a na vývoj klinických parametrů nemělo podání antibiotik významný vliv.

Je nutné zmínit i negativní efekt antibiotik, kterým je vytváření selekčního tlaku na vznik a šíření rezistencí některých bakteriálních taxonů k určitému typu antibiotik. Tento vztah je samozřejmě studován i v rámci parodontálních bakteriálních taxonů, jak popisuje studie testující rezistenci taxonů patřících do červeno-oranžového komplexu (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus constellatus* a *Campylobacter rectus*) vůči účinku tinidazolu (16 mg/l), metronidazolu (16 mg/l), amoxicilinu (8 mg/l), doxycyklinu (4 mg/l) nebo klindamycinu (4 mg/l) in vitro. Výsledek studie ukazuje, že společná druhová rezistence in vitro vůči tinidazolu a amoxicilinu nebo metronidazolu a amoxicilinu byla vzácná. Tinidazol fungoval in vitro podobně jako metronidazol a výrazně lépe než



Graf 4 R/G index v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr)
Graph 4 R/G index during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean)

amoxicilin, doxycyklin nebo klindamycin proti klinickým izolátům parodontálních patogenů červenooranžového komplexu [22]. Předmětem studia jsou též možnosti použití kombinací antibiotik v terapii agresivní parodontitidy s ohledem na zlepšení klinických parametrů. Ve své studii Araujo a kol. zjistili, že podání klaritromycinu (500 mg 2× denně) po dobu sedmi dnů v porovnání s použitím kombinace amoxicilinu (500 mg 3× denně) a metronidazolu (400 mg 3× denně) po dobu sedmi dnů může být alternativou antimikrobiální léčby mladých pacientů díky pozitivnímu efektu na klinické parametry [23]. Pro použití antibiotik v rámci terapie parodontitidy je také významné načasování jejich použití v rámci konzervativní terapie parodontitidy. Nejvýhodněji z hlediska zlepšení klinických parametrů BOP, CAL a PPD se jeví preskripce antibiotik v iniciační fázi terapie parodontitidy nebo bezprostředně po deep scaling a root planing. Podání systémových antibiotik ve fázi reevaluace nebo po případné reinstrumentaci povrchu kořene se v porovnání klinických parametrů jeví jako méně výhodná [24, 25]. Ze studie je patrné, že klinické parametry BOP, PPD a CAL se v obou skupinách vyvíjely obdobně, a s ohledem na obecnou tendenci redukovat nadužívání antibiotik tedy spíše doporučujeme aplikovat pouze deep scaling a root planing a k podání antibiotik přistoupit jen ve výjimečných případech, pokud si to celkový zdravotní stav pacienta vyžádá.

V souvislosti s podáváním systémovými antibiotiky je nutné zmínit možnou rekolonizaci parodontálních chobotů parodontálními patogeny. Tato rekolonizace byla studována například v intervalech tří a šesti měsíců po systémovém podání antibiotik [26]. Byla potvrzena rekolonizace *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* a *Treponema denticola* z epitelálních buněk ústní sliznice. Systémová antibiotika a topický chlorhexidin nesnižily procento napadených epitelálních buněk. Tyto údaje podporují hypotézu, že existují extra krevikulární rezervoáry bakterií, které mohou u některých pacientů přispívat k rekurentní nebo refrakterní parodontitidě [26]. Parodontologická léčba by měla znesnadňovat rekolonizaci tím, že změní podmínky prostředí (redukce hloubky parodontálního chobotu, eliminace anaerobního prostředí, eliminace zánehtlivého edému gingivy atd.) a umožní kolonizaci aerobním streptokokům, které zde najdou vhodné životní podmínky. Přítomnost některých bakteriálních taxonů (*Prevotella* sp., *Fusobacterium nucleatum* subsp. *vincentii*, *Rothia* sp.), jejichž DNA byla detekována ve vzorcích z pa-

rodontálních chobotů jak u pacientů s klinickými projevy parodontitidy, tak i bez klinických projevů, by mohla varovat ošetřujícího parodontologa před klinickými projevy parodontitidy, což by představovalo významný nástroj v odhalení rizika možného vzniku parodontitidy ještě před nástupem samotných klinických projevů onemocnění [27]. Pro použití systémově podaných antibiotik v terapii parodontitidy je v době častých rezistencí na různé typy antibiotik vhodné mikrobiologické testování [28]. Rozšíření spektra metod pro DNA analýzu parapatogenních bakteriálních taxonů souvisí se zjištěním větší komplexnosti vztahů mezi jednotlivými bakteriálními taxony osidlujícími tkáň parodontu a také s jejich finanční dostupností pro pacienta.

Individualizovaná terapie budoucnosti, kdy by dočasná redukce dysbiotické mikrobioty mohla být stabilizována vhodně zvolenou probiotickou léčbou nebo transplantací orální mikrobioty od zdravého dárce, by mohla z podání antibiotik profitovat, nicméně bez ověření účinnosti těchto kroků nespátřujeme v podávání antibiotik pro pacienta významnou výhodu, právě naopak, vystavujeme ho zbytečnému riziku vzniku rezistentních kmenů. Antibiotika jako systémové antimikrobiální léčivé přípravky zůstanou součástí parodontologické léčby, ovšem jejich použití by mělo být vždy velmi důkladně zváženo [29].

ZÁVĚR

Antibiotika jsou nedílnou součástí terapie agresivní parodontitidy. Ovšem již na začátku jednadvacátého století se hovořilo o post antibiotické éře. S rozvojem rezistence bakteriálních taxonů je více než nutné vždy pečlivě zvážit jejich použití. Hovoří se o takzvaných superbugs, bakteriálních taxonech vykazujících rezistenci vůči více třídám antibiotik najednou, což představuje velký medicínský problém obecně. Samozřejmě se tato rezistence týká i parapatogenních bakteriálních taxonů, proto i použití antibiotik v parodontologii by mělo být podloženo podrobným klinickým, mikrobiologickým a celkově medicínským vyšetřením.

**Tato studie byla vytvořena za podpory
výzkumného projektu č. 17-30753A
(Agentura pro zdravotnický výzkum,
Ministerstvo zdravotnictví ČR).**

MUDr. Jaroslav Myšák, Ph.D.

Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN
Karlovo náměstí 32
120 00 Praha 2
e-mail: jaroslav.mysak1@gmail.com

LITERATURA

1. Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(10): 887–901.
2. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 1–6.
3. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile WV, Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kebschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, Loos BG, Machtei E, Meng H, Mombelli A, Needleman I, Offenbacher S, Seymour GJ, Teles R, Tonetti MS. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018; 89(Suppl. 1): S173–S182.
4. Armitage GC, Cullinan MP. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010; 53: 12–27.
5. Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, González FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011; 90(10): 1164–1170.
6. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol* 2000. 2018; 76(1): 43–50.
7. Scannapieco FA, Dasanayake AP, Chhun N. Does periodontal therapy reduce the risk for systemic diseases? *Dent Clin North Am.* 2010; 54(1): 163–181.
8. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol.* 1991; 18(10): 766–775.
9. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(2): 134–144.
10. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2003; 82(5): 338–344.
11. Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(8): 3944–3955.

12. Kumar PS, Leys EJ, Bryk JM, Martinez FJ, Moeschberger ML, Griffen AL. Changes in periodontal health status are associated with bacterial community shifts as assessed by quantitative 16S cloning and sequencing. *J Clin Microbiol.* 2006; 4(10): 3665–3673.
13. Keijser BJF, Zaura E, Huse SM, Vossen van der JMBM, Schuren FHJ, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res.* 2008; 87(11): 1016–1020.
14. Zaura E, Keijser BJF, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 259.
15. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, Lakshmanan A, Wade WG. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010; 192(19): 5002–5017.
16. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, Podar M, Leys EJ. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J.* 2012; 6(6): 1176–1185.
17. Najmanova L, Sabova L, Lenartova M, Janatova T, Mysak J, Vetrovsky T, Tesinska B, Balikova Novotna G, Koberska M, Broukal Z, Duskova J, Podzimek S, Janata J. R/G value – a numeric index of individual periodontal health and oral microbiome dynamics. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; doi: 10.3389/fcimb.2021.602643
18. Prakasam A, Elavarasu SS, Natarajan RK. Antibiotics in the management of aggressive periodontitis. *J Pharm Bioallied Sci.* 2012; 4(Suppl. 2): S252–S255.
19. Aral K, Aral CA, Kapila Y. Six-month clinical outcomes of non-surgical periodontal treatment with antibiotics on apoptosis markers in aggressive periodontitis. *Oral Dis.* 2019; 25(3): 839–847.
20. Isola G. Antibiotics and antimicrobials for treatment of the oral microbiota: myths and facts in research and clinical practice. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 95.
21. Mendes CL, de Assis P, Annibal H, de Oliveira LJR, de Albuquerque MS, de Lima Soares M, Lago MC, Braz R. Metronidazole and amoxicillin association in aggressive periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Saudi Dent J.* 2020; 32(6): 269–275.

22. Rams TE, Sautter JD, van Winkelhoff AJ. Comparative in vitro resistance of human periodontal bacterial pathogens to tinidazole and four other antibiotics. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 68.
23. Araujo CF, Andere NMRB, dos Santos NCC, Mathias-Santamaria IF, Reis AA, de Oliveira LD, Jardini MAN, Casarin RCV, Santamaria MP. Two different antibiotic protocols as adjuncts to one-stage full-mouth ultrasonic debridement to treat generalized aggressive periodontitis: A pilot randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2019; 90(12): 1431–1440.
24. Kaner D, Christan C, Dietrich T, Bernimoulin JP, Kleber BM, Friedmann A. Timing affects the clinical outcome of adjunctive systemic antibiotic therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78(7): 1201–1208.
25. Abdallaoui-Maan L, Bouziane A. Effects of timing of adjunctive systemic antibiotics on the clinical outcome of periodontal therapy: A systematic review. *Clin Exp Dent.* 2020; 12(3): e300–e309.
26. Johnson JD, Chen R, Lenton PA, Zhang G, Hinrichs JE, Rudney JD. Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(12): 2305–2312.
27. Lenartova M, Tesinska B, Janatova T, Hrebicek O, Mysak J, Janata J, Najmanova L. The oral microbiome in periodontal health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; doi: 10.3389/fcimb.2021.629723
28. Eick S, Nydegger J, Bürgin W, Salvi GE, Sculean A, Ramseier C. Microbiological analysis and the outcomes of periodontal treatment with or without adjunctive systemic antibiotics – a retrospective study. *Clin Oral Investig.* 2018; 22(9): 3031–3041.
29. Pretzl B, Sälzer S, Ehmke B, Schlagenhauf U, Dannewitz B, Dommisch H, Eickholz P, Jockel-Schneider Y. Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy – a consensus report. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(7): 3073–3085.

PROTEÓM SLINNÝCH EXOZÓMOV AKO NOVÝ PROSTRIEDOK PRE DIAGNOSTIKU ORÁLNYCH OCHORENÍ

Pôvodná práca, klinická štúdia

SALIVARY EXOSOME PROTEOME AS A NEW TOOL FOR THE DIAGNOSIS OF ORAL DISEASES

Original article, clinical study

Laputková G.¹, Talian I.¹, Jendrichovská Z.¹, Schwartzová V.², Schwartzová Z.³, Sabo J.¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

²Klinika stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika a UNLP, Košice, Slovenská republika

³Ústav epidemiológie, Lekárska fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, Slovenská republika

SÚHRN

Úvod a cieľ práce: Exozómy, ktoré sú generované endozomálnou cestou, sa exocytózou uvoľňujú do extracelulárneho priestoru vrátane slín. Obsahujú nukleové kyseliny, proteíny a lipidy, ktoré transportujú do rôznych častí tela. Podieľajú sa na medzibunkovej komunikácii, či už podporujú alebo narúšajú rôzne fyziologické procesy.

Cieľom práce bolo overiť efektívnosť ultracentrifugačnej metódy izolácie exozómov zo slín, izolovať a identifikovať proteíny v nich obsiahnuté, s dôrazom na exozomálne proteíny súvisiace s ochoreniami ústnej dutiny alebo systematickými ochoreniami s prejavmi v ústnej dutine.

Metódy: Exozómy boli z plných nestimulovaných ľudských slín izolované opakovanými centrifugačnými krokmi s premývaním vo fosfátovom tlmivom roztoku s následnou metanolovo/chloroformovou precipitáciou proteínov. Proteíny boli identifikované bottom-up prístupom pomocou hmotnostnej spektrometrie s predradenou separáciou na kvapalinovom chromatografe.

Výsledky: Identifikované proteíny boli klasifikované podľa proteínových tried, molekulových funkcií a biologických procesov. Najviac identifikovaných proteínov bolo z proteínových tried: cytoskeletálne proteíny, obranné/imunitné proteíny a štrukturálne proteíny, a proteínov zodpovedajúcich za katalytickú aktivitu a štrukturálnu molekulovú aktivitu.

Závery: Proteíny boli klasifikované do skupín na základe ich molekulovej funkcie a biologických procesov, na ktorých sa v ľudskom organizme zúčastňujú. Boli identifikované niektoré proteíny/skupiny proteínov, ktoré môžu byť zaujímavé z hľadiska skúmania etiológie niektorých orálnych ochorení, napr. anexín A1, zymogén granulárny proteín 16 homolog B, mucín-5B, oblasti

Ig lambda-3 reťazca C, oblasť Ig kapa reťazca C, oblasť Ig alfa-2 reťazca C a oblasť Ig alfa-1 reťazca C.

Kľúčové slová: sliny, exozómy, proteomika, orálne ochorenia

SUMMARY

Introduction, aim: Exosomes generated by the endosomal pathway are released by the exocytosis into the extracellular space, including saliva. They contain nucleic acids, proteins and lipids that are transported to different parts of the body. They participate in intercellular communication, whether they support or disrupt various physiological processes.

The aim of this work was to verify the efficiency of the ultracentrifugation method of isolation of exosomes from saliva, to extract and identify proteins contained therein, with an emphasis on exosomal proteins related to diseases of the oral cavity or systemic diseases with manifestations in the oral cavity.

Methods: Exosomes were isolated from full unstimulated human saliva by repeated centrifugation steps with washing in phosphate buffer followed by methanol/chloroform protein precipitation. Proteins were identified by a bottom-up approach using mass spectrometry with pre-separation by liquid chromatography.

Results: The identified proteins were classified according to protein classes, molecular functions and biological processes. The most identified proteins were of the protein classes: cytoskeletal proteins, defense/immune proteins and structural proteins and proteins responsible for catalytic activity and structural molecular activity.

Conclusions: Proteins have been classified into groups based on their molecular function and biological

processes in which they participate in the human body. Some proteins/family of proteins have been identified that may be of interest in investigating the etiology of some oral diseases e.g. annexin A1, zymogen granular protein 16 homologue B, mucin-5B, Ig lambda-3 chain

C region, Ig kappa chain C region, Ig alpha-2 chain C region and Ig alpha-1 chain C region.

Key words: saliva, exosomes, proteomics, oral diseases

Laputková G, Talian I, Jendrichovská Z, Schwartzová V, Schwartzová Z, Sabo J.
Proteóm slinných exozómov ako nový prostriedok pre diagnostiku orálnych ochorení.
Čes stomatol Prakt zubní lék. 2021; 121(3): 75–82. doi: 10.51479/cspzl.2021.010

ÚVOD A CIEĽ

Bunky nepretržite vylučujú do extracelulárneho priestoru veľké množstvo mikrovezikúl, makromolekulárnych komplexov a malých molekúl. Zo sekretovaných častíc sa v súčasnosti intenzívne skúmajú exozómy. Produkuje ich väčšina typov buniek so sekréciou do telesných tekutín vrátane krvi, moču a slín. Exozómy sú generované endozomálnou cestou a uvoľňované exocytózou multivezikulárnych telies do extracelulárneho priestoru. Tieto malé útvary (30–120 nm) obsahujú nukleové kyseliny (RNA, miRNA), proteíny a lipidy, ktoré transportujú do rôznych častí tela [1].

