

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

ГРИГОРЯН

Виктория Аликовна

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО  
ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА ПО ДАННЫМ  
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО, ЛАБОРАТОРНОГО И  
КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1.7. Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор Сирак С.В.

Ставрополь – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА (обзор литературы)	14
1.1. Роль общесоматических заболеваний и резистентности тканей пародонта в этиологии хронического генерализованного пародонтита	14
1.2. Роль микрофлоры пародонтального кармана и зубной бляшки в развитии воспаления и деструктивных изменений тканей пародонта	19
1.3. Современные проблемы лечения хронического генерализованного пародонтита	28
1.4. Современные проблемы прогноза лечения хронического генерализованного пародонтита	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
2.1. Краткая характеристика проведенных исследований	33
2.2. Материалы и методы экспериментальной части исследования	35
2.2.1. Разработка экспериментальной модели пародонтита у крыс	35
2.2.2. Экспериментальная оценка эффективности комплексной терапии пародонтита различной степени тяжести с использованием ИГ и ГГХС	36
2.3. Материалы и методы клинической части исследования	37
2.4. Материалы и методы лабораторных исследований	38
2.4.1. Биохимические исследования	38
2.4.2. Иммунологические исследования	39
2.4.3. Материал и методы микробиологического исследования	40
2.4.3.1. Забор и транспортировка биологического материала	40
2.4.3.2. Первичный посев биологического материала и выделение чистых культур микроорганизмов	41
2.4.3.3. Идентификация возбудителей инфекций	41
2.4.3.4. Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к ПМС	42
2.4.4. Материал и методы молекулярно-генетического исследования	44
2.4.4.1. Пробоподготовка	44
2.4.4.2. Выделение ДНК	44

2.4.4.3. Проведение полимеразной цепной реакции	45
2.4.4.4. Регистрация и учет результатов полимеразной цепной реакции	48
2.5. Материалы и методы статистических исследований	48
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА	50
3.1. Результаты определения гомеостаза в крови и смешанной слюне экспериментальных животных	50
3.2. Результаты определения прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза при патогенетической терапии воспалительных заболеваний тканей пародонта	59
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	69
4.1. Оценка структуры микроорганизмов, выделяемых из исследуемых локусов при хронических пародонтитах	69
4.2. Оценка чувствительности основных возбудителей инфекционных процессов при хроническом пародонтите	74
ГЛАВА 5. ОБОСНОВАНИЕ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ	77
5.1. Результаты оценки состояния местного иммунитета полости рта и тканей пародонта у больных хроническим генерализованным пародонтитом	78
5.2. Результаты оценки состояния системного иммунитета у больных хроническим генерализованным пародонтитом	89
5.3. Результаты проведения многофакторного корреляционного анализа взаимосвязи иммунологических показателей с показателями, характеризующими состояние тканей пародонта	95
5.4. Оценка эффективности иммунокорректирующей терапии с использованием препарата Гепон в клинических и лабораторных условиях	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
ВЫВОДЫ	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117
ПРИЛОЖЕНИЯ	142

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Одним из наиболее распространенных воспалительно-дистрофических процессов полости рта, обусловленных влиянием различных патологических факторов, является хронический генерализованный пародонтит (А.И.Грудянов, 2015; Л.М.Цепов, 2017; Л.Ю.Орехова, 2018). Ведущее место в этиопатогенезе пародонтита занимают местные факторы – условно-патогенная и специфическая пародонтопатогенная микрофлора зубной бляшки (М.Messini, 2019), активизирующаяся на фоне изменения состояния местного иммунитета полости рта (В.В.Лабис, 2013; Н.Э.Колчанова, 2017; А.Ј.Јее, 2019).

К важным предрасполагающим факторам относят анатомо-топографические особенности ротовой полости (А.В.Ефимова, 2018), включая мелкое преддверие, аномалии прикрепления уздечек губ, языка (Т.В.Закиров, 2012; Г.Т.Ермуханова, 2015; Р.С.Тревилатто, 2017), нарушение жевательной функции вследствие аномалий развития челюстей (И.Л.Горбунова, 2017), травматическую окклюзию и раннюю утрату зубов, а также ряд общих факторов – эмоциональный стресс (Р.Г.Романенко, 2019) и хроническое психоэмоциональное напряжение (Э.Ф.Галлиулина, 2017), ионизирующую радиацию (А.А.Кунин, 2018), недостаточное алиментарное поступление в организм витаминов (Ю.Х.Кильмухаметова, 2017), макро- и микроэлементов (Г.И.Рогожников, 2016; К.С.Асмолов, 2018), сопутствующую патологию внутренних органов (Г.Г.Ашуров, 2017; В.В.Свирин, 2018; О.А.Глазунов, 2018), сердечно-сосудистую патологию (С.Л.Блашкова, 2015; И.П.Мазур, 2018), а также эндокринные расстройства (В.Г.Атрушкевич, 2017; Т.Т.Мамиргов, 2018).

Своеобразие пародонтита, как сосудисто-нервной дистрофии тканей пародонта, состоит в том, что на начальных стадиях патологический процесс в тканях пародонта протекает в форме классического острого экссудативного воспаления с сочетанием явлений альтерации, экссудации и пролиферации (Н.А.Вишнягова, 2011; Ж.В.Дзампаева, 2017), но при этом не происходит

репарации поврежденных тканей и восстановления гомеостаза (Е.Л.Каличкина, 2017), так как процесс приобретает признаки хронического воспаления (S.Renvert, 2018). Этот факт обусловлен длительной и постоянной персистенцией пародонтопатогенной микрофлоры (С.А.Гадушкина, 2018) и развитием в связи с этим дисфункции иммунной системы с соответствующими морфологическими изменениями тканей в области воспаления (М.Morishita, 2019), что, в конечном итоге, приводит к необратимой деструкции периодонта и альвеолярной кости (М.М.Лукичев, 2018; J.W.Kleinfelder, 2019).

Таким образом, при пародонтите воспаление теряет свою биологическую целесообразность как защитно-приспособительная реакция организма, поскольку утрачивает способность уничтожения и элиминации повреждающего фактора (А.М.Ковалевский, 2017; D.Herrera, 2017).

В тканях пародонта одновременно протекают чрезвычайно сложные воспалительно-инфильтративные и деструктивные патологические процессы, поэтому исход заболевания во многом определяется компенсаторными способностями тканевых компонентов пародонта, его циркуляторной системы, состоянием защитных механизмов и функциональных возможностей опорного аппарата зуба.

**Степень разработанности темы исследования.** Заболевания пародонта воспалительной этиологии представляют собой актуальную проблему современной стоматологии, поскольку уменьшения влияния экзогенных и эндогенных патологических факторов не уменьшается, а наоборот, повсеместно отмечается рост заболеваемости пародонтитом с преобладанием генерализованных форм воспаления пародонтальных тканей (А.К.Иорданишвили, 2018). По сведениям Всемирной Организации Здравоохранения большинство населения планеты страдают заболеваниями пародонта, приводящими к потере зубов, микробной сенсибилизации и

снижению реактивности организма (П.В.Мороз, 2018; Н.В.Стрельникова, 2018; S.Dogan, 2018).

Распространенность воспалительных заболеваний пародонта сопровождается усилением интенсивности клинических проявлений, что обуславливает необходимость разработки новых методов их лечения и профилактики (О.А.Успенская, 2017; Y.Boucher, 2017). Согласно современным представлениям, определяющая роль в процессе деструкции тканей пародонта принадлежит медиаторам воспаления, продуктам активации лейкоцитов (нейтрофилов, моноцитов/макрофагов и лимфоцитов), а именно – определенным цитокинам (Е.И.Фукс, 2013; R.Grayson, 2018), простагландину  $E_2$  (М.Okada, 2018), содержание которых значительно увеличивается в тканях пародонта в ответ на персистенцию специфической пародонтопатогенной микрофлоры (Н.Н.Триголос, 2018; W.Beertsen, 2018).

В последнее время методики лечения хронического генерализованного пародонтита претерпели большие изменения (Л.М.Цепов, 2018; S.G.Reed, 2018). В ряде исследований показана значительная роль С3 белка системы комплемента в повышении проницаемости сосудистой стенки (И.Б.Лхасаранова, 2018), а также некоторых иммуномодуляторов в нормализации метаболизма в тканях пародонта (В.М.Моргунова, 2010; Э.Р.Тамарова, 2015; А.И.Руманова, 2017; А.М.G.Fritscher, 2018), обеспечении защитных эффектов пародонта (Д.А.Шаталов, 2018) к повреждающим агентам и репаративной регенерации пародонтальных структур (А.Э.Пашковская, 2014; Е.И.Семенов, 2017; M.Sakamoto, 2018), что указывает на целесообразность дальнейшего поиска, разработки и изучения их пародонтопротекторных эффектов.

В этой связи, по-прежнему, остается актуальным изучение микробиологических и иммунных аспектов патогенеза хронического генерализованного пародонтита (ХГП), уточнение механизмов влияния микробного фактора и дисфункций местного и системного иммунитета при разных клинических вариантах течения пародонтита с целью разработки

методов их дифференцированной коррекции. По-прежнему актуальной является необходимость разработки схем дифференцированной терапии хронического генерализованного пародонтита в зависимости от степени развития и клинического варианта течения заболевания, что планируется осуществить по результатам данной работы.

**Цель исследования:** повышение эффективности иммуно- и остеотропной терапии хронического генерализованного пародонтита.

**Задачи исследования:**

1. Разработать экспериментальную модель пародонтита, исследовать кислотно-щелочные показатели крови и ферментативную активность в тканях десен и смешанной слюне крыс.

2. Изучить прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз у крыс с экспериментальным пародонтитом до и после применения разработанного терапевтического комплекса, включающего иммуно- и остеотропные препараты.

3. Оценить структуру выделяемой микрофлоры из парадонтального кармана и корня языка у пациентов с различными формами хронического пародонтита микробиологическими и молекулярно-генетическими методами.

4. Оценить иммунный статус в полости рта и в тканях пародонта у больных по показателям неспецифической и иммунной резистентности в ротовой и десневой жидкости в зависимости от степени развития, характера течения и клинической формы ХГП.

5. Дать оценку системного иммунитета у больных хроническим генерализованным пародонтитом, провести многофакторный корреляционный анализ взаимосвязи иммунологических показателей и данных пародонтологических индексов.

6. В клинических условиях определить эффективность разработанного терапевтического комплекса, включающего иммуномодулятор Гепон,

экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат при лечении больных генерализованным пародонтитом.

**Научная новизна полученных результатов.** Впервые проведена модернизация экспериментальной модели пародонтита у крыс, позволившая исследовать различную степень тяжести изучаемой патологии. Впервые разработан способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите (патент РФ на изобретение №2706238). Впервые разработан стоматологический гель для лечения и профилактики пародонтита (патент РФ на изобретение №2703530).

Впервые установлена динамика антиглюкуронидазной и пероксидазной активности в смешанной слюне, в тканях десен при экспериментально смоделированных воспалительных процессах у крыс.

Установлено, что в основе деструктивно-резорбтивных процессов в альвеолярной кости крыс при экспериментально воспроизведенном пародонтите лежит усиление протеолиза, интенсификация перекисного окисления липидов на фоне недостаточности механизмов антиоксидантной системы, доказано снижение интенсивности резорбции альвеолярного отростка при совместном применении иммуно- и остеотропных средств.

Дополнены уже имеющиеся и получены новые сведения о роли различных патогенных факторов и силе их воздействия на пародонтальные ткани в зависимости от характера течения заболевания, неспецифической и иммунной резистентности местного и системного уровней, что определило необходимость дифференцированного подхода к лечению каждого пациента.

Установлено, что под влиянием РТК, включающего иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат уменьшается активность процессов ПОЛ и активация АОС, что подтверждается нормализацией антиоксидантно-прооксидантного индекса.



Установлено, что путем нормализации метаболизма тканей и цитокиновой регуляции, а также при рациональном выборе препарата для системной антибиотикотерапии ХГП обеспечиваются оптимальные условия для репаративной регенерации пародонтальных структур и увеличения продолжительности периода ремиссии заболевания.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты научного исследования дополняют современные представления о патофизиологических механизмах развития и исхода хронического генерализованного пародонтита при использовании иммуно- и остеотропных средств терапии.

В результате определения чувствительности *in vitro* выделенных штаммов пародонтопатогенных бактерий к антимикробным препаратам разработаны методы рациональной антимикробной терапии ХГПЛСТ и ХГПЛСТ, которые заключаются в местном применении мирамистина и системном назначении антибиотиков, среди которых препаратами выбора являются амоксициллин/клавуланат и моксифлоксацин, а при ХГПТСТ – дополнительном назначении противогрибковых средств, эффективных в отношении резистентных к флуконазолу штаммов грибов.

В экспериментальных условиях при моделировании хронического пародонтита у крыс, установлены выраженные иммуномодулирующие и остеотропные свойства препаратов Гепон, экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата, что послужило обоснованием для их применения их в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита.

В клинических условиях установлено, что применение РТК в составе иммуномодулятора Гепона, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата нормализует кислотно-щелочное равновесие и стимулирует мобилизацию механизмов ферментативной защиты, включая пероксидазную и антиглюкуронидазную активность, направленную на потенцирование

антимикробного статуса в полости рта в сроки от 5 до 90 суток после начала их использования.

Полученные в диссертационном исследовании данные могут быть использованы при разработке новых схем профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта фармакологическими средствами.

**Методология и методы исследования.** В диссертационной работе использованы экспериментальные методы исследования на животных (моделирование хронического пародонтита) – для изучения механизмов резорбции альвеолярной кости, пародонтопротекторных и остеотропных эффектов препаратов Гепон, экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата; микробиологические методы – для изучения микробных ассоциаций пародонтального кармана и определения чувствительности выделенных штаммов бактерий и грибов к антимикробным препаратам; клинические, лабораторные и статистические методы.

При выполнении научного исследования использован широкий спектр экспериментальных, инструментальных, лабораторных, морфологических, гистологических, иммуногистохимических, биохимических, клинических и статистических методов научных изысканий.

Объектом исследования являлись воспалительно-деструктивные процессы в тканях пародонта при ХГП в экспериментальных и клинических условиях и медикаментозные способы их коррекции.

Предметом исследования стало изучение роли микрофлоры пародонтального кармана, цитокинового дисбаланса в системе местного иммунитета полости рта и тканей пародонта, нарушения метаболизма тканей пародонта в процессе прогрессирующей резорбции альвеолярного отростка у больных ХГП.

**Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Использование возможностей ПЦР-диагностики в режиме реального времени при пародонтите позволяет оптимизировать проводимую антимикробную терапию за счет ранней элиминации пародонтопатогенной микрофлоры из пародонтального кармана и блокады воспалительного каскада на уровне микробных медиаторов экзогенного происхождения.
2. У больных с воспалительными заболеваниями пародонтальных тканей различной тяжести отмечаются разнонаправленные изменения в системе иммунологической защиты тканей полости рта и пародонта, которые варьируют в зависимости от силы повреждающего фактора и степени активации аутоиммунных механизмов.
3. Уменьшение содержания лизоцима сыворотке крови и ротовой жидкости одновременно с повышением показателей уровня лизоцима в десневой жидкости указывает на развитие недостаточности функции гуморального звена неспецифического иммунитета при ХГПТСТ и может рассматриваться как маркер интенсивности резорбции альвеолярной кости при пародонтите.
4. Развитию деструктивных процессов в альвеолярной кости при пародонтите (по показателю индекса IF) способствует значительная инфильтрация тканей пародонта лейкоцитами, нарушение цитокиновой регуляции, а также прогрессирование Т-клеточного иммунодефицита (по показателю индекса ИМРИ).
5. Включение иммуно- и остеотропных препаратов Гепон, экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата, в комплекс общей антимикробной и противовоспалительной терапии наиболее эффективно при лечении больных с ХГПЛСТ и ХГПССТ.

**Степень достоверности и апробация результатов исследования.**

Репрезентативность выборки экспериментальных (n=140) и клинических (n=171) наблюдений, а также наличие групп сравнения, определили достоверность полученных результатов. Научное исследование включало использование современных и адекватных поставленной цели лабораторных, морфологических, биохимических, иммуногистохимических, инструментальных и клинических методов. В ходе лабораторных и опытно-конструкторских работ автором использован метод экспериментального моделирования.

Результаты диссертационного исследования всесторонне представлены и обсуждены на научно-практических конференциях и форумах различного уровня: международной стоматологической конференции «Стоматология сегодня» (Москва, 2015); X научно-практической конференции по «Новые технологии стоматологии» (Волгоград, 2016); научно-практической конференции «Профилактика в стоматологии» (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Ставрополь, 2018), научно-практической конференции с международным участием «Неделя науки» (Ставрополь, 2019), I форуме стоматологов Беларуси и России (Минск, 16-17 мая 2019), III Международном конгрессе по дентальной имплантологии и регенеративной медицине (Минск, 1-3 ноября 2023).

Апробация диссертации проведена на расширенном заседании сотрудников кафедры стоматологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

**Внедрение результатов исследований.** Основные результаты диссертационного исследования внедрены и используются в практической деятельности стоматологических учреждений различной формы собственности, они оказались полезны в учебной деятельности и применяются на кафедрах стоматологии, нормальной и патологической

физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России.

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликовано 18 печатных научных работ, из них 13 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получено 2 патента.

**Личный вклад автора в исследование.** Информационно-патентный поиск по теме научного исследования проведен диссертантом лично, также самостоятельно диссертантом написаны основные главы диссертации, сформулированы цель и задачи научной работы, выполнены все этапы опытно-конструкторских и экспериментальных исследований. Все клинические обследования больных, эксперименты на животных. статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов произведены автором самостоятельно, научные статьи и автореферат написаны лично автором.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 145 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который включает 200 источников, из них 107 отечественных и 93 иностранных автора. Диссертация иллюстрирована 25 рисунками и микрофотографиями, содержит 15 таблиц.

## ГЛАВА 1.

# СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА (обзор литературы)

### 1.1. Роль общесоматических заболеваний и резистентности тканей пародонта в этиологии хронического генерализованного пародонтита

Хронический пародонтит – опасное заболевание воспалительно-дистрофического характера, представляющее собой патологический процесс, при котором происходит полное поражение тканей пародонта [2,13,55,90]. При диффузном поражении ротовой полости в большинстве случаев захватываются практически все зубы. Хронический пародонтит считается одной из самых сложных болезней в стоматологии, так до сих пор полностью и не решенных. Генерализованная форма пародонтита нередко приводит к частичной адентии, а при запущенности воспалительного процесса – повышает риск развития атеросклероза, ревматоидного артрита, инсульта, инфаркта [5,87,112,197]. Чтобы понимать всю сложность рассматриваемой зубной болезни, важно иметь представление о том, что такое «пародонт».

Согласно сегодняшних представлений, пародонт – это комплекс морфологически и функционально взаимосвязанных между собой околозубных тканей, имеющих при этом общее кровоснабжение и иннервацию, в комплекс входит пародонт десны, цемент зубных корней, костная ткань альвеолярных отростков [49]. Пародонтальный комплекс выполняет важнейшие функции: защитную, рефлекторную и опорно-удерживающую [37].

Современным взглядам на этиологию и патогенез пародонтита предшествовали следующие воззрения: в прошлом наибольшее

распространение получили сосудистая и нервно-трофическая теории этиологии и патогенеза пародонта [29,34,131].

Еще А.И.Евдокимов (1976) объяснял механизм возникновения пародонтита на почве атеросклеротического поражения сосудов пародонта опосредованным развитием остеодистрофии кости альвеолярных отростков челюстей. Важное значение автор придавал при этом иммунологическим и другим изменениям, определяющим условия гомеостаза больного пародонтитом [30,52].

Однако сегодня при морфологическом изучении сосудов пародонта при пародонтите далеко не всегда обнаруживаются изменения, характерные для атеросклероза [53].

Т.П.Вавилова (2012) показала, что воспалительные изменения десны у больных с атеросклерозом выражены в меньшей степени, чем у лиц контрольной группы. Кроме того, холестериневая модель экспериментального атеросклероза и правомерность перенесения ее на человека в настоящее время ставятся под сомнение [22]. Пересматривается в настоящее время и причинная роль в развитии атеросклероза отложений липидов в стенку сосудов.

По мнению И.Г.Романенко (2016), в иницировании атеросклероза как заболевания в настоящее время решающее значение придается состоянию сосудистой стенки в долипидной стадии (нарушение функции ферментных систем, играющих основную роль в синтезе и распаде холестерина, нарушение обмена кислых мукополисахаридов интимы), а также метаболизму жиров в плане нарушения соотношения антиатерогенных и атерогенных липопротеидов, снижению гормональной функции и другим факторам [79].

Из общей патофизиологии известно, что вследствие недостаточного кровоснабжения тканей пародонта развиваются атрофически-дегенеративные изменения [120].

Как считает Т.Веиклер (2016) расстройство питания может развиваться и при наличии хорошего кровоснабжения тогда, когда ткани теряют способность ассимилировать пищу, тогда говорят о нейротрофических факторах расстройства питания [114].

По сведениям Е.И.Фукс (2013), развитие патологического процесса при дистрофической и дистрофически-воспалительной форме пародонтита характеризуется возникновением дистрофических изменений в пародонте (первичная дистрофия) [96].

Различные патогенные факторы (инфекционно-токсические агенты, сенсibilизация организма, гипо- и авитаминозы, нарушения питания) могут быть причиной как функциональных, так и органических изменений в нервной системе. Значительное место в учении об этиологии заболеваний пародонта занимают обменные теории [67,76,92].

Некоторым авторам в эксперименте и в клинике изучались изменения фосфорно-кальциевого обмена [11,75], обмена белков, углеводов, жиров [27,91]. В исследовании О.Д.Байдика (2017) обнаружен доминирующий тип пародонтоза, когда признаки болезни проявлялись в каждом поколении [18]. О роли генетических факторов в развитии заболеваний пародонта (гингивит, пародонтит) свидетельствуют и материалы ВОЗ (1978) [129].

Следует отметить данные исследований, трактующих изменения реактивности организма при заболеваниях пародонта [5,23].

В свете современных представлений о патогенезе пародонтита приобретают значение данные ряда авторов о содержании в сыворотке крови больных пародонтитом сиаловой и лимонной кислоты, оксипролина, нейраминовой кислоты [42,53,81].

Изучение общей иммунологической реактивности, антигенного спектра белков сыворотки крови посредством метода микроиммуноэлектрофореза, неспецифических циркулирующих аутоантител, степени агломерации лейкоцитов при нагрузке селезеночным антигеном, по показателям повреждения лейкоцитов периферической крови, проведенное рядом



авторов, показало наличие напряженности как гуморального, так и клеточного факторов иммунитета в начальной стадии пародонтита [93,128].

О повышении интенсивности иммунологических процессов в начальных стадиях пародонтоза свидетельствуют данные О.О.Биктимирова (2016), показавшего повышение митотической активности клеточных элементов межзубных сосочков [19].

По сведениям Н.К.Аймадиновой (2017) связь между аутоиммунными реакциями и патологией пародонта могут являться причинной развития воспаления в пародонте [8].

По другим данным, антитела в пародонтальных тканях вырабатываются как сопутствующий патологическому процессу компонент комплекса реакций иммунных систем организма, возникающих в процессе развития первично неиммунологического по своей природе заболевания, при котором выделяются в поврежденных тканях пародонта какие-то компоненты с новыми выраженными антигенными свойствами [95,117].

Патологии пародонта, начинающиеся с воспаления, как например, гингивит или хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести, которые продолжают развиваться с превалированием воспалительно-деструктивного компонента следует отнести к иммунологически-обусловленным воспалительным заболеваниям с медленным течением [3].

Однако достоверно точных данных для такого утверждения в настоящее время нет, хотя воспалительная реакция при таких иммуноконфликтах имеет типичную гистологическую и специфическую иммунологическую картину [139].

По мнению P.Rajakse (2017) при поражении пародонта возникает реакция на антигены микроорганизмов бляшек десневой щели, сопровождающаяся пролиферацией иммунокомпетентных клеток лимфоидной ткани и их контактом с антигеном [172].

S.Alberti (2018) отметил существенные сдвиги в активности кислой и щелочной фосфатаз в зависимости от выраженности патологического процесса и адекватности проводимого лечения пародонтита [108].

О.А.Успенская (2018) показала значение ферментов в патогенезе пародонтита. В связи со значением нарушения нейрорефлекторной регуляции в механизме развития дистрофического процесса в пародонте ряд авторов изучали активность холинэстеразы в сыворотке крови больных с заболеваниями пародонта [91].

Исследования, проведенные рядом авторов, показали статистически достоверное снижение активности холинэстеразы крови при пародонтите [85,168].

Заслуживают определенного внимания гистохимические и биохимические исследования мукополисахаридов пародонта, в которых авторы изучали коллаген, нуклеиновые кислоты нормального и измененного пародонта [16,100,152].

При анализе подобных исследований далеко не можно установить причинно-следственные связи в цепи патогенетических механизмов пародонтоза и, хотя роль внутренних факторов в возникновении и развитии воспалительно-дистрофических процессов в пародонте ясна, вместе с этим, отдельные звенья патогенеза этого заболевания и их взаимодействие в большей части остаются не раскрытыми [3.19,122,180].

Однако клиническая и патоморфологическая картина поражения пародонта на фоне диабета, желудочно-кишечных и других заболеваний не имеет характерных особенностей и поэтому они не являются самостоятельными нозологическими формами заболевания и укладываются в картину воспалительных поражений пародонта [21,27,32,35,46,53,60].

Изменение проницаемости соединительнотканых структур, в свою очередь, обусловлено действием тканевых и особенно микробных ферментов типа гиалуронидазы, которые расщепляют мукопротеиновые комплексы и

вызывают деполимеризацию мукополисахаридов, в частности, гиалуроновой кислоты [10,22,168].

Повышение проницаемости сосудистых стенок наступает в результате действия на них биологически активных веществ (биогенные амины, токсины), появляющихся в организме при различных заболеваниях, интоксикациях [30].

Таким образом, при болезнях пародонта резистентность тканей пародонта к бактериальным (ферменты, токсины) и механическим раздражениям снижается, что диктует необходимость учитывать данные факты при разработке этиологически и патогенетически обоснованных методов терапии.

## **1.2. Роль микрофлоры пародонтального кармана и зубной бляшки в развитии воспаления и деструктивных изменений тканей пародонта**

Участие микроорганизмов в развитии воспаления тканей пародонта общепризнано отечественными и зарубежными авторами [12,77,106,115]. Зубную бляшку и составляющих ее микроорганизмов считают главным виновником развития воспалительных поражений пародонтальных тканей [2,7,9,13,15,25,41,56,87,113].

По данным различных авторов, 1 мг содержимого зубной бляшки включает от 5 до 800 млн. микроорганизмов [23]. Современные микробиологические и иммунологические методы идентификации микрофлоры позволили только из зубодесневой борозды выделить около 500 видов различных бактерий. Наряду с бактериальной флорой в зубной бляшке присутствуют также представители дрожжеподобных грибов, простейшие, вирусы [55].

Учитывая строение зубной бляшки, многие зарубежные ученые в настоящее время представляют ее как «биопленку, растущую на зубах» [38,48,96].

Изучение скорости образования зубного налета в процессе его созревания (1-9 дней) показало, что зубной налет наиболее интенсивно образуется в первые сутки, а в последующие дни скорость его отложения существенно снижается [51].

В первые 3-4 часа наблюдается самая высокая скорость образования зубного налета, в последующие 4 часа она существенно снижается и затем начинает постепенно увеличиваться [19].

В.Г.Атрушкевич (2018) исследовала количественный и видовой состав микрофлоры вновь образованной зубной бляшки на протяжении 4 дней ее созревания у лиц с интактным пародонтом после двухнедельного курса профессиональной гигиены полости рта [10,11].

Для изучения брались образцы наддесневого зубного налета в 0, 1, 2 и 4 дни его созревания с аппроксимальных поверхностей верхних и нижних премоляров. Установлено, что общее число микроорганизмов в образцах зубного налета составило в первые сутки в среднем  $140 \times 10^5$  и увеличилось незначительно – до  $210 \times 10^5$  – через 4 дня в условиях отсутствия гигиенических мероприятий.

В первые сутки в зубном налете доминировали представители рода *Actinomyces* (почти 50 % выделенной микрофлоры). На протяжении 4-х дней их количество существенно не изменилось, но за это время значительно возросло количество штаммов *Streptococcus spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Campylobacter spp.*, *Fusobacteria spp.* и *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, то есть произошло перераспределение соотношения микробных ассоциатов в пользу условно-патогенных, в том числе и пародонтопатогенных бактерий, что является фактором риска развития гингивита и подчеркивает роль гигиены полости рта в профилактике воспалительных заболеваний пародонта [6].

Другими авторами проведено изучение микрофлоры наддесневой зубной бляшки проведено у студентов, не имеющих заболеваний зубов и пародонта, на модели экспериментального гингивита [4].