Predpokladá sa, že všetky exozómy vylučované bunkami v kultúre do média alebo rôznymi orgánmi do pridružených telesných tekutín sa podieľajú na medzibunkovej komunikácii, či už podporujú, alebo narúšajú rôzne fyziologické procesy [2].

V závislosti od buniek/tkanív, z ktorých exozómy pochádzajú, je možné priradiť im rôzne funkcie: sprostredkovanie imunitnej reakcie, účasť v programovej bunkovej smrti, angiogenéze, zápale a koagulácii, účasť pri spracovaní a degradácii RNA, rozšírení nádorov, priónových proteínov a retrovírusov [3].

Diagnostike ochorení na báze proteínov slín sa v súčasnosti venuje čoraz väčšia pozornosť, pretože je neinvazívna a sekrety slinných žliaz sa získavajú jednoducho v porovnaní s inými metódami s možnosťou viacsobného opakovania i v kratšom časovom úseku. Okrem toho je obsah slinných proteínov podobný obsahu proteínov plazmy v dôsledku fyzikálnej interakcie medzi zdrojom slín a krvou [4].

Na izoláciu exozómov v slinách existujú dve základné metódy: klasická fyzikálna metóda ultracentrifugácie a precipitácia exozómov pomocou špeciálnych chemických agentov. Pre možnú kontamináciu neexozomálnymi proteínmi je pomerne technicky náročné izolovať exozómy z biologických materiálov. V tomto zmysle má práve izolácia exozómov zo slín ultracentrifugáciou výhody kvôli minimálnej kontaminácii vzorky [5].

V poslednom období pribúdajú dôkazy o možnej korelácii exozómov v slinách s orálnymi chorobami, ako je rakovina ústnej dutiny [6], orálny lichen planus [7], Sjögrenov syndróm [8], alebo inými systémovými ochoreniami, ako je zápalové ochorenie čriev [9], rakovina pankreasu [10] a rakovina pľúc [11].

Cieľom práce bolo preto overiť efektívnosť ultracentrifugačnej metódy izolácie exozómov zo slín, izolovať a identifikovať pomocou hmotnostnej spektrometrie (MS) proteíny v nich obsiahnuté s dôrazom na exozomálne proteíny súvisiace s ochoreniami ústnej dutiny alebo systematickými ochoreniami s prejavmi v ústnej dutine.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál a chemikálie

Pri experimentoch boli použité: acetón a chlorid vápenatý (ApplyChem, Darmstadt, Nemecko), močovina, DL-ditiotreitol (DTT), Tris-HCL, tiomočovina, jódoacetamid, Quick Bradfordova testovacia súprava a albumín z bovinného séra (BioRad, Kalifornia, USA) a kokteil inhibítorov proteáz (Sigma, St. Louis, Missouri, USA). Pre enzymatické štiepenie proteínov bol použitý prasací trypsín (Promega, Madison, WI, USA). Bol použitý fosfátový tlmivý roztok (PBS) a Laemmliho roztok. Všetky chemikálie a činidlá vrátane etanolu, metanolu, chloroformu, kyseliny trifluóroctovej (TFA) a kyseliny mravčej (FA) boli kvality vhodnej pre MS.

Odber slín a príprava vzorky

Plná nestimulovaná slina bola získaná od piatich zdravých dobrovoľníkov vo veku od 22 do 24 rokov (schválené etickou komisiou Lekárskej fakulty, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, číslo protokolu: 2N/2017). Približne 10–15 ml slín bolo zozbieraných ráno medzi 9. a 10. hodinou do 50 ml polypropylénovej skúmavky (BD Falcon, BD Bioscience, New Jersey, USA) umiestnenej na ľade. Sekrécia sliny nebola stimulovaná chemicky ani mechanicky. Po odbere bol k slinám pridaný 1 µl kokteilu inhibítorov proteáz (CIP) na 1 ml sli-

ny, aby sa zabránilo degradácii vzorky spôsobenej enzýmami z epiteliálnych buniek, leukocytov a orálnych mikroorganizmov. Vzorka bola následne doplnená PBS v pomere 1:1 k odobratej sline.

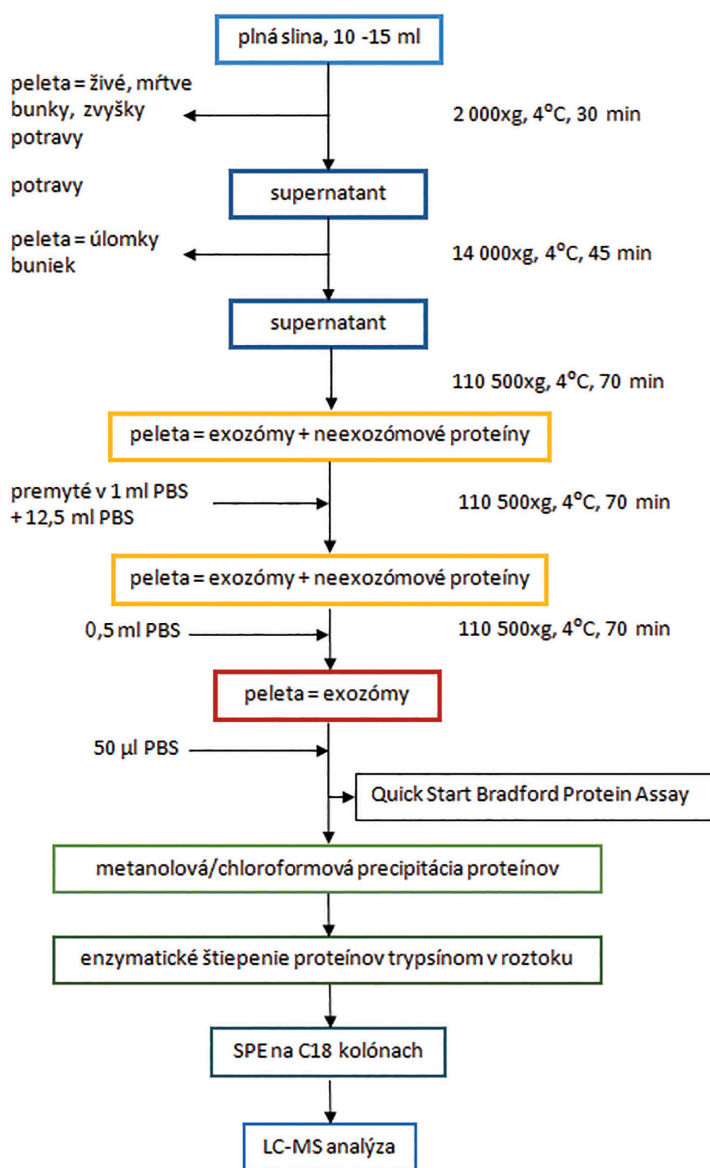
Slina bola prečistená centrifugáciou pri 2000×g pri 4 °C počas 30 minút (Hermle Z36HK, rotor Hermle 221.19). Pelety boli odstránené, supernatant bol premiestnený do polyalomérových skúmaviek (Beckman, Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, Kalifornia) a doplnený do 12,5 ml PBS. Nasledovala centrifugácia pri 14000×g pri 4 °C počas 45 minút (Beckman Coulter Allegra 64R, rotor Beckman F1010). V ďalšom kroku bol supernatant doplnený PBS tak, aby výsledný objem vzorky bol 12,5 ml a centrifugovaný (Beckman Coulter Avanti S-30I, výkyvný rotor JS-24) pri 110500×g pri 4 °C 70 minút. Po odstránení supernatantu boli pelety rozsuspendedované v 1 ml PBS. Skúmavky boli následne doplnené PBS do 12,5 ml a opakovane centrifugované za tých istých podmienok. Supernatant bol odstránený a pelety rozsuspendedované v 0,5 ml PBS. Roztok bol prenesený do dvoch otvorených hrubostenných polyalomérových 1ml skúmaviek (Beckman, Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, Kalifornia) a centrifugovaný na laboratórnej ultracentrifúge (Beckman Coulter Optima MAX-XP ultracentrifuge, rotor MLA-130) pri 110500×g pri 4 °C 70 minút. Supernatant bol odstránený, peleta bola rozpustená v 50 µl PBS (**obr. 1**).

Skúška celkového obsahu proteínov

Z pelety rozpustenej v 50 µl PBS bolo odoberatých 5 µl roztoku, ku ktorému bolo pridaných 5 µl Laemmliho roztoku na lyzáciu exozómov. Celkový obsah proteínov bol stanovený Bradfordovou metódou pomocou Quick Start Bradford Protein Assay (BioRad, Hercules, California, USA) s albumínom z bovinného séra (BioRad, Hercules, California, USA). Absorpcia bola meraná spektrofotometricky (UV – 3600 Spectrophotometer, Shimadzu Corp., Kyoto, Japonsko) pri vlnovej dĺžke 595 nm.

Metanolová/chloroformová precipitácia proteínov

K pripravenému objemu vzorky bol pridaný metanol v pomere 4:1. Zmes bola postupne doplnená o 100 µl chloroformu a 300 µl ultračistej vody s intenzívnym zamiešaním pri 750 ot/min po oboch krokoch. Nasledovala centrifugácia vzorky 2 min pri 14000×g. Vodná vrstva bola odstránená tak, aby ten-



Obr. 1
Schéma purifikácie exozómov založená na ultracentrifugácii. Relatívna centrifugačná sila a trvanie jednotlivých centrifugácií je uvedené vpravo (upravené podľa [30])

Fig. 1
Exosome purification scheme based on ultracentrifugation. The relative centrifugal force and the duration of the individual centrifugations are given on the right (adapted from [30])

ký povlak proteínov medzi jednotlivými vrstvami ostal neporušený. K roztoku bolo pridaných 400 µl metanolu, zmes bola opäť krátko zvortexovaná pri 750 ot/min a centrifugovaná 3 min pri 14000×g. Peleta vyzrážaných proteínov bola po odstránení supernatantu vysušená pomocou vákuového koncentrátora (CentriVap Vacuum Concentrator, Labconco, Kansas City, USA).

Enzymatické štiepenie proteínov trypsínom v roztoku

Proteíny boli resuspendované v roztoku 8 mol l⁻¹ močoviny/100 mmol l⁻¹ Tris-HCl (pH = 8). Redukcia disulfidových väzieb bola dosiahnutá pridaním stechiometrického množstva 0,1 mol l⁻¹ ditiotritolu/100 mmol l⁻¹ Tris-HCl (pH = 8) a inkubáciou 30 minút pri

teplote 37 °C. Tiolové skupiny boli alkylované pomocou 0,5 mol l⁻¹ jódoacetamidu/100 mmol l⁻¹ Tris-HCl (pH = 8) 30 min v tme pri teplote 37 °C. Proteíny boli vyzrážané acetónom (inkubácii 60 min pri -25 °C). Vyzrážané proteíny boli po odstránení supernatantu vysušené vo vákuovom koncentrátore. Proteínová vzorka bola resuspendovaná v roztoku 8 mol l⁻¹ močoviny/100 mmol l⁻¹ Tris-HCl (pH = 8). Roztok bol zriedený 2 mmol l⁻¹ chloridom vápenatým/10 mmol l⁻¹ Tris-HCl tak, aby výsledná koncentrácia močoviny bola 2 mol l⁻¹. Počas noci prebehlo enzymatické štiepenie proteínov pridaním trypsínu (0,1 µg µl⁻¹) pri teplote 37 °C. Aktivita trypsínu bola na druhý deň inhibovaná pridaním 1/20 objemu 20% TFA.

Čistenie v C18 kolónach

Vzorka bola zbavená nežiaducich látok, soli a amfolytov extrakciou látok na tuhej fáze (solid phase extraction – SPE) v kolóne Bond

Elut C18 (Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornia, USA). Bol použitý preplachovací roztok H₂O/metanol/acetonitril (34:33:33; v/v/v), vlhčiaci roztok H₂O/acetonitril (50:50; v/v) a ekvilibračný roztok H₂O/acetonitril/TFA (94,5:5:0,5; v/v). Peptidy boli eluované do čistej skúmavky roztokom acetonitrilu/H₂O/FA (70:29,9:0,1; v/v/v).

LC-MS analýza

Identifikácia proteínov extrahovaných z exozómov bola vykonaná pomocou LC-MS analýzy prístupom bottom-up. Peptidy boli separované na kolóne so stacionárnou fázou C18 (Acclaim PepMap, Thermo Scientific 75 µm x 150 mm, 300 Å) na kvapalinovom chromatografe (Agilent 1260) v gradiente od 4% mobilnej fázy B (0,1% FA+98% ACN) do 35% mobilnej fázy B počas 60 minút nasledované výplachom kolóny pomocou 80% mobilnej fázy B počas 10 minút a ekvilibračnou fázou so 4% mobilnou fázou B počas 30 minút

Tab. 1 Zoznam proteínov identifikovaných vo vzorkách exozómov z plnej nestimulovanej sliny

Tab. 1 List of proteins identified in exosome samples from the whole unstimulated saliva

Č.	UniProtKB identifikátor	UniProtKB prístupový kód	Proteín	MW [kDa]	pI	Skóre	Peptidy	SC [%]	RMS90 [ppm]	Rank
1	ZG16B_HUMAN	Q96DA0	Žymogén granulárny proteín 16 homolog B / Zymogen granule protein 16 homolog B	22,7	7,6	425	8	38,5	2,01	6
2	THIO_HUMAN	P10599	Thioredoxin/Thioredoxin	11,7	4,7	63,8	1	12,4	1,39	21
3	TGM3_HUMAN	Q08188	Proteín-glutamín γ-glutamyltransferáza E / Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E	76,6	5,5	143,4	4	6,2	2,66	15
4	S10A8_HUMAN	P05109	Proteín S100-A8 / Protein S100-A8	10,8	6,6	118,4	3	24,7	4,48	16
5	PIP_HUMAN	P12273	Prolaktín-indukovateľný proteín/Prolactin-inducible protein	16,6	9,3	223	5	38,4	1,96	12
6	PIGR_HUMAN	P01833	Polymerický imunoglobulínový receptor/Polymeric immunoglobulin receptor	83,2	5,5	589,2	13	19,2	2,41	2
7	MUC5B_HUMAN	Q9HC84	Mucín-5B/Mucin-5B	596	6,2	540,9	17	3	2,33	3
8	LAC3_HUMAN	P0CG06	Oblasť Ig lambda-3 reťazca C/Ig lambda-3 chain C regions	11,2	7,7	62,1	1	14,2	1,15	22
9	K2C1_HUMAN	P04264	Keratín, typ II, cytoskeletálny 1 / Keratin, type II cytoskeletal 1	66	8,8	468,8	10	17,2	1,59	5
10	K22E_HUMAN	P35908	Keratín, typ II, cytoskeletálny 2 epidermálny / Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal	65,4	8,9	303,9	7	11,3	1,76	11
11	K1C10_HUMAN	P13645	Keratín, typ I cytoskeletálny 10 / Keratin, type I cytoskeletal 10	58,8	5	333,9	9	15,6	1,78	8
12	IGKC_HUMAN	P01834	Oblasť Ig kappa reťazca C/Ig kappa chain C region	11,6	5,5	179,5	4	67	0,97	13
13	IGHA2_HUMAN	P01877	Oblasť Ig alfa-2 reťazca C/Ig alpha-2 chain C region	36,5	5,7	307,1	6	22,6	1,63	10
14	IGHA1_HUMAN	P01876	Oblasť Ig alfa-1 reťazca C/Ig alpha-1 chain C region	37,6	6,1	516,9	10	42,8	1,79	4
15	DMBT1_HUMAN	Q9UGM3	Proteín 1 deletovaný do malignančných tumorov mozgu / Deleted in malignant brain tumors 1 protein	260,6	5,1	747,4	18	8,9	2,09	1
16	DEF1_HUMAN	P59665	Neutrofil defenzín 1 / Neutrophil defensin 1	10,2	7,6	114,6	2	19,1	2,46	17
17	CYT8_HUMAN	P04080	Cystatín-B / Cystatin-B	11,1	7,9	91,1	3	30,6	2,89	19
18	CAH6_HUMAN	P23280	Karboanhydráza 6 / Carbonic anhydrase 6	35,3	6,6	114,5	3	10,4	2,28	18
19	BPIB2_HUMAN	Q8N4F0	BPI vrstvy-obsahujúca rodina B člen 2 / BPI fold-containing family B member 2	49,1	9,5	143,6	5	14,2	4,15	14
20	BPIA2_HUMAN	Q96DR5	BPI vrstvy-obsahujúca rodina A člen 2 / BPI fold-containing family A member 2	27	5,2	360,2	9	29,7	3,16	7
21	ANXA1_HUMAN	P04083	Anexín A1 / Anxin A1	38,7	6,7	322,1	7	24	2,25	9
22	AMY1_HUMAN	P04745	Alfa-amyláza 1 / Alpha-amylase 1	57,7	6,5	67,7	2	4,1	3,85	20