После трехнедельного курса профилактических мероприятий и профессиональной гигиены полости рта все обследованные на протяжении последующих 14 дней не проводили никакой гигиены полости рта. Результаты бактериологических исследований показали, что на 14 день эксперимента в зубной бляшке доминируют грамположительные кокки (преимущественно *Streptococcus spp.*) и палочки (*Actinomyces spp.*) (50-60% всех микроорганизмов), при этом на протяжении эксперимента изменилось соотношение данных бактерий в сторону уменьшения процентной доли кокков и увеличения процента палочек [4,44].

Большая часть из перечисленных микроорганизмов являются постоянными комменсалами ротовой полости, то есть встречаются в зубной бляшке людей независимо от того, есть ли у них заболевания пародонта, и лишь некоторые из них, в частности *Treponema denticola*, являются транзитными микроорганизмами, которые могут попасть в полость рта из других смежных областей (ЖКТ, полость носа) [51].

По данным В.В.Маслякова (2018) микробный состав зубной бляшки и пародонтального кармана значительно изменяется в зависимости от локализации на поверхности зуба и в разных участках пародонтального кармана, что объясняется жесткими требованиями к условиям для существования и роста конкретных видов микроорганизмов (рН и температура среды, уровень кислорода, специфические факторы роста – жирные кислоты, полиамины, лактат, формиат, водород), которые также меняются по мере увеличения массы зубной бляшки и глубины пародонтального кармана [62].

И.П.Мазур (2018) оценила риск транзитной бактериемии различными видами микробов и установила, что он увеличивается при инфекционных и воспалительных заболеваниях, а пародонтопатогенная микрофлора способна вызывать эндоваскулярные поражения сердца [60].

Другими авторами также подчеркивается роль *S.oralis*, *S.mutans*, *S.viridans*, *S.sanguis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella*

corrodens в этиологии и патогенезе эндокардита [19,120].

Известно, что все микроорганизмы зубного налета и пародонтального кармана объединены в так называемые микробные комплексы или ассоциации [79].

Микробные ассоциации формируются таким образом, чтобы составляющие их микроорганизмы могли сосуществовать друг с другом, усиливая свое патогенное действие (синергизм действия) и подавляя рост конкурирующих видов микроорганизмов [84,171].

В работах Э.Р.Тамаровой (2015), И.В.Чайковской (2018) представлена характеристика микробных комплексов поддесневой зубной бляшки [87,101].

В работе Н.А.Вишняговой (2011) молекулярно-биологическими методами (генетический ДНК зонд и checkerboard DNA-DNA гибридизация) изучены образцы поддесневой зубной бляшки, которые брались из 6 разных участков вокруг зуба у 592 больных хроническим пародонтитом и 184 человек с интактным пародонтом. Исследования показали, что наиболее часто выделялись 40 видов бактерий, которые с помощью кластерного анализа распределены на 5 микробных комплексов в зависимости от частоты их совместного выделения и локализации по отношению к поверхности зуба и в пародонтальном кармане, а также по степени их повреждающего действия на ткани пародонта [26].

По данным С.А.Гадушкиной (2018) первый комплекс образован известными пародонтопатогенными бактериями *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* и располагается в местах наибольшей деструкции пародонта [29]. Наличие его тесно коррелирует с клиническими симптомами пародонтита (пародонтальными карманами и кровоточивостью десен при зондировании).

Как свидетельствуют результаты исследования Т.В.Закирова (2012) второй комплекс составляет основу поддесневой зубной бляшки и включает *Fusobacterium nucleatum* - пародонтальные подвиды [40].

По данным Е.В.Ипполитова (2016) третий комплекс представлен

стрептококками – *Str. sanguis*, *Str. oralis*, *Str. mitis*, *Str. gordonii* и *Str. Intermedius* [45]. Как считает Л.С.Медведева (2018), четвертый комплекс охватывает 3 вида *Capnocytophaga spp.*, *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens* и *Actinobacillus actinomycetemcomitans* [63].

Пятый комплекс по сведениям, полученным в ходе исследования Л.Ю.Ореховой (2013), включает *Actinomyces odontolyticus* и *Veillonella parvula* [71].

Микробиологическое исследование различных биотопов полости рта, проведенное И.Н.Усмановой (2017) свидетельствует о том, что представители пародонтопатогенной микрофлоры встречаются в незначительных концентрациях при клинически интактном пародонте, а при развитии выраженного хронического воспалительного процесса в тканях пародонта приводит увеличение их количества и изменение качественного состава. По мнению автора, в результате в биотопах полости рта активно образуются эндотоксины, проникающие через эпителий десны, что приводит к ряду патологических изменений в ее соединительной ткани и способствует выраженному расстройству микроциркуляции [92,93].

По мнению С.В.Аверьянова (2017), перечисленные основные пародонтопатогены обладают высокой патогенностью ввиду способности к адгезии к эпителию десны, инвазии вглубь тканей (вплоть до цемента корня зуба), благодаря секреции ферментов деструкции (коллагеназы, эластаза, фосфолипазы, трипсин- и химотрипсин подобные протеазы, гингипан *Porphyromonas gingivalis*) [45,53,176]; резистентности к защитным реакциям организма – секреция факторов, инактивирующих механизмы иммунитета (антииммуноглобулиновая, антилизосимная активность, стойкость к фагоцитозу) [91,92,189]; выработки иммуносупрессивных факторов, которые проявляют цитотоксичность в отношении лимфоцитов (цитотоксин *Actinobacillus actinomycetemcomitans* – cytolethal distending toxin, CDT), ингибируют их пролиферацию и тем самым модулируют иммунопатологические реакции в тканях пародонта [32,59]; ингибирования

пролиферации фибробластов, то есть торможение процесса регенерации периодонтальной связки; высокой резистентности к антибиотикам [126].

Увеличение содержания PGE<sub>2</sub> в тканях пародонта происходит одновременно с перераспределением процентной доли ионизированного кальция, что приводит к ускоренному выводу его из пародонтальных структур и костной ткани, которая резорбируется остеокластами и макрофагальными клетками [140].

Основными эффекторными системами воспаления являются соединительная ткань, микроциркуляторное русло и система крови, которая играет решающую роль в реализации воспаления. Лейкоциты – главные клетки-эффекторы воспаления, и вся система крови в целом обеспечивает возникновение и поддержание лейкоцитарной инфильтрации – основного компонента воспаления [106,131].

По данным А.Н.Волкова (2014) в развитии воспаления и деструкции тканей пародонта участвуют различные популяции лейкоцитов, главным образом нейтрофилы, моноциты, макрофаги и лимфоциты [27].

Ключевую роль некоторые авторы отводят нейтрофилам, наибольшей части популяции полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) или гранулоцитов, так как именно они первые реагируют на действие хемотаксических факторов от микроорганизмов зубной бляшки, в огромном количестве инфильтрируют ткани пародонта и выполняют свои основные эффекторные функции – хемотаксиса, адгезии, фагоцитоза, окислительного взрыва [28,88,97].

Так, десневая жидкость, представляющая собой воспалительный экссудат из тканей пародонта, по данным Е.Л.Каличкиной (2017), содержит 95-97% нейтрофилов, 2-3 % моноцитов и 1-2 % лимфоцитов [46].

Клетки моноцитарно-макрофагального ряда, также, как и нейтрофилы, выполняют функцию факторов неспецифической резистентности (неиммунный фагоцитоз, секреция антибактериальных продуктов, антителонезависимая цитотоксичность), но при этом активно участвуют в



специфическом иммунном ответе (представление антигенов лимфоидным клеткам, секреция интерлейкинов и компонентов комплемента).

Именно макрофаги являются основными продуцентами цитокинов, регулирующих течение воспалительных и иммунных реакций в пародонте [50].

Лимфоциты – главные клетки иммунной системы, участвующие в выполнении основной функции приобретенного специфического (адаптивного) иммунитета: распознавании и элиминации чужеродных макромолекул, а также продукции и секреции антител (иммуноглобулинов) [61].

По мнению В.М.Моргуновой (2010), в формировании гуморального ответа основную роль играют В-лимфоциты. Под влиянием антигенного стимула они дифференцируются, но все еще остро нуждаются в помощи Т-хелперов и антигенпрезентирующих клеток [66].

Сегодня имеются единичные работы о состоянии системного иммунитета в зависимости от степени генерализованного пародонтита [86].

Установленное снижение хемотаксической активности нейтрофилов у больных ХГП связывают с генетически детерминированным уменьшением количества на поверхности лейкоцитов специфических N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine рецепторов к хемотаксическим липидам [30,41,51]. Снижение фагоцитарной активности лейкоцитов объясняют полиморфизмом Fc-gamma рецепторов на нейтрофилах и моноцитах/макрофагах, что приводит к нарушению связывания их с Fc-фрагментом молекулы иммуноглобулина G после опсонизации с микроорганизмами и тем самым замедляет фагоцитоз [9,38,58,105]. Нарушение метаболизма костной ткани и усиленная деструкция альвеолярной кости у больных ГЮП могут быть связаны с полиморфизмом рецепторов витамина D в тканях [2,33,54,144].

Современный уровень клинической иммунологии, усовершенствованные методы иммунологических исследований позволяют получить более полную информацию о различных параметрах и компонентах

иммунной системы и проводить постоянный мониторинг их в процессе лечения, что является необходимым условием рациональной, дифференцированной иммунокоррекции. Для обоснованного назначения иммуномодуляторов в комплексном лечении генерализованного пародонтита необходимо четко представлять степень и характер нарушений в том или ином звене иммунной системы [102].

Обобщая вышесказанное, можно предположить, что межклеточное и межсистемное взаимодействие с участием различных популяций лейкоцитов и продуцируемых ими веществ, по-видимому, и определяет характер и скорость развития, интенсивность и распространенность воспалительного процесса в тканях пародонта.

В процессе развития воспаления происходит каскадная активация различных систем организма: комплемента, калликреин-кининовой системы, коагуляции, фибринолиза. Сложные химические реакции связаны между собой посредством специфических медиаторов межклеточных взаимодействий [20,55].

Цитокины контролируют процессы ангиогенеза, процессы регенерации, метаболические процессы. С воздействием цитокинов могут быть связаны морфофункциональная дезорганизация эндотелия и серьезные расстройства микроциркуляции при самых разных патологических состояниях, включая воспаление, ишемию – реперфузию, атеросклероз, шок [17,29,43,90,122]. На протяжении последних десятилетий установлена роль цитокинов в развитии иммунологических и воспалительных реакций при пародонтите [15]. Массивный локальный выброс провоспалительных цитокинов превращает защитные механизмы в патологические, неуправляемые, что вызывает повреждение тканей пародонта и резорбцию кости [9,39]. Определенный комплекс цитокинов, включающий ИЛ-1, TNF $\alpha$ , ИЛ-6 определяет течение воспаления в очаге тканевой деструкции [11,36,39,40,44,56], что имеет место при хроническом пародонтите. Исследование уровня различных цитокинов в десневой жидкости у больных

пародонтитом показало значительное изменение состава и титра цитокинов по сравнению с показателями у лиц с интактным пародонтом [91,118,121].

Уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 при этом существенно снижается, что является неблагоприятным признаком в течении хронического пародонтита, так как приводит к бесконтрольной активации макрофагов и выработке ими ИЛ-1, ТНФ $\alpha$  и других цитокинов [96,119]. Экспрессия ИЛ-6 и ИФН $\gamma$  значительно выше в тканях больных с воспалительными заболеваниями пародонта по сравнению с тканями здоровых лиц [26].

А.А.Першуткина (2018) изучала содержание ИЛ-1 и ТНФ $\alpha$  в десневой жидкости и сыворотке периферической крови. Автор показала, что уровень ИЛ-1 в десневой жидкости коррелировал с глубиной пародонтальных карманов. Кроме того, уровень ИЛ-1 в сыворотке крови оказался значительно ниже, чем в десневой жидкости, что свидетельствует о наличии местных механизмов продукции данного цитокина и его значении в патогенезе заболеваний пародонта [75].

Одним из наиболее значимых достижений последних десятилетий в пародонтологии можно по праву считать раскрытие механизма деструкции собственно периодонта (периодонтальной связки) [97].

В деструкции соединительнотканых структур пародонта основную роль отводят специфическим протеазам (обобщенно «коллагеназам»), при этом выделяют бактериальные протеазы, секретлируемые пародонтопатогенными бактериями (напр. коллагеназы *Porphyromonas gingivalis*) [25,113], и протеазы, которые синтезируются и секретруются клетками организма-хозяина [36,40,68,98,165].

Установлено участие матриксных металлопротеиназ в деструкции тканей пародонта и показано, что эндогенных ингибиторов (ТИМП) в участках активной тканевой деструкции недостаточно для регуляции повышенной активности ММП [48,56,58,188].

Таким образом, представленный материал свидетельствует о том, что, согласно современным представлениям, определяющая роль в процессе деструкции тканей пародонта принадлежит медиаторам воспаления, продуктам активации лейкоцитов (нейтрофилов, моноцитов/ макрофагов и лимфоцитов), а именно – определенным цитокинам, ММП, простагландину  $E_2$ , содержание которых значительно увеличивается в тканях пародонта в ответ на персистенцию специфической пародонтопатогенной микрофлоры. В этой связи представляет значительный интерес дальнейшее изучение представленных механизмов при разной степени и клинических вариантах течения пародонтита с целью разработки методов дифференцированной корригирующей терапии.

### **1.3. Современные проблемы лечения хронического генерализованного пародонтита**

По мнению Леонида Макаровича Цепова (2016, 2017), учитывая многофакторность заболеваний пародонта, только при участии пародонтологов, стоматологов-терапевтов, хирургов, ортопедов можно ожидать пролонгированного положительного результата в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита [98,99].

По мнению подавляющего числа исследователей, наиболее существенную роль в профилактике воспалительных заболеваний пародонта играет профориентационная работа врача - обучение пациента правилам гигиены, консультирование в выборе средств индивидуальной гигиены и ухода за полостью рта [24,102].

Как считает А.И.Грудянов (2015), инструментальное удаление мягкого над- и поддесневого зубного налета, орошение пародонтальных карманов растворами антисептиками (мирамистина, фурацилина, хлоргексидина), нанесение мягких адгезивных повязок на воспаленную область десны

показано в первую очередь при легкой степени генерализованного пародонтита [34].

По мнению О.О.Бектимировой (2016) обработка патологических карманов и полирование корня пьезохирургическими системами (OirFlo, например), закрытый кюретаж, выскабливание грэйсами эпителия и грануляций из пародонтального кармана, наложение лечебных повязок является обязательным дополнением к в комплексе терапии генерализованного пародонтита средней тяжести [19].

Как считает А.В.Ефремова (2018), при диагностировании данной патологии необходимо рассматривать практическую целесообразность удаления отдельных корней или зубов, профессионального лечебного шинирования вантовыми конструкциями и соответствующего тяжести патологического процесса ортопедического лечения [38].

По мнению А.Э.Пашковской (2014) местные противовоспалительные процедуры должны обязательно дополняться общей терапией [74].

Согласно результатам исследований О.А.Успенской (2017) в процессе терапии ХГП тяжелой степени, больные нуждаются в обязательной хирургической помощи. К последней относится экстракция зубов второй и третьей степени подвижности (в вестибуло-оральном, вертикальном направлении и вокруг оси), проведение гингивэктомии, гингивотомии, лоскутной операции, вскрытие пародонтальных абсцессов и открытый кюретаж пародонтальных карманов [91].

Как считает В.В.Масляков (2018), при увеличении тяжести клинических проявлений хронического генерализованного пародонтита обязательным является проведение системной противовоспалительной, иммуномодулирующей терапии (включая нестероидные противовоспалительные средства, антибиотики широкого спектра и иммуномодуляторы), а также КВЧ-терапии [62].

А.А.Кунин (2018) сообщает об положительном антимикробном влиянии медицинского озона на ткани пародонта при различных методах его применения [56].

Как показал G.McCracken (2018), при наличии соответствующих показаний, подтвержденных данными рентгенологического, биохимического исследований, а также сведениями гигиенических индексов, должна производиться хирургическая коррекция уздечек языка и губ [154].

По некоторым данным, к комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита может оказаться эффективными реабилитационные мероприятия, направленные на укрепление местного и системного иммунитетов, включая такие физиотерапевтические методы, как дарсонваль, ультрафонофорез, магнитофорез, гирудотерапия, лазеротерапия, озонотерапия, апитерапия, фитотерапия [103].

#### **1.4. Современные проблемы прогноза лечения хронического генерализованного пародонтита**

В настоящее время в профилактике воспалительных заболеваний тканей пародонта используется более широкий и всесторонний подход с вмешательствами, нацеленными как на местные этиологические, так и на общие факторы риска. Сегодня не вызывает никаких сомнений, что своевременно начатые адекватные терапевтические мероприятия по купированию манифестных клинических проявлений воспалительных заболеваний тканей пародонта, позволяют достичь положительных результатов в относительно короткие сроки, увеличить промежуток времени без обострения заболевания [59]. Соблюдение пациентом практических врачебных рекомендаций по выполнению профилактических играет ключевую роль в продлении периода ремиссии и сохранения функциональной целостности как отдельных элементов (зубы, зубочелюстные сегменты), так и всей зубочелюстной системы [62]. В тех

случаях, когда благоприятный момент для купирования воспаления на начальных стадиях заболевания уже упущен, негативный прогноз при терапии запущенных стадий генерализованного пародонтита вызван не только собственно, с потерей зубов, но также и с присоединением общесоматических осложнений со стороны других органов (поджелудочная железа, печень, почки) и систем (желудочно-кишечной, сердечно-сосудистой, нервной) [19]. Кроме того, в нескольких научных исследованиях заболевания пародонта ассоциируются с различными системными заболеваниями и состояниями, такими как диабет, атеросклероз, ревматоидный артрит, ожирение и метаболический синдром [106,127,139].

Таким образом, эффективное лечение и профилактика ХГП невозможны без соответствующего гигиенического ухода за полостью рта, периодического проведения сеансов профессиональной гигиены, купирования воспалительных проявлений в деснах на ранних стадиях их проявления, терапии сопутствующих заболеваний.

## Резюме

Наиболее часто встречающееся заболевание пародонта - хроническое воспалительное заболевание, приводящее к прогрессирующей вовлеченности в патологический процесс окружающих тканей и потере прикрепления зубов, резорбции костной составляющей альвеолярного отростка, после кариеса является одним из наиболее важных заболеваний полости рта, провоцирующих развитие других хронических заболеваний, как установлено Thomson et al. [190] широко распространен, поскольку поражает более 50% взрослого населения планеты, в то время как его тяжелые формы поражают до 20% взрослых лиц, делая хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени шестым по распространенности заболеванием человечества [190], серьезно ухудшающим качество жизни, связанное со здоровьем полости рта, их самооценку и общее самочувствие.

В стоматологии во всем мире в течение многих лет лечение, контроль и профилактика заболеваний пародонта находились под доминирующим влиянием биомедицинской модели, подчеркивающей молекулярные и биологические основы заболевания на индивидуальном уровне и ориентированной на представление профессиональных зависимостей в клинических условиях. хирургические процедуры и текущая поддерживающая терапия.

Профилактический компонент в этом ориентированном на пациента подходе сконцентрирован в основном, на улучшении здоровья полости рта пациента и выполнении советов и рекомендаций по поводу поведения, связанного с вредными привычками (курением) и образом жизни (малоподвижный, переизбыток, вредные производства). Ранее выявлены некоторые ограничения этого традиционного клинического подхода, такие как высокая стоимость и, следовательно, ограниченный доступ для социально чувствительных групп лиц - инвалидов, хронически больных и пожилых людей с высокой потребностью в наблюдении и профилактике заболеваний пародонта. Принимаемые непосредственные меры организационного и профессионально-ориентированного характера (обучение гигиене, профилактические осмотры) способны вызывать краткосрочные позитивные изменения в гигиене полости рта, показателях кровотечения и знаниях пациента, они являются неэффективными в достижении постоянного улучшения результатов пародонта на уровне населения, поскольку не направлены на устранение основного этиологического признака ХГП – воздействия патологических микроорганизмов.

Анализ литературных данных показывает, что в настоящее время в профилактике заболеваний пародонта используется более широкий и всесторонний подход с вмешательствами, нацеленными как на местные этиологические, так и на общие факторы риска.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Краткая характеристика проведенных исследований

Реализация задач, поставленных при планировании дизайна исследования, осуществлялась в условиях клиники и лаборатории, а также в условиях специализированного вивария (экспериментальная часть). Применялся специальный комплекс как уже известных методов исследования, так и авторские методики собственной разработки.

Лабораторные и клинические исследования проведены на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, экспериментальные исследования – на базе аграрного университета (Ставрополь) (таблица 2.1).

**Таблица 2.1** – Краткий перечень лабораторных, клинико-рентгенологических и экспериментальных исследований

Объекты исследования	Наименования проведенных исследований	Кол-во
1	2	3
<b>Экспериментальные исследования</b>		
Крысы	Разработка экспериментальной модели пародонтита	140
Крысы	Оценка иммуно- и остеотропных свойств ИГ и ГГХС на разработанной модели пародонтита	140
Всего:		140
<b>Лабораторные исследования</b>		
Зубодесневые блоки экспериментальных животных, гомогенаты тканей пародонта, мазки из локусов больных	Биохимические, иммунологические, гистологические, морфологические, микробиологические, молекулярно-генетические – для оценки структурных, биохимических, иммунологических изменений в тканях пародонта, оценки	728

пародонтитом	активности микрофлоры пародонтальных карманов	
Всего:		728
Клинические исследования		
Лица с признаками воспаления тканей пародонта	Исследования включали как общепринятые методы клинической оценки состояния тканей пародонта (осмотр, пальпация, зондирование), так и специальные методики (расчет пародонтологических индексов)	141
Лица без признаков воспаления тканей пародонта (группа сравнения)	Исследования включали как общепринятые методы клинической оценки состояния тканей пародонта (осмотр, пальпация, зондирование), так и специальные методики (расчет пародонтологических индексов)	30
Всего		171
Рентгенологические исследования		
Экспериментальные животные. Больные с ХГП	Обзорная панорамная, близкофокусная контактная рентгенография, визиография, компьютерная томография	195
Статистические исследования		
Результаты исследований	Однофакторный корреляционный анализ и с расчетом коэффициента линейной корреляции Пирсона ( $r$ ) и оценки значимости корреляционной связи ( $p$ ) по $t$ -критерию Стьюдента. Многофакторный корреляционный анализ данных медицинских исследований в программе Statistica 12.0 для Windows 10 Pro - для оценки связей множественных переменных и оценки степени влияния входных факторов на выходные параметры	987
Всего:		1690

## **2.2. Материалы и методы экспериментальной части исследования**

### **2.2.1. Разработка экспериментальной модели пародонтита у крыс**

При создании экспериментальной модели пародонтита различной степени тяжести использовано 140 крыс.

Под внутрибрюшинным тиопенталовым наркозом, производимым каждому животному в дозе 0,1 мл 5% тиопентала натрия (на 100 грамм веса), создавали дисбактериоз ротовой полости путем внутримышечного введения линкомицина гидрохлорида дозой 30 мг 100 грамм веса животного. Затем проводили ограниченное поражение десен и тканей преддверия рта с помощью аппликации суспензии пчелиного яда в дозе от 2 до 5 мг на 100 грамм веса животного. Далее животных помещали в общую клетку при площади 0,018 м<sup>2</sup> на особь.

В течение всего времени моделирования к стандартному рациону питания каждой крысы добавляли подсолнечное масло в количестве 2 мл ежедневно, которое предварительно нагревали в течение 12-24 часов до достижения перекисного числа выше 20-40 ед (в присутствии 2% сульфата меди). При моделировании экспериментального пародонтита тяжелой степени тяжести у крыс использовали схему, описанную выше, но с дополнительной внутримышечной инъекцией хлористого аммония в количестве 5 мг на 100 г веса животного однократно в течение семи суток.

В зависимости от того, какую степень тяжести поражения пародонта планировали моделировать, дозировку суспензии пчелиного яда изменяли от 2 до 5 мг на 100 г веса животного (2, 3, 5 – легкая, средняя и тяжелая степень пародонтита соответственно), кроме этого, в той же последовательности изменяли перекисное число подсолнечного масла в сторону его увеличения (20, 30, 40 – легкая, средняя и тяжелая степень пародонтита соответственно).

На 7 день эксперимента (пародонтит легкой степени тяжести) фиксировались все симптомы начального воспаления пародонтальных

тканей. На 14-е сутки (пародонтит средней степени тяжести) отмечен цианоз и отек слизистой оболочки десен, при зондировании зарегистрированы патологические зубные карманы глубиной до 2 мм, а также выявлена подвижность зубов 2-3 степени. На 21-е сутки (пародонтит тяжелой степени) на рентгенологических снимках визуализировали деструктивные признаки резорбции костной ткани в области вершечек межзубных перегородок, отмечали подвижность зубов 3-ей степени, патологические карманы, глубиной более 5 мм с явлениями гноетечения.

### **2.2.2. Экспериментальная оценка эффективности комплексной терапии пародонтита различной степени тяжести с использованием ИГ и ГГХС**

В данной части эксперимента использовано 140 животных с предварительно сформированным воспалением тканей пародонта различной степени тяжести и 10 интактных крыс.

Всех крыс разделили на следующие группы: 1-я группа – интактные животные (10 крыс); 2-я группа – животные с экспериментальным ХГПЛС (20 крыс); 3-я – животные с экспериментальным ХГПЛС, которым ежедневно орошали полость рта 0,02% раствором ИГ и вводили перорально водный раствор ГГХС в дозе 30 мг/кг 3 раза в сутки (20 крыс); 4 группа – животные с ХГПСС (20 крыс); 5 группа – животные с ХГПСС, которым ежедневно орошали полость рта 0,02% раствором иммуномодулятора Гепон и вводили перорально водный раствор ГГХС в дозе 30 мг/кг 3 раза в сутки (20 крыс); 6 группа - – животные с экспериментальным ХГПТС (20 крыс); 7 группа – животные с экспериментальным ХГПТС, которым ежедневно орошали полость рта 0,02% раствором иммуномодулятора Гепон и перорально вводили водный раствор ГГХС в дозе 30 мг/кг 3 раза в сутки (20 крыс).

Длительность эксперимента составляла 90 суток в каждой группе: 60 суток отводилось на моделирование патологии и 30 суток – на ее лечение. Животных выводили из эксперимента передозировкой эфира.

### **2.3. Материалы и методы клинической части исследования**

В ходе исследования проведено клинико-лабораторное обследование 171 человека без фоновой соматической патологии в возрасте 18-65 лет.

По результатам клинико-рентгенологического анализа состояния тканей пародонта группы обследования представлены следующим образом.

1. Группа сравнения-1 (ГС-1): 30 человек с интактным пародонтом (средний возраст  $27,6 \pm 0,4$  лет);
2. Группа сравнения-2 (ГС-2): 30 больных хроническим катаральным гингивитом (ХКГ) (средний возраст  $22,5 \pm 0,5$  лет);
3. Основная группа-1 (ХГПЛСТ): 40 больных ХГП легкой степени тяжести (средний возраст  $29,5 \pm 3,7$  лет);
4. Основная группа-2 (ХГПССТ): 36 больных ХГП средней степени тяжести (средний возраст  $37,7 \pm 1,6$  лет);
5. Основная группа-3 (ХГПТСТ): 35 больных ХГП тяжелой степени ( $45,8 \pm 1,6$  лет).

Обследование больных в клинике начиналось со сбора анамнеза, жалоб, оценки самочувствия. Оценивали длительность заболевания, частоту рецидивов, способы и схемы использованных ранее методов терапии. Анализировали состояние гигиены, оценивали состояние тканей пародонта и полости рта (глубина преддверия, зоны и степень прикрепления уздечек), прикус, наличие дефектов зубных рядов. Распространенность кариеса определяли в %, интенсивность - по индексу КПУ.

Для наиболее объективной оценки индивидуального пародонтологического статуса определяли гигиенические и пародонтальные индексы: J.C Green – J. K. Vermillion (1960), гигиенический индекс ОНІ-S

(Green-Vermillion), индекс зубного камня (CSI) (Ennever, 1961), индекс РМА (папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс) в модификации Parma (1960); пародонтальный индекс (ПИ, Russel, 1956), индекс потери костной ткани (ИПКТ), кроме этого, определяли индексы деструкции костной ткани (характеризуют интенсивность деструкции альвеолярной кости без учета воспалительного компонента, служат для оценки эффективности остеотропной терапии и стабилизации процесса): индекс обнажения корня (Goldberg, 1976), IF - индекс Fuch (степень деструкции костной ткани в области всех зубов определяли по обзорной рентгенограмме, результат выражали в баллах).

Рентгенологические исследования (близкофокусная контактная рентгенография, обзорная рентгенография – ортопантомография, компьютерная томография) использовали для оценки состояния костной ткани в области воспаленных пародонтальных тканей до и после лечения.

## **2.4. Материалы и методы лабораторных исследований**

### **2.4.1. Биохимические исследования**

В экспериментальной части исследования: исследовали элементы системы ПОЛ (перекисного окисления липидов) и АОС (антиоксидантной системы) на Спектрофотометре ЮНИКО 2800 (производитель - UNITED PRODUCTS & INSTRUMENTS, США), определяли концентрацию малонового альдегида (МДА) с помощью тиобарбитуровой кислоты (ТБК), антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ).

В клинической части исследования: забор десневой жидкости производили стандартными бумажными пинами путем погружения их без усилия в десневую борозду, десневой или пародонтальный карман в области нижних моляров, после этого штифты погружали в стерильные пробирки

объемом 2,0 мл с 1,0 мл физиологического раствора. Образцы замораживали и транспортировали в лабораторию.

В гомогенатах тканей определяли содержание белка, продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), активность фермента деструкции и воспаления тканей пародонта – эластазы, лизосомального фермента кислой фосфатазы рН 4,8 и антиоксидантного фермента глутатион-редуктазы.

По результатам биохимических исследований крови оценивали состояние минерального обмена и метаболизма костной ткани. В лабораторных условиях у обследованных производили забор венозной крови из локтевой вены (5 мл) натощак в утренние часы. В сыворотке крови определяли содержание общего кальция, неорганического фосфата и магния (в ммоль/л) и активность щелочной фосфатазы (ЩФ), а также уровень остеокальцина (ОК) (в мкг/л) на иммунодиагностическом приборе "IMMULAK" фирмы «Prius Ltd» (США).

#### **2.4.2. Иммунологические исследования**

Общее количество лейкоцитов и лимфоцитов в крови определяли путем подсчета клеток при помощи микроскопа в камере Горяева.

Проводили оценку Т-клеточного звена иммунитета путем определения содержания популяций лимфоцитов с фенотипами CD2, CD3, CD4, CD8 с использованием моноклональных антител методом проточной цитофлюорометрии на лазерном цитометре и подсчитывали иммунорегуляторный индекс (ИМРИ) CD4/CD8 по абсолютному количеству лимфоцитов; оценку В-гуморального звена – по содержанию популяций лимфоцитов с фенотипами CD19, CD22 и концентрации иммуноглобулинов IgA и IgG методом радиальной иммунодиффузии по Manchini.

В качестве системных показателей неспецифической резистентности изучали содержание в крови субпопуляций лимфоцитов с фенотипом CD57 – естественных киллеров (ЕК) с помощью моноклональных антител;

концентрацию лизоцима, С3-компонента комплемента и уровень продуктов катаболизма клеточных рецепторов – регуляторных белков (Р-белков).

Содержание С3-компонента комплемента определяли в реакции преципитации с использованием специфической антисыворотки.

Состояние цитокиновой регуляции определяли по содержанию интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10) и ФНО $\alpha$  в сыворотке крови и в десневой жидкости методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). С помощью спектрофотометра измеряли оптическую плотность по заданной длине волны, на основании полученных данных строили калибровочные кривые для соответствующих цитокинов и считывали результаты с помощью анализатора BIO-ТЕК INSTRUMENTS (США).

### **2.4.3. Материал и методы микробиологического исследования**

#### **2.4.3.1. Забор и транспортировка биологического материала**

Весь полученный от пациентов биологический материал собирали стерильным ватным тампоном (специальная пробирка с пластиковым аппликатором-ватным тампоном и транспортной средой AMIES с углем, COPAN, Италия) в первое посещение к врачу при наличии у них воспалительных заболеваний пародонта (хронический генерализованный или локализованный пародонтит (ХП)) без отягощающих условий развития и течения патологии. Правила забора материала для исследования: Пробирки со средой хранились в морозилке. Перед использованием доставали 1 пробирку из холодильника и нагревали в руках 3-5 мин до полного оттаивания льда. Мазок брали поочередно двумя пробирками из зубодесневого кармана (ЗДК) и корня языка. Доставляли материал в лабораторию не позднее 2 часов после забора материала.



### 2.4.3.2. Первичный посев биологического материала и выделение чистых культур микроорганизмов

В строгом соответствии с установленными правилами производился посев полученного биологического материала с последующим выделением чистой культуры [64,70,118]. Посев осуществляли секторальным методом для выявления количественных титров выделяемых микроорганизмов. Для представителей *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp., неферментирующих бактерий, анаэробной флоры диагностически значимыми считали концентрацию  $>10^4$  КОЕ/мл. Для гемофильной палочки и стрептококков положительным результатом считали наличие не менее 10 изолированных колоний микроорганизмов на специализированном агаре после инкубации засеянного материала в течение 20-24 часов. Бактерии, изолированные в титрах ниже  $10^4$  расценивались как контаминационные.

Культивирование анаэробных неспорообразующих бактерий производили в анаэроостате с трехкомпонентной газовой смесью (азот - 80%, водород - 10%, углекислота - 10%) на чашках. Отдельно материал помещали в пробирку с обезжиренным молоком, средой Вильсона-Блера и кровяной агар.

В первые сутки материал отдельно проверялся с помощью коммерческих наборов на наличие антигена *Streptococcus pyogenes* (StrA) коагутинационным диагностикумом (Аквапаст, СПб, Россия).

### 2.4.3.3. Идентификация возбудителей инфекций

Анализ выросших колоний на кровяном и шоколадном агарах, селективных средах проводили на вторые сутки. Идентификацию *Streptococcus pyogenes* (StrA), *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, представителей *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp., НФБ и анаэробов производили по утвержденным методикам [64,70,118]. С помощью

диагностического набора «Стрептотест-16» производили идентификацию выделенных культур и оценивали вероятность их сродства к *Streptococcus*.

Колонии с различным характером роста, выросшие на агаре Эндо подвергались количественному учету, разделяли и подвергали дальнейшему исследованию с выделением чистой культуры. Идентификация энтеробактерий производилась с помощью коммерческих тест-систем ММТ Е-1 и ММТ Е-2 (ЦКФФ, Ставрополь) после окраски и микроскопии.

Для дифференцировки НФБ (*Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.), выросших на среде с добавлением глицерина, использовали оксидазный тест (диски ТахоН, Becton Dickinson, США). Идентификацию грибков производили на селективной хромогенной среде для выделения и определения вида дрожеподобных грибков (HiCrome Candida Differential Agar, HiMedia, Индия).

#### **2.4.3.4. Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к ПМС**

Стандартная суспензия исследуемого микроорганизма готовилась из чистой суточной культуры микроорганизмов, выросшей на плотных питательных средах, по утвержденной плотностью инокулюма 0,5 по МакФарланду ( $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Для определения чувствительности микроорганизмов использовали только стандартизированные диски с противомикробными средствами (Becton Dickinson, США, bio Merieux, Франция). Диски первоначально хранили в морозильной камере в заводской упаковке и извлекали из холодильника за 1 час до начала работы и выдерживали герметично закрытыми до достижения ими комнатной температуры. Контроль качества питательных сред и определение чувствительности контрольных штаммов микроорганизмов производились не реже 1 раза в неделю, а также при приготовлении каждой новой партии агара.

Интерпретация результатов определения чувствительности микроорганизмов производилась в полном соответствии с установленными методическими указаниями правилами.

#### **2.4.4. Материал и методы молекулярно-генетического исследования**

##### **2.4.4.1. Пробоподготовка**

Стерильные бумажные пины погружали в клинический карман на 10 секунд, извлекали и помещали в пробирку с физиологическим раствором, затем охлаждали и передавали в лабораторию. Полученный материал от пациентов в подготовленных пробирках центрифугировали 10000 об/мин в течение 30 сек, затем 100 мкл пробы переносили в пробирку из набора для выделения ДНК с реагентами «ДНК-ЭКСПРЕСС».

##### **2.4.4.2. Выделение ДНК**

С целью последующего анализа методом полимеразной цепной реакции «ДНК-ЭКСПРЕСС» (серия №01/23/16, годен до 21.07.17 г.) в соответствии с инструкцией к набору «Реагент в пробирках для выделения ДНК из биопроб» выделяли ДНК. После завершения инкубации пробирки центрифугировали при 12000 об/мин при комнатной температуре в течение 15 сек (рисунок 2.1). Супернатант, полученный таким способом, применяли в качестве исследуемого образца ДНК при постановке реакции амплификации.



**Рисунок 2.1** – Подготовка к анализу методом полимеразной цепной реакции «ДНК-ЭКСПРЕСС»

#### 2.4.4.3. Проведение полимеразной цепной реакции

В работе использовались следующие наборы реагентов:

- комплект реагентов для ПЦР–амплификации ДОНТАПОЛ. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей заболеваний пародонта *Porphyromonas endodontalis* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 02/695/16, годен до 07.08.17 г.);
- комплект реагентов для ПЦР–амплификации НУКЛЕАПОЛ. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей заболеваний пародонта *Fusobacterium nucleatum* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 01/699/16, годен до 08.05.17 г.);
- комплект реагентов для ПЦР–амплификации ТАНЕРЕЛЛА. ТАНЕРЕЛЛА – набор реагентов для обнаружения ДНК *Tannerella forsythia* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 01/606/16, годен до 08.11.16 г.);
- комплект реагентов для ПЦР–амплификации Превотелла -Intermedia. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей

заболеваний пародонта *Prevotella intermedia* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 01/690/16, годен до 08.11.16 г.);

- комплект реагентов для ПЦР–амплификации ГИНГИПОЛ. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей заболеваний пародонта *Porphyromonas gingivalis* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 01/696/16, годен до 08.11.16 г.);

- комплект реагентов для ПЦР–амплификации ДЕНТИКОЛА. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей заболеваний пародонта *Treponema denticola* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 01/698/16, годен до 08.05.17 г.);

- комплект реагентов СТАФИПОЛ для ПЦР–амплификации и обнаружения ДНК бактериальных патогенов методом ПЦР в формате реального времени (серия № 02-2/642/16, годен до 21.07.17 г.);

- комплект реагентов для ПЦР–амплификации СТРЕПТОПОЛ. СЕПТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК бактериальных патогенов, ассоциированных с септицемией, методом ПЦР в формате реального времени (серия № 02-2/643/16, годен до 02.06.17 г.);

- комплект реагентов для ПЦР–выявления *Bacteroides caccae*. БАКТОПОЛ-1 – набор реагентов для обнаружения ДНК Бактероидов (*Bacteroides* spp.), методом ПЦР формат ФЛУОРОПОЛ (серия № 01-1/654С/16, годен до 11.06.17 г.);

- комплект реагентов для ПЦР–амплификации КОМИТАНС. ДЕНТОСКРИН – набор реагентов для обнаружения ДНК возбудителей заболеваний пародонта *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* методом ПЦР в формате реального времени (серия № 02/697/16, годен до 09.12.16 г.).

Содержимое пробирок полностью размораживали, перемешивали и центрифугировали 5 сек на микроцентрифуге-вортексе. Затем готовили амплификационную смесь, состоящую из:

- разбавителя (30 мкл на пробу);
- 5хреакционной смеси (10 мкл на пробу);



#### 2.4.4.4. Регистрация и учет результатов полимеразной цепной реакции

Детекция продуктов амплификации осуществлялась автоматически в каждом цикле, учет результатов ПЦР проводили на основании регистрации флуоресцентного сигнала по каналу для флуорофора FAM/Green. Пороговое значение  $C_t$  для положительных проб по каналу FAM/Green составляло – менее 35 (рисунок 2.3).

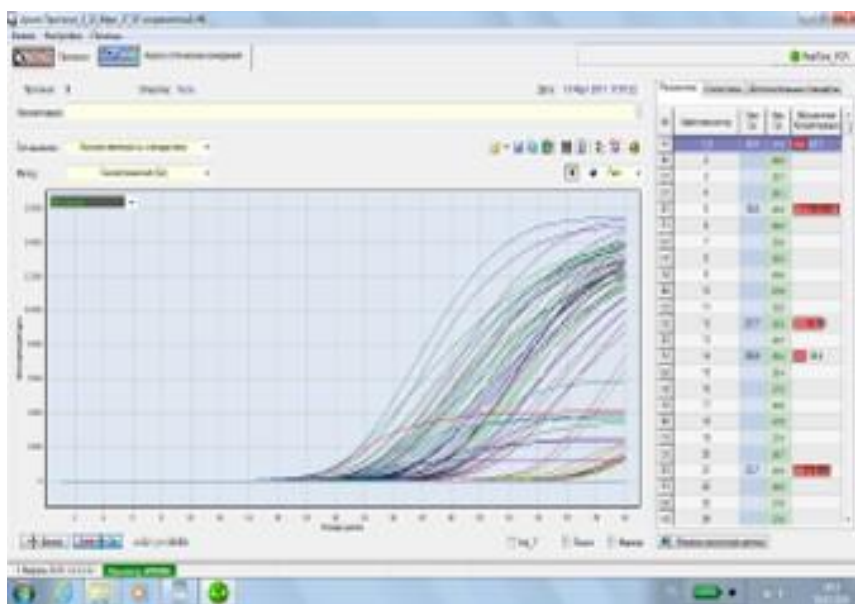


Рисунок 2.3 – Пример результата ПЦР-диагностики

### 2.5. Материалы и методы статистических исследований

Цифровые данные, полученные в ходе проведения экспериментального, лабораторного и клинического исследований подвергались математической обработке в соответствии с задачами каждого этапа научной работы. Уровень значимости различий средних значений показателя в независимых выборках ( $p$ ) рассчитывали по функции распределения  $t$ -критерия Стьюдента: при  $p < 0,05$  – различие значимо; при  $p > 0,05$  – различие незначимо.

Для оценки линейной связи между двумя переменными проводили однофакторный корреляционный анализ и рассчитывали коэффициент линейной корреляции Пирсона ( $r$ ) и значимость корреляционной связи ( $p$ ) по  $t$ -критерию Стьюдента. При  $r > 0$  связь оценивали, как прямую, при  $r < 0$  – как обратную, при  $r = 0$  – считали связь отсутствующей, при  $r = 1$  – считали связь функциональной, значимой. Значение коэффициента корреляции  $r < 0,3$  характеризует слабую,  $0,3-0,7$  - умеренную и  $>0,7$  - сильную корреляционную связь. При небольшом количестве наблюдений сравниваемых признаков использовали непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Для оценки связей множественных переменных попарно и оценки степени влияния всего множества входных факторов на все выходные параметры проводили многофакторный корреляционный анализ данных медицинских исследований в программе Statistica 12.0 для Windows 10 Pro.



### **ГЛАВА 3.**

## **ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА**

Как показал проведенный анализ литературных данных, при воспалении тканей пародонта данные по исследованию гомеостаза в полости рта достаточно противоречивы, носят подчас фрагментарный характер и требуют уточнения и систематизации.

В этой связи одной из задач исследования являлась оценка гомеостаза в крови, смешанной слюне и тканях пародонта крыс с экспериментально воспроизведенным воспалительным процессом тканей пародонта до и после применения разработанного терапевтического комплекса (РТК), включающего иммуно- и остеотропные препараты – иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат.

Методика создания у экспериментальных животных воспалительного процесса тканей пародонта (модель пародонтита) подробно описана в главе 2.

### **3.1. Результаты определения гомеостаза в крови и смешанной слюне экспериментальных животных**

После окончания моделирования экспериментального воспаления тканей пародонта у крыс (соответствующем хроническому пародонтиту легкой, средней и тяжелой степени) подробная оценка кислотно-щелочного гомеостаза в крови исследуемых животных показала, к моменту окончания моделирования патологии формируется метаболический ацидоз со сдвигом буферных оснований в кислую сторону и общим снижением кислотности. Причем при экспериментальном пародонтите средней и тяжелой степени тяжести изменения кислотно-щелочного гомеостаза носили самый

манифестный характер. Таким образом, при экспериментальном ХГПЛСТ, ХГПССТ, ХГПТСТ, рН составлял, в среднем 6,1, 6,5 и 6,2 соответственно ( $p \leq 0,05$ ). Выявленные вариации активности основных исследуемых ферментов и их ингибиторов являются своеобразными биохимическими регуляторами клеточных функций в воспаленном пародонте, поскольку отклонение рН от показателей интактных животных происходило вследствие нарушения клеточного метаболизма.

Каких-либо значимых сдвигов в активности  $\alpha$  - и  $\beta$ -глюкозидаз не воспроизведении экспериментальной патологии тканей пародонта (гликозидазы в гомогенатах десны) не выявлено, однако установлено, что активность  $\beta$ -глюкуронидазы возростала в 3,4 раза, а  $\beta$ -галактозидазы - в 2,2 раза по сравнению с интактными животными (таблица 3.1).

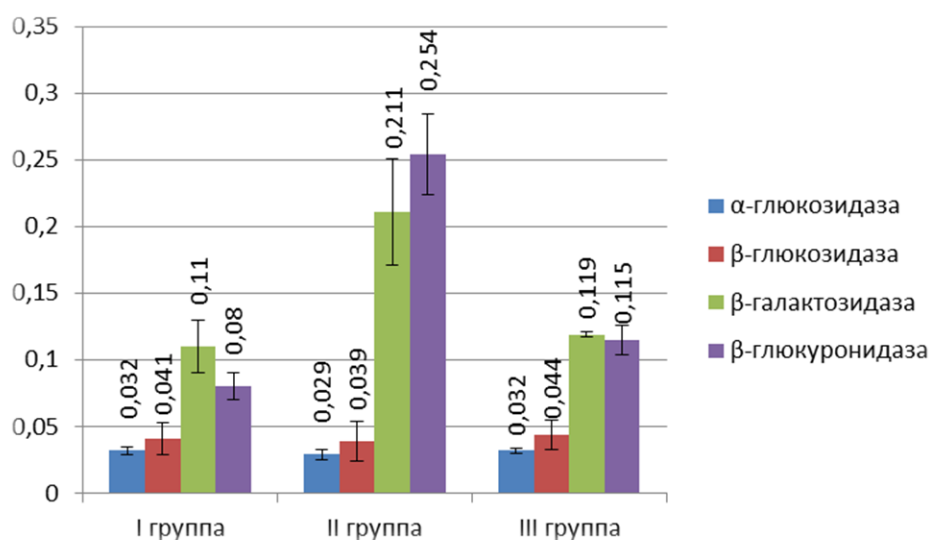
**Таблица 3.1** – Результаты определения активности кислых гликозидаз в биоптатах десны при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ )

Ферментная активность, мкмоль/хв·г <sup>-1</sup>	Группы		
	I	II	III
	Интактные животные	КГ - крысы с экспериментальной патологией	ОГ - крысы с экспериментальной патологией + РТК
Экспериментальный ХГПЛСТ, n=40			
$\alpha$ -глюкозидаза	0,032±0,003	0,029±0,004*	0,032±0,002**
$\beta$ -глюкозидаза	0,041±0,012	0,039±0,015*	0,044±0,011**
$\beta$ -галактозидаза	0,11±0,02	0,211±0,04	0,119±0,002**
$\beta$ -глюкуронидаза	0,08±0,01	0,254±0,03*	0,115±0,011
Экспериментальный ХГПССТ, n=40			
$\alpha$ -глюкозидаза	0,032±0,003	0,033±0,005*	0,032±0,005**
$\beta$ -глюкозидаза	0,041±0,012	0,038±0,009	0,043±0,005
$\beta$ -галактозидаза	0,11±0,02	0,232±0,03*	0,144±0,04**
$\beta$ -глюкуронидаза	0,08±0,01	0,27±0,02*	0,137±0,001**
Экспериментальный ХГПТСТ, n=40			

$\alpha$ -глюкозидаза	0,032±0,003	0,028±0,005*	0,021±0,003**
$\beta$ -глюкозидаза	0,041±0,012	0,063±0,003	0,074±0,002*
$\beta$ -галактозидаза	0,11±0,02	0,255±0,006*	0,128±0,004**
$\beta$ -глюкуронидаза	0,08±0,01	0,292±0,005*	0,144±0,002**

*Примечание: \*статистическая значимость показателей по сравнению с интактными животными,  $p < 0,05$ ; \*\*статистическая значимость показателей по сравнению с ХГПЛСТ,  $p < 0,05$*

При анализе уровня гликозидаз в исследуемых гомогенатах десны активность  $\alpha$ - и  $\beta$ -глюкозидаз не имела статистически значимого показателя, а активность  $\beta$ -галактозидазы, в свою очередь, повысилась соответственно в 2,2 и 2,4 раза,  $\beta$ -глюкуронидазы – соответственно в 3,6 и 3,9 раза по сравнению с крысами без патологии. Данный факт усиления активности уровня гликозидаз при экспериментальном пародонтите различной степени тяжести может возникать только в ответ на массовый выход в область очага воспаления макрофагов и лейкоцитов (рисунок 3.1).

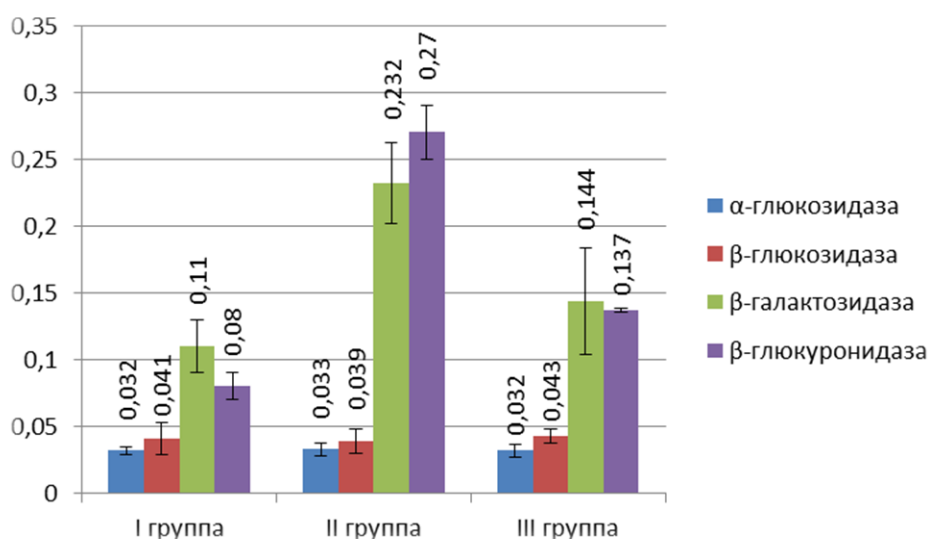


**Рисунок 3.1** – Активность кислых гликозидаз в тканях десны при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПЛСТ,  $n=40$

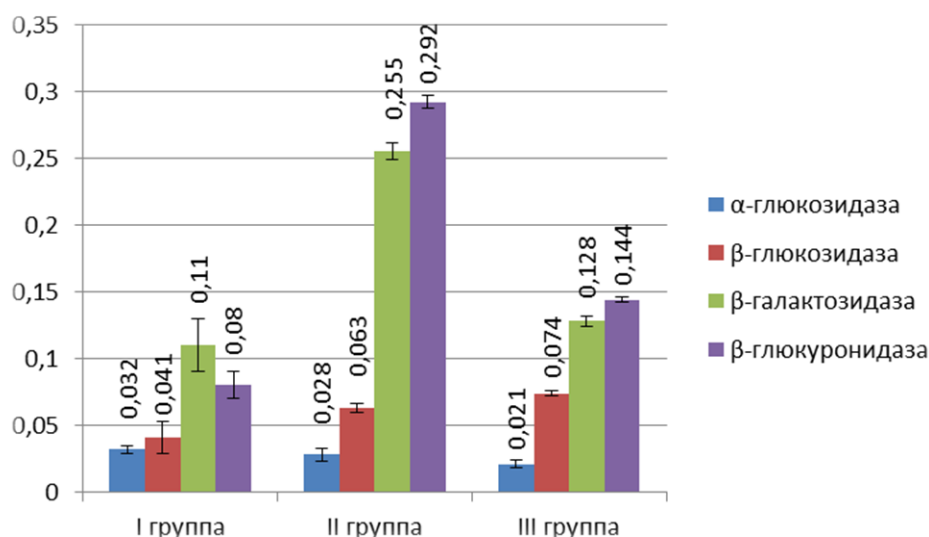
Вместе с этим, хорошо известно, что развитию пародонтита способствует разрушение соединительнотканной структуры пародонта

хондроитинсульфатов и гиалуроновой кислоты, сопровождающееся ростом ферментативной активности и изменением рН слюны в кислую сторону.

При использовании разработанного терапевтического комплекса (включающего иммуномодулятор Гепон, глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат) у крыс основной группы выявлен лишь незначительный рост активности  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы в тканях десны: при ХГПЛСТ рост составил 22,5 и 28,9% соответственно ( $p \geq 0,05$ ) по сравнению с показателями группы сравнения, при ХГПССТ – на 32,4 и 39,6% ( $p < 0,05$ ) соответственно, при ХГПТСТ - в 43,8 и 58,4% ( $p > 0,05$ ) соответственно (рисунок 3.2-3.3).



**Рисунок 3.2** – Активность кислых гликозидаз в тканях десны при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПССТ,  $n=40$



**Рисунок 3.3** – Активность кислых гликозидаз в тканях десны при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПТСТ,  $n=40$

В исследуемой группе крыс, которым проводили РТК, установлены более низкие показатели (по сравнению с показателями группы контроля, где воспроизводили патологию без терапии): при экспериментальном ХГПЛСТ в 1,7 ( $p < 0,05$ ) и 2,1 ( $p < 0,05$ ), при экспериментальном ХГПССТ – в 1,4 ( $p < 0,05$ ) и 1,9 ( $p < 0,05$ ), а при экспериментальном ХГПТСТ – в 1,9 ( $p < 0,05$ ) и 2,4 ( $p < 0,05$ ) раза соответственно.

В смешанной слюне также, как и в гомогенатах десен, активность  $\alpha$ - и  $\beta$ -глюкозидаз не отличалась статистически достоверно от показателей группы сравнения. Активность  $\beta$ -галактозидазы выросла при экспериментальном ХГПЛСТ – в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ), а  $\beta$ -глюкуронидазы – в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). При экспериментальном ХГПССТ и ХГПТСТ значения исследуемых гликозидаз выросли в 2,5 и 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,8 и 2,2 раза ( $p < 0,05$ ).

У животных основной группы с экспериментально смоделированными воспалительными процессами, которым применяли иммуномодулятор Гепона, глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат в смешанной

слюне отмечено незначительное повышение активности ферментов  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы по отношению к группе сравнения. Применение РТК при экспериментальном ХГПЛСТ вызывало рост показателей  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы по сравнению с группой контроля, где воспроизводили патологию без терапии в 1,9 и 1,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ).

Наименьшая активность в смешанной слюне животных группы сравнения отмечена у  $\beta$ -глюкуронидазы в отношении к другим гликозидаз, что связано, на наш взгляд, с наличием ингибитора  $\beta$ -глюкуронидазы, попадающем в слюну в основном, из крови. Экспериментальный пародонтит у животных основной группы сопровождался ростом антиглюкуронидазной активности по сравнению с крысами группы контроля 1,2 и 1,4 раза соответственно.

В основной группе исследования при введении иммуномодулятора Гепона с ГГХС активность антиглюкуронидазной системы увеличилась при ХГПЛСТ в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), при ХГПССТ – в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ), а при экспериментальном ХГПТСТ – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ). Выявленный рост активности антиглюкуронидазной системы в смешанной слюне на наш взгляд, необходимо учитывать при проведении лечебных мероприятий и рассматривать наиболее распространенный механизм защиты ротовой полости от повреждающего действия  $\beta$ -глюкуронидазы (таблица 3.2).

Поскольку ферментативная система по праву считается одним из ведущих факторов антимикробной активности в полости рта, в смешанной слюне определены избранные показатели суммарной активности пероксидаз при экспериментальных ХГПЛСТ, ХГПССТ, ХГПТСТ, поскольку именно этот фермент с наибольшей скоростью потенцирует реакцию окисления и восстановления, участие в которой принимают ионы йода (тиоцианатамы,  $SCN^-$ ) и водорода, попадающие из сыворотки крови в слюну.