(mobilná fáza A – 0,1% FA). Peptidy boli on-line identifikované pomocou hmotnostného spektrometra Agilent QTOF UHD 6538 v auto MS/MS móde. Parametre pre auto MS/MS mód boli nasledovné: na každý MS scan bolo vybraných 5 prekursorov pre následnú MS/MS analýzu podľa ich intenzity s nábojom 2+ alebo 3+ a aktívnou exklúziou už zmeraného prekursora počas nasledujúcich 0,3 min. Namerané hmotnostné spektrá boli následne vyhodnotené pomocou kompletného proteomického softvéru Proteinscape 3.1 s vyhľadávacím algoritmom MASCOT 2.4. Parametre vyhľadávania boli nastavené nasledovne: taxonómia HOMO SAPIENS, fixná modifikácia – karbamidometylácia (Cys), variabilné modifikácie – oxidácia (Met), fosforilácia (Ser, Thr, Tyr) a acetylácia N konca peptidov, presnosť určenia hmoty prekursora do 50 ppm a v MS/MS móde do 500 ppm, vybrané prekursorzy museli mať náboj viac ako 1+. Aby boli vylúčené falošne pozitívne identifikácie extrahovaných proteínov, bol nastavený tzv. false discovery rate na 1 %.

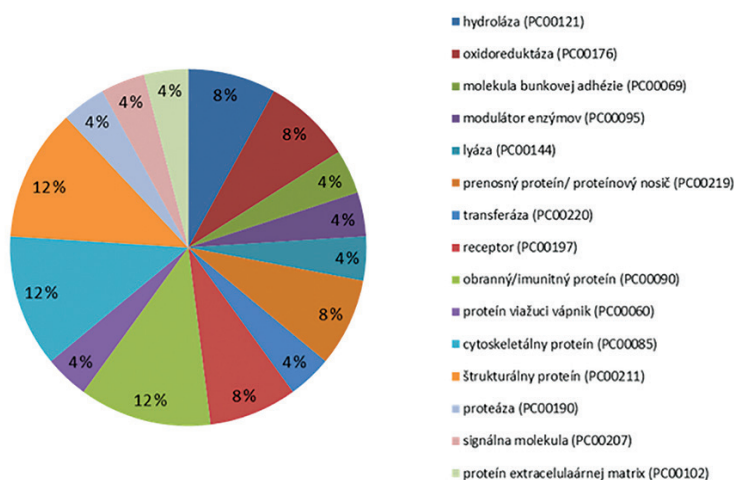
VÝSLEDKY

Cieľom experimentov bolo preskúmať možnosti zvoleného spôsobu identifikácie proteínového obsahu exozómov ľudských slín. Úplný zoznam proteínov identifikovaných vo vzorkách z plnej nestimulovanej sliny je uvedený v **tab. 1**.

Identifikované proteíny boli klasifikované podľa proteínových tried, molekulových funkcií a biologických procesov, ktorých sú súčasťou, v súlade s Genome Ontology (GO) klasifikáciou s pomocou databázy PANTHER (<http://pantherdb.org/>). Výsledky sú znázornené graficky (graf 1–3).

Z GO klasifikácie identifikovaných proteínov podľa ich proteínových skupín (**graf 1**) vyplýva, že najviac identifikovaných proteínov bolo z proteínových tried: cytoskeletálne proteíny, obranné/imunitné proteíny a štrukturálne proteíny (12 %). Identifikované proteíny sme taktiež pomocou GO klasifikácie zatriedili podľa molekulovej funkcie (**graf 2**).

Z grafu vyplýva, že prevažná časť identifikovaných proteínov zodpovedá za katalytickú aktivitu (43 %) a štrukturálnu molekulovú aktivitu (22 %). GO klasifikácia proteínov podľa biologických procesov, na ktorých sa podieľajú, je zobrazená na **grafu 3**. Z grafu vyplýva, že identifikované proteíny sa v najväčšej miere podieľajú na metabolických procesoch (25 %) a bunkových procesoch (20 %), ktoré zahŕňajú procesy na bunkovej úrovni, ale nie sú nevyhnutne obmedzené na jedinú bunku, napr. medzibunková komunikácia.



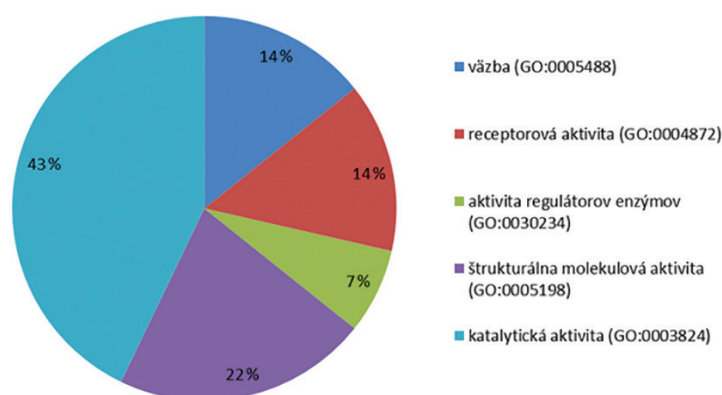
Graf 1 GO klasifikácia identifikovaných proteínov do proteínových tried

Graph 1 GO classification of identified proteins into protein classes

V ďalšom kroku sme vykonali analýzu identifikovaných proteínov s využitím databázy OralCard (<http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>). Táto databáza predstavuje vhodný zdroj informácií o proteínoch obsiahnutých v ľudských slinách, proteín-proteínových interakciách a súvislostiach vzniku ochorení, ktoré sa prejavujú v ústnej dutine, s expresiou jednotlivých proteínov v slinách. V **tab. 2** sú uvedené identifikované proteíny a ich skupiny z hľadiska ich možného podielu na vzniku rôznych ochorení ústnej dutiny alebo systémových ochorení s prejavmi v ústnej dutine.

DISKUSIA

LC-MS analýzou proteínov slinných exozómov bolo identifikovaných 22 proteínov z rôznych proteínových rodín. Medzi ne patria 3 proteíny z rodiny keratínov a 4 z rodiny imunoglobulínov. Ďalej sme identifikovali



Graf 2 GO klasifikácia identifikovaných proteínov podľa ich molekulovej funkcie

Graph 2 GO classification of identified proteins according to their molecular function

Tab. 2 Zoznam skupín proteínov identifikovaných vo vzorkách exozómov z plnej nestimulovanej sliny korelujúcich s niektorými ochoreniami (OralCard, <http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>)

Tab. 2 List of groups of proteins identified in exosome samples from the whole unstimulated saliva correlated with certain diseases (OralCard, <http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>)

Názov ochorenia	MeSH	UniProtKB prístupové kódy proteínov
Gingivitída	68005891	Q96DA0, P05109, P12273, P01833, Q9HC84, P04264, P35908, P13645, P01876, P59665, P23280, P04083, P04745
Chronická parodontitída	68055113	Q96DA0, P10599, Q08188, P05109, P12273, P01833, Q9HC84, P0CG06, P04264, P35908, P13645, P01834, P01877, P01876, Q9UGM3, P59665, P04080, P23280, Q8N4F0, Q96DR5, P04083, P04745
Agresívna parodontitída	68010520	P10599, P04264, P35908, P13645, P01834, P01877, P01876, P59665, P04080, P23280, P04083, P04745
Zubný kaz	68003731	Q08188, P12273, P01833, P35908, P01877, P01876, Q9UGM3, P04080, Q96DR5, P04083, P04745
Sjögrenov syndróm	68012859	Q96DA0, P10599, P05109, P12273, P01833, Q9HC84, P04264, P13645, P01834, P01877, P01876, Q9UGM3, P59665, P04080, P04083, P04745
Diabetes mellitus 1. typu	68003922	P05109, P01876, P59665, P04745
Diabetes mellitus 2. typu	68003924	Q96DA0, Q08188, P12273, P01833, Q9HC84, P01834, P01876, Q9UGM3, P23280, Q96DR5, P04083, P04745
Prekancerózy	68011230	P05109, P13645
Orálny lichen planus	68017676	Q96DR5
Orálne nádory	68009062	P10599, Q08188, P05109, P13645, P01877, P01876, P59665, Q96DR5, P04083
Nádory prsníka	68001943	P10599, Q08188, P05109, P12273, P01833, Q9HC84, P01834, P01877, P01876, Q9UGM3, P04080, Q8N4F0, Q96DR5, P04083, P04745
Difúzna sklerodermia	68045743	P05109, P04080

rôzne mikrovezikulové proteíny, napr. zymogén granulárny proteín 16 homolog B, mucín-5B, oblasti Ig lambda-3 reťazca C, oblasť Ig kapa reťazca C, oblasť Ig alfa-2 reťazca C a oblasť Ig alfa-1 reťazca C. Ďalej boli izolované: proteín-glutamín γ -glutamyltransferáza E, proteín S100-A8, neutrofil defenzín 1, proteín S100-A8, anexín A1 a ďalšie. Anexín A1 (lipokortín-1) je endogénny proteín regulovaný glukokortikoidmi. Proteín hrá významnú úlohu v prirodzenej imunitnej odpovedi ako efektor glukokortikoidmi sprostredkovanej odpovede a ako regulátor zápalového procesu [12]. Kombinácia mechanizmov jeho pôsobenia vedie k účinnému zmierneniu zápalu a predstavuje tak sľubný nástroj na vývoj nových terapeutických stratégií na liečbu zápalových ochorení [13]. Up-regulovaný anexín A1 bol zaznamenaný napríklad v slinách karies-susceptibilných pacientov mužského pohlavia [14]. Proteín je aktérom i v procesoch proliferácie buniek, bunkovej signalizácie a zvlášť pri karcinogéze. Je ďalším kľúčovým uzlom v proteínovej sieti súvisiacej s rakovinou ústnej dutiny a môže byť potenciálnym biomarkerom stupňa patologickej diferenciácie rakoviny ústnej dutiny v kombinácii s inými kľúčovými proteínmi [15, 16].

Ďalšie proteíny izolované zo slín, ktoré by mohli slúžiť ako biomarkery v diagnostike nádorov ústnej dutiny, sú proteín S100-A8 [17], proteín-glutamín γ -glutamyltransferáza E [18] a neutrofil defenzín 1 [19]. Pretože všetky rakovinové bunky produkujú exozómy od skorých štádií, a tieto extracelulárne vezikuly

hrajú účinnú úlohu v prijímajúcich bunkách, ich molekulárny obsah môže poskytnúť jedinečné molekulárne markery pre včasnú diagnostiku a prognózu.

S100-A8 (calgranulín A) je proteín viažuci vápnik a zinok, ktorý hrá významnú úlohu v regulácii zápalových procesov a imunitnej reakcie. Podľa autorov prác [20, 21] hladiny S100-A8 v slinách odrážajú rôzne aspekty periodontálneho zápalu a ako také by mohli slúžiť ako biomarkery chronickej parodontitídy [22].

Ako biomarkery chronickej parodontitídy by mohli pomôcť aj prolaktín-indukovateľný proteín [23] a mucín-5B [24]. Zatiaľ čo funkcia prolaktín-indukovateľného proteínu nie je dostatočne objasnená, početné dôkazy jasne poukazujú na jeho úlohu pri vrodenej aj adaptívnej imunitě. Podľa [25] prolaktín-indukovateľný proteín je zodpovedný za antimikrobiálnu humorálnu imunitnú odpoveď a je silne prepojený so vznikom ochorení závesného systému zuba a ďasien.

Mucín-5B je glykozylovaný proteín s vysokou molekulovou hmotnosťou produkovaný epitelovým tkanivom a vylučovaný mukozálnymi povrchmi, ktorého kľúčovou vlastnosťou je schopnosť tvoriť gél. Jeho antimikrobiálne vlastnosti tvoria primárnu obrannú bariéru v epitelovom tkanive. Mucín je súčasťou neimunitného obranného systému. Jeho down-regulácia je spojená s takou poruchou autoimunitného systému, ako je Sjögrenov syndróm, ktorý je asociovaný s vyšším výskytom a závažnosťou parodontitídy [24].

Integrované dáta z transcriptomických a proteomických meraní potvrdili zmenené hladiny keratínu typu II cytoskeletálneho 1 v tkanive gingivy pacientov s chronickou parodontitídou [26]. Zmena expresie keratínu, typ II, cytoskeletálny 1 a keratínu, typ II, cytoskeletálny 2 epidermálny bola pozorovaná i pri skúmaní histopatologických vzoriek metódou MALDI-MS Imaging pri hľadaní biomarkerov užitočných pri detekcii malignantných buniek pri skvamcelulárnom karcinóme [27].

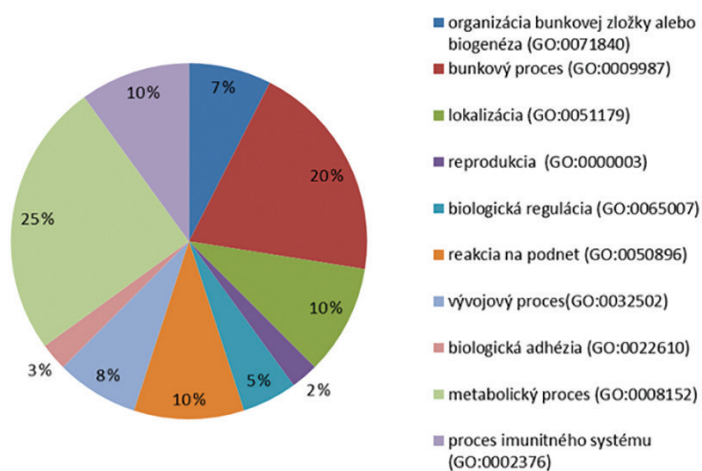
Vekovo špecifický proteín keratín, typ II cytoskeletálny 10, súvisí i so stavom zubnej hmoty, a preto informácia o jeho hladine v slinách by mohla byť asociovaná so vznikom zubného kazu [28].

Expresia proteínu polymerický imunoglobulínový receptor (PIGR), ktorého úloha je transport polymérového IgA a IgM, sa bežne zvyšuje pri reakcii na vírusovú alebo bakteriálnu infekciu; spája sa s vrodenou a získanou imunitou. Bola tiež pozorovaná abnormálna expresia PIGR pri nádoroch, ale jeho klinický význam zatiaľ zostáva neistý [29].

Izolácia exozómov predstavuje napriek dosiahnutým úspechom stále zdĺhavý, nákladný a často nereprodukovateľný proces. Na izoláciu exozómov z rôznych biologických tekutín (vrátane slín) bolo použitých doteraz niekoľko strategických prístupov. Z nich spomenieme napríklad diferenciálnu centrifugáciu [31] a centrifugáciu v hustotnom gradiente, ktorá poskytuje vzorky s vysokou čistotou [32]. Je však pomerne časovo náročná. Ultrafiltračné metódy [33] zas dovoľia pripraviť vzorky, ktoré sú často kontaminované proteínmi, ktoré nie sú vezikulárneho pôvodu. Podobnými nedostatkami trpia i niektoré precipitačné metódy [34]. Pre naše prvotné experimenty sme zvolili lacnú a jednoduchú ultracentrifugačnú metódu. Umožňuje pracovať s veľkými objemami vzorky. Výsledný produkt však môže byť tak isto horšie reprodukovateľný a s nízkou čistotou. V budúcnosti nevyklúčujeme použitie iného spôsobu izolácie vezikúl tak, aby kvalita vzorky bola vyvážená s cenou a časom potrebným na jej prípravu.

ZÁVER

Jednoduchou ultracentrifugačnou metódou boli izolované exozómy z plných nestimulovaných slín a bottom-up proteomickým prístupom bol identifikovaný ich proteínový obsah. Slinné exozómy obsahovali proteíny z rôznych proteínových rodín vrátane troch členov rodiny keratínov, zymogén granulárny proteín 16 homológ B, mucín-5B, oblasti



Graf 3 GO klasifikácia identifikovaných proteínov podľa typu biologických procesov, na ktorých sa podieľajú

Graph 3 GO classification of identified proteins according to the type of biological processes in which they participate

Ig lambda-3 reťazca C, oblasť Ig kapa reťazca C, oblasť Ig alfa-2 reťazca C a oblasť Ig alfa-1 reťazca C, proteín-glutamín γ -glutamyltransferáza E, neutrofil defenzín 1, proteín S100-A8 a ďalšie. Niektoré z nich, resp. ich skupiny, sú považované za možný rizikový faktor spojený s niektorými ochoreniami orálnej dutiny alebo systémových ochorení s prejavmi v ústnej dutine. Kým predchádzajúce štúdie sa opierali predovšetkým o proteomické skúmanie krvi, synoviálnej tekutiny či tkanív izolovaných z rôznych častí ústnej dutiny, nami zvolené slinné vezikuly predstavujú menej komplikovaný systém. Odber vzoriek slín je pomerne jednoduchá a málo nákladná metóda, ktorá by mohla uľahčiť presnú a včasnú diagnostiku niektorých ochorení. Pri zdokonalení metodiky môžu byť exozómy zdrojom diagnostických biomarkerov pre široké spektrum chorôb a môžu nájsť v budúcnosti uplatnenie v diagnostike a terapii rôznych ochorení ústnej dutiny.

Tento výskum sa uskutočnil s podporou Agentúry MŠVVaŠ SR pre štrukturálne fondy EÚ, projekt: ITMS 26220120039 a Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR a SAV, VEGA grant: 1/0196/20.

RNDr. Galina Laputková, CSc.

Ústav lekárskej a klinickej biofyziky
Lekárska fakulta UPJ Šafárika
Trieda SNP 1
040 11 Košice
e-mail: galina.laputkova@upjs.sk

LITERATÚRA

1. Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, Conrad R.

Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1820(7): 940–948.

2. Meldolesi J.

Exosomes and ectosomes in intercellular communication. *Curr Biol*. 2018; 28(8): R435–R444.

3. Zheng X, Chen F, Zhang J, Zhang Q, Lin J.

Exosome analysis: a promising biomarker system with special attention to saliva. *J Membr Biol*. 2014; 247(11): 1129–1136.

4. Keller S, Ridinger J, Rupp AK, Janssen JW, Altevogt P.

Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. *J Transl Med*. 2011; 9: 86.

5. Zlotogorski-Hurvitz A, Dayan D, Chaushu G, Korvala J, Salo T, Sormunen R, Vered M.

Human saliva-derived exosomes: comparing methods of isolation. *J Histochem Cytochem*. 2015; 63(3): 181–189.

6. Zlotogorski-Hurvitz A, Dayan D, Chaushu G, Salo T, Vered M.

Morphological and molecular features of oral fluid-derived exosomes: oral cancer patients versus healthy individuals. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016; 142(1): 101–110.

7. Byun JS, Hong SH, Choi JK, Jung JK, Lee HJ.

Diagnostic profiling of salivary exosomal microRNAs in oral lichen planus patients. *Oral Dis*. 2015; 21(8): 987–993.

8. Katsiogiannis S, Wong DT.

The proteomics of saliva in Sjögren's syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016; 42(3): 449–456.

9. Zheng X, Chen F, Zhang Q, Liu Y, You P, Sun S, Lin J, Chen N.

Salivary exosomal PSMA7: a promising biomarker of inflammatory bowel disease. *Protein Cell*. 2017; 8(9): 686–695.

10. Lau C, Kim Y, Chia D, Spielmann N, Eibl G, Elashoff D, Wei F, Lin YL, Moro A, Grogan T, Chiang S, Feinstein E, Schafer C, Farrell J, Wong DT.

Role of pancreatic cancer-derived exosomes in salivary biomarker development. *J Biol Chem*. 2013; 288(37): 26888–26897.

11. Sun Y, Xia Z, Shang Z, Sun K, Niu X, Qian L, Fan LY, Cao CX, Xiao H.

Facile preparation of salivary extracellular vesicles for cancer proteomics. *Sci Rep*. 2016; 6: 24669.

12. UniProt Consortium.

UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43(Database issue): D204–D212.

13. Sugimoto MA, Vago JP, Teixeira MM, Sousa LP.

Annexin A1 and the resolution of inflammation: modulation of neutrophil recruitment, apoptosis, and clearance. *J Immunol Res*. 2016; 2016: 8239258.

14. Kulhavá L, Eckhardt A, Pataridis S, Bartoš M, Foltán R, Mikšík I.

Differences of saliva composition in relation to tooth decay and gender. *Folia Biol*. 2018; 64(5/6): 195–203.

15. Amiri Dash Atan N, Koushki M, Rezaei Tavirani M, Ahmadi NA.

Protein-protein interaction network analysis of salivary proteomic data in oral cancer cases. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018; 19(6): 1639–1645.

16. Foo SL, Yap G, Cui J, Lim LHK.

Annexin-A1 – A blessing or a curse in cancer? *Trends Mol Med*. 2019; 25(4): 315–327.

17. Jou YJ, Hua CH, Lin CD, Lai CH, Huang SH, Tsai MH, Kao JY, Lin CW.

S100A8 as potential salivary biomarker of oral squamous cell carcinoma using nanoLC-MS/MS. *Clin Chim Acta*. 2014; 436: 121–129.

18. Zhang S, Tian L, Ma P, Sun Q, Zhang K, Guanchao Wang, Liu H, Xu B.

Potential role of differentially expressed lncRNAs in the pathogenesis of oral squamous cell carcinoma. *Arch Oral Biol*. 2015; 60(10): 1581–1587.

19. Dickinson A, Saraswat M, Mäkitie A, Silén R, Hagström J, Haglund C, Joenväärä S, Silén S.

Label-free tissue proteomics can classify oral squamous cell carcinoma from healthy tissue in a stage-specific manner. *Oral Oncol*. 2018; 86: 206–215.

20. Holmström SB, Lira-Junior R, Zwicker S, Majster M, Gustafsson A, Åkerman S, Klinge B, Svensson M, Boström EA.

MMP-12 and S100s in saliva reflect different aspects of periodontal inflammation. *Cytokine*. 2019; 113: 155–161.

21. Dommisch H, Skora P, Hirschfeld J, Olk G, Hildebrandt L, Jepsen S.

The guardians of the periodontium-sequential and differential expression of antimicrobial peptides during gingival inflammation. Results from in vivo and in vitro studies. *J Clin Periodontol*. 2019; 46(3): 276–285.

22. Shin MS, Kim YG, Shin YJ, Ko BJ, Kim S, Kim HD.

Deep sequencing salivary proteins for periodontitis using proteomics. *Clin Oral Investig*. 2019; 23(9): 3571–3580.

23. Grant M, Kilgärd O, Åkerman S, Klinge B, Demmer RT, Malmström J, Jönsson D.

The human salivary antimicrobial peptide profile according to the oral microbiota in health, periodontitis and smoking. *J Innate Immun*. 2019; 11(5): 432–444.

24. Bostanci N, Selevsek N, Wolski W, Grossmann J, Bao K, Wahlander A, Trachsel C, Schlapbach R, Öztürk VÖ, Afacan B, Emingil G, Belibasakis GN.

Targeted proteomics guided by label-free quantitative proteome analysis in saliva reveal transition signatures from health to periodontal disease. *Mol Cell Proteomics*. 2018; 17(7): 1392–1409.

25. Hartenbach FARR, Velasquez É, Nogueira FCS, Domont GB, Ferreira E, Colombo APV.

Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *J Proteomics*. 2020; 213: 103602.

26. Guzeldemir-Akkakanat E, Alkan B, Sunnetci-Akkoyunlu D, Gurel B, Balta VM, Kan B, Akgun E, Yilmaz EB, Baykal AT, Cine N, Olgac V, Gumuslu E, Savli H.

Molecular signatures of chronic periodontitis in gingiva: A genomic and proteomic analysis. *J Periodontol*. 2019; 90(6): 663–673.

27. Hoffmann F, Umbreit C, Krüger T, Pelzel D, Ernst G, Knienmeyer O, Guntinas-Lichius O, Berndt A, von Eggeling F.

Identification of proteomic markers in head and neck cancer using MALDI-MS imaging, LC-MS/MS, and immunohistochemistry. *Proteomics Clin Appl*. 2019; 13(1): e1700173.

28. Wang K, Wang X, Zheng S, Niu Y, Zheng W, Qin X, Li Z, Luo J, Jiang W, Zhou X, Li W, Zhang L.

iTRAQ-based quantitative analysis of age-specific variations in salivary proteome of caries-susceptible individuals. *J Transl Med*. 2018; 16(1): 293.

29. Ai J, Tang Q, Wu Y, Xu Y, Feng T, Zhou R, Chen Y, Gao X, Zhu Q, Yue X, Pan Q, Xu S, Li J, Huang M, Daugherty-Holtrop J, He Y, Xu HE, Fan J, Ding J, Geng M.

The role of polymeric immunoglobulin receptor in inflammation-induced tumor metastasis of human hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2011; 103(22): 1696–1712.

30. Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A.

Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Curr Protoc Cell Biol*. 2006; Chapter 3: Unit 3.22.

31. Skog J, Würdinger T, Van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Curry WT Jr, Carter BS, Krichevsky AM, Breakefield XO.

Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*. 2008; 10(12): 1470–1476.

32. Beyer C, Pisetsky DS.

The role of microparticles in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2010; 6(1): 21–29.

33. Han Y, Jia L, Zheng Y, Li W.

Salivary exosomes: emerging roles in systemic disease. *Int J Biol Sci*. 2018; 14(6): 633–643.

34. Greening DW, Xu R, Ji H, Tauro BJ, Simpson RJ.

A protocol for exosome isolation and characterization: evaluation of ultracentrifugation, density-gradient separation, and immunoaffinity capture methods. *Methods Mol Biol*. 2015; 1295: 179–209.

OŠETŘENÍ KAZU BLÍZKÉHO ZUBNÍ DŘENÍ A METODA ODLOŽENÉ EXKAVACE

Přehledový článek

TREATMENT OF DEEP CARIES LESION AND STEPWISE EXCAVATION TECHNIQUE

Review

Novotná B., Harvan L., Somolová L., Morozova Y., Voborná I.

Klinika zubního lékařství, Lékařská fakulta Palackého univerzity a Fakultní nemocnice, Olomouc

SOUHRN

Úvod a cíl: Sanace kariézní léze patří ve stomatologii již odedávna mezi základní výkony, avšak i v dnešní době stále není zcela jednotný přístup k tomuto ošetření v případě kazu blízkého zubní dření. Existují tři rozdílné techniky ošetření, které mají své výhody i nevýhody, nicméně jejich společným cílem je zachování vitality zubu. První přístup k ošetření je totální exkavace všech kariézních tkání se zhotovením definitivní výplně, druhým způsobem ošetření je selektivní exkavace s ponecháním malého množství změkklých tkání pulpálně a zhotovením definitivní výplně. Třetí technikou je sekvenční exkavace, což znamená dvoudobé ošetření s postupným odstraněním všech kariézních tkání. Toto přehledové sdělení je zaměřeno právě na třetí typ ošetření, tedy na odloženou exkavaci a možnosti provedení s využitím různých remineralizačních materiálů.

Metody: Pro tento přehledový článek byly vyhledány studie v anglickém jazyku za pomoci klíčových slov (kaz blízký dření, odložená exkavace, nepřímé překrytí zubní dřeně, hydroxid vápenatý, skloionomerní cement, kalciumsilikátový cement, kalciumfosfátový cement) a jejich obměnou s cílem shrnout současné poznatky o metodě odložené exkavace a materiálech používaných v této indikaci. Vyhledávalo se v databázích PubMed, Web of Science a Cochrane Library a zdrojích tuzemské literatury. Byly vybrány studie především z časopisů s impakt faktorem a vydaných v rozmezí let 2010 až 2020. Pro hlubší pochopení historického vývoje problematiky byla literatura doplněna i o několik publikací z druhé poloviny minulého století.

Závěr: Ošetření hlubokého kazu se zachováním vitality je v dnešní době velmi diskutované téma a stále není jednotný postup, jak tento výkon provést. Při dvoudobém ošetření jsou k nepřímému překrytí zubní dřeně nejčastěji využívány materiály na bázi hydroxidu vápenatého a skloionomerních cementů. Kalciumfosfátové cementy mají vzhledem ke svým vlastnostem vysoký potenciál využití v této indikaci a zvýšení úspěšnosti ošetření, ale je ještě třeba udělat podrobnější in vitro výzkum a klinické studie.

Klíčová slova: kaz blízký dření, odložená exkavace, nepřímé překrytí zubní dřeně, hydroxid vápenatý,

skloionomerní cement, kalciumsilikátový cement, kalciumfosfátový cement

SUMMARY

Introduction, aim: Treatment of caries lesion has been for a long time one of the basic procedures in dentistry, but even today there is not completely uniform approach to this treatment in case of deep caries lesion near the dental pulp. There are three different techniques that have both advantages and disadvantages; nevertheless their common goal is to maintain the vitality of the tooth. The first approach to treatment is the total excavation of all carious tissues and a definitive filling application. The other method of treatment is the selective excavation with leaving a small area of softened dentin pulpally and application of a permanent filling. The third technique is stepwise excavation, which means two-visit treatment with gradual excavation of all carious tissues. This review article is focused on the third type of the treatment and the possibility of using various remineralization materials.

Methods: For this article, studies in English were searched using key words (deep caries, stepwise excavation, indirect pulp capping, calcium hydroxide, glass ionomer cement, calcium silicate cement, calcium phosphate cement) and their variations in order to summarize current knowledge about stepwise excavation method and materials used in this indication. The search was performed using PubMed, Web of Science and Cochrane Library databases and supplied by sources of Czech literature. Studies were selected mainly from journals with impact factor and published between 2010 and 2020. For the deeper understanding of the historical development of the issue, the literature was supplemented by several publications from the second half of the last century.

Conclusion: The treatment of deep caries lesion with the preservation of vitality is a much discussed topic today and there is still not uniform approach, how to perform this procedure. In case of stepwise excavation, calcium hydroxide-based materials, glass ionomer cements and calcium silicate cements are usually used for indirect pulp capping. Due to their properties, calcium phosphate cements have a high potential for use in this indication

and may increase the success rate of treatment, however more detailed in vitro research and clinical studies are still needed.