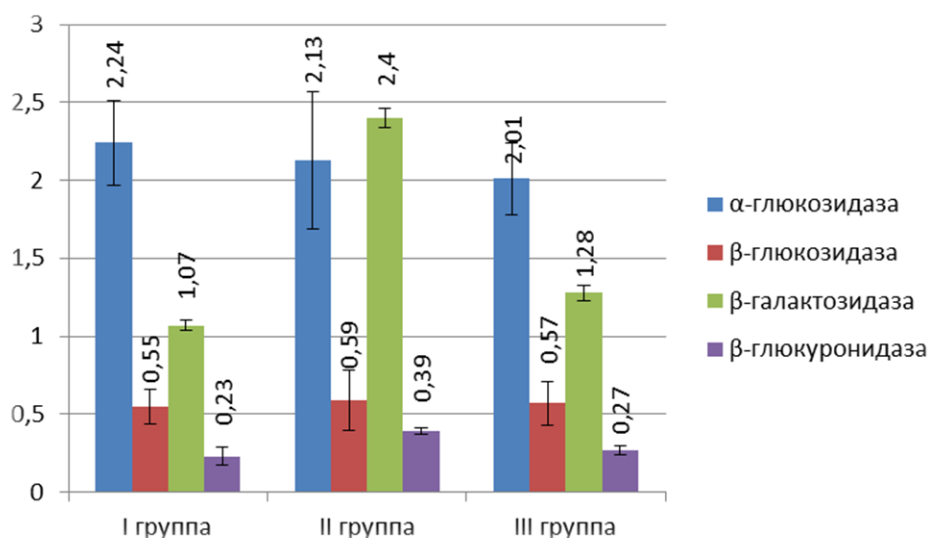
**Таблица 3.2** – Активность кислых гликозидаз в смешанной слюне при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ )

Ферментная активность, мкмоль/хв·г <sup>-1</sup>	Группы		
	I	II	III
	Интактные животные	КГ - крысы с экспериментальной патологией	ОГ - крысы с экспериментальной патологией + РТК
Экспериментальный ХГПЛСТ, n=40			
$\alpha$ -глюкозидаза	2,24±0,27	2,13±0,44	2,01±0,23
$\beta$ -глюкозидаза	0,55±0,11	0,59±0,19	0,57±0,14
$\beta$ -галактозидаза	1,07±0,03	2,40±0,06	1,28±0,05
$\beta$ -глюкуронидаза	0,23±0,06	0,39±0,02	0,27±0,03
Экспериментальный ХГПССТ, n=40			
$\alpha$ -глюкозидаза	2,24±0,27	1,98±0,13	1,94±0,22
$\beta$ -глюкозидаза	0,55±0,11	0,59±0,17	0,52±0,15
$\beta$ -галактозидаза	1,07±0,03	2,75±0,04*	1,54±0,08**
$\beta$ -глюкуронидаза	0,23±0,06	0,46±0,09*	0,31±0,03**
Экспериментальный ХГПТСТ, n=40			
$\alpha$ -глюкозидаза	2,24±0,27	1,78±0,16*	1,12±0,04**
$\beta$ -глюкозидаза	0,55±0,11	0,52±0,09*	0,69±0,08**
$\beta$ -галактозидаза	1,07±0,03	2,31±0,02*	1,38±0,24**
$\beta$ -глюкуронидаза	0,23±0,06	0,49±0,03*	0,57±0,05**

*Примечание: \*статистическая значимость показателей по сравнению с интактными животными,  $p < 0,05$ ; \*\*статистическая значимость показателей по сравнению с ХГПЛСТ,  $p < 0,05$*

На основании полученных сведений определена важная биологическая роль пероксидазы слюны, которая заключается в потенцировании образования активных форм кислорода за счет повреждающего воздействия на мембраны микроорганизмов, в результате чего тормозится их жизнедеятельность. При этом активные формы кислорода и гипотиоцианат-

ион не способны оказать сколько-нибудь вредного действия на клеточные структуры слизистой оболочки полости рта, продуцирующие ферментные системы, которые эффективно инактивируют данные ионы (рисунок 3.4).

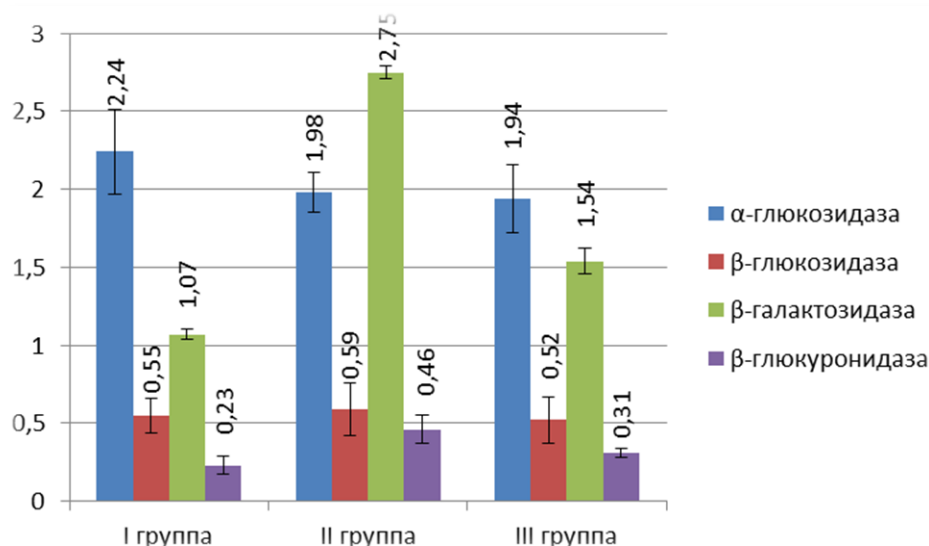


**Рисунок 3.4** – Активность кислых гликозидаз в смешанной слюне при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПЛСТ,  $n=40$

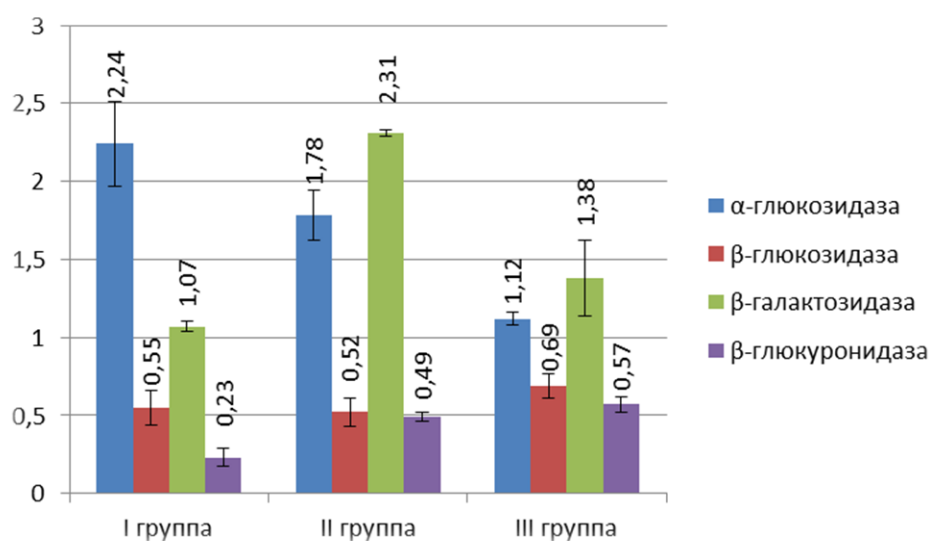
При экспериментальном ХГПЛСТ в смешанной слюне активность пероксидазы росла в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), при ХГПССТ (рисунок 3.5-3.6) – 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а при ХГПТСТ – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ). При этом у животных группы сравнения данный показатель составил  $425,4 \pm 23,4$ .

При использовании иммуномодулятора Гепона, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата в основной группе рост пероксидазной активности оказался более внушительным: при ХГПЛСТ – в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), при ХГПССТ – в 2,3 раза, при ХГПТСТ – в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ).





**Рисунок 3.5** – Активность кислых гликозидаз в смешанной слюне при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПССТ,  $n=40$



**Рисунок 3.6** – Активность кислых гликозидаз в смешанной слюне при моделировании в эксперименте на животных воспаления тканей пародонта и его терапии с использованием РТК ( $M \pm m$ ). Экспериментальный ХГПТСТ,  $n=40$

Следовательно, усиление пероксидазной активности в ответ на рост активности β-глюкуронидазы и β-галактозидазы в смешанной слюне и гомогенатах десен провоцирует появление гипотиоцианатов ( $-OSCN$ ) с

тиоцианатами (SCN<sup>-</sup>), участвующих в реализации комплексной антимикробной защиты слизистой оболочки и тканей пародонта.

### **3.2. Результаты определения прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза при патогенетической терапии воспалительных заболеваний тканей пародонта**

Вопросам оценки степени липидного обмена и способности иммунной защиты и цитокинового баланса сопротивляться патологическим факторам, а также состоянию ферментативных защитных систем пародонта сегодня уделяется самое серьезное внимание, наравне с уже существующими теориями патогенеза воспалительных и воспалительно-дистрофических заболеваний пародонтального комплекса тканей.

Данные о роли процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в патогенезе пародонтита указывают на необходимость более широкого использования антиоксидантов (АО) в проводимой терапии для интенсификации репаративных процессов и стабилизации клеточных мембран.

Наиболее известными и изученными в экспериментальной и клинической практике хондропротекторами остаются глюкозамин и хондроитин. Как в качестве монотерапии, так и в комбинации друг с другом данные препараты показали высокую эффективность при лечении патологических процессов, при которых необходима стимуляция регенеративных свойств соединительной ткани. Являясь по сути частью соединительно-тканых элементов ткани, и в частности, клеточных мембран, хондоитин и глюкозамин опосредуют многие процессы восстановления структуры, а значит, и функции многих органов и систем, где имеются повреждения. Несмотря на широкие показания к применению данных препаратов, их использование в стоматологии по-прежнему остается весьма органичным.

Разошедшийся к применению в клинической практике иммуномодулятор Гепона пока еще не использовался в терапии воспалительных заболеваний пародонта в комбинации с глюкозамином и хондроитином. Вместе с тем, вполне логичным представлялась оценка эффективности данных препаратов при комплексной терапии хронического пародонтита с целью максимального увеличения периода ремиссии заболевания.

В связи с вышесказанным, одной из задач данного раздела научной работы стало изучение прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза у крыс с экспериментально воспроизведенным воспалительным процессом тканей пародонта до и после применения разработанного терапевтического комплекса (РТК), включающего иммуно- и остеотропные препараты – иммуномодулятор Гепон, хондроитина сульфат и экзогенный глюкозамина гидрохлорид.

При исследовании систем ПОЛ и АОС в сыворотке крови экспериментальных животных установлено, что быстрее всего происходила активация перекисного окисления липидов у крыс с ХГПЛСТ, о чем свидетельствует обнаруженное у них снижение антиоксидантной защиты на фоне уменьшения активности каталазы в 1,6 раза и увеличения концентрации МДА в 2,4 раза (таблица 3.3).

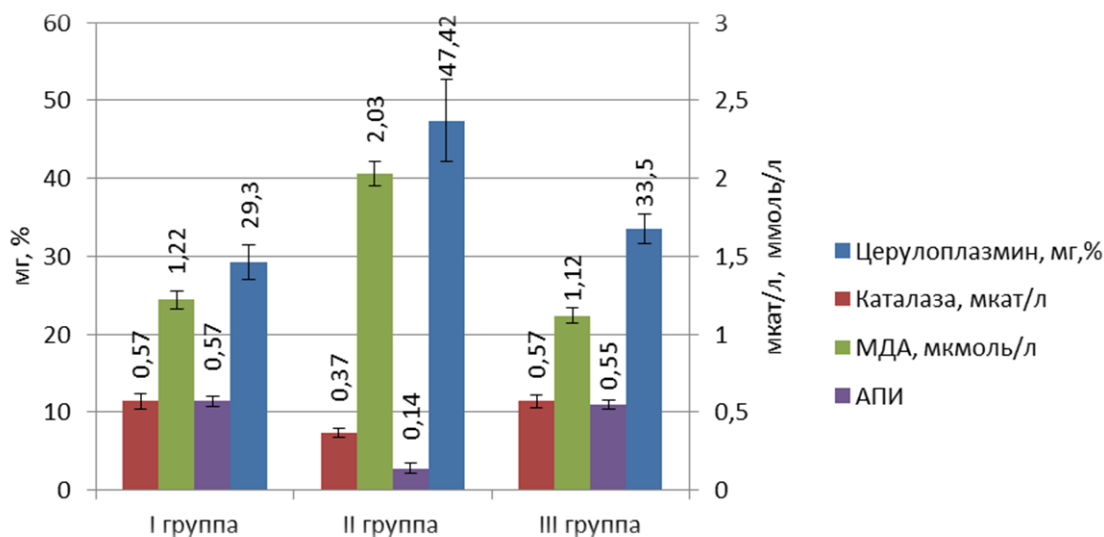
**Таблица 3.3** – Значения показателей ПОЛ и АОС в сыворотке крови у животных с экспериментальным ХГПЛСТ и при использовании РТК (M±m)

Показатели M±m	Группы		
	I	II	III
	Интактные животные	КГ - крысы с экспериментальной патологией	ОГ - крысы с экспериментальной патологией + РТК
Церулоплазмин, мг,%	29,3±2,24	47,42±5,2*	33,5±1,92*
Каталаза, мкат/л	0,57±0,05	0,37±0,03*	0,57±0,04**

МДА, мкмоль/л	1,22±0,06	2,03±0,08*	1,12±0,05**
АПИ	0,57±0,03	0,14±0,03*	0,55±0,03**

Примечание: \*статистическая значимость показателей по сравнению с интактными животными,  $p < 0,05$ ; \*\*статистическая значимость показателей по сравнению с ХГПЛСТ,  $p < 0,05$

Оценка показателей ПОЛ и АОС в пародонте при ХГПЛСТ выявила у животных группы контроля рост значения концентрации МДА в 1,5 раза, падение концентрации каталазы более, чем в 1,7 раза и снижение показателя АПИ в 2,1 раза. Использование разработанного терапевтического комплекса в основной группе дезавуировало рост ПОЛ и способствовало восстановлению антиоксидантной защиты, что подтверждено данными антиоксидантно-прооксидантного индекса, значения которого оказались практически идентичны данным, полученным у животных группы сравнения (рисунок 3.7).



**Рисунок 3.7** – Перекисное окисление липидов и показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови крыс с экспериментальным ХГПЛСТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ )

Как показали результаты проведенного исследования, интенсификация ПОЛ и утрата АО имеет большое значение в патогенезе ХГПЛСТ, а

применение разработанного терапевтического комплекса в основной группе при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести приводило к быстрому восстановлению исследуемых показателей до уровня нормы.

Анализ проведенных исследований у животных с экспериментальным ХГПССТ показал, что моделирование ХГПССТ при помощи специальной диеты и пищи с низким содержанием питательных веществ способствовало возникновению и дальнейшему прогрессированию воспаления в пародонтальных тканях экспериментальных животных. Клинически эффективность разработанной модели пародонтита подтверждалась отеком слизистой оболочки и десен, повышенной кровоточивостью пародонтальных карманов при зондировании, появлению подвижности зубов. Рентгенологическое исследование дополнило сделанное заключение о формировании ХГПССТ, поскольку выявлена выраженная резорбция верхушек межзубных костных перегородок, что также подтверждено и данными биохимического исследования, полученные в ходе экспериментального исследования, о метаболических сдвигах в тканях пародонта (таблица 3.4).

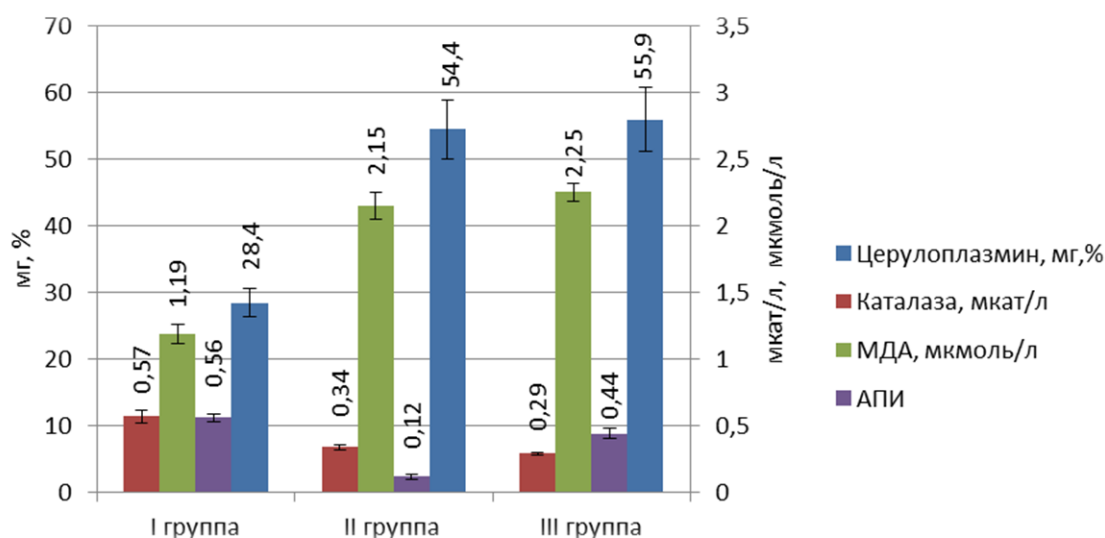
**Таблица 3.4** – Значения ПОЛ и АОС в сыворотке крови животных с экспериментальным ХГПССТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ )

Показатели $M \pm m$	Группы		
	I	II	III
	Интактные животные	КГ - крысы с экспериментальной патологией	ОГ - крысы с экспериментальной патологией + РТК
60 суток			
Церулоплазмин, мг/%	28,4±2,15	54,4±4,47*	55,9±4,86*
Каталаза, мкат/л	0,57±0,05	0,34±0,02*	0,29±0,01*
МДА, мкмоль/л	1,19±0,07	2,15±0,10*	2,25±0,07*
АПИ	0,56±0,03	0,12±0,02*	0,44±0,04*
90 суток			

Церулоплазмин, мг/%	26,3±2,51	48,4±3,26*	30,8±2,92**
Каталаза, мкат/л	0,55±0,04	0,35±0,07*	0,51±0,07**
МДА, мкмоль/л	1,12±0,04	2,24±0,15*	1,22±0,09**
АПИ	0,56±0,02	0,16±0,01*	0,43±0,05**

*Примечание: \*статистическая значимость показателей по сравнению с интактными животными,  $p < 0,05$ ; \*\*статистическая значимость показателей по сравнению с ХГПЛСТ,  $p < 0,05$*

Антиоксидантно-прооксидантный индекс при ХГПССТ снизился в 4,7 раза, показатели церулоплазмина в группе контроля оказался в 2 раза выше аналогичного показателя группе сравнения. Полученные данные позволяют говорить о хронизации воспаления в пародонте экспериментальных животных уже на 60-е сутки после начала моделирования хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести (рисунок 3.8).

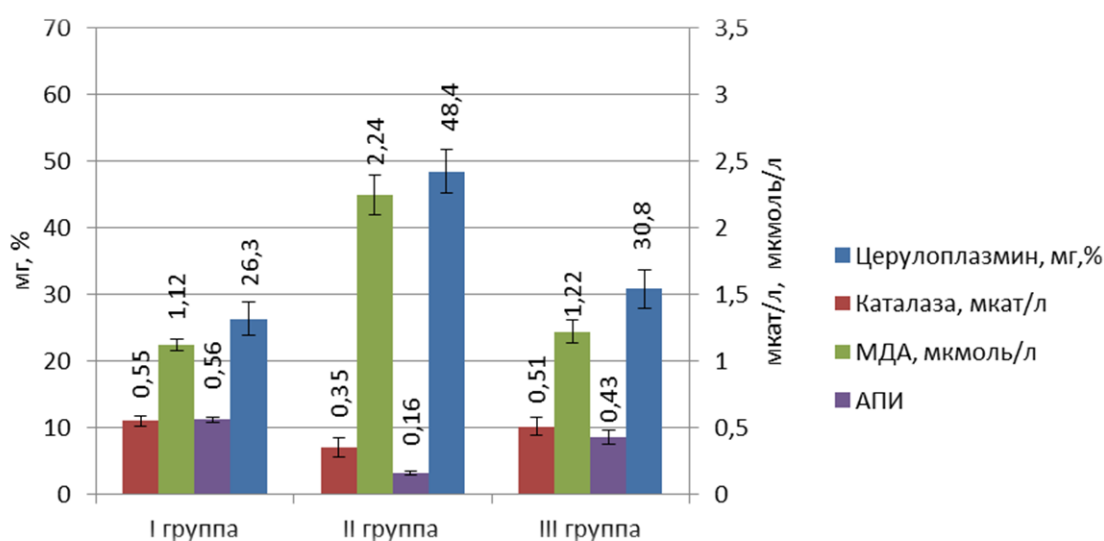


**Рисунок 3.8** – Значение уровня перекисного окисления липидов и показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови крыс с экспериментальным ХГПССТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ ), 60 суток

При переводе крыс на стандартный рацион вивария к 90-м суткам эксперимента, выявлена нормализация основных биохимических показателей. Вместе с этим, значения систем перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы оказались далеки от нормы, что косвенно

потверждал рост показателей церулоплазмينا и МДА при сопоставлении с показателями группы сравнения в 1,9 и 2 раза соответственно, а также снижение уровня показателя АПИ и активности каталазы в 3,2 раза и в 1,5 раза соответственно.

В основной группе, где применялся РТК, состоящий из иммуномодулятора Гепона, хондроитина сульфата и экзогенного глюкозамина гидрохлорида к 90-м суткам активность каталазы выросла на 45,8%, АПИ увеличился в 2,8 раза, а уровень МДА, наоборот, уменьшился в 1,8 раза. Таким образом, лечебное воздействие РТК, состоящего из иммуномодулятора Гепон, хондроитина сульфата и экзогенного глюкозамина гидрохлорида особенно ярко проявляется на фоне снижения активности процессов перекисного окисления липидов, когда происходит полная деактивация антиоксидантной системы (рисунок 3.9).



**Рисунок 3.9** – Перекисное окисление липидов и показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови крыс с экспериментальным ХГПССТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ ). 90 суток

Восстановление значений церулоплазмينا до нормальных величин свидетельствует о купировании продромальных воспалительных явлений в тканях пародонта, что, на наш взгляд, обусловлено свойствами церулоплазмينا к стимулированию роста стабильности клеточных мембран,

способностью к разрушению свободных радикалов кислорода и дезактивации процессов перекисного окисления липидов.

Разработка модели воспалительно-дистрофического процесса в пародонтальном комплексе – до уровня хронического генерализованного пародонтита тяжелой степени выявило уменьшение активности АОС в тканях пародонта, что подтверждено падением уровня каталазы в срок 60 суток в 2,9 раза и активизацией процессов перекисного окисления липидов, на что указывает рост концентрации МДА в 1,8 раза при снижении показателей антиоксидантно-прооксидантный индекса в 4 раза (таблица 3.5).

**Таблица 3.5** – Показатели ПОЛ и АОС в гомогенатах тканей десны животных с экспериментальным ХГПТСТ и при использовании РТК (M±m)

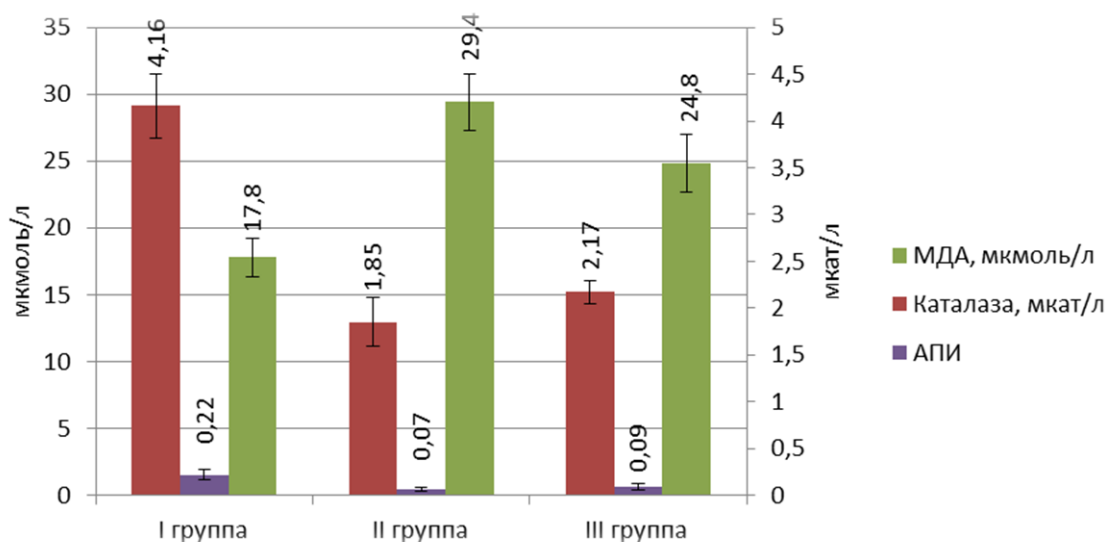
Показатели M±m	Группы		
	I	II	III
	Интактные животные	КГ - крысы с экспериментальной патологией	ОГ - крысы с экспериментальной патологией + РТК
60 суток			
Каталаза, мкат/л	4,16±0,34	1,85±0,26*	2,17±0,12*
МДА, мкмоль/л	17,8±1,45	29,4±2,15*	24,8±2,16*
АПИ	0,22±0,05	0,07±0,02*	0,09±0,03*
90 суток			
Каталаза, мкат/л	3,9±0,25	2,2±0,12*	3,6±0,19**
МДА, мкмоль/л	17,3±1,2	24,8±1,2*	18,7±1,4**
АПИ	0,24±0,03	0,09±0,01*	0,21±0,06**

*Примечание: \*статистическая значимость показателей по сравнению с интактными животными,  $p < 0,05$ ; \*\*статистическая значимость показателей по сравнению с ХГПЛСТ,  $p < 0,05$*

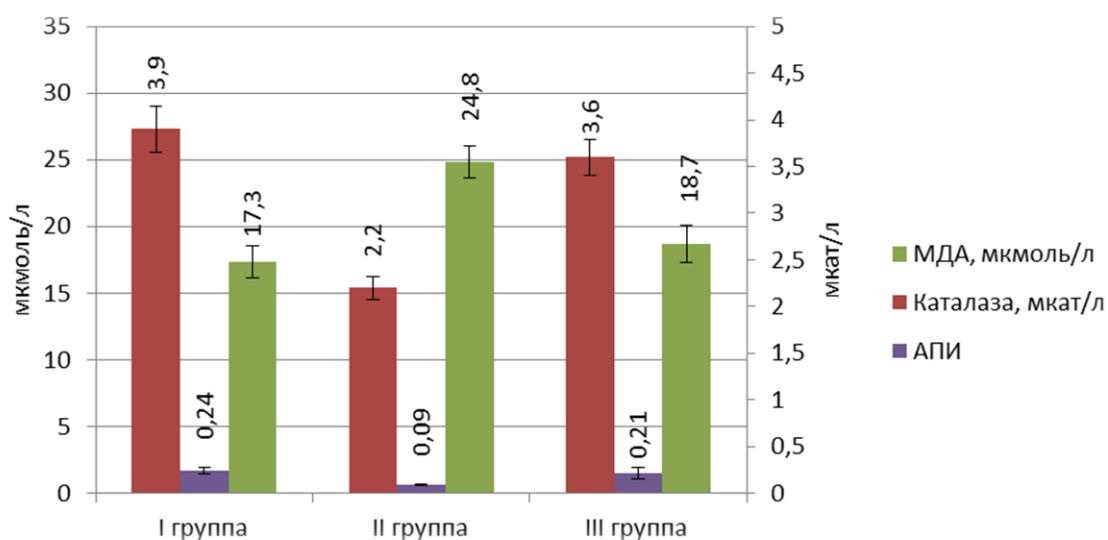
К 90-м суткам в группе контроля эксперимента исследуемые показатели нормализовались, но все еще отличались от показателей, выявленных в группе сравнения ( $p < 0,05$ ).



После 30-дневного курса терапии с применением разработанного комплекса выявлена стабилизация прооксидантно-антиоксидантного баланса, при этом у каталазы отмечено повышение активности в 1,7 раза, значение антиоксидантно-прооксидантный индекса выросло в 2,3 раза, а уровень МДА, наоборот, стало ниже в 1,4 раза (рисунок 3.10-3.11).



**Рисунок 3.10** – Перекисное окисление липидов и показатели антиоксидантной системы в гомогенатах тканей десны крыс с экспериментальным ХГПТСТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ ), 60 суток



**Рисунок 3.11** – Перекисное окисление липидов и показатели антиоксидантной системы в гомогенатах тканей десны крыс с экспериментальным ХГПТСТ и при использовании РТК ( $M \pm m$ ), 90 суток

Таким образом, активизация процессов ПОЛ и механизмов АО имеет первостепенное значение в патогенезе таких воспалительных заболеваний пародонта, как ХГПЛСТ и таких воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта, как ХГПССТ и ХГПТСТ.

Несомненно, все разрабатываемые лечебные мероприятия по купированию воспаления в пародонте и увеличению продолжительности периода ремиссии должны учитывать данное обстоятельство и быть направлены на деактивацию перекисного окисления липидов и стимулирование механизмов антиоксидантной защиты.

Применение разработанного терапевтического комплекса, включающего иммуномодулятор Гепон, хондроитина сульфата и экзогенного глюкозамина гидрохлорида позволило установить выраженный терапевтический эффект, ранее не описанный в литературе, ведущий к нейтрализации гидроксильных ионов, защищающий системы репродукции клеток от окислительного повреждения, что находит свое подтверждение в виде восстановления системы антиоксидантной защиты и деактивации процесса перекисного окисления липидов при пародонтите различной степени тяжести в эксперименте на животных.

## Резюме

Как показали результаты экспериментального и лабораторного исследования, при повреждающем действии кислых гликозидаз в условиях смоделированного экспериментального пародонтита различной степени тяжести развивается сдвиг буферных оснований в кислую сторону из-за быстропрогрессирующего метаболического ацидоза со снижением рН. Применение РТК в виде иммуномодулятора Гепона, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата в короткие сроки стабилизирует кислотно-щелочной баланс и потенцирует активацию аутоиммунных

механизмов защиты, которые выражаются повышением пероксидазной и антиглукуронидазной активности ротовой жидкости.