Key words: deep caries; stepwise excavation; indirect pulp capping, calcium hydroxide, glassionomer cement, calcium silicate cement, calcium phosphate cement

Novotná B, Harvan L, Somolová L, Morozova Y, Voborná I.
Ošetření kazu blízkého zubní dřeně a metoda odložené exkavace.
Čes stomatol Prakt zubní lék. 2021; 121(3): 83–89. doi: 10.51479/cspzl.2021.011

ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Moderním přístupem v zubním lékařství je minimálně invazivní ošetření a jednou z hlavních priorit je zachování vitality jednotlivých zubů. V případě sanace hlubokého kazu, u které by při tradičním kompletním odstranění kariézního dentinu hrozilo otevření dřeňové dutiny, je možné za určitých podmínek využít selektivní exkavaci (**obr. 1**). V tomto ohledu je v dnešní době velmi populární systematický přístup k ošetření, který v roce 2012 zveřejnili Alleman a Magne. Jedná se o eliminaci většiny kariézních tkání a následné adhezivní zapečetění defektu [1]. Odstraňování kariézních tkání probíhá primárně v periferní zóně (sklovina, dentino-sklovinná hranice), která pro zajištění dostatečně silné adhezivní vazby musí zůstat absolutně čistá. K ověření se používá detekční barvivo. Dále je odstraněn vnější infikovaný dentin, zatímco vnitřní afektovaný dentin barví se lehce růžově je ponechán [1, 2]. Tento postup ošetření předpokládá eliminaci maximálního množství bakterií a omezení aktivity případných zbylých mikroorganismů zapečetěných adhezivem v dentinových tubulech. V případě velmi hlubokého defektu lze ponechat pulpálně i sytější růžový dentin, aby nedošlo k expozici pulpy, popřípadě k poškození. Kavita je následně hermeticky uzavřena pomocí adhezivního systému čtvrté generace a kompozitního materiálu [1]. Z histologických studií však vyplývá, že ponechání byť i malého množství bakterií v dentinu vede k jejich šíření dentinovými tubuly a přetrvání zánětlivých změn v pulpě [3]. Ricucci a kol. ve svých pracích doporučují kompletní exkavaci kariézních tkání bez ohledu na to, jak je defekt hluboký (**obr. 2**). Riziko perforace dřeňové dutiny je sice vyšší, nicméně je-li splněno několik podmínek pro případné přímé překrytí zubní dřeně, je tento druh ošetření pro histologický stav pulpy přínosnější než chronické dráždění při výše zmíněném postupu [3]. Pulpa vždy musí být zdravá nebo pouze reverzibilně změněná. Pokud nastane perforace, dochází ke krvácení, které je zastavitelné maximálně do čtyř minut po aplikaci roztoku 1% chlornanu sodného. Perforace musí mít okraje ve zdra-

vém dentinu a dentinové piliny, vznikající v kavitě při preparaci, se nesmí dostat do kontaktu s pulpou. V opačném případě mohou být zdrojem infekce a vést k selhání ošetření.

Podmínkou úspěchu je izolace ošetřovaného zubu kofferdame, který zajistí aseptické a přehledné pracovní pole umožňující podrobnou vizuální kontrolu. Pro prediktabilitu kompletní exkavace kazu blízkého dřeně a případného přímého překrytí je nezbytné použít operační mikroskop [3]. V dnešní době se k ošetření vyžadujícímu izolaci používá kofferdam, jehož použití se oproti minulosti rozšiřuje, a to zejména mezi mladšími lékaři [4, 5]. Vybavení operačním mikroskopem je doménou spíše specializovaných pracovišť a menší části privátních praxí. Z tohoto důvodu pravděpodobně nebude pro většinu praktických zubních lékařů v běžném provozu zmíněné řešení hlubokého kazu snadno realizovatelné a bez adekvátního zvětšení může výrazně klesat jeho úspěšnost.

Jako vhodné řešení pro běžné praxe se nabízí další typ ošetření, který se zdá být kompromisem mezi selektivní exkavací s definitivní výplní a totální exkavací se zvýšeným rizikem expozice pulpy. Jedná se o sekvenční odstranění kazu (**obr. 3**), tedy dvoudobé ošetření, jehož princip je znám již z počátku 20. století [6, 7].

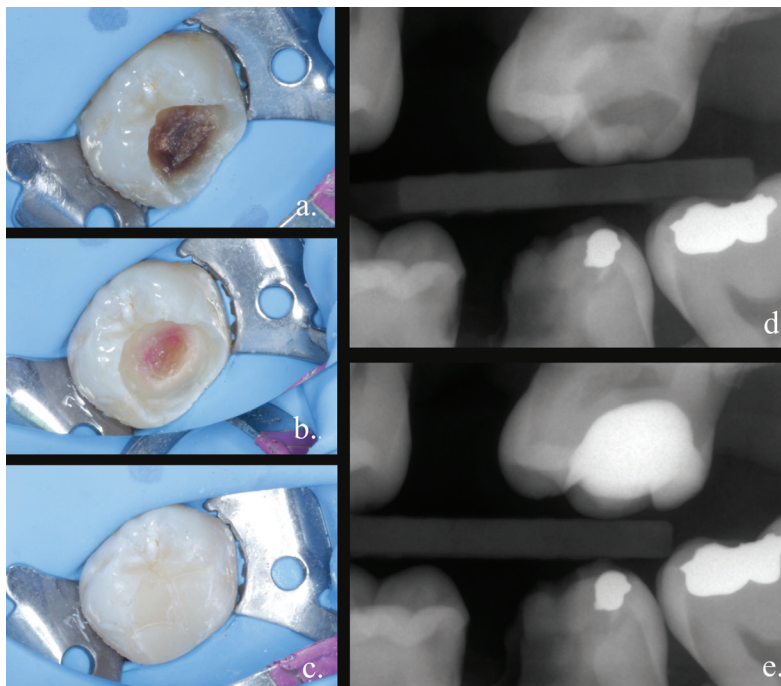
SEKVENČNÍ EXKAVACE A NEPŘÍMÉ PŘEKRYTÍ ZUBNÍ DŘENĚ

Sekvenční exkavace (dvouetapová, intermitentní, odložená exkavace, v angl. stepwise excavation) kariézních tkání je prediktabilní typ ošetření kazu blízkého dřeně se zachováním vitality pulpy [6, 8]. První část ošetření je zaměřena na změnu prostředí na hranici kazu a dentinu a umožnění následné tvorby terciárního dentinu [9, 10]. Prvním krokem je tedy odstranění většiny nekrotických kariézních tkání infikovaného dentinu, který obsahuje denaturovaná kolagenní vlákna a velké množství bakterií [2]. Postup preparace je obdobný jako u ostatních typů ošetření. Primárně je otevřena kavita tak, aby okraje zasahovaly

do zdravé skloviny, aby byla očištěna dentino-sklovinná hranice, odstraněn nekrotický dentin, pulpálně je ponechána malá oblast změkklého afektovaného dentinu [8]. Kavita může být dezinfikována 2% roztokem chlorhexidinu, což je považováno za zlatý standard, nebo účinnějším 1–5% roztokem chlornanu sodného [11]. Roztoky se však v kavitě nesmí smíchat, aby nedošlo ke vzniku karcinogenního precipitátu – parachloranilinu [12]. Následně je zvolen materiál a zhotovena provizorní výplň. Pacient odchází z ordinace poučen o provedeném typu ošetření, o předpokládaném pooperačním průběhu, případných komplikacích a nutnosti průběžných kontrol vitality zubu. Další návštěva běžně probíhá po šesti až dvanácti měsících, možná i dříve. Leksell a kol. uvádějí možnost provedení definitivního ošetření již po osmi týdnech [13]. Ve druhé fázi ošetření očekáváme změnu charakteru kazu z aktivního na zastavený. Po odstranění provizorní výplně je dokončena exkavace, poté identifikujeme změnu tvrdých zubních tkání z původně změkklého probarveného a matného povrchu na tmavý, lesklý a především tvrdý dentin [9, 14, 15]. Ošetření je završeno zhotovením definitivní kompozitní výplně.

PODMÍNKY ÚSPĚŠNÉHO OŠETŘENÍ

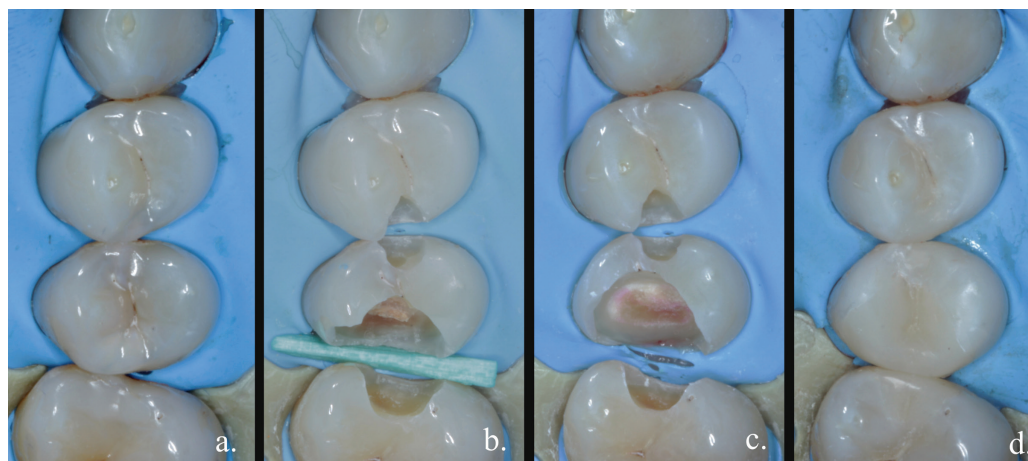
Úspěšnost sekvenční exkavace závisí na několika faktorech, konkrétně na stavu pulpy, rozsahu afektovaného dentinu a volbě vhodného výplňového materiálu. Vzhledem k prvnímu zmíněnému kritériu je přístupováno k tomuto typu ošetření především u mladých pacientů do třiceti let, jelikož očekáváme vyšší regenerační potenciál a tvorbu terciárního dentinu [16]. Zub musí být asymptomatický, maximálně s projevy reverzibilních změn. Zjišťujeme zvýšenou reakci na chladové podněty, která do několika sekund odeznívá, chybí zde intervaly



Obr. 1
Selektivní exkavace;
a. otevření kariézního ložiska,
b. dokončení preparace – po obarvení detekčním barvivem,
c. definitivní výplň,
d. výchozí RTG,
e. RTG po ošetření

spontánní bolesti. Na rentgenovém snímku je zřejmý hluboký zubní kaz, jinak by měl být snímek bez dalších patologických změn ošetřovaného zubu [17]. Dalším faktorem ovlivňujícím úspěšnost ošetření je kvalita dentinu v defektu. Axiální stěny a gingivální schůdek při ošetření vždy musí sestávat z tvrdého nekariézního dentinu. Pulpálně se nachází afektovaný dentin, který je výrazně měkčí než zdravý dentin, obsahuje však neporušená kolagenní vlákna, a je tedy schopný remineralizace [18, 19]. Afektovaný dentin je možné v kavitě ponechat. Plocha ponechaného změkklého dentinu by měla být co nejmenší. Hlavní nevýhodou tohoto ošetření je, že neexistuje jednoznačné rozhodovací kritérium, jak hluboko v preparaci pokračovat a kolik afektovaného dentinu ponechat. Záleží zejména na zkušenostech lékaře. Použití detekčního barviva může do určité míry

Fig. 1
Selective excavation;
a. opening of the carious lesion,
b. finishing the preparation – after staining,
c. permanent filling,
d. X-ray before the preparation,
e. X-ray after the treatment



Obr. 2
Totální exkavace;
a. výchozí stav,
b. otevření kariézního ložiska,
c. dokončení preparace – po obarvení detekčním barvivem,
d. definitivní výplň

Fig. 2
Total excavation;
a. before treatment,
b. opening of the carious lesion,
c. finishing the preparation – after staining,
d. permanent filling

pomoci, avšak u hlubokých lézí není spolehlivé, především při opakované aplikaci udává falešně pozitivní výsledek. Další podmínkou úspěšného dvoukrokového ošetření je spolupráce pacienta, ať už se jedná o kvalitu ústní hygieny, nebo o dodržování termínů kontrolních návštěv. V neposlední řadě je nutné zvolit vhodný podložkový, popřípadě výplňový materiál.

Druhou důležitou nevýhodou odložené exkavace je skutečnost, že při ošetření nelze přímo zjistit stav zubní dřeně. V případě ireverzibilní chronické pulpitydy není ihned zjištěno, že zubní dřeň je již nevratně poškozena a je indikován jiný způsob ošetření. Tento faktor snižuje úspěšnost odložené exkavace i jednorázové selektivní exkavace.

POŽADAVKY NA MATERIÁL PŘI DVOUFÁZOVÉM OŠETŘENÍ

Účelem první části ošetření je minimalizovat množství bakterií, převést kaz z akutní do chronické fáze, a tím vytvořit vhodnější podmínky pro pulpu k tvorbě terciárního dentinu [9, 10]. Tyto principy můžeme podpořit aplikací vhodného provizorního materiálu. Ideální prostředek by tedy měl mít antibakteriální vlastnosti, schopnost remineralizace změkčlého dentinu a indukce tvorby terciárního dentinu. Dále mezi požadované atributy pa-

tří dostatečný okrajový uzávěr, rentgenkontrastnost a barevný odstín odlišný od tvrdých zubních tkání pro následné přehlednější odstraňování z kavity.

V dnešní době je již k dispozici větší množství různých materiálů, které splňují dané požadavky různou měrou. Patří mezi ně materiály na bázi hydroxidu vápenatého, skloionomerní cementy, kalciumsilikátové cementy, kalciumfosfátové materiály a historicky také zinkoxideugenolový cement.

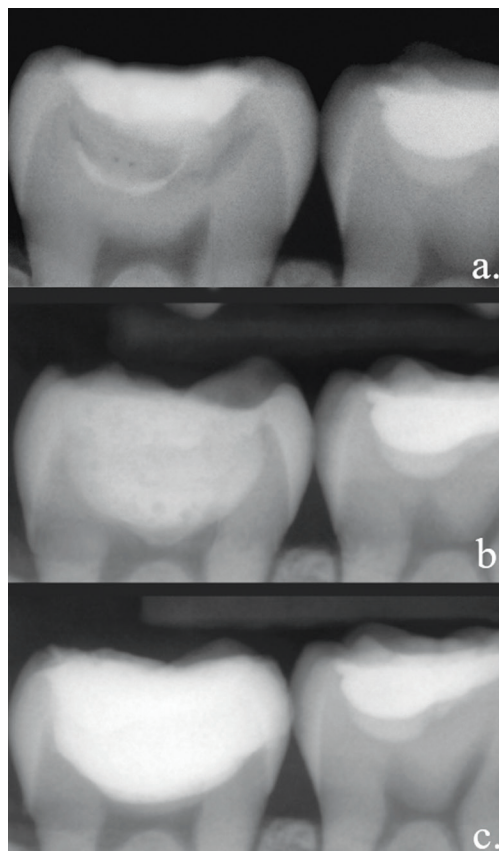
VHODNÉ VÝPLŇOVÉ MATERIÁLY

Zinkoxideugenolový cement

Tento provizorní materiál byl dříve často využíván díky svým výhodným vlastnostem, mezi které patří především analgetické, protizánětlivé a antimikrobiální účinky, dále také nízká cena a relativně dobrá aplikovatelnost [20]. Nevýhodou zinkoxideugenolového cementu je možná alergická nebo cytotoxická reakce, tyto komplikace jsou však typické především pro užití materiálu jako sealeru v endodoncii [21]. Cement vzniká smícháním prášku oxidu zinečnatého a tekutiny obsahující eugenol. Vzniklý chelát eugenolátu zinečnatého se ve vodném prostředí dentinových tubulů rozkládá na hydroxid zinečnatý a eugenol, který může do dentinových tubulů penetrovat, reagovat s volnými radikály kompozitních materiálů, a tím snižovat pevnost vazby adhezivního systému na dentin [20, 22]. Proto není doporučován ve spojení se zhotovením kompozitních rekonstrukcí a v indikaci odložené exkavace byl převážně překonán novějšími materiály.

Materiály na bázi hydroxidu vápenatého

Hydroxid vápenatý a materiály na jeho bázi jsou v zubním lékařství používány již od 20. let minulého století [23]. Jsou uplatňovány v mnoha indikacích, v oblasti nepřímého překrytí je dodnes považujeme za zlatý standard [24]. Hydroxid vápenatý je silně zásaditý bílý prášek (pH 12,5–12,8). V kontaktu s vodou disociuje na hydroxylové a vápenaté ionty. Hydroxylové skupiny zajišťují vysoké pH materiálu, tím se podílejí na neutralizaci kyselých zánětlivých produktů a na antibakteriální aktivitě. Vápenaté ionty jsou součástí remineralizačního procesu a pravděpodobně i indukce tvorby terciárního dentinu [25, 26]. Vodní suspenze, jakožto netuhnoucí materiál s výrazně nízkou pevností v tlaku a vysokou rozpustností, není vzhledem k těmto vlastnostem ideálním materiálem pro nepřímé překrytí pulpy. Jsou proto doporučová-



Obr. 3
Dvouetapové ošetření hlubokého kazu;
a. výchozí stav,
b. provizorní výplň k remineralizaci,
c. definitivní výplň

Fig. 3
Stepwise excavation;
a. before treatment,
b. temporary filling – for remineralization,
c. permanent filling

ny upravené chemicky tuhnoucí podložkové materiály s příměsí esteru kyseliny salicylové (tzv. kalciumsalicylátové cementy), jejichž disociační schopnost je dostatečná, popřípadě kombinované chemicky a světlem tuhnoucí cementy s příměsí esteru kyseliny salicylové a uretanmetakrylátu. Tento typ materiálu má nižší schopnost disociace na ionty, vykazuje však výrazně lepší fyzikální vlastnosti než výše zmíněné materiály [26, 27].

Skoionomerní cementy

Skoionomerní neboli sklopolyalkenoátový cement je materiál vytvořený na konci 70. let minulého století, jehož základním složením jsou organické kyseliny, anorganické skelné částice obsahující fluor, hliník a křemík a voda [28, 29]. Tuhnutí probíhá acidobazickou reakcí a následná chemická adheze k tvrdým zubním tkáním je zprostředkována iontovou vazbou mezi fosfátovou skupinou hydroxyapatitu v tvrdých zubních tkáních a karboxylovou skupinou kyselin. Pozitivní vlastností je teplotní roztažnost podobná dentinu, a především sklovině, dále přítomnost fluoridových iontů, která zajišťuje jak antibakteriální schopnost materiálu, tak také možnost remineralizace. Nevýhodou je obecně nízká pevnost a mechanická odolnost. Produkty jednotlivých výrobců se ve svém přesném složení liší, což také znamená do značné míry rozdílné mechanické i chemické vlastnosti [30, 31]. Velikost skelných částic určuje dobu tuhnutí, odolnost vůči tlaku a také ovlivňuje míru uvolňování fluoridových iontů [32]. Příměs například nanočástic titanu zvyšuje pevnost v ohybu, tlaku a antibakteriální schopnost materiálu [33]. Částice hydroxyapatitu mohou zvyšovat pevnost v ohybu a uvolňování fluoridových iontů [34]. Materiály označované jako karbomerní cementy mají skoionomerní základ s obsahem nanočástic fluorapatitu. Podobají se mechanickými vlastnostmi modifikovaným skoionomerním cementům, avšak míru uvolňování fluoridů mají vyšší, obdobně jako konvenční skoionomerní cementy. Jejich využití v rámci remineralizace vyžaduje další výzkum [35].

Kalciumsilikátové cementy

Kalciumsilikátové cementy byly poprvé popsány v 90. letech minulého století, jako materiály vhodné k uzavírání perforací vzniklých při endodontickém ošetření. Indikační spektrum se v průběhu let významně rozšířilo, stejně tak i nabídka různě upravených typů materiálů [36]. Základem pro všechny kalciumsilikátové cementy je portlandský

cement nebo jeho jednotlivé složky (trikalciumsilikát, dikalciumsilikát a trikalciumaluminát) [37]. Dále je součástí oxid bismutitý, zirkoničitý nebo tantaličný zajišťující různou rentgenkontrastnost materiálu a další aditiva upravující mechanické vlastnosti [36, 38]. Výhodou této skupiny cementů je reakce s vodou při tuhnutí, což ve srovnání s jinými dentálními materiály umožňuje jejich ztuhnutí i ve vlhkém prostředí [39]. Mezi další pozitiva patří reakce materiálu s dentinem s tvorbou specifické mezivrstvy (angl. interfacial layer), expanze při tuhnutí, minimální rozpustnost, postupné zlepšování mechanických vlastností v delším časovém úseku (zrání neboli maturace cementu). Hlavní nevýhodou je u některých starších materiálů z této skupiny tendence k dyskoloracím a relativně vysoká cena [36, 40]. Pokud jde o biologické vlastnosti, jedná se o materiály vysoce biokompatibilní, schopné stimulovat mineralizaci tvrdých zubních tkání a proliferaci kmenových buněk. Vzhledem k produkci hydroxidu vápenatého při tuhnutí vykazují antimikrobiální a antifungální účinky [41, 42].

Kalciumfosfátové cementy

Kalciumfosfátové cementy byly vyrobeny již v roce 1980. Od té doby byly v různých úpravách a složení zkoumány a nyní jsou díky svým vlastnostem běžně používány především v oblasti kostní regenerace v ortopedii, ale i v oblastech zubního lékařství. Jedná se o skupinu materiálů obsahujících v různé míře vápenaté kationty spolu s fosfátovými anionty, případně i skupiny H^+ a OH^- a další příměsi (chitosan, alginát, stroncium apod.) [43, 44, 45]. Vlastnosti materiálu závisí na velikosti částic, poměru jednotlivých složek a mísícím poměru prášek/tekutina [46]. Společným rysem všech materiálů této skupiny je biokompatibilita, osteointegrita a osteokonduktivita, dále dobrá aplikovatelnost a tuhnutí při tělesné teplotě [44, 46]. Bylo prokázáno, že cementy obsahující kalcium fosfát podporují také remineralizaci dentinu, který následně odpovídá zdravému dentinu [47]. V této indikaci je zmiňována nejvíce prověřená směs tetra-kalcium fosfátu a kyselého dikalcium fosfátu – monetitu [48]. Její konečné tuhnutí probíhá acidobazickou reakcí v průběhu 24 hodin za vzniku kalcium-deficientního hydroxyapatitu (poměr $Ca^{2+}/(PO_4)^{3-}$ je v rozmezí 1,5–1,67) [46]. Vykazuje také výrazně vyšší antimikrobiální účinky než běžně používaný hydroxid vápenatý [45, 49]. Tento materiál je však zatím v indikaci odložené exkavace předmětem dalšího podrobnějšího výzkumu.

ZÁVĚR

Ač je sanace kariézních defektů jedním z nejčastějších stomatologických výkonů, je způsob ošetření hlubokého kazu i v dnešní době stále kontroverzní téma, neboť existuje více značně odlišných přístupů k ošetření. Na jedné straně kompletní exkavace, která se zdá být histologicky nejvhodnějším typem ošetření, avšak s rizikem obnažení pulpy. To lze brát do určité míry i jako výhodu, neboť umožní ověřit, zda je poškození zubní dřeně kazem reverzibilní či ire-

verzibilní. Na straně druhé je selektivní exkavace s ponecháním malého množství kariézních tkání s adhezivním uzávěrem a na závěr jako kompromisní řešení mezi oběma zmíněnými je metoda odložené exkavace. Podle dostupných studií selektivní i odložená exkavace redukuje riziko expozice pulpy oproti totálnímu odstranění kariézních tkání [50]. Částečná exkavace s definitivní výplní má menší riziko vzniku pulpálních komplikací oproti sekvenčnímu ošetření [10, 51]. Avšak po úspěšném dokonče-

LITERATURA

1. Alleman DS, Magne P.

A systematic approach to deep caries removal end points: the peripheral seal concept in adhesive dentistry. *Quintessence Int.* 2012; 43(3): 197–208.

2. Fusayama T, Terachima S.

Differentiation of two layers of carious dentin by staining. *J Dent Res.* 1972; 51(3): 866.

3. Ricucci D, Siqueira JF, Li Y, Tay FR.

Vital pulp therapy: histopathology and histobacteriology-based guidelines to treat teeth with deep caries and pulp exposure. *J Dent.* 2019; 86: 41–52.

4. Kapitán M, Sustová Z.

The use of rubber dam among Czech dental practitioners. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2011; 54(4): 144–148.

5. Morozova Y, Mišová E, Holík P, Voborná I.

Názor pacientů a souboru zubních lékařů mladší věkové kategorie na ošetření s použitím koferdamu. *Čes stomatol Prakt zubní lék.* 2019; 2: 36–43.

6. Bjørndal L.

Indirect pulp therapy and stepwise excavation. *Pediatr Dent.* 2008; 30: 225–229.

7. Bodecker CF.

Histologic evidence of the benefits of temporary fillings and the successful pulp capping of deciduous teeth. *J Am Dent Assoc Dent Cosm.* 1938; 25(5): 777–788.

8. Hayashi M, Fujitani M, Yamaki C, Momoi Y.

Ways of enhancing pulp preservation by stepwise excavation – A systematic review. *J Dent.* 2011; 39(2): 95–107.

9. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF.

Management of deep caries and the exposed pulp. *Int Endod J.* 2019; 52(7): 949–973.

10. Hoefler V, Nagaoka H, Miller CS.

Long-term survival and vitality outcomes of permanent teeth following deep caries treatment with step-wise and partial-caries-removal: A systematic review. *J Dent.* 2016; 54: 25–32.

11. Hamama HH, Yiu CK, Burrow MF.

Viability of intratubular bacteria after chemomechanical caries removal. *J Endod.* 2014; 40(12): 2036–2040.

12. Kolosowski KP, Sodhi RNS, Kishen A, Basrani BR.

Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. *J Endod.* 2014; 40(12): 2036–2040.

13. Leksell E, Ridell K, Cvek M, Mejare I.

Pulp exposure after stepwise versus direct complete excavation of deep carious lesions in young posterior permanent teeth. *Dent Traumatol.* 1996; 12(4): 192–196.

14. Bjørndal L, Reit C, Bruun G, Markvart M, Kjældgaard M, Näsman P, et al.

Treatment of deep caries lesions in adults: randomized clinical trials comparing stepwise vs. direct complete excavation, and direct pulp capping vs. partial pulpotomy. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118(3): 290–297.

15. Corralo DJ, Maltz M.

Clinical and ultrastructural effects of different liners/restorative materials on deep carious dentin: A randomized clinical trial. *Caries Res.* 2013; 47(3): 243–250.

16. Pashley DH, Walton RE, Slavkin HC.

Histology and physiology of the dental pulp. *Endodontics.* 2002; 25–61.

17. Abbott PV, Yu C.

A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J.* 2007; 52(1 Suppl.): 17–31.

18. Joves GJ, Inoue G, Sadr A, Nikaido T, Tagami J.

Nanoindentation hardness of intertubular dentin in sound, demineralized and natural caries-affected dentin. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2014; 32: 39–45.

19. Kato S, Fusayama T.

Recalcification of artificially decalcified dentin in vivo. *J Dent Res.* 1970; 49(5): 1060–1067.

20. Koch T, Peutzfeldt A, Malinovsky V, Flury S, Häner R, Lussi A.

Temporary zinc oxide-eugenol cement: eugenol quantity in dentin and bond strength of resin composite. *Eur J Oral Sci.* 2013; 121(4): 363–369.

21. Syed M, Chopra R, Sachdev V.

Allergic reactions to dental materials – a systematic review. *J Clin Diagnostic Res.* 2015; 9(10): ZE04–ZE09.

22. Ribeiro JCV, Coelho PG, Janal MN, Silva NRFA, Monteiro AJ, Fernandes CAO.

The influence of temporary cements on dental adhesive systems for luting cementation. *J Dent.* 2011; 39(3): 255–262.

23. Hermann BW.

Calciumhydroxyd als Mittel zum Behandein und Füllen von Zahnwurzelkanalen. *Univ Wurzburg Med Diss.* 1920.

24. Huang XQ, Camba J, Gu LS, Bergeron BE, Ricucci D, Pashley DH, et al.

Mechanism of bioactive molecular extraction from mineralized dentin by calcium hydroxide and tricalcium silicate cement. *Dent Mater.* 2018; 34(2): 317–330.

25. Sangwan P, Sangwan A, Duhan J, Rohilla A.

Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: A review of proposed mechanisms. *Int Endod J.* 2013; 46(1): 3–19.

26. Farhad A, Mohammadi Z.

Calcium hydroxide: A review. *Int Dent J.* 2005; 55(5): 293–301.

ní ošetření technikou odložené exkavace je stav pulpy srovnatelný s kompletní exkavací [50]. Dalšími faktory, zda po ošetření zůstane vitalita zachována či nikoliv, jsou kvalita zhotovené výplně a její případné selhání a v neposlední řadě schopnosti, zkušenosti a vybavení ošetřujícího lékaře. Důležitě je, zda po ošetření zůstane vitalita pulpy zachována, či nikoliv. Sekvenční odstranění kazu je proto i nyní aktuální téma a pro zlepšení dlouhodobých výsledků jsou stále vyvíjeny a upravovány remineralizační ma-

teriály. Ty jsou však předmětem dalšího výzkumu a klinických studií.

Tato práce vznikla za podpory grantového projektu LF UPOL číslo IGA_LF_2021_037.

MDDr. Barbora Novotná

Klinika zubního lékařství LF UP a FN
Palackého 12
772 00 Olomouc
e-mail: novotnaba@seznam.cz

27. Minčík J, Šatanková M, Alexejenko M, Novotný R, Stošek M, Svoboda D.

Ošetření dentinové rány. In: Kariologie. 1. vydání. Praha: StomaTeam; 2014, 129–132.

28. Sidhu S, Nicholson J.

A review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. J Funct Biomater. 2016; 7(3): 16.

29. McLean JW, Wilson AD.

The clinical development of the glass-ionomer cements. I. Formulations and properties. Aust Dent J. 1977; 22(1): 31–36.

30. Lohbauer U.

Dental glass ionomer cements as permanent filling materials? Properties, limitations and future trends. Materials (Basel). 2010; 3(1): 76–96.

31. Sidhu SK.

Glass-ionomer cement restorative materials: A sticky subject? Aust Dent J. 2011; 56(Suppl. 1): 23–30.

32. De Caluwé T, Vercruyse CWJ, Fraeyman S, Verbeeck RMH.

The influence of particle size and fluoride content of aluminosilicate glass on the glass ionomer cement properties. Dent Mater. 2014; 30(9): 1029–1038.

33. Garcia-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Sakagami H, Morales-Luckie RA, Nakajima H.

Mechanical, antibacterial and bond strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. J Appl Oral Sci. 2015; 23(3): 321–328.

34. Arita K, Yamamoto A, Shinonaga Y, Harada K, Abe Y, Nakagawa K, et al.

Hydroxyapatite particle characteristics influence the enhancement of the mechanical and chemical properties of conventional restorative glass ionomer cement. Dent Mater J. 2011; 30(5): 672–683.

35. Menne-Happ U, Ilie N.

Effect of gloss and heat on the mechanical behaviour of a glass carbomer cement. J Dent. 2013; 41(3): 223–230.

36. Žižka R, Šedý J, Škrdlant J, Kučera P, Čtvrtlík R, Tomáščík J.

Kalciumsilikátové cementy. 1. část: Vlastnosti a rozdělení. LKS. 2018; 28(2): 37–43.