Нарушение прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза, заключающееся в активации ПОЛ и снижении активности ферментов АОС, играет важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта. Действующие вещества РТК, включая иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат купируют генерацию свободных радикалов и способствуют стабилизации прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза, поэтому их использование в патогенетической терапии пародонтита является вполне обоснованным.

## ГЛАВА 4.

### РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленной цели исследования проведено микробиологическое исследование видового состава микрофлоры зубодесневого кармана (ЗДК) и корня языка и дана оценка ее чувствительности к различным антибактериальным средствам, используемым при лечении хронических пародонтитов.

#### **4.1. Оценка структуры микроорганизмов, выделяемых из исследуемых локусов при хронических пародонтитах**

Биологический материал получен от 171 больного, среди которых 101 мужчина и 70 женщин. В ходе исследования использованы классические бактериологические методики для культивирования как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов, а также дополнительно ПЦР-диагностика в режиме реального времени для выявления генетического материала отдельных, трудно культивируемых бактерий.

Бактериологическое обследование дало положительный результат из двух локусов одновременно у 157 пациентов (91,8% случаев), из одного (ЗДК) – у 12 (7,0%). Из ЗДК выделено 252, из ЗН – 220 штаммов различных микроорганизмов.

В ходе проведенного исследования получены результаты, свидетельствующие о частом выделении в чистой культуре у большинства обследованных пациентов анаэробных возбудителей (таблица 4.1). Такие бактерии идентифицированы в 76,8% случаев положительных результатов от пациентов с бактериологически подтвержденной инфекционной природой пародонтита. Важно, что в полученном от пациентов материале из разных локусов идентифицировано 16 видов микроорганизмов, среди которых

особое отношение к дрожжеподобным грибкам, разделенных на две группы - *Candida albicans* и *Candida non-albicans*. Следует признать, что на долю грамположительных кокков (стафилококки, стрептококки, энтерококки) пришлось небольшое число положительных бактериологических результатов, что следует рассматривать как проявление нарушенного микробиоценоза ротовой полости, особенно у пациентов с тяжелой формой ХГП. Именно наличие высокой степени обсемененности слизистой дрожжеподобными грибками у таких больных можно рассматривать как проявление дисбактериоза при существенном изменении иммунологической реактивности.

**Таблица 4.1** – Микроорганизмы, выделенные бактериологическим методом от больных хроническим пародонтитом

Микроорганизм	Кол-во штаммов, выделенных из ЗДК n-253	Кол-во штаммов, выделенных с корня языка n-220
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	24	19
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	29	27
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	11	10
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8	6
<i>Bacteroides caccae</i>	7	4
<i>Prevotella intermedia</i>	21	22
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	9	2
<i>Tannerella forsythia</i>	44	41
<i>Treponema denticola</i>	26	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	15
<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	4
<i>Klebsiella</i> spp.	3	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	4
<i>Candida albicans</i>	23	25
<i>Candida non-albicans</i>	16	17

Наибольший вклад в структуру выделенных микроорганизмов внесли следующие пародонтопатогены: *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*. У 32 из 35 пациентов с ХГПТСТ, а также у каждого четвертого пациента с ХГПССТ выделены дрожжеподобные грибки.

Интересным можно считать полученные данные о нечастом выделении из локусов штаммов *Staphylococcus aureus*, пептострептококков, бактериоидов, пиогенных стрептококков, энтерококков и грамотрицательных аэробных бактерий, что может свидетельствовать в пользу существенного сдвига в составе микробиоты полости рта пациентов с ХГП, в пользу специфических пародонтопатогенов.

С микробиологической точки зрения важным следует признать факт выделения 17 видов ассоциаций микроорганизмов у 61 пациента. По 3 штамма *Pseudomonas aeruginosa* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* выделено от пациентов в качестве единственного возбудителя. С клинической точки зрения принципиальным можно считать наличие у пациентов с тяжелой формой хронического пародонтита комбинаций возбудителя с дрожжеподобными грибками.

Существенные трудности при проведении классических микробиологических исследований, трудности культивирования, длительность проведения бактериологических процедур, а также влияние на конечный результат слишком большого числа переменных составляющих, стали обоснованием к проведению более точного и специфического в отношении пародонтопатогенов молекулярно-генетического метода диагностики.

У всех пациентов методом ПЦР-real time подтверждено наличие генетического материала по наличию значения порогового цикла «Ct», в том числе, соответствующего не менее  $10^5$  КОЕ/мл выявляемого микроорганизма. Только у одного пациента с ХГПТСТ отрицательным оказался результат ПЦР диагностики из ЗДК, а в мазке с корня языка

выделен генетический материал *Porphyromonas endodontalis* в значениях, превышающих диагностический порог.

Из ЗДК 98,6% пациентов выделен генетический материал *Fusobacterium nucleatum*, однако у 87% пациентов значения порогового цикла «Ст» были ниже диагностического порога (таблица 4.2.). *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* выявлены у 86,9% и 81,2% пациентов соответственно. Причем, диагностический порог превышен для трепонем у 53,3%, а для *Porphyromonas gingivalis* – у 71,1% больных с ХГП. Наименее часто выделялся генетический материал из ЗДК *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (у 13,1% пациентов) и *Porphyromonas endodontalis* (18,8%).

Анализ результатов по корню языка показал другую тенденцию в отношении всех пародонтопатогенов, кроме *Porphyromonas* spp. *Fusobacterium nucleatum* в диагностически значимом титре выявлены у 29% пациентов, что почти в 2,5 раза чаще, чем из ЗДК. Такая же тенденция просматривалась в отношении *Bacteroides caccae*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* наоборот, выявлялись на корне языка существенно реже, хотя материал этих микроорганизмов в подпороговых значениях все-таки присутствовал в большинстве мазков, полученных из данного локуса.

**Таблица 4.2** – Анализ результатов молекулярно-генетического исследования

	Доля положительных результатов при ПЦР (%)			
	Положительный результат выше диагностического порога		Положительный результат ниже диагностического порога	
	ЗДК	Корень языка	ЗДК	Корень языка
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	13,1%	5,8%	4,35%	18,8%
<i>Treponema denticola</i>	53,6%	17,4%	33,3%	52,2%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	71,1%	58%	10,1%	31,9%

<i>Tannerella forsythia</i>	36,2%	5,8%	30,4%	40,6%
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	18,8%	16%	24,7%	21,7%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	11,6%	29%	87%	65,2%
<i>Prevotella intermedia</i>	4,4%	0	62,3%	71%
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,8%	16%	24,7%	21,7%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	11,6%	5,8%	33,3%	40,6%
<i>Bacteroides caccae</i>	11,6%	17,4%	33,3%	18,8%

Интересным следует признать, что тяжесть ХГП сопряжена с большей вероятностью выделения их материала пациентов, полученного из ЗДК, *Porphyromonas* spp., *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Последний пародонтопатоген в титрах, превышающих диагностический уровень, выделялся только у пациентов с ХГПТСТ.

Таким образом, классическими бактериологическими методами при хроническом пародонтите выделяются в основном анаэробные возбудители из группы пародонтопатогенов. Только от 23 пациентов (13,5% обследованных больных) получены ассоциации анаэробов с аэробными, либо факультативно анаэробными штаммами грамположительных кокков, или с грамотрицательными энтеробактериями и неферментирующими микроорганизмами. У 32 из 35 пациентов с ХГПТСТ, а также у каждого четвертого пациента с ХГПССТ выделены дрожжеподобные грибки, в том числе *Candida non-albicans*.

ПЦР-диагностика с учетом результатов в режиме реального времени позволяет в более короткие сроки, с меньшими трудозатратами и с большей точностью выявлять наличие генетического материала трудно культивируемых анаэробных возбудителей хронических пародонтитов. Стафилококки, стрептококки и другие микроорганизмы, культивируемые без особых технологических трудностей, выделяются и микробиологическими и молекулярно-генетическими методами с одинаковой частотой.



Существенным следует признать факт отсутствия серьезных несовпадений в структуре выделяемых грамположительных или грамотрицательных бактерий как от одного пациента в рамках исследуемых локусов (корень языка или карман), так и в зависимости от тяжести генерализованного хронического пародонтита. Достоверно отличалось только количество выявленных культур дрожжеподобных грибов, доля которых у пациентов с тяжелой формой патологии оказалась выше ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2. Оценка чувствительности основных возбудителей инфекционных процессов при хроническом пародонтите

Для изучения уровня резистентности основных возбудителей хронических пародонтитов к противомикробным средствам, применяемым в клинической практике, диско-диффузионным методом была оценена чувствительности 38 штаммов аэробных и 42 – анаэробных микроорганизмов.

Полученные результаты определения чувствительности у 82 штаммов микроорганизмов представлены в таблице 4.3.

**Таблица 4.3** – Характеристика чувствительных к противомикробным средствам штаммов основных пародонтопатогенов (% чувствительных штаммов)

Микроорганизм (кол-во штаммов)	амо	а/кл	ципр	мок	эри	ази	лин	мет
<i>Staphylococcus aureus</i> (n-15)	46,7	80	86,7	93,3	73,3	73,3	66,7	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> (n-7)	100	100	-	100	85,7	85,7	-	-
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (n-20)	75	100	90	100	-	100	75	75

<i>Fusobacterium nucleatum</i> (n-8)	75	100	-	87,5	-	-	75	100
<i>Prevotella intermedia</i> (n-20)	-	100	-	90	-	75	55	100

Примечание: амо - амоксициллин; а/кл – ко-амоксиклав; ципр – ципрофлоксацин; мок – моксифлоксацин; эри – эритромицин; ази – азитромицин; лин – линкомицин; мет – метронидазол.

Наиболее эффективным препаратом в отношении аэробных микроорганизмов, если не брать в расчет 3 штамма синегнойной палочки, оказался амоксициллин/клавуланат. Высокая совокупная активность обнаружена и у моксифлоксацина. Ципрофлоксацин активен в отношении 86,7% штаммов стафилококков, а также большинства грамотрицательных аэробных палочек, но не стрептококков.

Наивысшая антимикробная активность – 100% - в отношении основных анаэробных бактерий также выявлена у амоксицилин/клавуланата. Амоксициллин сохраняет высокую активность в отношении анаэробов, а также пиогенных стрептококков. Высокая эффективность обнаружена также у метронидазола и моксифлоксацина. Линкомицин, макролиды и ципрофлоксацин показали значительно меньшую активность в отношении большинства анаэробных микроорганизмов.

Определен уровень резистентности к широко используемым, или применяемым только в стационарной практике противогрибковым препаратам 20 штаммов *Candida albicans*, 8 штаммов *Candida glabrata* и 7 - *Candida tropicalis*. Если в отношении первых грибков флуконазол сохранял высокую активность в 75% случаев, то только 1 штамм из 15 грибков *non-albicans* оказался чувствительным к данному широко используемому противомикробному препарату. Если брать все штаммы грибков, то нистатин оказался активным в отношении 32 из 35 штаммов (93,3% чувствительных

штаммов), интраконазол – 33 из 35, а вориконазол подавлял рост всех изученных грибков.

Таким образом, наиболее высокой прогнозируемой эффективностью в отношении наиболее часто встречающихся возбудителей хронических пародонтитов обладают амоксициллин/клавуланат и моксифлоксацин. Именно у этих препаратов обнаружена наибольшая активность в отношении как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов, выделенных от пациентов с изученной патологией. Если брать во внимание только анаэробные бактерии, которые остаются основными возбудителями хронических пародонтитов, то не утратили свою активность амоксициллин, метронидазол, а также линкомицин, но в значительно меньшей степени. Высокая резистентность дрожжеподобных грибков к флуконазолу заставляет пересмотреть подходы к противогрибковой терапии при генерализованных формах хронического пародонтита в пользу применения местной терапии нистатином, или препаратов новой генерации.

## ГЛАВА 5.

### ОБОСНОВАНИЕ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Как показали результаты исследования, проведенного в предыдущем разделе настоящей научной работы, воспаление тканей пародонта является следствием, среди прочего, флогогенного воздействия факторов бактериологической природы. Воспалительный процесс, оставаясь комплексом защитно-приспособительных реакций, не всегда заканчивается репарацией и пролиферацией, а принимает характер первичного хронического процесса, связанного с комплексом факторов риска иммунологической природы.

В основе эффекторного звена хронического воспаления тканей пародонта при хроническом генерализованном пародонтите лежит собственно сама соединительная ткань пародонта, система сосудов которого образует сосудистую сеть – пародонтальное микроциркуляторное русло, а также система крови, которая играет ключевую роль в разрешении воспаления.

Проведено клинико-лабораторное обследование у 171 человека без фоновой соматической патологии в возрасте 18-65 лет.

По результатам клинико-рентгенологического анализа состояния тканей пародонта группы обследования представлены следующим образом:

1. Группа сравнения-1 (ГС-1): 30 человек с интактным пародонтом (средний возраст  $27,6 \pm 0,4$  лет);
2. Группа сравнения-2 (ГС-2): 30 больных хроническим катаральным гингивитом (ХКГ) (средний возраст  $22,5 \pm 0,5$  лет);
3. Основная группа-1 (ХГПЛСТ): 40 больных ХГП легкой степени тяжести (средний возраст  $29,5 \pm 3,7$  лет);

4. Основная группа-2 (ХГПССТ): 36 больных ХГП средней степени тяжести (средний возраст  $37,7 \pm 1,6$  лет);

5. Основная группа-3 (ХГПТСТ): 35 больных ХГП тяжелой степени ( $45,8 \pm 1,6$  лет).

В задачи настоящего раздела входили:

1. исследование системного иммунитета у пациентов с ХГП;
2. исследование скорости изменения объективных данных, свидетельствующих как о неспецифической, так и об иммунной резистентности в ротовой и десневой жидкости в зависимости от степени развития, характера течения и клинической формы ХГП;
3. многофакторный корреляционный анализ взаимосвязи показателей иммунологической защиты с индексными показателями, клинического состояния тканей пародонта;
4. клинико-лабораторная оценка эффективности иммунокорректирующей терапии с использованием препарата Гепон в комплексном лечении больных ХГП.

### **5.1. Результаты оценки состояния местного иммунитета полости рта и тканей пародонта у больных хроническим генерализованным пародонтитом**

Проведенные исследования показали, что развитие необратимых деструктивных изменений в пародонте в условиях длительного хронического воспаления сопровождается разноплановыми изменениями в системе местного иммунитета ротовой полости.

Так, представленные в таблице 5.1 данные свидетельствуют о том, что у больных группы сравнения-2 с ХКГ выявлена тенденция к повышению титра  $\beta$ -лизинов на фоне достоверного роста содержания лизоцима в ротовой жидкости – в 1,25 раза ( $p < 0,01$ ), а значения секреторного IgA – в 1,23 раза ( $p < 0,005$ ).

**Таблица 5.1** – Значение некоторых показателей местного иммунитета в ротовой жидкости у больных с хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести

Статус	Лизоцим (мкг/мл)	$\beta$ -лизины (отн.ед.)	SIgA (г/л)	IgA (г/л)	IgG (г/л)
1. Интактный пародонт (n=30)	505,4±10,6	22,4±0,9	0,312±0,013	0,225±0,003	0,496±0,007
2. ХКГ (n=30)	628,5±4,2 $P_1 < 0,001$	22,7±0,9 $P_1 > 0,05$	0,391±0,016 $P_1 < 0,005$	0,232±0,009 $P_1 > 0,05$	0,496±0,003 $P_1 > 0,005$
3. ХГПЛСТ (n=40)	552,4±12,3 $P_{1-2} < 0,01$	30,3±2,5 $P_{1-2} < 0,01$	0,434±0,016 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,05$	0,248±0,002 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,01$	0,526±0,008 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$
4. ХГПССТ (n=36)	481,2±3,9 $P_{1-2} < 0,01$ $P_3 < 0,05$	38,9±0,9 $P_{1-2} < 0,01$ $P_3 < 0,01$	0,339±0,027 $P_{1-3} < 0,05$	0,386±0,013 $P_{1-2} < 0,001$ $P_3 < 0,001$	0,489±0,044 $P_1 > 0,005$ $P_{2-3} < 0,005$
5. ХГПТСТ (n=35)	349,7±16,9 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,05$	44,3±0,6 $P_{1-4} < 0,01$	0,211±0,018 $P_{1-3} < 0,005$ $P_4 < 0,01$	0,452±0,012 $P_{1-4} < 0,001$	0,343±0,005 $P_{1-3} < 0,005$ $P_4 < 0,001$

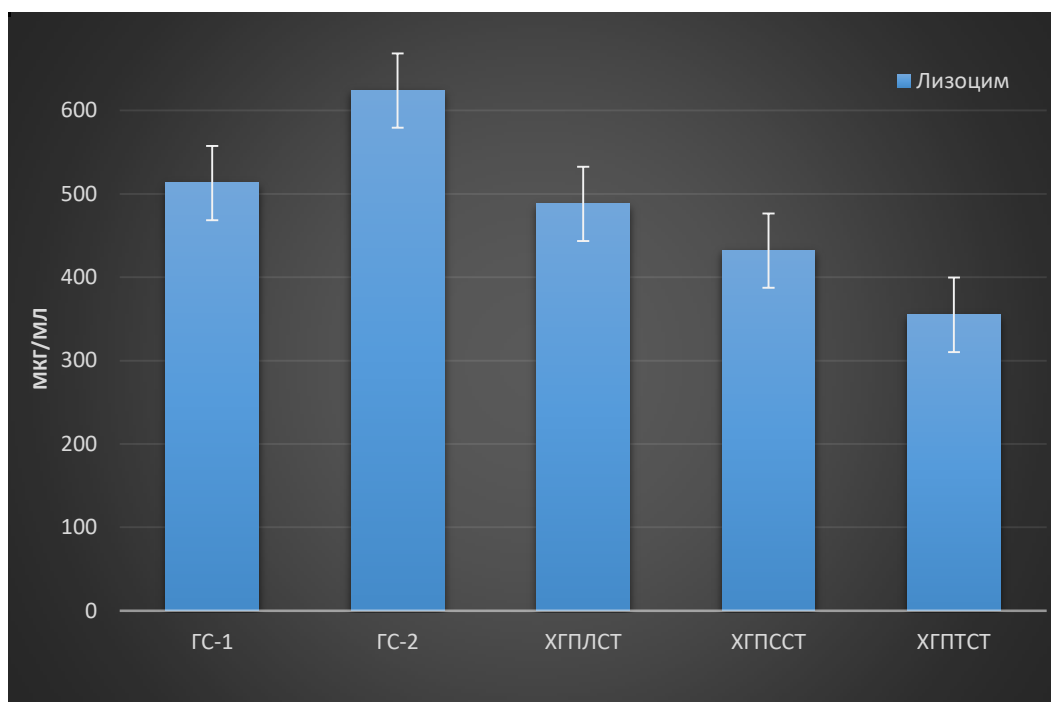
*Примечание:  $P_1$  - статистическая достоверность значений, полученных у больных с ХКГ по отношению к показателям в ГС-1 у лиц с интактным пародонтом;  $P_{2-4}$  - статистическая достоверность значений, полученных при сравнении с показателями в группах больных с ХГПЛСТ ( $P_2$ ), ХГПССТ ( $P_3$ ), ХГПТСТ ( $P_4$ )*

У больных ХГПЛСТ также зарегистрирован рост исследуемых показателей в ротовой жидкости по сравнению с обследуемыми группы сравнения. Отмечен рост уровня лизоцима при ХГПЛСТ и достоверное ( $p < 0,05$  -  $p < 0,001$ ), еще более выраженный по сравнению с больными ХКГ, рост содержания иммуноглобулинов SIgA, IgA, IgG и титра  $\beta$ -лизинов.

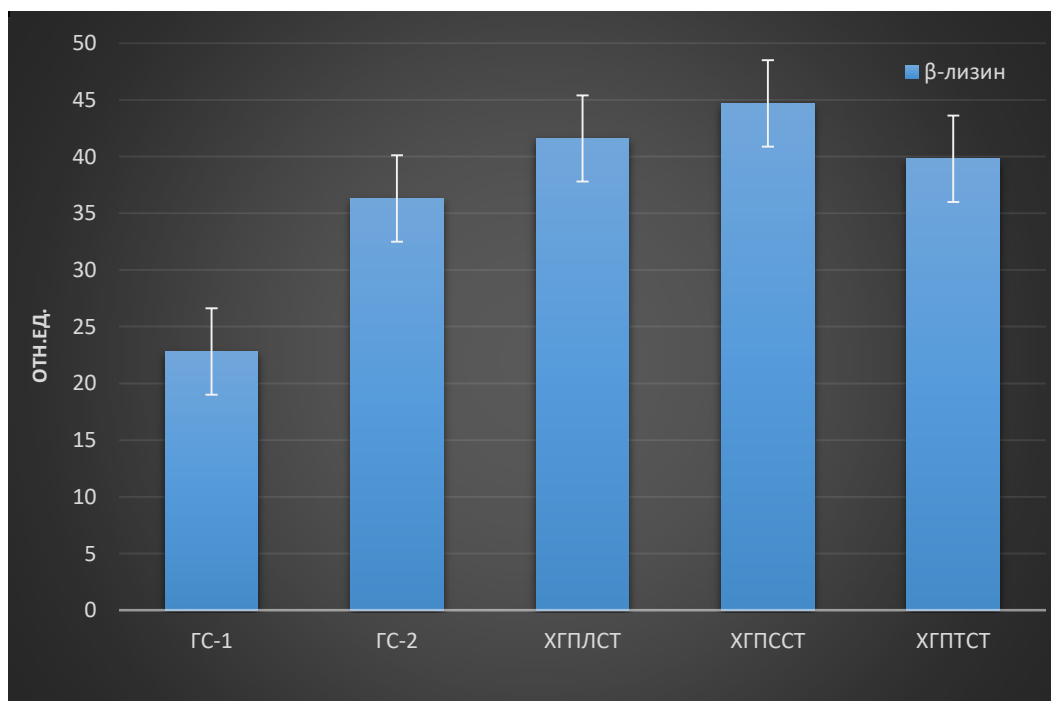
Все это прямо говорит о задемпфированности местного иммунитета полости рта у пациентов с ХКГ различной степени тяжести.

В условиях хронической персистенции пародонтопатогенной микрофлоры, в отсутствии ответа от защитно-компенсаторных сил организма в условиях иммунопатологических изменений в системе иммунного барьера, в тканях пародонта происходит хронизация и генерализация патологического процесса. Данное умозаключение подтверждают значительные изменения изучаемых показателей неспецифической и иммунной резистентности в ротовой жидкости больных ХГПЛСТ и ХГПССТ, особенно выраженные – у больных ХГПТСТ.

Так, при прогрессировании дистрофически-воспалительного процесса в пародонте отмечается постепенное снижение уровня лизоцима в ротовой жидкости, наиболее значимое у больных с ХГПЛСТ ( $552,4 \pm 12,3$  мкг/мл по сравнению с  $505,4 \pm 10,6$  мкг/мл у лиц с интактным пародонтом,  $p < 0,001$ ), повышение содержания  $\beta$ -лизинов ( $p < 0,001$ ), а также значительное замедление процессов антителогенеза, что подтверждают сниженные концентрации SIgA и IgG, особенно секреторного Ig A (у больных ХГПССТ и ХГПТСТ в 1,3-1,5 раза,  $p < 0,005$ ) (рисунок 5.1-5.2). При недостаточном содержании SIgA в секретах создаются предпосылки для развития аллергических и аутоиммунных процессов.



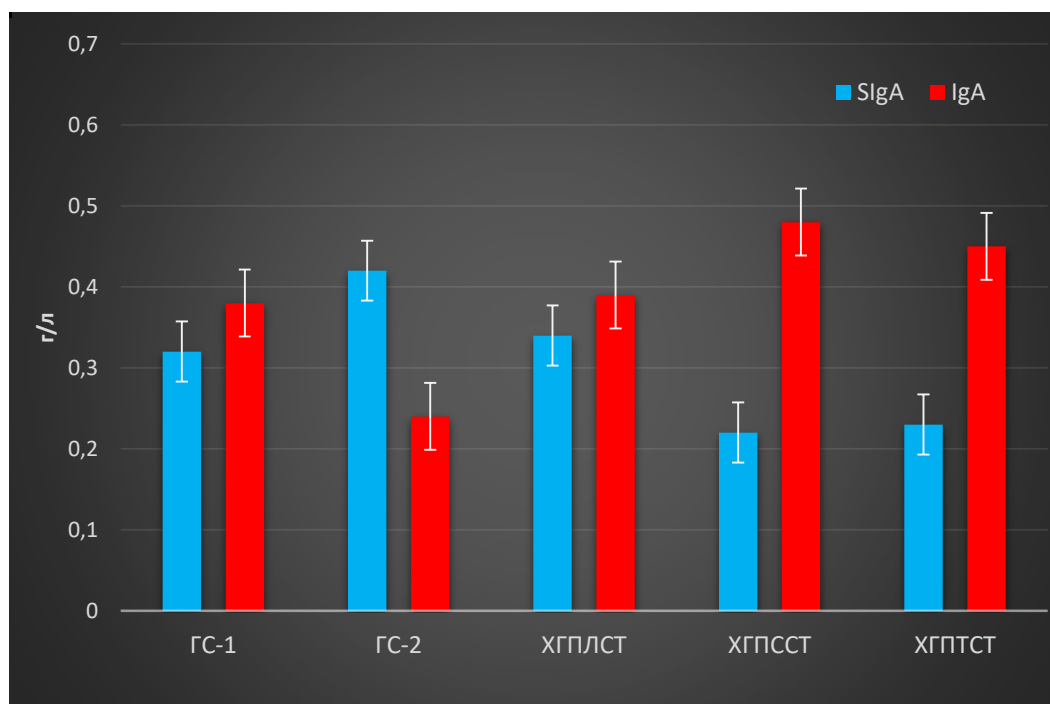
**Рисунок 5.1** – Содержание лизоцима в ротовой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести



**Рисунок 5.2** – Содержание β-лизинов в ротовой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести



Необходимо отметить, что с усилением степени тяжести ГП у больных на фоне снижения концентрации секреторного IgA в ротовой жидкости повышается уровень мономерной формы IgA (рисунок 5.3).



**Рисунок 5.3** – Содержание секреторного и мономерного IgA в ротовой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Это может быть связано как с сосудистым происхождением мономерного IgA, то есть за счет поступления его в ротовую жидкость с большим количеством десневой жидкости при усилении воспаления тканей пародонта, так и с повышенной деградацией молекул секреторного IgA. Известно, что при увеличении количества микроорганизмов и их протеазной активности может происходить расщепление структуры секреторного компонента SIgA на отдельные фрагменты, в том числе и мономерные формы IgA.

Таким образом, изученные показатели неспецифической и иммунной резистентности в ротовой жидкости указывают на выраженное снижение функциональной активности гуморальных факторов местного иммунитета полости рта у больных с наиболее тяжелыми формами пародонтита

(ХГПЛСТ, ХГПССТ и ХГПТСТ), что, в свою очередь, способствует дальнейшей хронизации и прогрессированию патологического процесса в тканях пародонта.

Анализ показателей неспецифического (лизоцим и С3-компонент комплемента) и специфического (SIgA, IgA, IgG) гуморального иммунитета в десневой жидкости больных позволил уточнить некоторые механизмы развития иммунного ответа в тканях пародонта и определить в нем роль изучаемых факторов (таблица 5.2).

**Таблица 5.2** – Показатели местного иммунитета в десневой жидкости больных ХГП различной степени тяжести

Диагноз	Лизоцим (мкг/мл)	SIgA (г/л)	IgA (г/л)	IgG (г/л)	С3- КОМПЛЕМЕНТ (г/л)
1. Интактный пародонт (n=30)	426,4±12,9	0,553±0,032	0,375±0,021	2,89±0,07	0,64±0,08
2. ХКГ (n=30)	499,6±10,3 $P_1 < 0,001$	0,689±0,033 $P_1 < 0,001$	0,393±0,011 $P_1 < 0,001$	2,94±0,08 $P_1 > 0,05$	0,66±0,02 $P_1 > 0,05$
3. ХГПЛСТ (n=40)	524,5±22,7 $P_{1-2} < 0,05$	0,695±0,019 $P_{1-2} < 0,05$	0,512±0,069 $P_{1-2} < 0,05$	3,22±0,09 $P_{1-2} < 0,005$	0,51±0,05 $P_{1-2} < 0,05$
4. ХГПССТ (n=36)	573,5±5,2 $P_{1-2} < 0,005$ $P_3 < 0,01$	0,754±0,29 $P_{1-2} < 0,05$ $P_3 < 0,01$	0,592±0,078 $P_{1-3} < 0,005$	3,16±0,11 $P_{1-2} < 0,05$ $P_3 > 0,01$	0,49±0,07 $P_{1-2} < 0,005$ $P_3 > 0,01$
5. ХГПТСТ (n=35)	599,5±14,2 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,05$	0,471±0,006 $P_{1-4} < 0,005$	0,778±0,018 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,005$	3,41±0,07 $P_{1-2} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,01$	0,39±0,04 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,01$

*Примечание:  $P_1$  - статистическая достоверность значений, полученных у больных с ХКГ по отношению к показателям в ГС-1 у лиц с интактным пародонтом;  $P_{2-4}$  - статистическая достоверность значений, полученных при сравнении с показателями в группах больных с ХГПЛСТ ( $P_2$ ), ХГПССТ ( $P_3$ ), ХГПТСТ ( $P_4$ )*

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что по мере нарастания степени тяжести пародонтита в десневой жидкости происходит повышение уровня лизоцима.

Поскольку лизоцим считается основным компонентом неспецифической защиты полости рта в организме, он относится к ферментам лизосомальных структур клеток, связанных с функцией моноцитарно-макрофагальной системы, основным источником лизоцима в десневой жидкости у больных ГП являются нейтрофилы, так как десневая жидкость содержит 95-97% нейтрофилов и только 2-3% моноцитов и 1-2% лимфоцитов.

Таким образом, по содержанию лизоцима в десневой жидкости можно объективно судить о степени воспаления тканей пародонта. Представленные в таблице 5.2 данные показывают рост содержания лизоцима в десневой жидкости во всех группах обследованных ХГП различной степени тяжести, при этом наиболее выраженные изменения – в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) при сопоставлении с показателем в группе сравнения.

Как показали результаты исследования, установлена взаимосвязь содержания лизоцима в десневой жидкости и степени тяжести ХГП, что позволяет использовать показатель уровня лизоцима в качестве маркера для диагностики и оценки эффективности лечения воспалительных и дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта.

Система комплемента занимает особое место среди структурно-функциональных компонентов иммунной системы, что связано с многообразием ее защитных функций, объединяющих реакции неспецифической и специфической иммунологической резистентности, с участием в развитии различных иммунопатологических состояний.

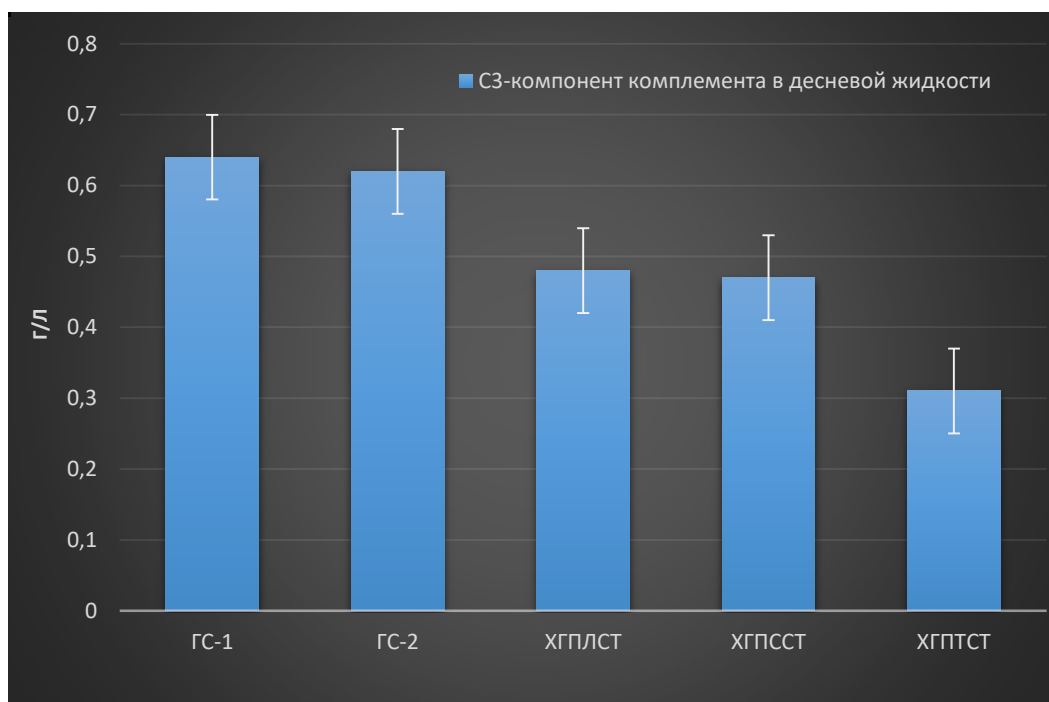
Задачами комплемента являются усиление проницаемости сосудов и секвестрация лейкоцитов, связывание и элиминация антигенов, деструкция клеточных мембран, участие в регуляции процессов свертывания крови. Классический путь системы комплемента активируется иммунными

комплексами, для активации же альтернативного пути необходима активирующая поверхность – полисахариды клеточной стенки бактерий, белки вирусной оболочки.

Основным компонентом комплемента, объединяющим оба пути активации и участвующим в реакциях воспаления и антибактериальной защиты, является С3-компонент. Наличие рецепторов к С3-компоненту комплемента и его производным на лимфоцитах и мононуклеарных фагоцитах определяет его иммунорегуляторную роль, проявляющуюся в усилении бласттрансформации лимфоцитов и антителозависимой клеточной цитотоксичности, выделении хемоаттрактантов, интерлейкинов, активации макрофагов, элиминации иммунных комплексов. Белок С3 участвует и в классическом, и в альтернативном пути активации комплемента.

Проведенные исследования показали, что развитие ХГП сопровождается значительным снижением содержания С3-компонента комплемента в десневой жидкости, наиболее выраженным у больных с ХГПТСТ – в 2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателем у лиц с интактным пародонтом (рисунок 5.4).

Полученные результаты подтверждают участие системы комплемента в иммунном ответе при пародонтите различной степени тяжести и указывают на дефицит его компонентов при тяжелых формах заболевания, что, в свою очередь, усугубляет иммунопатологическое состояние.



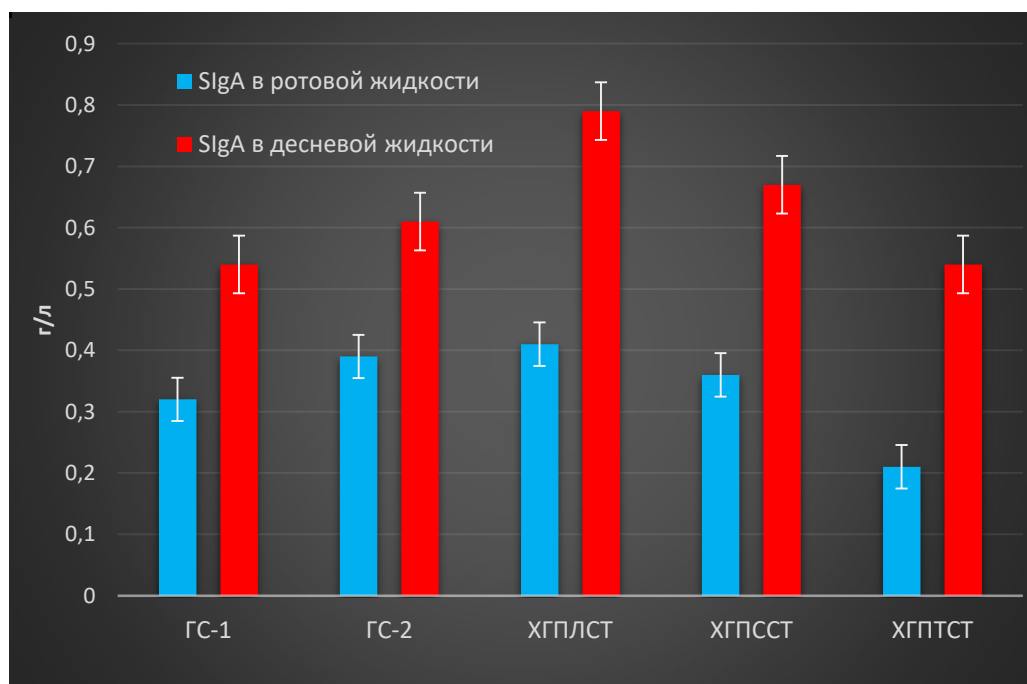
**Рисунок 5.4** – Содержание С3-компонента комплемента в десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Данные о содержании иммуноглобулинов в десневой жидкости больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести также представляют значительный интерес.

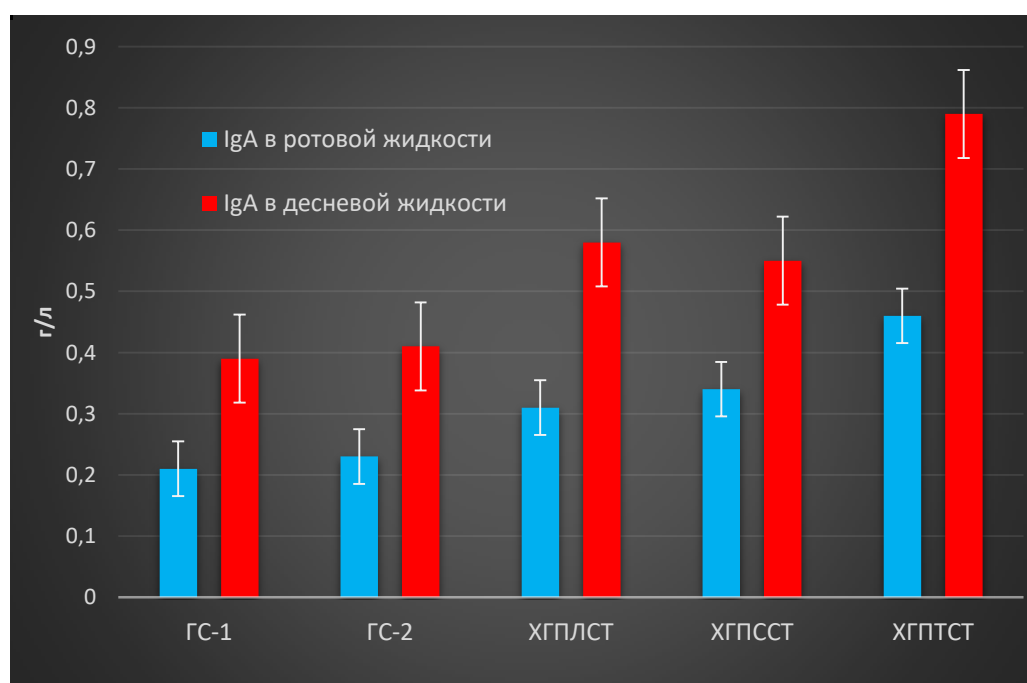
Установлена аналогичная параметрам в ротовой жидкости тенденция изменения уровня секреторного IgA в зависимости от степени развития ХГП, только содержание его в 1,88-2,44 раза выше в десневой жидкости (у лиц с интактным пародонтом – в 1,76 раза; у больных с ХГПЛСТ, ХГПССТ – в 2,54 раза; у больных с ХГПТСТ – в 2,28 раза).

Данный факт свидетельствует о том, что основная масса SIgA у больных пародонтитом синтезируется в эпителии, который выстилает пародонтальный карман, в ответ на персистенцию пародонтопатогенной микрофлоры, то есть в данной ситуации реализуются в основном, местные механизмы активации иммунного ответа (рисунок 5.5). При определении интенсивности синтеза мономерной формы IgA в собственной пластинке слизистой оболочки выявлены сходные тенденции, однако при этом нельзя

исключать факт поступления определенного количества иммуноглобулина IgA в десневую жидкость из крови (рисунок 5.6).



**Рисунок 5.5** – Содержание секреторного SIgA в ротовой и десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

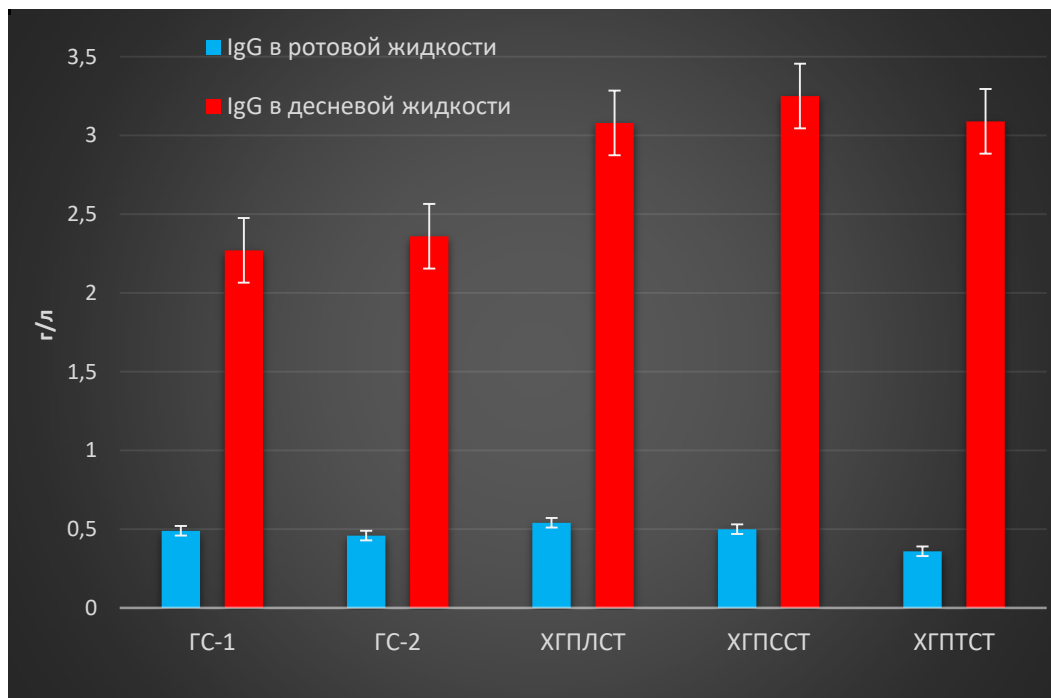


**Рисунок 5.6** – Содержание IgA в ротовой и десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Затем при прогрессировании дезорганизации клеточного пула эпителиального пласта в собственной пластинке слизистой оболочки, выстраивающих своеобразную «запасную линию обороны», активируется клон IgG-продуцирующих клеток.

Данный феномен вызван недостаточностью защитных свойств пародонтальных тканей, что приводит к развитию наиболее эффективной реакции гуморального иммунитета – выработке антител класса IgG в условиях постоянно персистирующей антигенной стимуляции.

Полученные в ходе исследования данные подтверждают данное умозаключение. Так, содержание IgG в десневой жидкости оказалось в 5-7 раз выше, чем SIgA, и в 4-7 раз выше, чем IgA, а по сравнению с уровнем IgG в ротовой жидкости, содержание IgG в десневой жидкости у больных ХГП различной степени тяжести в 6,3-11,2 раза выше (рисунок 5.7), что подчеркивает преимущественную выработку именно специфических антител в воспаленных тканях пародонта.



**Рисунок 5.7** – Содержание IgG в десневой и ротовой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Следовательно, как становится ясно из полученных результатов исследования, у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести имеются разнонаправленные изменения в механизмах местного иммунитета пародонтального комплекса тканей, которые мигрируют в зависимости от степени повреждения пародонта и степени активации иммунных механизмов. Этот факт следует учитывать при проведении дифференцированной иммунотерапии заболевания, а также использовать изучаемые показатели в качестве объективных критериев оценки эффективности уже проведенного лечения.

## **5.2. Результаты оценки состояния системного иммунитета у больных хроническим генерализованным пародонтитом**

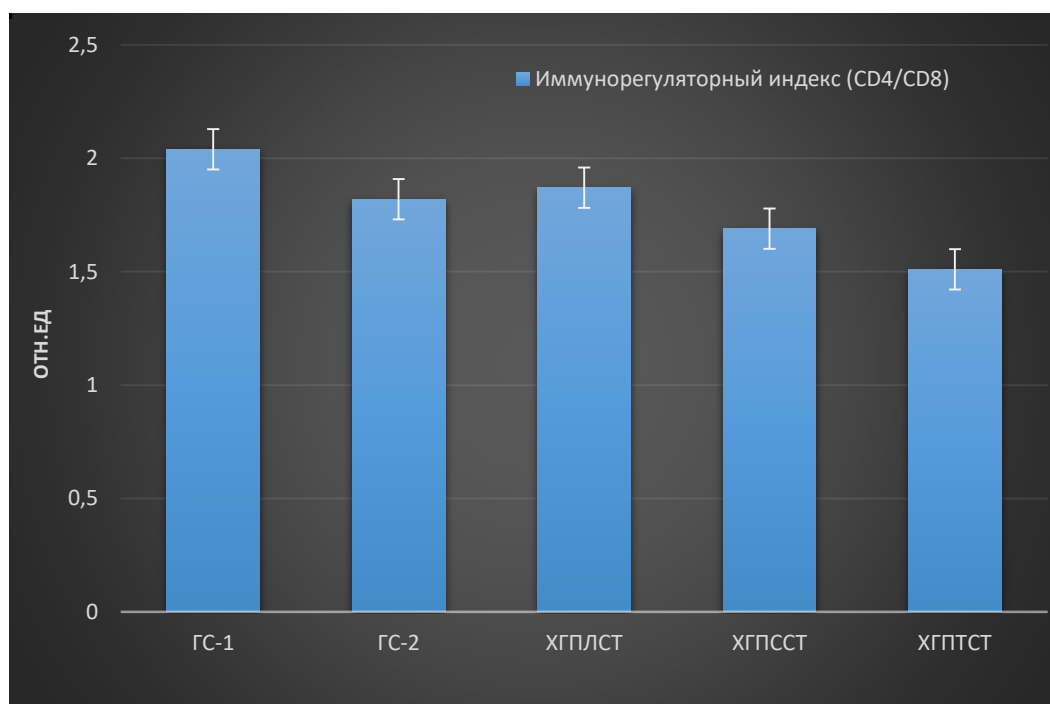
Исследование состояния иммунной системы у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести показало, что большинство показателей иммунограммы крови обследованных варьирует в пределах среднестатистической нормы – показателей в группе лиц с интактным пародонтом. Однако, по мере усиления степени тяжести воспалительно-деструктивного поражения пародонта отмечается выраженная тенденция к постепенному снижению практически всех показателей, что в итоге указывает на развитие декомпенсации иммунных механизмов у больных ХГП.

Как показали результаты исследования, у больных ХГПЛСТ по сравнению с интактным пародонтом, выявлена устойчивая тенденция к снижению числа лимфоцитов с фенотипами CD2, CD3 и CD4. На этом фоне у обследованных лиц с воспалительными заболеваниями пародонта развивается Т-клеточный иммунодефицит, в основном, за счет снижения числа Т-хелперов-индукторов (CD4-лимфоцитов), который носит наиболее выраженный характер у больных с ХГПССТ ( $0,54 \pm 0,08$  г/л) и с ХГПТСТ



( $0,57 \pm 0,03$  г/л по сравнению с  $0,68 \pm 0,11$  г/л у лиц с интактным пародонтом,  $p < 0,01$ ).

На этом фоне количество Т-лимфоцитов-киллеров/супрессоров с фенотипом CD8 не подвергается изменению. В свою очередь, иммунорегуляторный индекс CD4/CD8 у больных ХГП различной степени тяжести в результате снижения числа Т-лимфоцитов-хелперов/индукторов последовательно снижается (рисунок 5.8). Самые низкие показатели иммунорегуляторного индекса (ИМРИ) обнаружены у больных с ХГПССТ ( $1,54 \pm 0,07$  отн.ед.) и ХГПТСТ ( $1,51 \pm 0,05$  отн.ед.) по сравнению с  $2,14 \pm 0,05$  отн.ед. у лиц с интактным пародонтом ( $p < 0,01$ ).



**Рисунок 5.8** – Показатель ИМРИ (CD4/CD8) в крови у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Установлено, что на ранних стадиях воспалительного процесса в тканях пародонта наиболее значимые изменения происходят в гуморальном звене иммунной системы. Так, у больных ГС-2 отмечается выраженная тенденция к росту числа В-лимфоцитов (популяции лимфоцитов с фенотипами CD19 и CD22) и достоверное увеличение содержания

циркулирующих IgA ( $p < 0,001$ ) и IgG ( $p < 0,001$ ) в крови, что подчеркивает роль гуморальных факторов специфического иммунитета в патогенезе пародонтита.

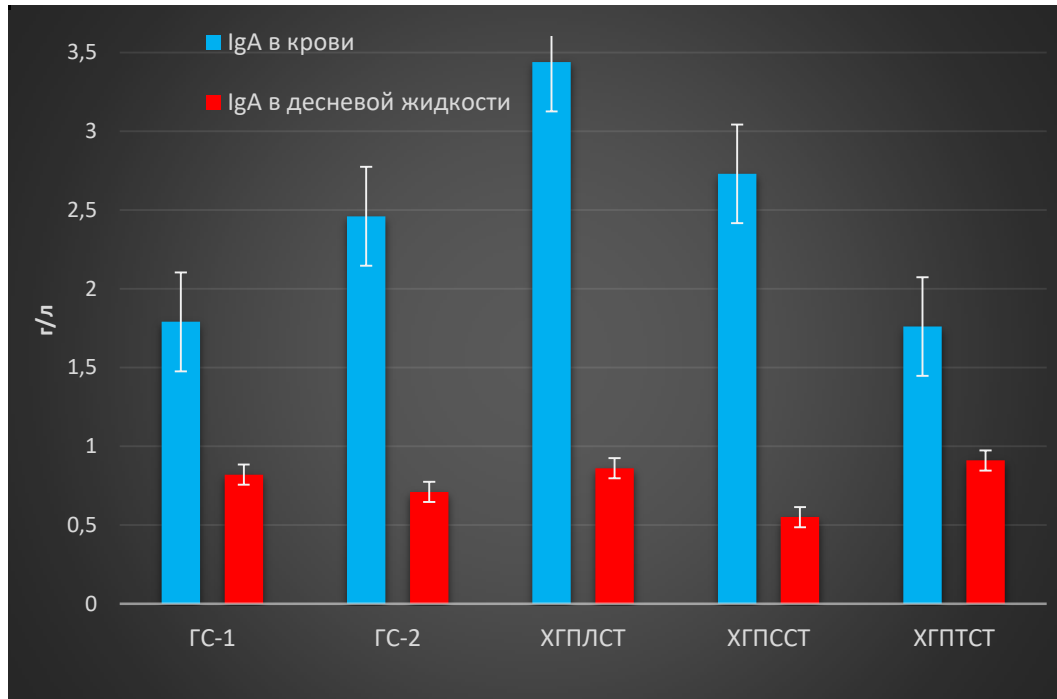
С нарастанием степени тяжести воспалительно-дистрофического процесса в пародонте абсолютное количество В-лимфоцитов практически не изменяется, а содержание IgA и IgG у больных ХГПЛСТ остается значительно повышенным ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует о напряженности гуморального звена иммунной системы.

У больных ХГПССТ определяется недостаточность специфического гуморального иммунитета, что подтверждается достоверным снижением уровня IgA и IgG по отношению к соответствующим показателям у лиц с интактным пародонтом.

Наиболее выраженная недостаточность гуморального иммунного ответа определяется у больных ХГПТСТ: значительное снижение числа CD19-лимфоцитов ( $0,35 \pm 0,02$  г/л по сравнению с  $0,39 \pm 0,04$  г/л у лиц с интактным пародонтом) и достоверное снижение содержания IgA ( $p < 0,001$ ) и IgG ( $p < 0,05$ ).

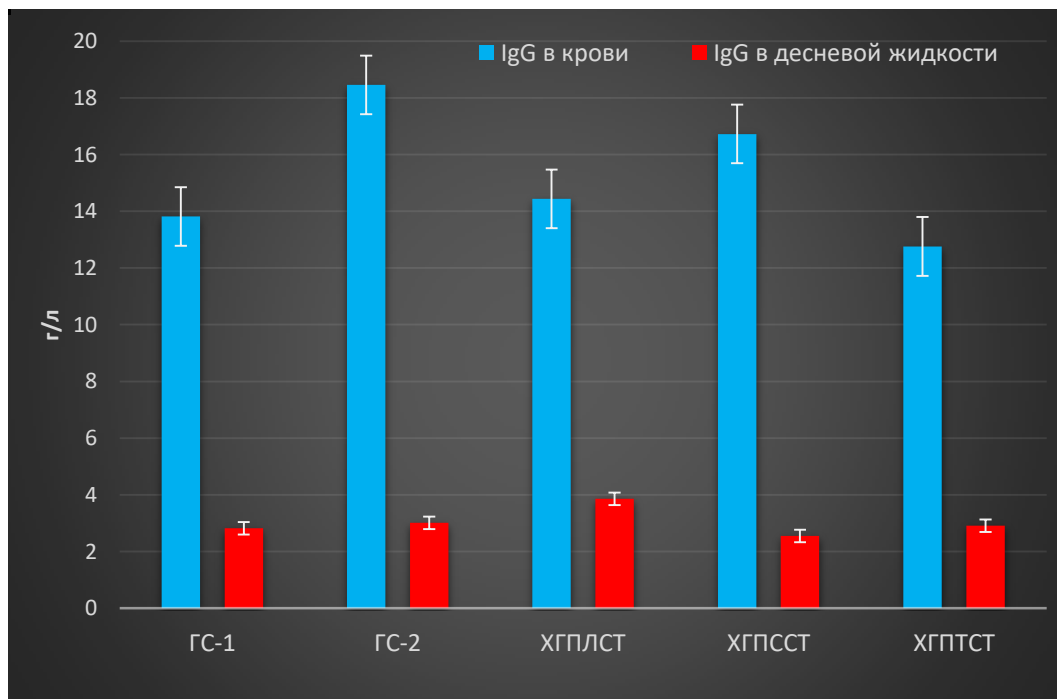
Сравнительный анализ динамики изменения содержания IgA и IgG в крови и в десневой жидкости больных ХГП различной степени тяжести показал разнонаправленность этих изменений в зависимости от степени развития дистрофически-воспалительного процесса в тканях пародонта (рисунок 5.9, 5.10).

Так, у больных с ХГПССТ и ХГПТСТ, определяется повышение уровня IgA в десневой жидкости, при этом содержание IgA в крови снижается. Аналогичная закономерность выявлена и для IgG (рисунок 5.10). С одной стороны, это происходит за счет поступления иммуноглобулинов в десневую жидкость из крови, с другой – является следствием местных иммунорегуляторных процессов в тканях пародонта.



**Рисунок 5.9** – Содержание IgA в крови и десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени

тяжести



**Рисунок 5.10** – Содержание IgG в крови и десневой жидкости у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени

тяжести

В таблице 5.3 представлены результаты исследования некоторых показателей неспецифической резистентности у больных хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести

**Таблица 5.3** – Показатели неспецифической резистентности в крови пациентов с интактным пародонтом и у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Диагноз	CD57+ (ЕК) (г/л)	Лизоцим (мкг/мл)	С3-комплемент (г/л)
1. Интактный пародонт (n=30)	0,188±0,012	9,16±0,23	25,82±0,64
2. ХКГ (n=30)	0,192±0,004 $P_1 > 0,01$	9,15±0,07 $P_1 > 0,01$	22,93±0,07 $P_1 < 0,01$
3. ХГПЛСТ (n=40)	0,189±0,002 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$	9,13±0,22 $P_{1-2} > 0,01$	23,49±0,51 $P_{1-2} > 0,05$
4. ХГПССТ (n=36)	0,175±0,008 $P_{1-3} > 0,005$	8,49±0,72 $P_{1-3} < 0,05$	22,13±3,06 $P_{1-3} < 0,05$
5. ХГПТСТ (n=35)	0,174±0,019 $P_{1-3} < 0,005$ $P_4 > 0,01$	7,48±0,91 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,005$	18,67±0,42 $P_{1-3} < 0,001$ $P_4 < 0,005$

*Примечание:  $P_1$  - статистическая достоверность значений, полученных у больных с ХКГ по отношению к показателям в ГС-1 у лиц с интактным пародонтом;  $P_{2-4}$  - статистическая достоверность значений, полученных при сравнении с показателями в группах больных с ХГПЛСТ ( $P_2$ ), ХГПССТ ( $P_3$ ), ХГПТСТ ( $P_4$ )*

Субпопуляции лимфоцитов с фенотипом CD57 (естественные киллеры, ЕК) сегодня являются важной составляющей неспецифической защиты организма и как участников опосредованного иммунного ответа. ЕК продуцируют иммунорегуляторные цитокины, вносят наиболее

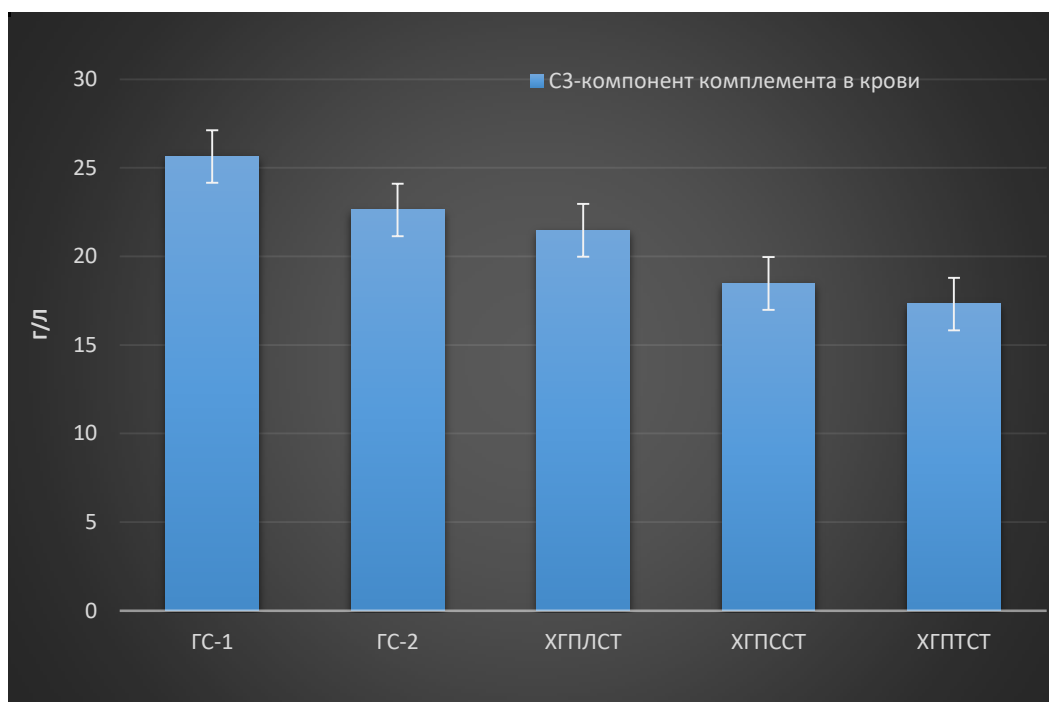
существенный вклад в профилактику ранней прогрессирующей вирусной инфекции, за счет способности блокировать репликацию вирусов.