37. Dawood AE, Parashos P, Wong RHK, Reynolds EC, Manton DJ.

Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. J Investig Clin Dent. 2017; 8(2): 1–15.

38. Camilleri J, Gandolfi MG.

Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. Int Endod J. 2010; 43(1): 21–30.

39. Prati C, Gandolfi MG.

Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. Dent Mater. 2015; 31(4): 351–370.

40. Parirokh M, Torabinejad M.

Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review – Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. J Endod. 2010; 36(3): 400–413.

41. Parirokh M, Torabinejad M.

Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review – Part I: Chemical, physical, and antibacterial properties. J Endod. 2010; 36(1): 16–27.

42. Torabinejad M, Parirokh M.

Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review – Part II: Leakage and biocompatibility investigations. J Endod. 2010; 36(2): 190–202.

43. Zhang J, Liu W, Schnitzler V, Tancret F, Bouler JM.

Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties. Acta Biomater. 2014; 10(3): 1035–1049.

44. Eliaz N, Metoki N.

Calcium phosphate bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. Materials (Basel). 2017; 10(4).

45. Jayasree R, Kumar TSS, Mahalaxmi S, Abburi S, Rubaiya Y, Doble M.

Dentin remineralizing ability and enhanced antibacterial activity of strontium and hydroxyl ion co-releasing radiopaque hydroxyapatite cement. J Mater Sci Mater Med. 2017; 28(6).

46. Medvecký L, Giretova M, Sopčák T.

Preparation and properties of tetracalcium phosphate-monetite biocement. Mater Lett. 2013; 100: 137–140.

47. Peters MC, Bresciani E, Barata TJE, Fagundes TC, Navarro RL, Navarro MFL, et al.

In vivo dentin remineralization by calcium-phosphate cement. J Dent Res. 2010; 89(3): 286–291.

48. Medvecký L, Stulajterová R, Giretova M, Mincik J, Vojtko M, Balko J, et al.

Effect of tetracalcium phosphate/monetite toothpaste on dentin remineralization and tubule occlusion in vitro. Dent Mater. 2018; 34(3): 442–451.

49. Medvecký L, Giretova M, Stulajterová R, Kasiarova M.

Effect of microstructure characteristics on tetracalcium phosphate-nanomonetite cement in vitro cytotoxicity. Biomed Mater. 2015; 10(2).

50. Ricketts D, Lamont T, Innes NPT, Kidd E, Clarkson JE.

Operative caries management in adults and children. Cochrane database Syst Rev. 2013;(3):CD003808.

51. Schwendicke F, Meyer-Lueckel H, Dörfer C, Paris S.

Failure of incompletely excavated teeth – A systematic review. J Dent. 2013; 41(7): 569–580.

SBORNÍK ABSTRAKTŮ KONFERENCE ÚSMĚV 021

Dne 26. 3. 2021 se na Klinice zubního lékařství LF UP v Olomouci prostřednictvím online vysílání konal 13. ročník tradiční konference stomatologů „Úsměv 021“.

Zaměřena byla především na prezentace postgraduálních studentů a mladých lékařů.

Hlavní témata letošní konference byla: 1. Konziliární stomatologické vyšetření;

2. Onkologická problematika v ordinaci zubního lékaře; 3. Polytematika.

Prezentovány byly práce jak autorů z domácího pracoviště, tak i z dalších pracovišť České a Slovenské republiky. Jako posluchači se konference zúčastnili lékaři a dentální hygienistky z různých míst České republiky, ale také studenti zubního lékařství.

Celý organizační tým děkuje všem zúčastněným a těší se na setkání v Olomouci u příležitosti konference Úsměv 022.

Vědecký sekretář konference
Stomatolog Yuliya Morozova, Ph.D.

KONZILIÁRNÍ STOMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ ANEB FOKUSY

Slezák R.

Stomatologická klinika LF UK a FN, Hradec Králové

Předmět sdělení: Konziliární stomatologické vyšetření je vyžadováno lékaři různých odborností z různých nemocničních a ambulantních pracovišť. Požadavky, jež mohou být kladeny na praktické zubní lékaře jakéhokoli odborného zaměření, lze rozdělit na obecné a specifické. Obecné požadavky se většinou týkají diagnostiky a léčby nejrůznějších afekcí v dutině ústní – postižení zubů, parodontu, ústní sliznice, slinných žláz včetně salivace, čelistního kloubu, nádorů, úrazů a zánětů v dutině ústní apod. Za specifické lze považovat požadavky obvykle nepřesně definované jako „vyšetření fokusů dentálního původu“. V současné terminologii hovoříme spíše o konziliárním stomatologickém vyšetření, požadovaném lékařem jiné odbornosti z určitého důvodu.

Dvě základní skupiny pacientů přicházejících k zubním lékařům s těmito požadavky tvoří (i) jedinci ohrožení komplikacemi plynoucími ze vzniku bakteriémie orálního původu (např. septické stavy, infekční endokarditida, mozkový absces) a (ii) jedinci ohrožení komplikacemi plynoucími ze stavu chrupu, který, není-li dobrý, může komplikovat základní chorobu a její léčbu v přítomnosti či budoucnosti (např. onkologické, hematologické a osteologické choroby). Tyto dvě základní situace nelze v současnosti směřovat, jejich řešení vyžaduje dosti odlišný přístup. Vždy je však zapotřebí získat dostatek informací o celkovém zdravotním stavu pacienta, jeho současné a plánované budoucí léčbě, a provést podrobné stomatologické vyšetření doplněné vyšetřením rentgenovým. Na základě vyhodnocení všech těchto informací podá poučený stomatolog odesílajícímu lékaři zprávu o výsledcích vyšetření a uvede je do vztahu k pacientovu celkovému zdravotnímu stavu, včetně návrhu řešení problémů, které byly při vyšetření zjiště-

ny. Názory na rozsah péče plynoucí z těchto nálezů se během doby mění, zřetelný je zejména požadavek na ústup od nadbytečné radikality těchto „sanací“. Realizace potřebného ošetření může být velice snadná, ale také náročná, obtížná, i dnes dosti často ústící v mnohočetné extrakce zubů. Může být negativně ovlivněna nedostatkem času potřebného k rozsáhlejšímu ošetření zubů a parodontu, základní chorobou a její léčbou a mnoha dalšími faktory.

Závěr: Počet pacientů, u nichž jsou tato vyšetření vyžadována, trvale narůstá. Zůstává otevřenou otázkou, zda současný praktický zubní lékař nemající na rozdíl od lékařů jiných odborností možnost oficiálního specializačního (atestačního) vzdělávání, je vybaven dostatkem recentních vědomostí potřebných ke korektnímu hodnocení těchto stavů, zejména po stránce diagnostické. Sdělení doprovází demonstrace některých typických situací řešených v poslední době na pracovišti autora.

CÍL LÉČBY PARODONTITIDY

Hromčík F.

Stomatologická klinika LF MU a FN u svaté Anny, Brno

Předmět sdělení: Za cíl léčby parodontitidy je považován stav, kdy není přítomno postižení furkace a viklavosti vyšší než jeden stupeň. Hloubka sondáže dosahuje nejvyšší hodnoty pět milimetrů na maximálně čtyřech místech, přitom BOP (index krvácení po sondování) je ve všech kapsách negativní. Postulát vychází ze statistického hodnocení prognózy

léčby zubů s různým postižením parodontu. Znalost léčby je vhodné zohlednit už při vstupním vyšetření a usměrňovat ne- chirurgické i chirurgické léčebné kroky tak, aby byl cíl co možná rychle naplněn. Vedle klinických cílů je nutné vzít v úvahu také aspekt mikrobiologický, psychologický, finanční a organizační. Jejich prolínáním vzniká dokonalý léčebný plán.

REMINERALIZAČNÍ MATERIÁLY POUŽÍVANÉ V INDIKACI SEKVENČNÍ EXKAVACE

Novotná B., Harvan L¹., Somolová L., Holík P.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

Předmět sdělení: Ač je ošetření kazu blízkého zubní dřeni i v dnešní době velmi aktuální téma, stále není zcela jednotný přístup, jak ošetření ideálně provést. Existují tři zcela odlišné techniky, jejichž společným cílem je zachování vitality daného zubu. První technikou je totální exkavace, kdy je z kavity odstraněn všechen kariózní dentin a zhotovena definitivní rekonstrukce/výplň. Druhou technikou je selektivní exkavace, kdy se odstraní kariózní dentin především z periferních částí kavity. Na pulpální straně může být změkklý dentin ponechán. Defekt je ihned adhezivně uzavřen kompozitní výplní. Posledním typem ošetření je metoda sekvenční neboli odložené exkavace. Ošetření probíhá ve dvou etapách. V první je odstraněno největší množství kariózních tkání, pulpálně zůstává tenká vrstvička afektovaného dentinu. Je aplikován remineralizační materiál s pro-

vizorní výplní. Druhá fáze ošetření následuje po několika měsících. Za tuto dobu dojde ke tvorbě terciárního dentinu a remineralizaci změkklé vrstvy dentinu na pulpální straně. Tato skutečnost výrazně snižuje riziko vzniku perforace při dokončení exkavace. Je tedy možné odstranit všechny zbytkové kariózní tkáně a zhotovit definitivní výplň.

V našem sdělení přehledně seznamujeme s jednotlivými typy ošetření kazu blízkého zubní dřeni, s podmínkami, pracovními postupy a jejich rozdíly u jednotlivých metod a s jejich výhodami i nevýhodami. Dále představujeme přehled v dnešní době dlouhodobě používaných i nových remineralizačních materiálů užívaných v indikaci ošetření hlubokého kazu.

Tato práce vznikla za podpory grantového projektu č. IGA_LF_2021_037.

UNICONE PLUS VS. UNICONE – PŘEDČÍ NOVINKA SVÉHO PŘEDCHŮDCE?

Jusku A.¹, Malohlava J.², Harvan L¹ .¹

¹Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

²Ústav lékařské biofyziky a Ústav molekulární a translační medicíny LF UP, Olomouc

Úvod a cíl práce: Jednou z možných proceduálních komplikací je separace nástroje v průběhu opracování kořenového systému. V současnosti se přisuzuje největší výskyt fraktur nástrojů v kořenovém systému plastickým deformacím materiálu, které vznikají opakovaným zatěžováním v místech napětí.

Cílem naší práce bylo porovnat množství cyklů vedoucí k selhání nového nástroje českého výrobce Unicone Plus (Medin a.s., Nové Město na Moravě, Česká republika) s jeho předchůdcem Unicone (Medin a.s., Nové Město na Moravě, Česká republika), a tím objektivně zhodnotit technologický vývoj jediného tuzemského výrobce.

Metodika: K testu cyklické únavy bylo vybráno dvacet kusů nástrojů každého systému s identickým apikálním průměrem, které se využívají pro stejný krok endodontického ošetření. Pro tento typ testu bylo zkonstruováno speciální zařízení, které je složeno ze dvou částí, stabilního držáku pro uchycení kolénka endomotoru a bločku s make-tou kořenového kanálku z nerezové oceli. Umělý kanálek má zakřivení 60° s pětimilimetrovým poloměrem v místě zakřivení a šestiprocentní stoupání. Testování nástrojů proběhlo pomocí endomotoru WaveOne (Dentsply Sirona Global Headquarters, Charlotte, NC 2877, USA) v programu „Reciproc ALL“. Nástroje byly v kanálku centrovány a zavedeny k referenčnímu bodu. K minimalizaci tření byl kanálek lubrikován olejem WD40. Byl sledován čas, za kte-

rý došlo k fraktuře nástroje od počátku rotace. Tento čas byl pomocí vzorce: počet otáček za minutu × čas (sekundy)/60 přepočítán na počet otáček vedoucích k fraktuře.

Výsledky: Mezi vybranými endodontickými systémy byly statisticky významné rozdíly v počtu otáček vedoucích k fraktuře, kdy odolnější systém v tomto testu byl Unicone Plus.

Závěr: Test cyklické únavy vypovídá o průměrné časové hodnotě (počtu cyklů), po kterou můžeme v kořenovém kanálku pracovat bez rizika zalomení nástroje z pohledu cyklické únavy. Vzhledem k faktu, že na frakturu nástroje mají vliv i další proměnné, nedá se spolehnout pouze na výsledky tohoto testu, nicméně je tento ukazatel podle odborníků nejdůležitější.

HALL TECHNIKA A PULPOTOMIE – METODY OŠETŘENÍ KARIÉZNÍCH DOČASNÝCH MOLÁRŮ

Šmihalová M., Míšová E.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

Předmět sdělení: Zubní kaz je nejčastějším chronickým onemocněním u dětí. Neošetřený kaz vede k předčasným ztrátám dočasných zubů, a to se všemi důsledky. Kromě konvenční výplňové terapie kazem postižených dočasných zubů patří mezi metody ošetření také Hall technika nebo pulpotomie. Skotská zubní lékařka Norna Hall roku 2006 popsala v literatuře ve své retrospektivní studii minimálně invazivní ošetření kariézních dočasných molárů. Hall technika probíhá bez nutnosti lokální anestezie při odstranění kariézní léze či preparace tvrdých zubních tkání. Kaz se hermeticky uzavře prefabrikovanou kovovou korunkou, fixovanou skloionomerním cementem, čímž se zastaví přísun

sacharidů pro bakterie a zároveň se uplatní remineralizační efekt fluoridových iontů uvolněných ze skloionomeru. Pulpotomie dočasných molárů je metoda endodontického ošetření, kdy se odstraní postižená koronární část pulpy. Vitální nepoškozená pulpa v kořenových kanálcích se ponechává s cílem zachovat zub až do fyziologické eliminace. Tato metoda se často používá u hlubokých kariézních lézích a stává se běžnou součástí pediatrického ošetření.

Závěr: Cílem sdělení je seznámit zubní pediatrii s nekonvenční metodou ošetření kariézních dočasných molárů, a to správnými indikacemi, výhodami a mírou úspěšné terapie u pacientů.

MOLÁROVĚ-ŘEZÁKOVÁ HYPOMINERALIZACE – METODIKA VÝZKUMU

Hepová M., Míšová E.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

Předmět sdělení: Molárově řezáková hypomineralizace (MIH) je porucha vývoje skloviny postihující první moláry a řezáky ve stálé dentici. Jedná se o hypomineralizaci skloviny u prvních stálých molárů 1–4, často spojenou s výskytem esteticky rušivých opacit na stálých řezácích. Publikovaná prevalence MIH ve světě se pohybuje od 2,8 až do 40,2 %. MIH je onemocnění bez dosud objasněné etiologie. Při hledání příčiny vzniku se odborná literatura soustře-

duje na období prenatalní, perinatální a na časně dětství (do tří let věku dítěte), což odpovídá období vývoje skloviny. Ve sdělení se zabýváme metodikou ošetřování molárů a řezáků u MIH v závislosti na míře jejich poškození. Sanace probíhá od nejméně invazivních ošetření fluoridovým lakem, sanací výplněmi, korunkovými náhradami až po extrakce a ortodontické posuny. Opacity se esteticky korigují miniinvazivními metodami.

VHODNÝ VĚK PRO ZAPOČETÍ ORTODONTICKÉ TERAPIE

Rogozná B., Dubovská I.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

Předmět sdělení: Vhodný věk pro zahájení ortodontické léčby není stejný pro všechny ortodontické vady. Liší se podle typu vady, v některých případech i podle míry závažnosti. Ortodontickou terapii začínáme v takovém okamžiku, kdy v reálném čase pravděpodobně přinese vyřešení a dokončení léčby nebo má výrazný přínos pro zlepšení vady a následné zkrácení druhé fáze léčby. Je potřeba brát

v úvahu případný další vývoj anomálie a zvážit možnosti včasné interceptivní léčby. Pokud zubní lékař odešle pacienta dostatečně včas, je možné zahájit interceptivní léčbu a předejít pozdějším komplikacím.