Полученные данные исследования свидетельствуют о тенденции к снижению концентрации ЕК в крови больных ХГП различной степени тяжести по сравнению с данным показателем у лиц с интактным пародонтом. Самый низкий показатель содержания CD57-лимфоцитов определен у больных с ХГПТСТ –  $0,174 \pm 0,005$  г/л ( $P_{1-3} < 0,005$ ,  $P_4 > 0,01$ ), что указывает на наиболее выраженный иммунодефицит у пациентов данной группы.

Ранее установлено достоверное снижение содержания лизоцима ( $p < 0,001$ ) в крови у больных с ХГПЛСТ, ХГПССТ и ХГПТСТ, что подтверждает существенную недостаточность функции гуморального неспецифического иммунитета при всех формах ХГП.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что развитие воспалительного и дистрофического процесса в тканях пародонта происходит на фоне значительного снижения содержания С3-компонента комплемента в крови, наиболее выраженного у больных ХГПССТ и ХГПТСТ ( $p < 0,001$ ), что подчеркивает участие системы комплемента в иммунном ответе при пародонтите. При этом динамика изменения концентрации С3-компонента комплемента в крови больных с обострившимся и хроническим течением ХГП разной степени имеет ту же направленность, что и данного показателя в десневой жидкости больных (рисунок 5.11).

Выявленные нарушения в системе неспецифической защиты у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести проявляются нарастанием титра растворимых катаболитов клеточных рецепторов (Р-белков) по мере усиления степени развития пародонтита, что является интегральным показателем тяжести имеющихся нарушений, поскольку накопление в организме продуктов катаболизма указывает на дестабилизацию клеточного равновесия, деструкцию клеточных мембран.



**Рисунок 5.11** – Содержание С3-компонента комплемента в крови у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлены разнонаправленные изменения системного иммунитета у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта различной степени тяжести.

### **5.3. Результаты проведения многофакторного корреляционного анализа взаимосвязи иммунологических показателей с показателями, характеризующими состояние тканей пародонта**

Многофакторный корреляционный анализ проведен с целью определения степени влияния исследованных иммунологических показателей крови, ротовых смывов, ротовой и десневой жидкости на состояние пародонта.

Среди исследуемых показателей, характеризующих состояние тканей пародонта, выбраны следующие:

- ПИ – пародонтальный индекс (ПИ, Russel, 1956), характеризующий степень воспаления тканей пародонта, отражающий интенсивность и распространенность воспалительного процесса в пародонте;

- IF – индекс степени деструкции костной ткани (Fuch, 1985), в наибольшей мере характеризующий степень деструкции пародонта.

1. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между индексом ПИ и иммунологическими показателями крови:

- корреляционная связь умеренная, прямая: уровень С3-компонента комплемента –  $r = 0,694$ ,  $p < 0,005$ ; содержание IgA –  $r = 0,482$ ,  $p = 0,001$ ; IgG –  $r = 0,318$ ,  $p < 0,01$ ;

- корреляционная связь умеренная, обратная: иммунорегуляторный индекс, CD4/CD8 (ИМРИ) –  $r = -0,784$ ,  $p < 0,001$ ; уровень С3-компонента комплемента –  $r = -0,398$ ,  $p < 0,001$ ;

2. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между индексом ПИ и иммунологическими показателями ротовой жидкости:

- корреляционная связь умеренная, прямая: содержание  $\beta$ -лизинов –  $r = 0,757$ ,  $p < 0,001$ ; IgA –  $r = 0,626$ ,  $p < 0,005$ ;

- корреляционная связь слабая, прямая: содержание SIgA –  $r = 0,198$ ,  $p < 0,05$ ;

3. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между индексом ПИ и иммунологическими показателями десневой жидкости:

- корреляционная связь умеренная, прямая: содержание лизоцима –  $r = 0,718$ ,  $p < 0,001$ ; IgA –  $r = 0,644$ ,  $p < 0,001$ ; IgG –  $r = 0,682$ ,  $p < 0,001$ ; SIgA –  $r = 0,428$ ,  $p = 0,002$ ;

- корреляционная связь умеренная обратная: уровень С3-компонента комплемента –  $r = -0,388$ ,  $p < 0,001$ .

5. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между показателем **IF** и иммунологическими показателями крови:

- корреляционная связь умеренная, обратная: лизоцим -  $r = -0,336$ ,  $p=0,001$ ;
- корреляционная связь сильная, обратная: иммунорегуляторный индекс, CD4/CD8 (ИМРИ) –  $r = -0,848$ ,  $p<0,005$ ;
- корреляционная связь умеренная, обратная: содержание С3-компонент комплемента –  $r = -0,395$ ,  $p<0,005$ ;

6. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между показателем **IF** и иммунологическими показателями ротовой жидкости:

- корреляционная связь сильная, прямая: содержание  $\beta$ -лизинов –  $r = 0,906$ ,  $p<0,001$ ; IgA –  $r = 0,889$ ,  $p<0,005$ ;
- корреляционная связь умеренная, обратная: содержание лизоцима -  $r = -0,496$ ,  $p<0,001$ ; IgG –  $r = -0,504$ ,  $p<0,001$ ; SIgA –  $r = -0,418$ ,  $p=0,005$ ;

7. В результате проведенного корреляционного анализа установлена существенная корреляционная связь между показателем **IF** и иммунологическими показателями десневой жидкости:

- корреляционная связь сильная, прямая: содержание IgA –  $r = 0,822$ ,  $p<0,005$ ;
- корреляционная связь умеренная, прямая: содержание лизоцима –  $r = 0,458$ ,  $p<0,001$ ; IgG –  $r = 0,493$ ,  $p<0,001$ ;
- корреляционная связь умеренная, обратная: уровень С3-компонент комплемента –  $r = -0,588$ ,  $p<0,005$ .

Таким образом, анализируя полученные данные корреляционного анализа об уровнях значимости взаимосвязей между показателями иммунной и неспецифической резистентности организма и состоянием тканей пародонта, следует отметить, что наибольшее влияние на пародонт



оказывают факторы иммунитета ротовой полости и пародонтальных тканей (содержание лизоцима, SIgA, IgA, IgG в ротовой и десневой жидкости, а также  $\beta$ -лизинов в ротовой жидкости), функциональная активность лимфоцитов и системы комплемента (С3-компонент), а также степень эндогенной интоксикации организма и выраженность вторичного иммунодефицита (по ИМРИ).

При этом на степень воспаления в тканях пародонта (по индексу ПИ) в большей мере влияют гуморальные факторы иммунитета – процесс продукции специфических антител (уровень SIgA, IgA, IgG в ротовой и десневой жидкости; IgA и IgG в крови), концентрация факторов бактерицидности -  $\beta$ -лизинов, лизоцима.

Развитию деструктивных процессов в костной составляющей пародонта (по показателю индекса IF) способствует значительная инфильтрация тканей пародонта лейкоцитами, нарушение цитокиновой регуляции, дальнейшее прогрессирование Т-клеточного иммунодефицита (по показателю индекса ИМРИ).

#### **5.4. Оценка эффективности иммунокорректирующей терапии с использованием препарата Гепон в клинических и лабораторных условиях**

Отсутствие выраженных отличий между основными показателями клинического анализа крови, иммунограммы крови, содержания цитокинов в сыворотке крови и полученные данные о значительных изменениях в системе местного иммунитета полости рта и тканей пародонта у больных ХГП различной степени тяжести стали обоснованием для разработки методов иммунокорректирующей терапии хронического генерализованного пародонтита с преимущественным выбором препаратов целенаправленного местного иммуномодулирующего действия и системным назначением препаратов остеотропного действия - экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата.

Иммуномодулятор пептидного происхождения, содержащий синтетические олигопептиды, состоящий из 14 аминокислотных остатков (Гепон) содержит факторы иммунитета (макрофаги, цитокины, секреторные иммуноглобулины), ограничивающие выработку провоспалительных цитокинов (интерлейкины 1, 6, 8 и фактор некроза опухоли). Применение Гепона способствует увеличению концентрации CD4+ Т- и NK-клеток, на фоне его использования отмечается рост активности нейтрофилов и CD8+ Т-клеток, которые служат важными элементами защиты организма.

Кроме того, препарат способствует улучшению микроциркуляции в воспаленных тканях, уменьшению отека, сухости и гиперемии слизистой оболочки полости рта.

Проведено клинико-лабораторное обследование и лечение 40 больных ХГП легкой степени тяжести (средний возраст  $29,5 \pm 3,7$  лет), 15 мужчин и 25 женщин, 36 больных ХГП средней степени тяжести (средний возраст  $37,7 \pm 1,6$  лет), 14 мужчин и 21 женщины, 35 больных ХГП тяжелой степени ( $45,8 \pm 1,6$  лет), 11 мужчин и 24 женщины.

Гепон назначали всем больным ХГП после проведения профессиональной гигиены полости рта (1-2 посещения) в виде короткого курса местного применения: при ХГПЛСТ по 2 орошения полости рта день в течение 5 суток, при ХГПССТ – по 3 орошения полости рта в день на протяжении 10 суток, при ХГПТСТ – по 3 орошения полости рта в день на протяжении 14 суток.

Кроме этого, Гепон назначали 20 добровольцам с интактным пародонтом в качестве профилактического средства инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта, по 2 орошения в день в течение 3 суток (контроль для иммунологических исследований).

Оценку эффективности препарата Гепон производили согласно динамике клинических показателей, а также данным пародонтальных индексов, некоторых лабораторных исследований, выполненных в процессе его использования.

При лечении больных с ХГПЛСТ И ХГПССТ на 5 сутки после начала применения препарата отмечено уменьшение/изчезновение повышенной кровоточивость десен при зондировании и чистке зубов, уменьшается болезненность десен, дискомфорт. Десна и сама слизистая полости рта становится нормальной конфигурации, бледно-розового цвета.

Установлено, что наиболее оптимальный противовоспалительный эффект Гепона зарегистрирован у пациентов с ХГПЛСТ, у лиц с ХГПТСТ показатели нормализуются на 10-12 суток позже.

Использование Гепона способствует нормализации показателей индекса кровоточивости, РВИ, ПИ, РМА и положительно влияет на состояния гигиены полости рта (согласно индексу Грина-Вермильона), как при ХГПЛСТ, так при ХГПССТ и даже при ХГПТСТ (таблица 5.4).

**Таблица 5.4** – Оценка влияния Гепона на состояние тканей пародонта у больных ХГП различной степени тяжести

Группы исследования/индексы		ИГ	РМА	CSI	РВИ	ПИ
ХГПЛСТ (n=40)	до лечения	3,08±0,41	1,84±0,16	59,6±9,2	1,8±0,3	2,64±0,18
	после лечения	1,13±0,05 P<0,01	0,96±0,14 P<0,05	28,4±5,9 P<0,001	0,9±0,2 P<0,001	1,27±0,11 P<0,001
ХГПССТ (n=36)	до лечения	3,87±0,54	2,65±0,61	54,8±6,3	1,6±0,1	2,82±0,55
	после лечения	1,89±0,46 P<0,001	1,09±0,12 P<0,005	29,9±4,6 P<0,001	1,1±0,2 P<0,001	1,52±0,16 P<0,05
ХГПТСТ (n=35)	до лечения	4,26±0,48	2,97±0,83	59,4±11,3	1,9±0,3	3,46±0,82
	после лечения	2,07±0,13 P<0,005	1,18±0,05 P<0,001	31,5±2,9 P<0,001	1,1±0,2 P<0,001	1,64±0,04 P<0,05

*Примечание: P – статистическая достоверность отличий по сравнению с показателями, полученными до начала лечения*

Для уточнения механизма действия Гепон на ткани пародонта проведены иммунологические и микробиологические исследования.

При изучении влияния Гепона на показатели местного иммунитета полости рта у лиц с интактным пародонтом получены данные, свидетельствующие о его способности воздействовать на неспецифические (лизоцим) и специфические (SIgA) факторы гуморального иммунитета, отвечающие за противовирусную и противомикробную защиту. Это подтверждается достоверным увеличением содержания лизоцима и секреторного IgA в ротовой жидкости ( $p < 0,001$ ) пациентов после курса приема Гепона (таблица 5.5).

**Таблица 5.5** – Влияние Гепона на показатели местного иммунитета полости рта в ротовой и десневой жидкости у лиц с интактным пародонтом и у больных ХГПЛСТ

Исследуемые показатели		Интактный пародонт (n=20)		ХГПЛСТ (n=40)	
		до орошений	после орошений	до лечения	после лечения
Ротовая жидкость	лизоцим (мкг/мл)	497,2±5,8	534,0±6,2 P<0,001	518,39±8,3	551,65±4,9
	SIgA (г/л)	0,311±0,09	0,312±0,04 P<0,001	0,485±0,016	0,388±0,012 P<0,05
	IgA (г/л)	0,223±0,07	0,234±0,001 P>0,05	0,279±0,006	0,242±0,008 P<0,05
	IgG (г/л)	0,496±0,08	0,491±0,006 P>0,01	0,544±0,004	0,525±0,006 P>0,05
	β-лизины (отн.ед.)	21,8±0,04	21,2±0,04 P>0,01	32,56±1,18	23,44±0,29 P<0,01
Десневая жидкость	SIgA (г/л)	0,559±0,022	0,599±0,041 P>0,01	0,792±0,051	0,644±0,009 P<0,05
	IgA (г/л)	0,384±0,009	0,368±0,017 P<0,005	0,439±0,047	0,327±0,006 P<0,05
	IgG (г/л)	2,87±0,03	2,79±0,014 P>0,05	3,09±0,04	2,98±0,06 P>0,05

*Примечание: P – статистическая достоверность отличий по сравнению с показателями, полученными до начала лечения*

Установлено, что у больных ХГПЛСТ наблюдаются существенные изменения в системе местного иммунитета полости рта по сравнению с

лицами с интактным пародонтом: в ротовой жидкости определяется достоверный рост содержания лизоцима ( $p < 0,05$ ), SIgA ( $p < 0,001$ ), IgA ( $p < 0,001$ ), IgG ( $p < 0,001$ ) и титра  $\beta$ -лизинов ( $p < 0,001$ ); в десневой жидкости - достоверное увеличение концентрации SIgA ( $p < 0,001$ ), IgA ( $p < 0,001$ ) и IgG ( $p < 0,001$ ).

Проведенный курс лечения ХГП с применением иммуномодулятора Гепона способствует ослаблению напряженности защитных механизмов ротовой полости и приводит к нормализации иммунологических показателей. Под влиянием Гепона у больных ХГПЛСТ определяется достоверное снижение уровня SIgA ( $p < 0,05$ ), IgA ( $p < 0,05$ ), IgG ( $p < 0,05$ ) и титра  $\beta$ -лизинов ( $p < 0,001$ ) в ротовой жидкости, достоверное снижение содержания SIgA ( $p < 0,05$ ) и IgA ( $p < 0,05$ ) в десневой жидкости. Все это указывает на выраженные иммуномодулирующие свойства изучаемого препарата, который рационально воздействует на иммунный статус полости рта.

Учитывая пептидное происхождение препарата Гепон, представляет значительный интерес исследование влияния его на микрофлору пародонтальных карманов у больных ХГП. Результаты микробиологических исследований, показали, что при повторном бактериологическом анализе содержимого пародонтальных карманов у всех обследованных больных ХГПЛСТ после курса лечения с использованием Гепона отмечается значительное снижение уровня обсеменённости тканей пародонта условнопатогенными и патогенными видами бактерий и дрожжевых грибов, в том числе и пародонтопатогенами (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp.).

На основании полученных данных можно сделать вывод о выраженном опосредованном антимикробном действии Гепона в отношении патогенной микрофлоры пародонтальных карманов у больных ХГП. При этом необходимо отметить, что механизм антимикробного действия Гепона состоит как в усилении выработки специфических антител против микробных антигенов, так и за счет повышения секреции антимикробных

факторов – лизоцима и секреторного IgA. В этой связи, именно благодаря иммуномодулирующему действию, стимулированию защитных механизмов ротовой полости, Гепон способен тормозить микробную агрессию даже наиболее стойких пародонтопатогенов – облигатных анаэробов и грибов (таблица 5.6).

**Таблица 5.6** – Спектр микрофлоры и уровень обсемененности пародонтальных карманов у больных ХГП различной степени тяжести до и после применения Гепона

Больные, диагноз, история болезни	До лечения		После лечения	
	Выделенные микроорганизмы	Уровень обсемен. (КОЕ/мл)	Выделенные микроорганизмы	Уровень обсемен. (КОЕ/мл)
Б-ая С. ХГПЛСТ, амб.карта №3219	1. <i>Escherichia coli</i> 2. <i>Staphylococcus</i> spp. 3. <i>Candida albicans</i>	$10^6$ $10^5$ $10^8$	1. - 2.- 3. <i>Candida albicans</i>	- - $10^3$
Б-ой К. ХГПЛСТ, амб.карта №3284	1. <i>Bacteroides</i> spp. 2. <i>Staphylococcus</i> spp. 3. <i>Enterobacter</i> spp. 4. <i>Candida tropicalis</i>	$10^7$ $10^4$ $10^8$ $10^6$	1. – 2. <i>Staphylococcus</i> spp. 3. - 4. <i>Candida tropicalis</i>	- $10^3$ - $10^5$
Б-ая Б. ХГПССТ, амб.карта №3309	1. <i>Streptococcus pyogenes</i> 2. <i>Fusobacterium nucleatum</i> 3. <i>Prevotella</i> spp.	$10^8$ $10^8$ $10^7$	1. <i>Streptococcus pyogenes</i> 2. <i>Fusobacterium nucleatum</i> 3. <i>Prevotella</i> spp.	$10^4$ $10^3$ $10^3$
Б-ая Г. ХГПССТ амб.карта №2918	1. <i>Streptococcus equinus</i> 2. <i>Staphylococcus schleiferi</i> 3. <i>Peptostreptococcus Prevotii</i> 4. <i>Cryptococcus</i>	$10^8$ $10^8$ $10^8$ $10^6$	1. <i>Streptococcus equinus</i> 2. <i>Staphylococcus schleiferi</i> 3. <i>Peptostreptococcus prevotii</i> 4. <i>Cryptococcus</i>	$10^2$ $10^2$ $10^3$ $10^3$

	us neoformans		neoformans	
Б-ой 3. ХГПТСТ амб.карта №3290	1. <i>Staphylococcus aureus</i>	$10^8$	1. <i>Staphylococcus lentus</i>	$10^4$
	2. <i>Streptococcus faecalis</i>	$10^8$	2. <i>Streptococcus faecalis</i>	$10^5$
	3. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	$10^8$	3. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	$10^4$
Б-ая Ж. ХГПТСТ абм.карта №3379	1. <i>Staphylococcus</i> spp.	$10^7$	1. <i>Staphylococcus</i> spp.	$10^7$
	2. <i>Enterobacteriaceae</i> spp.	$10^8$	2. <i>Enterobacteriaceae</i> spp.	$10^4$
	3. <i>Fusobacterium</i> spp.	$10^8$	3. <i>Fusobacterium</i> spp.	$10^5$
	4. <i>Porphyromonas endodontalis</i>	$10^8$	4. <i>Porphyromonas endodontalis</i>	$10^4$
	5. <i>Candida glabrata</i>	$10^5$	5. <i>Candida glabrata</i>	$10^4$

### Резюме

Таким образом, проведенные клинические, иммунологические и микробиологические исследования по оценке терапевтической эффективности Гепона у больных ХГП различной степени тяжести показали, что препарат обладает иммуномодулирующим, противовоспалительным и антимикробным действием на ткани пародонта и может быть использован в качестве монотерапии начальных форм пародонтита. При тяжелых формах ХГП целесообразно применять Гепон в комплексной терапии в качестве иммуномодулирующего средства наряду с основной терапией специфическими антимикробными, противовоспалительными препаратами, а также препаратами, обладающими остеотропными свойствами, такими, как глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат.

Разработаны, обоснованы и апробированы в клинике у больных методы иммунокорректирующей терапии ХГП, включающие местное применение

препарата бактериального происхождения с выраженными иммуномодулирующими свойствами Гепон и системное длительное назначение препаратов с остеотропными свойствами (глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат).

Установлено, что рациональное применение иммуномодулирующего препарата Гепон, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата оказывает воздействие на процессы ремоделирования альвеолярной кости, а именно способствует снижению интенсивности остеокластической резорбции, путем стимуляции продукции гуморальных антимикробных факторов (лизоцима, секреторного IgA) в полости рта, что приводит к нормализации микробиоценоза и эрадикации пародонтопатогенов, тем самым снижается влияние липополисахарида на остеокласты. Также обнаружена нормализация функциональной активности нейтрофилов и макрофагов, снижения продукции ими провоспалительных цитокинов, оказывающих непосредственное влияние на остеокласты, установлено увеличение абсолютного числа лимфоцитов и их функциональной активности.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная клинико-экспериментальная работа позволяет на основании полученных в ходе экспериментальных данных и опираясь на результаты микробиологического и молекулярно-генетического исследований, обосновать новые подходы к диагностике и лечению пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. При этом, полученные результаты дают основание для реализации персонализированного подхода к назначению медикаментозного лечения.

Результаты экспериментального и лабораторного исследования при моделировании патологического процесса у крыс, подтвердили уже известные, а также выявили некоторые новые факты о прооксидантно-антиоксидантном гомеостазе в ротовой полости и пародонте. В частности, при повреждающем действии кислых гликозидаз в условиях смоделированного экспериментального пародонтита различной степени тяжести происходит сдвиг буферных оснований в кислую сторону с развитием метаболического ацидоза. Применение предложенного терапевтического комплекса в виде иммуномодулятора Гепона, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата в короткие сроки нормализует кислотно-щелочное равновесие и стимулирует мобилизацию барьерных механизмов защиты, в основе которых лежит антиглюкуронидазная, пероксидазная антимикробная активность.

Известно, что сбой в системе гомеостаза прооксидантно-антиоксидантного комплекса сопровождается активацией ПОЛ и снижением активности ферментов АО играет важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта. Полученные результаты, что иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат купируют генерацию свободных радикалов и способствуют стабилизации прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза,

логично обосновывают их использование в качестве патогенетической терапии пародонтита в экспериментальных условиях.

Противоречивые данные литературы о структуре микроорганизмов, выделяемых из различных локусов при хроническом пародонтите, послужили основой для сравнительной оценки результатов, полученных классическим микробиологическим и молекулярно-биологическим методами. Трудности и долговременность культивирования анаэробных пародонтопатогенов все чаще заставляют исследователей к использованию ПЦР диагностики, в частности ПЦР в режиме реального времени. Простота, скорость анализа, достоверность, воспроизводимость и специфичность метода все чаще заставляют исследователей и клиницистов к данному виду диагностики. Нами проведена оценка структуры пародонтопатогенов из двух локусов – пародонтального кармана и корня языка.

Результаты микробиологического блока показали существенную разницу в результатах, полученных разными методами. ПЦР-диагностика существенно чаще выявляет наличие генетического материала в пародонтальном кармане больных с ХГП *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Porphyromonas* spp. Именно эти микроорганизмы существенно труднее культивируются классическими бактериологическими методами и, возможно, не выявляются при определенных условиях сбора, доставки, выделения и идентификации. По нашему мнению, в отношении выделения таких возбудителей, а также *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* и *Bacteroides caccae*, необходимо использовать именно молекулярно-генетические методы, в то время, как стафилококки, стрептококки и грибки можно культивировать и классическими микробиологическими подходами. С другой стороны, именно ПЦР-диагностику можно использовать в качестве метода контроля эффективности проводимой терапии, в качестве доказательства эрадикации

возбудителей применяемыми противомикробными средствами. Такой подход наиболее перспективен при тяжелой форме хронического пародонтита.

Интересными можно считать данные, полученные при анализе структуры выделяемых грибов. Существенная доля грибов, которые не относятся к *Candida albicans*, особенно при тяжелом течении хронического пародонтита, заставляет предполагать существенные проблемы с самолечением пациентов в домашних условиях. Бесконтрольное применения препаратов местного действия, а также флуконазола, стало причиной выявления большой доли флуконазол-резистентных штаммов выделенных грибов.

Полученные результаты позволяют рекомендовать персонализированные подходы к применению противомикробных препаратов. Наиболее высокой прогнозируемой эффективностью в отношении наиболее часто встречающихся возбудителей хронических пародонтитов обладают амоксициллин/клавуланат и моксифлоксацин. Именно у этих препаратов обнаружена наибольшая активность в отношении как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов, выделенных от пациентов с изученной патологией. Если брать во внимание только анаэробные бактерии, которые остаются основными возбудителями хронических пародонтитов, то не утратили свою активность амоксициллин, метронидазол, а также линкомицин, но в значительно меньшей степени. Высокая резистентность дрожжеподобных грибов к флуконазолу заставляет пересмотреть подходы к противогрибковой терапии при генерализованных формах хронического пародонтита в пользу применения местной терапии нистатином, или препаратов новой генерации.

Важным итогом оценки бактериологического статуса пациентов с хроническим пародонтитом следует признать выявленные проблемы со структурой микробиоты. Полученные молекулярно-генетическими и бактериологическими методами результаты свидетельствуют в пользу наличия у пациентов с тяжелой формой патологии признаков нарушения

иммунологической реактивности, и как следствие, грибковой инвазии слизистой оболочки ротовой полости. Именно это послужило причиной проведения иммунологической части дальнейшего научного поиска.

Продолжением экспериментального блока стало проспективное клиническое исследование, проведенные у больных ХГП различной степени тяжести с клинической, иммунологической и микробиологической оценкой терапевтической эффективности Гепона. В ходе исследования выявлены противовоспалительные, иммуномодулирующие и антимикробные свойства препарата, которые позволяют применять его в качестве монотерапии начальных форм пародонтита. Анализ клинических, иммунологических и микробиологических данных дал основания для заключения, что при тяжелых формах ХГП целесообразно применять Гепон в комплексной терапии в качестве иммуномодулирующего средства наряду с основной терапией специфическими антимикробными, противовоспалительными препаратами, а также препаратами, обладающими остеотропными свойствами, такими, как глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат.

Полученные в ходе проведенного исследования результаты позволяют обосновать и апробировать в клинике у больных методы иммунокорректирующей терапии ХГП, включающие местное применение препарата бактериального происхождения с выраженными иммуномодулирующими свойствами Гепон и системное длительное назначение препаратов с остеотропными свойствами (глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат). Курсовое применение иммуномодулирующего препарата Гепон, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата оказывает воздействие на процессы ремоделирования альвеолярной кости, а именно способствует снижению интенсивности остеокластической резорбции, путем стимуляции продукции гуморальных антимикробных факторов (лизоцима, секреторного IgA) в полости рта, что приводит к нормализации микробиоценоза и эрадикации пародонтопатогенов, тем самым снижается влияние липополисахарида на

остеокласты. Обнаружена нормализация функциональной активности нейтрофилов и макрофагов со снижением продукции провоспалительных цитокинов, оказывающих непосредственное влияние на остеокласты, обеспечивают увеличение абсолютного числа лимфоцитов и их функциональной активности.