Závěr: Cílem prezentace je shrnutí základních diagnostických pravidel pro včasné odeslání ortodontických vad ke specialistovi.

SKELETÁLNÍ VĚK U PACIENTŮ S ROZŠTĚPEM

Židoň P., Koťová M., Borovec J.

Stomatologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Cíl práce: Autoři ověřují, zda a jak se liší kostní věk/kostní zrání u pacientů s celkovým jednostranným rozštěpem a u pacientů bez rozštěpu.

Materiál a metodika: Bylo vyšetřeno 106 pacientů s celkovým jednostranným rozštěpem, jejich průměrný věk byl 11,48 roku. Kontrolní skupinu tvořilo 111 ortodontických pacientů bez rozštěpové vady průměrného věku 11,06 roku. Byly analyzovány digitální dálkové boční snímky lebky podle metody publikované Baccettim a Franchim v roce 2005, která vychází z popisu šesti základních stadií vývoje krčních obratlů. Byla stanovena fáze maturace krčních obratlů C2–C4. Získaná data byla statisticky zpracována. Sledovány byly přesnost a opakovatelnost měření maturace krčních obratlů, rozdíly maturace u obou vyšetřených skupin a závislost na kalendářním věku a pohlaví.

Výsledky: Reliabilita měření byla dobrá, kalendářní věk obou sledovaných skupin je srovnatelný. U pacientů s rozštěpem prokazujeme signifikantně nižší skeletální věk. Silnější korelace mezi chronologickým a skeletálním věkem je u pacientů s rozštěpem. Nejsilnější je tento vztah u dívek s rozštěpem. Nebyl prokázán vliv laterality rozštěpového postižení na sledované parametry.

Závěr: Dálkový boční snímek lebky pacienta s rozštěpem je, na rozdíl od snímku ruky a zápěstí, v rámci ortodontické léčby běžně dostupný. Získáme tak snadno základní orientační údaje o skeletálním zrání a získané výsledky můžeme flexibilně použít při sestavování a aktualizaci plánu víceoborové péče o pacienty s rozštěpem.

INTERCEPTIVNÍ LÉČBA RETENCE ŠPIČÁKŮ

Dubovská I.¹, Rogozná B.¹, Sedlatá Jurásková E.¹, Urbanová W.²

¹Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

²Stomatologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Předmět sdělení: Špičáky mají důležitou roli ve funkční okluzi a estetickém úsměvu. Faktory, které narušují normální vývoj a prořezávání špičáků, mají závažné důsledky pro funkci dentice i jeho estetiku.

Zárodek stálého špičáku je ve třech letech umístěn vysoko v maxille a jeho korunka má meziální a palatinální sklon, hrot stálého špičáku je v šesti letech na úrovni spodní hrany cavum nasi. V průběhu erupce se špičák posouvá me-

ziálně a dolů směrem k okluzní rovině. V průběhu erupce dochází postupně k napřimování sklonu špičáku, dokud nedosáhne distální stěny kořene laterálního řezáku, podél kterého prořezává do okluze. Deviace erupční dráhy špičáku kromě jeho retence může vést i k poškození sousedních zubů. Nejčastější rizika spojená s retencí špičáku jsou poškození kořenů sousedních zubů resorpce, které mohou být od mírných až po závažné, jež zasahují zubní

dřeň a vedou k extrakci postiženého zubu. Tyto komplikace jsou těžko předvídatelné a jsou nezvratné, je však prokázáno, že včasná léčba může snížit riziko jejich výskytu. Proto je důležité deviace erupční dráhy špičáku rozeznat včas a zahájit interceptivní léčbu.

Metodika, terapie: Erupce špičáku by měla být sledována palpací v průběhu preventivní prohlídky již od 8–9 let věku. Při asymetrii nebo nepřítomnosti vyklenutí ve vestibulu v devátém roku věku by praktický zubní lékař měl standardně provést kontrolní OPG vyšetření a při odchylce erupční dráhy nebo dystopii špičáku pacienta odeslat k ortodontistovi. Interceptivní terapie retence špičáku je plánována podle příčiny retence. Pokud je retence způsobena

nedostatkem místa v zubním oblouku, léčba spočívá v získání místa expanzí zubního oblouku ortodontickým aparátem (např. transversální expanzí v případě zkříženého skusu) nebo v sériových extrakcích dočasných špičáků a případně i dočasných prvních molárů (pokud je kvůli nedostatku místa ve stálém chrupu plánována extrakce stálých zubů). Retence způsobená nevyhovujícím sklonem erupční dráhy je podle stupně sklonu léčena extrakcí dočasných špičáků nebo ponechána bez léčby.

Závěr: Výsledkem interceptivní léčby je zlepšení sklonu prořezávání špičáku, snížení rizika poškození sousedních zubů a zjednodušení, zkrácení nebo absence další terapie.

VLIV PALATINÁLNĚ VEDENÉHO AKTIVNÍHO TAHU NA FUNKCI A ESTETIKU VÝSLEDKU LÉČBY RETENCE STŘEDNÍCH ŘEZÁKŮ

Janková A.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc
Stomatologické centrum STOMMA, s.r.o., Břeclav

Úvod a cíl: Cílem této retrospektivní studie bylo zhodnocení estetického a parodontologického stavu u pacientů s retencí stálého horního středního řezáku a porovnání výsledku ortodontické léčby u dvou základních použitých léčebných metod. Jde o otevření místa s následnou spontánní erupcí zubu a použití chirurgické metody uzavřené erupce a aktivního tahu.

Metodika: V této studii byl hodnocen soubor 34 pacientů po ortodontické terapii fixním aparátem, kteří byli minimálně 12 měsíců v retenční fázi. Ze studie byli vyřazeni pacienti s rozštěpy nebo jinými těžkými vývojovými poruchami. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin podle léčebného plánu. První skupina obsahovala 13 pacientů, u kterých byla provedena léčba malým fixním aparátem s otevřením adekvátního místa pro spontánní erupci retinovaného řezáku. Druhá skupina zahrnovala 21 pacientů, kteří byli léčeni plným fixním aparátem a podstoupili chirurgický zákrok uzavřené erupce s nalepením ortodontického knoflíku s řetízkem na palatinální plochu retinovaného řezáku, tak aby aktivní tah směřoval na vrchol alveolárního výběžku. Byly zaznamenány potřebné údaje z dokumentace každého pacienta. Pro hodnocení byla použita fotografická dokumentace pacientů, ortopantomogram a kefalometrické rentgenové snímky.

Výsledek: Retence horního stálého středního řezáku podle pohlaví byla u 19 děvčat a 15 chlapců. Průměrný věk začátku ortodontické terapie byl $9,5 \pm 2,3$ roků, častější byla levostranná retence. Nejčastější příčinou retence byl výskyt nadpočetného zubu. Bylo prokázáno, že doba léčby nezávisí na uzávěru apexu na začátku terapie, na příčině retence ani na věku pacienta na začátku terapie. Délka terapie koreluje statisticky významně se stupněm retence

zubu. Při hodnocení estetiky zařazeného zubu v porovnání se sousedním zubem bylo prokázáno, že pouze devět pacientů má na původně retinovaném zubu horší estetiku klinické korunky než u zubu sousedního. Dále bylo prokázáno, že průměrná hodnota připojené gingivy zubu retinovaného je statisticky významně nižší než průměrná hodnota připojené gingivy zubu sousedního.

Závěr: Výsledky studie korelovaly s výsledky jiných dosud zveřejněných studií ukazujících, že léčebná metoda uzavřené erupce je jednou z nevhodnějších metod terapie těžce retinovaných řezáků s dosažením přijatelného estetického a funkčního výsledku. Výsledky u spontánní erupce s otevřením adekvátního místa a aktivním tahem na vrchol alveolu byly srovnatelné.

ONKOLOGICKÁ PROBLEMATIKA V PRIVÁTNÍ PRAXI

Doležalová H.

Můj zubař, s. r. o., Hradec Králové

Předmět sdělení: Ve svém sdělení se autorka zamýšlí nad propojením klinické praxe a svou vlastní zkušeností z praxe v privátní stomatologické ambulanci, která je zaměřena na stomatochirurgii, preventivní stomatologii a psychologii pacienta/klienta/blízkého člověka, dále převedením pojmu kvalita života ve vztahu k orálnímu zdraví onkologicky nemocných do praxe a také významem stavu bolesti u onkologického pacienta. Autorka předkládá konkrétní kazuistiku, na kteréž demonstuje roli praktického zubního

lékaře, a zejména jeho spolupráci s onkologem, maxilofaciálním chirurgem a komplementárními obory medicíny, a zároveň vyzdvihuje význam praktického zubního lékaře i v primární, sekundární a terciární onkologické prevenci v oblasti hlavy a krku i všeobecně. Na praktických příkladech ukazuje komplexní přístup k onkologickým nemocným s důrazem i na psychologický aspekt. V závěru sdělení prezentuje vlastní zkušenosti s chodem ambulance v rámci pandemie COVID-19.

POSTUPY V PREVENCI ZUBNÍHO KAZU

Merglová V.

Stomatologická klinika LF UK, Plzeň

Předmět sdělení: Česká společnost pro dětskou stomatologii za finanční podpory firmy Colgate – Palmolive, s. r. o., předkládá souborně vydaná aktualizovaná doporučení v prevenci zubního kazu.

Zubní kaz je multifaktoriální onemocnění, které je sice dobře preventabilní, ale má stále vysokou prevalenci v populaci. Soubor opatření k zamezení vzniku a progresi zubního kazu sestává z opatření individuálních a z těch, která

provádí poskytovatelé zubní péče. Mezi preventivní opatření patří včas zahájené a pravidelné prohlídky chrupu, analýza rizika vzniku zubního kazu, individuální plán preventivních opatření, výživová doporučení, ústní hygiena, fluoridace a pečetení fisur.

Postupy v prevenci zubního kazu jsou nově doplněné o Bangkokskou deklaraci IAPD, o kapitulu zabývající se erozí zubů u dětí, infografiku k Bangkokské deklaraci a BEWE index.

OCHRANA ZUBNÍHO LŮŽKA PO EXTRAKCI

Staněk J.^{1,2}, Azar B.¹

¹Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

²Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie FN, Olomouc

Úvod: Po extrakci zubu dochází k remodelaci alveolárního výběžku. Tyto změny jsou však nepříznivé z funkčního i estetického hlediska. Nežádoucím výsledkem může být nedostatečné množství kosti a keratinizované tkáně pro budoucí náhradu dentálním implantátem. Augmentace tvrdých a měkkých tkání zatěžuje pacienta přetrvávající bolestí, finančními náklady a také prodlužuje celkový čas léčby.

Za určitých okolností, pokud existuje dostatečné množství kosti v apikální oblasti extrakčních lůžek, je možno zavést implantát okamžitě po extrakci zubu. Výhody okamžitých implantací spočívají ve značně zkráceném časovém období

mezi extrakcemi zubů a nasazením definitivní náhrady, dále se redukuje množství chirurgických výkonů a pacient lépe akceptuje celkový léčebný plán. Bukální lamela extrakční rány představuje kritický faktor úspěchu okamžité implantace. V případě dehiscenční bukální lamely klesá úspěšnost okamžité implantace na 89,6 % oproti 98,6 % míře úspěchu pro socket preservation (podle systematického přehledu s metaanalýzou, Zhou, 2019).

Cíl: Objasnit indikace a kontraindikace „socket preservation“ a vhodné techniky pro odlišné klinické situace, tak aby bylo dosaženo maximální ochrany objemu a kvality ústních tkání.

DENTÁLNE IMPLANTÁTY V OSEÁLNYCH MIKROVASKULÁRNYCH LALOKOCH

Hocková B.¹, Azar B.², Slávik R.¹, Stebel A.¹

¹Oddelenie maxilofaciálnej chirurgie FNŠP, Banská Bystrica

²Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

Úvod a cieľ: Pre nádory v oblasti hlavy a krku sa najčastejšie uplatňuje kombinácia viacerých spôsobov liečby, od chirurgickej resekcie, rádioterapie, chemoterapie až po biologickú liečbu. Dôsledkom chirurgickej liečby v zmysle resekcie je tkanivový defekt, ktorý si vyžaduje následnú rekonštrukciu. Štandardným spôsobom uzáveru veľkých defektov po resekcií je použitie mikrovaskulárnych lalokov. V prípade, že dochádza k resekcií nielen mäkkých, ale aj kostných tkanív, je potrebné nahradiť aj kosť – najčastejšie sa používa fibulárny, prípadne bedrový mikrovaskulárny lalok. Po ukončení onkologickej terapie a dosiahnutí remisie ochorenia u pacienta aj v prípade, že je pacient po rekonštrukcii mikrovaskulárnym lalokom, kvalita jeho života

klesá. Úplná, ale i čiastočná strata dentície výrazne zhoršuje kvalitu života pacienta, najmä mastikáciu a artikuláciu.

Terapia, záver: Protetická rehabilitácia snímateľnými náhradami je často kvôli zmeneným anatomickým pomerom nemožná. Dentálne implantáty v prípade rekonštrukcie rozsiahleho defektu čeluste kostným mikrovaskulárnym lalokom poskytujú jedinečnú možnosť pevnej retencie protetickej náhrady. V medzinárodnom kontexte je tento spôsob ošetrovania pacientov dnes už štandardom. V prednáške sa prezentujú možnosti protetickej rehabilitácie pacientov po rekonštrukcii čeluste mikrovaskulárnym lalokom pomocou dentálnych implantátov u pacientov operovaných na našom pracovisku v Banskej Bystrici.

PŘEDPLATNÉ ČSPZL NA ROK 2021 PRO ČESKO

Formulář pro objednávku předplatného najdete na www.dent.cz (Vzdělávání / Časopisy).

Celoroční předplatné (vychází 4x ročně):

- Pro členy ČSK a studenty zubního lékařství: **300 Kč**
- Pro firmy, instituce, soukromé osoby: **650 Kč**

Objednávku předplatného zašlete na adresu:

ČSK, Slavojska 22, 128 00 Praha 2

Ediční oddělení – Ing. Jolana Kunrtová

e-mail: kunrtova@dent.cz, tel.: +420 234 709 630

PŘEDPLATNÉ ČSPZL NA ROK 2021 PRO SLOVENSKO

Celoroční předplatné: 30 € s DPH (cena 7,5 € / 1 vydání)

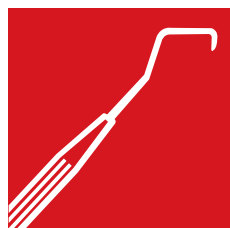
Distribuci formou předplatného na Slovensku zajišťuje:

Mediaprint-Kapa Pressegrosso, a. s., oddelenie inej formy predaja

Stará Vajnorská 9, P. O. BOX 183, 830 00 Bratislava 6

Infolinka: +421 800 188 826, e-mail: predplatne@abompkapa.sk, www.ipredplatne.sk





PRAGODENT

28th INTERNATIONAL DENTAL FAIR

14–16 October 2021



SIMULTANEOUSLY

 **PRAGUEDENTALDAYS**

15–16 October 2021

ORGANIZER



VENUE



pragodont.eu

MAIN PROFESSIONAL PARTNER



PROFESSIONAL PARTNERS



MAIN MEDIA PARTNER



MEDIA PARTNERS



OFFICIAL CARS





NÁŠ VĚDECKÝ ČASOPIS

Vaše nové možnosti pro inzerci

Informace o inzerci v časopisu

**ČESKÁ STOMATOLOGIE
A PRAKTICKÉ ZUBNÍ LÉKAŘSTVÍ:**
Česká stomatologická komora

Tereza Soukupová, DiS., e-mail: soukupova@dent.cz
tel.: +420 770 134 250

Ceník inzerce:

www.dent.cz/o-vzdelavani/casopis/

www.prolekare.cz/casopisy/ceska-stomatologie/informace