## ВЫВОДЫ

1. В результате экспериментальных и опытно-конструкторских исследований разработана экспериментальная модель хронического пародонтита различной степени тяжести у крыс, на которой установлена активность пероксидаз (АП) в смешанной слюне: при экспериментальном ХГПЛСТ АП в смешанной слюне возросла в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), при ХГПССТ – 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а при ХГПТСТ – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ), при этом увеличение АП способствует повышению уровня антимикробной защиты полости рта за счет роста активности  $\beta$ -глюкуронидазы и  $\beta$ - галактозидазы в смешанной слюне и пародонтальных тканях.
2. Под влиянием разработанного терапевтического комплекса, включающего иммуномодулятор Гепон, экзогенный глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат происходит восстановление уровня церулоплазмينا, снижение интенсивности процессов ПОЛ и потенцирование антиоксидантной системы: на 90 сутки активность каталазы повысилась в 1,7 раза, антиоксидантно-прооксидантный индекс - в 2,3 раза, уровень МДА снизился в 1,4 раза, а прооксидантно-антиоксидантное состояние восстановилось до показателей интактных животных.
3. Молекулярно-генетический метод диагностики позволяет с высокой точностью и в короткие сроки находить генетический материал основных пародонтопатогенов при любой форме хронического пародонтита. Анализ структуры выделяемой микрофлоры позволяет с большей точностью ориентироваться на данные, полученные при обследовании пародонтального кармана, но не корня языка. Оценка совокупной чувствительности противомикробных препаратов у выделенных пародонтопатогенов позволяет назначать при хронических пародонтитах с высокой степенью эффективности амоксициллин/клавуланат, моксифлоксацин, а при хронических формах патологии – противогрибковые препараты местного

(нистатин), или системного действия новой генерации (итраконазол, вориконазол).

4. У больных ХГП установлено снижение функциональной активности гуморальных факторов местного иммунитета полости рта, сравнительный анализ содержания иммуноглобулинов (SIgA, IgA, IgG) в ротовой и десневой жидкостях больных ХГП указывает на местные иммунорегуляторные механизмы. Полученные результаты позволяют использовать показатель уровня лизоцима в качестве маркера для диагностики и оценки эффективности лечения воспалительных и дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта.

5. При анализе показателей системного иммунитета установлено, что у всех лиц с заболеваниями пародонта развивается Т-клеточный иммунодефицит, преимущественно за счет снижения числа Т-хелперов-индукторов (CD4-лимфоцитов), наиболее выраженный у больных ХГПССТ ( $0,54 \pm 0,08$  г/л) и ХГПТСТ ( $0,57 \pm 0,03$  г/л по сравнению с  $0,68 \pm 0,11$  г/л у лиц с интактным пародонтом,  $p < 0,01$ ), наиболее низкие показатели иммунорегуляторного индекса также выявлены у больных с ХГПССТ ( $1,54 \pm 0,07$  отн.ед.) и ХГПТСТ ( $1,51 \pm 0,05$  отн.ед.) по сравнению с  $2,14 \pm 0,05$  отн.ед. у лиц с интактным пародонтом ( $p < 0,01$ ).

Данные многофакторного корреляционного анализа показали, что наибольшее влияние на пародонт оказывают показатели местного иммунитета (содержание лизоцима, SIgA, IgA, IgG в десневой и ротовой жидкости, а также  $\beta$ -лизинов в ротовой жидкости, корреляционная связь умеренная, прямая: содержание лизоцима –  $r = 0,718$ ,  $p < 0,001$ ; IgA –  $r = 0,644$ ,  $p < 0,001$ ; IgG –  $r = 0,682$ ,  $p < 0,001$ ; SIgA –  $r = 0,428$ ,  $p = 0,002$ ), функциональная активность лимфоцитов и системы комплемента (C3-компонент), а также степень эндогенной интоксикации организма и выраженность вторичного иммунодефицита (корреляционная связь сильная, обратная: иммунорегуляторный индекс, CD4/CD8 (ИМРИ) –  $r = -0,848$ ,  $p < 0,005$ ).

6. Установлено, что применение иммуномодулирующего препарата Гепон, глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата оказывает эффективное воздействие на процессы ремоделирования альвеолярной кости: способствует снижению интенсивности остеокластической резорбции путем стимуляции продукции гуморальных антимикробных факторов (лизцима, секреторного IgA) в полости рта, что приводит к нормализации микробиоценоза и уничтожению пародонтопатогенов.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для усиления/восстановления иммунного ответа, повышения эффективности проводимой терапии ХГП, а также предотвращения рецидивов рекомендуется применение орошений полости рта 0,02% раствором иммуномодулятора Гепон сразу после проведения профессиональной гигиены полости рта по следующей курсовой схеме: при ХГПЛСТ по 2 орошения полости рта день в течение 5 суток, при ХГПССТ – по 3 орошения полости рта в день на протяжении 10 суток, при ХГПТСТ – по 3 орошения полости рта в день на протяжении 14 суток.
2. При ХГПССТ и ХГПТСТ рекомендуется применять Гепон в комплексной терапии в качестве иммуномодулирующего средства наряду с основной терапией специфическими антимикробными и противовоспалительными препаратами, а также в комплексе остеотропной терапии с использованием экзогенного глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата.
3. Рекомендуется проводить исследование микрофлоры пародонтальных карманов для установления специфичности выделенных бактерий и грибов к используемым средствам антимикробной защиты не только при постановке диагноза, но и на всех этапах проводимой терапии для подтверждения адекватного выбора наиболее эффективных противомикробных препаратов (ПЦР в режиме реального времени).
4. Рекомендуется схема назначения ГГХС при терапии ХГПЛСТ: по 500 мг глюкозамина гидрохлорида и 400 мг хондроитина сульфата (1 капсула) 3 раза в сутки – в течение первого месяца; по 500 мг глюкозамина гидрохлорида и 400 мг хондроитина сульфата (1 капсула) 2 раза в сутки – в последующие 2 месяца. Рекомендуемая продолжительность курса лечения 3 месяца.
5. Рекомендуется схема назначения ГГХС при терапии ХГПССТ и ХГПТСТ: по 500 мг глюкозамина гидрохлорида и 400 мг хондроитина

сульфата (1 капсула) 3 раза в сутки – в первые 2 месяца; по 500 мг глюкозамина гидрохлорида и 400 мг хондроитина сульфата (1 капсула) 2 раза в сутки – в последующие 2 месяца. Рекомендуемая продолжительность курса лечения 4 месяца.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АО – антиоксиданты; АОС – антиоксидантная система;
- АП – активность пероксидаз;
- АПИ – антиоксидантно-прооксидантный индекс;
- ГИ – гигиенический индекс (по Федорову-Володкиной);
- ГГХС – глюкозамина гидрохлорид и хондроитина сульфат;
- ДЖ – десневая жидкость;
- ЗАК – зубоальвеолярный комплекс;
- ЗДК – зубодесневой карман;
- ИГ – иммуномодулятор Гепон;
- ИМРИ – иммунорегуляторный индекс, CD4/CD8;
- ИК – индекс кровоточивости;
- КГ – контрольная группа;
- ОГ – основная группа;
- МДА – малоновый диальдегид;
- ПД – пародонтит;
- ПИ – пародонтальный индекс (Pussel, 1956)
- ПОЛ – перекисное окисление липидов;
- РЖ – ротовая жидкость;
- РТК – разработанный терапевтический комплекс;
- СОПР – слизистая оболочка полости рта;
- ХГП – хронический генерализованный пародонтит;
- ХГПЛС – хронический генерализованный пародонтит легкой степени;
- ХГПСС – хронический генерализованный пародонтит средней степени;
- ХГПЛС – хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени;
- ИОК – индекс обнажения корня (Goldberg, 1976),
- IF – индекс степени деструкции костной ткани (Fuch, 1985);
- PVI – индекс кровоточивости десневых сосочков;
- SBI – индекс кровоточивости десневой борозды (по Muhlemann и Son, 1971).

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абалакова, Л.Б. Изучение микробной обсеменённости полости рта у пациентов с хроническим пародонтитом / Абалакова Л.Б., Сирак С.В., Бобрышев Д.В. // В сборнике: Молекулярная диагностика 2017 сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - 2017. - С. 246.
2. Абоян, К.С. Нарушение биопленки биотопа ротовой полости / Абоян К.С., Непорада К.С., Никитенко А.О. // Современная стоматология. - 2013. - №3(67). - С. 22.
3. Абакаров М.А. Генерализованный пародонтит и ревматоидный артрит: иммунологические аспекты взаимоотношения / Абакаров М.А., Смиян С.И., Мазур И.П. // Патология. - 2014. - №3(32). - С. 16-21.
4. Абдрахманов, А.К. Ювенильный пародонтит - видовая принадлежность выделенных микроорганизмов / Абдрахманов А.К., Мамаева Е.В., Яковлева Г.Ю., Ильинская О.Н. // Стоматология детского возраста и профилактика. - 2016. - Т.15, №3(58). - С. 4-9.
5. Абдрахманов, А.К. Кальцинированные нано объекты в слюне пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта / Абдрахманов А.К., Модина Т.Н., Мамаева Е.В., Малютин Л.В., Ильинская О.Н. // Пародонтология. - 2017. - Т. 22, №1(82). - С. 65-69.
6. Аверьянов, С.В. Состав пародонтопатогенной микрофлоры по данным полимеразной цепной реакции у детей / Аверьянов С.В., Гараева К.Л. // Современные технологии. Сборник статей Международной конференции. - 2017. - С. 290-292.
7. Айвазова, Р.А. Исследование микробиома пародонта у пациентов с функциональной диспепсией / Айвазова Р.А., Кулиева А.К., Самсонов А.А., Шевелев А.Б. // Фарматека. - 2018. - № 2 (355). - С. 58-63.

8. Аймадинова, Н.К. Связь факторов риска пародонтита с молекулярно-генетическими маркерами / Аймадинова Н.К. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2017. - 24 с.
9. Алиева, М.С. Клинико-функциональное обоснование применения электроактивированного водного раствора серебра и прополиса в комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита / Алиева М.С. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2018. - 23 с.
10. Атрушкевич, В.Г. Особенности минерального и костного обмена у пациентов в зависимости от характера течения пародонтита / Атрушкевич В.Г., Школьная К.Д. // Лечение и профилактика. - 2017. - №2(22). - С. 85-92.
11. Атрушкевич, В.Г. Особенности микробиоценоза зубного налета у пациентов с агрессивным и хроническим генерализованным пародонтитом / Атрушкевич В.Г., Тихомирова Е.А., Зудина И.В. // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2018. - №2. - С. 88-97.
12. Асадов Б.А. Болезни щитовидной железы и пародонтит / Асадов Б.А., Сутаева Т.Р., Абусуев С.А., Омаров О.Г. // Вестник Дагестанской государственной медицинской академии. - 2017. - №3. - С. 96-98.
13. Асмолов К.С. Профилактика дисфункции минерального обмена при пародонтите / Асмолов К.С., Галикеева А.Ш., Ларионова Т.К. // Современные технологии. Сборник статей Международной конференции. - 2018. - С. 232-238.
14. Арнавская, А.И. Биохимические изменения под влиянием хирургического лечения больных генерализованным пародонтитом с остеопенией / Арнавская А.И., Ярмошук И.Р., Тарнавская М.В., Солоджук Ю.И. // Вестник проблем современной медицины. - 2017. - Т.1, № 3. - С.48-52.
15. Афанасенкова, Т.Е. Изменения слизистой оболочки полости рта при хроническом эрозивном гастрите, ассоциированном с *helicobacter pylori* и герпесвирусной инфекцией / Афанасенкова Т.Е., Дубская Е.Е., Девликанова

- Л.И. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2018. - №6(154). - С. 16-21.
16. Ахметова, А.Р. Локальная антимикробная терапия в лечении болезней пародонта / Ахметова А.Р., Рябых Л.А. // Казань, 2018. – 194 с.
17. Ашуров, Г.Г. Частота выявления пародонтопатогенных бактерий при патологии желудочно-кишечного тракта / Ашуров Г.Г., Азимзода С.М., Каримов С.М. // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. - 2017. - №4(24). - С. 8-11.
18. Байдик, О.Д. Развитие пародонтита с учетом молекулярно-генетические механизмов / Байдик О.Д., Салюкова Д.В., Сысолятин П.Г., Салюкова О.А., Брагина Е.Ю. // Пародонтология. - 2017. - Т. 22, №3(84). - С. 4-7.
19. Биктимерова, О.О. Лечение пробиотиками / Биктимерова О.О., Рединова Т.Л. // Пародонтология. - 2016. - Т. 21, №2(79). - С. 10-15.
20. Блашкова, С.Л. Микробные ассоциации при пародонтите / Блашкова С.Л. // Пародонтология. - 2015. - Т.20, №1 (74). - С. 3-6.
21. Бойченко, О.Н. Анализ представлений о зубных отложениях / Бойченко О.Н., Котелевская Н.В., Николишин А.К., Зайцев А.В. // Вестник проблем биологии и медицины. - 2017. - Т.1, № 3 (137). - С. 13-14.
22. Вавилова, Т.П. Исследование короткоцепочечных органических кислот в смешанной слюне пациентов с пародонтитом на фоне патологии желудочно-кишечного тракта / Вавилова Т.П., Митронин А.В., Перевощикова О.А. // Пародонтология. - 2012. - Т. 17, № 4 (65). - С. 3-7.
23. Васенина, О.Н. Изучение антибактериального эффекта мелатонина при воспалительных заболеваниях пародонта / Васенина О.Н., Мещангина А.А., Колеватых Е.П. // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe. - 2017. - № 3-1 (19). - С. 29-35.
24. Васенина, О.Н. Экспериментальное обоснование применения мелатонина в терапии хронического генерализованного пародонтита /

Васенина О.Н., Громова С.Н., Колеватых Е.П., Кропанева Е.К. // Вятский медицинский вестник. - 2018. - № 1 (57). - С. 13-16.

25. Ватаманюк, Н.В. Общая клинико-рентгенологическая и лабораторная характеристика отобранных для исследования пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями пародонта / Ватаманюк Н.В. // Молодой ученый. - 2018. - № 11 (197). - С. 100-101.

26. Вишнягова, Н.А. Молекулярно-генетические вопросы патогенеза, диагностики, лечения, профилактики пародонтита / Н.А.Вишнягова // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Омск, 2011. - 23 с.

27. Волков, А.Н. Апробация тест-системы для одновременного ПЦР-анализа пяти пародонтопатогенных микроорганизмов в биологическом образце / Волков А.Н. // Медицина в Кузбассе. - 2014. - Т. 13, № 4. - С. 14-18.

28. Ермолаева, Л.А. Этиопатогенетические механизмы развития воспалительных заболеваний пародонта у больных с ожирением / Ермолаева Л.А., Севбитов А.В., Пеньковой Е.А., Шишкин А.Н., Шевелева Н.А., Шевелева М.А., Соколов Н.А., Михайлова Е.С., Хабарова О.В. // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. - 2017. - Т.12, №4. - С. 385-395.

29. Гадушкина, С.А. Исследование молекулярно-генетической эффективности раствора хлоргексидина биглюконата в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Гадушкина С.А., Белоусов А.В. // В сборнике: Актуальные вопросы стоматологии Сборник научных трудов Краевой научно-практической конференции стоматологов и челюстнолицевых хирургов. Под редакцией И.С Пинелиса, 2018. - с. 74-78.

30. Галиуллина, Э.Ф. Патогенез пародонтита по данным литературы / Галиуллина Э.Ф. // Пародонтология. - 2017. - Т. 22, №2(83). - С. 21-24.

31. Глазунов, О.А. Современные взгляды на взаимосвязь между заболеваниями пародонта и ревматоидным артритом / Глазунов О.А., Фесенко Д.В. // Вестник стоматологии. - 2018. - Т.29, №3. - С. 82-88.

32. Гольдштейн, Е.В. Антибактериальная терапия в стоматологии / Гольдштейн Е.В., Сокирко Е.Л. // Институт стоматологии. - 2018. - №1(78). - С. 74-76.
33. Горбунова, И.Л. Патогенез генерализованного пародонтита / Горбунова И.Л., Вишнягова Н.А., Вишнягова В.В. // В сборнике: Материалы XXIV Международного юбилейного симпозиума "Инновационные технологии в стоматологии", посвященного 60-летию стоматологического факультета Омского государственного медицинского университета Сборник статей. отв. ред. Г. И. Скрипкина. – 2017, с. 109-120.
34. Грудянов, А.И. Изучение эффективности метронидазола при лечении пародонтита / Грудянов А.И., Фоменко Е.В. // Пародонтология. - 2015. - Т. 20, №2(75). - С. 38-41.
35. Дзампаева, Ж.В. Особенности этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта / Дзампаева Ж.В. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2017. - Т. 24, №5. - С. 103-110.
36. Доманова, Е.Т. Нарушения гемостаза при хронических заболеваниях пародонта / Доманова Е.Т., Зобнин В.В., Соловьев С.Н. / Международный научно-исследовательский журнал. - 2017. - №1-1 (55). - С. 114117.
37. Ефремова, Н.В. Патогенетическое обоснование применения фотосенсибилизаторов при воспалительных заболеваниях пародонта (клинико-экспериментальное исследование) / Ефремова Н.В. // Автореф. дис. ... докт. мед. наук. - Москва, 2016. - 53 с.
38. Ефремова, А.В. Роль анатомо-топографических особенностей зубочелюстной системы в этиологии и патогенезе быстро прогрессирующего пародонтита / Ефремова А.В., Васильева У.С., Фролова К.Е., Рыжова С.А. // Образование и наука в России и за рубежом. - 2018. - № 13 (48). - С. 29-36.
39. Ермуханова, Г.Т. Распространенность и особенности течения заболеваний пародонта у детей / Ермуханова Г.Т., Камиева З.Р., Ибрагимова К.Х. // Научная дискуссия: вопросы медицины. - 2015. - № 10-11 (30). - С. 110-118.



40. Закиров, Т.В. Анализ микробиологического статуса по данным ПЦР в реальном времени / Закиров Т.В., Брусницына Е.В. // Проблемы стоматологии. - 2012. - №1. - С. 4-8.
41. Закиров, Т.В. Мониторинг биопленки пародонтальных карманов в комплексном лечении агрессивного пародонтита у детей / Закиров Т.В., Брусницына Е.В. // Стоматология для всех. - 2015. - № 4. - С. 24-26.
42. Зайдуллин, И.И. Оценка распространенности основных пародонтопатогенов у работников нефтехимического производства с хроническим пародонтитом / Зайдуллин И.И., Каримов Д.О., Кабирова М.Ф., Валеева Э.Т., Галимова Р.Р. // Проблемы стоматологии. - 2018. - Т.14, №2. - С. 19-24.
43. Зорина, О.А. Характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при агрессивном пародонтите и хроническом генерализованном / Зорина О.А. // Российский стоматологический журнал. - 2017. - №3. - С.31-35.
44. Зубков, М.Н. Результаты исследований микробиоты / М.Н. Зубков // КМАХ. - 2004.- Т.6, №2.- С.143-154.
45. Ипполитов, Е.В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта / Ипполитов Е.В. // Автореф. дис. ... докт. мед. наук. - Москва, 2016. - 52 с.
46. Каличкина, Е.Л. Изменение бактериальной структуры пародонта и его морфо-функционального состояния при развитии воспалительного процесса / Каличкина Е.Л. // Фундаментальная и клиническая медицина. - 2017. - Т.2, №1. - С. 23-27.
47. Караваева, Е.М. Лечение пародонтита и первичного гипотиреозов / Караваева Е.М. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Пермь, 2016. - 23 с.
48. Каркимбаева, Г.А. Клинико-лабораторная характеристика воспалительных заболеваний пародонта детей Кызылординской области / Каркимбаева Г.А., Рысбаева Ж.И., Ермуханова Г.Т., Асанова Д.Б. // Вестник

Казахского Национального медицинского университета. - 2017. - № 4. - С. 141-144.

49. Картон Е.А. Микробиоценоз полости рта ортодонтических больных / Картон Е.А. и др. // Ортодонтия. - 2015. - № 1 (69). - С. 28-34.

50. Ковалевский, А.М. Пародонтит / Ковалевский А.М., Ковалевский В.А. // Институт стоматологии. - 2017. - № 4 (77). - С. 88-90.

51. Колесник, В.М. Анализ показателей защиты полости рта у больных с заболеваниями пародонта / Колесник В.М., Островский А.В., Андрианова И.И. // Научная дискуссия: вопросы медицины. - 2017. - № 2 (44). - С. 48-51.

52. Колчанова, Н.Э. Роль микрофлоры в формировании биопленки в патогенезе хронического периодонтита / Колчанова Н.Э. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2017. - Т.16, №5. - С. 127-135.

53. Крючков, Д.Ю. Дискуссионные аспекты взаимосвязи заболеваний тканей пародонта и сердечно-сосудистого риска (обзор литературы) / Крючков Д.Ю., Романенко И.Г., Джерелей А.А., Крючкова О.Н. // Крымский терапевтический журнал. - 2014. - № 2 (23). - С. 16-20.

54. Кильмухаметова, Ю.Х. Заболевания пародонта на фоне соматических патологий / Кильмухаметова Ю.Х., Батиг В.М., Абрамчук И.И. // Молодой ученый. - 2017. - № 26 (160). - С. 57-62.

55. Кунин, А.А. Антимикробное влияние медицинского озона на ткани пародонта при различных методах его применения / Кунин А.А., Олейник О.И., Кубышкина К.П. // Пародонтология. - 2018. - Т.24, №3-24(88). - С. 84-89.

56. Лабис, В.В. бактерии полости рта / Лабис В.В. и др // Российский стоматологический журнал. - 2013. - № 4. - С.19-21.

57. Лхасаранова, И.Б. Специфические и неспецифические факторы защиты полости рта в норме и при хроническом генерализованном пародонтите / Лхасаранова И.Б., Пинелис Ю.И. // Забайкальский медицинский вестник. - 2018. - №1. - С. 152-163.

58. Лукичев, М.М. Использование бактериофагов и пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Лукичев М.М., Ермолаева Л.А. // Институт стоматологии. - 2018. - № 1 (78). - С. 84-87.
59. Лукичев, М.М. Современные представления о роли микрофлоры в патогенезе заболеваний пародонта / Лукичев М.М., Ермолаева Л.А. // Институт стоматологии. - 2018. - № 1 (78). - С. 92-94.
60. Мазур, И.П. Микробиомы / Мазур И.П., Витовский Р.М., Слободяник М.В. // Стоматология. Эстетика. Инновации. - 2018. - № 2. - С. 191-207.
61. Мамиргов, Т.Т. Стоматологическая ортопедическая реабилитация больных с сахарным диабетом / Мамиргов Т.Т., Пименова О.В. // Бюллетень медицинских интернет-конференций. - 2018. - Т. 8, №7. - С. 297.
62. Масляков, В.В. Коррекция микрофлоры содержимого пародонтального кармана пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом при помощи КВЧ-терапии / Масляков В.В., Пронина Е.А., Абакумова Ю.В., Ильяхин А.В. // Журнал медико-биологических исследований. - 2018. - Т.6, №1. - С. 67-76.
63. Медведева, Л.С. Микробиологическая диагностика при заболеваниях тканей пародонта / Медведева Л.С. // Международный студенческий научный вестник. - 2018. - № 6. - С. 14.
64. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология // Под.ред. В.В.Зверева, А.С.Быкова. - М.: Изд-во «МИА», 2016.
65. Мирсаева, Ф.З. Видовой состав микрофлоры в содержимом пародонтальных карманов при обострении хронического генерализованного пародонтита / Мирсаева Ф.З., Ханов Т.В., Кузнецова Т.Н., Буйлова О.В. // Проблемы стоматологии. - 2018. - Т. 14, № 3. - С. 29-36.
66. Моргунова, В.М. Клинико-иммунологические и молекулярно-генетические критерии диагностики и эффективности лечения больных рефрактерным пародонтитом / Моргунова В.М. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Саратов, 2010. - 24 с.

67. Мороз, П.В. Особенности клинического течения и принципы лечения эндодонто-пародонтальных поражений / Мороз П.В., Иорданишвили А.К., Проходная В.А., Максюков С.Ю., Сафроненко А.В., Гуляева Е.Ш. // Казанский медицинский журнал. - 2018. - Т. 99, № 3. - С. 362-368.
68. Муслев, С.А. Исследование связи между адгезией патогенных бактерий полости рта и грибов рода *candida*, шероховатостью поверхности иммобилизирующих шин и размерами микроорганизмов / Муслев С.А., Арутюнов С.Д., Перцов С.С., Царев В.Н., Ситанская И.Ю., Зайцева Н.В., Арутюнов Д.С. // В сборнике: Современные проблемы системной регуляции физиологических функций Материалы конференции, 2015. - с. 494-496.
69. Новиков, О.О. Новый взгляд на проблему профилактики и лечения заболеваний пародонта / Новиков О.О., Жиликова Е.Т., Цимбалистов А.В., Трифонов Б.В., Малютина А.Ю., Писарев Д.И. // Научный результат. Серия: Медицина и фармация. - 2016. - Т.2, №3. - С. 64-69.
70. Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений // Приказ №535МЗ СССР. – 22.04.1985.
71. Овчаренко, Е.С. Иммунологическая и микробиологическая оценка эффективности гигиены полости рта в комплексном лечении больных с воспалительными заболеваниями пародонта / Овчаренко Е.С., Еричев В.В., Аксенова Т.В., Мелехов С.В. // Медицинский алфавит. - 2017. - Т.3, №24 (321). - С. 38-41.
72. Орехова, Л.Ю. Бактериологическое исследование пародонта / Орехова Л.Ю. и др. // Пародонтология. - 2013. - Т. 18, № 2 (67). - С. 9-13.
73. Орехова, Л.Ю. Сравнительная оценка эндоскопического, лазерного и ультразвукового методов контроля качества снятия зубных отложений и обработки поверхности корня зуба / Орехова Л.Ю., Нейзберг Д.М., Демченко Т.В., Биричева О.А., Артемьев Н.А. // Пародонтология. - 2018. - Т. 23, № 1 (86). - С. 37-40.

74. Пашковская, А.Э. Обоснование проведения антигомотоксической терапии в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / Пашковская А.Э. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Москва, 2014. - 25 с.
75. Першуткина, А.А. Применение аутоплазмы в стоматологии при лечении воспалительных заболеваний тканей пародонта / Першуткина А.А., Микляев С.В., Леонова О.М. // Молодой ученый. - 2018. - № 7 (193). - С. 116-123.
76. Покровский, А.В. Мониторинг резистентности микробной флоры респираторного тракта к антибактериальным препаратам при хронической обструктивной болезни лёгких / Покровский А.В., Пономарёва А.Г., Панин А.М., Стаценко Е.А., Королевич М.П. // Медицинский журнал. - 2015. - №3 (53). - С. 102-105.
77. Пуризахидан, С.В. Эффективность лечения пародонтита / Пуризахидан С.В., Гусейнова М.Х., Гусейнова С.Т., Керимли Н.К. // Dental Forum. - 2016. - № 4. - С. 65.
78. Рогожников, Г.И. Комплексная стоматологическая реабилитация пациентов с заболеваниями пародонта на фоне йододефицита / Рогожников Г.И., Горовиц Э.С., Карпунина Т.И., Караваева Е.М., Мартюшева М.В. // Стоматология для всех. - 2016. - № 1. - С. 24-29.
79. Романенко, И.Г. Роль факторов внешней и внутренней среды в развитии и течении хронического генерализованного пародонтита (обзор литературы) / Романенко И.Г., Кекош Е.А. // Крымский терапевтический журнал. - 2016. - № 4 (31). - С. 19-22.
80. Руманова А.И. Микробиологическая оценка фармакологической композиции при лечении пародонтита / Руманова А.И., Тимохина Т.Х., Паромова Я.И., Брагин А.В., Хонина Т.Г., Шадрина Е.В. // Медицинская наука и образование Урала. - 2017. - Т. 18, № 4 (92). - С. 69-72.
81. Свиринов, В.В. Микробиоценоз / Свиринов В.В. // Медицинский алфавит. - 2018. - Т. 2, № 8 (345). - С. 14-20.

82. Семенов, Е.И. Сравнительный анализ видового и количественного состава микроорганизмов в тканях пародонтального кармана и переимплантной борозды при отсутствии рентгенологических признаков переимплантита / Семенов Е.И., Пиндус Т.А., Шнайдер С.А., Вербицкая Т.Г. // Вестник стоматологии. - 2017. - № 3 (100). - С. 31-40.
83. Сженова, Т.М. Анализ перспективы использования и нормирования эфирных масел в качестве антибактериальных компонентов зубных паст при заболеваниях пародонта / Сженова Т.М., Нестерова О.В., Адмакин О.И., Матюшин А.А., Филиппова А.А. // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. - 2015. - № 5 (10). - С. 43-53.
84. Стрельникова, Н.В. Эпидемиология неспецифических пародонтитов, вызванных бактериями рода *leptotrichia*, при хроническом и рецидивирующем течении инфекции / Стрельникова Н.В., Антонова А.А., Туркутюков В.Б., Шаповаленко Е.С. // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2018. - № 4 (74). - С. 71-74.
85. Субанова, А.А. Эффективность препарата *denova oral bio - complex* при лечении воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого и среднего возраста с позиций МКФ / Субанова А.А., Белов Г.В., Габриэль М.Х. // Znanstvena Misel. - 2018. - № 10-1 (23). - С. 38-41.
86. Суворова, М.Г. Микробный пейзаж основных стоматологических заболеваний / Суворова М.Г., Медведева Л.С. // Международный студенческий научный вестник. - 2018. - № 6. - С. 16-20.
87. Тамарова, Э.Р. Молекулярно-генетическая характеристика видового состава микробиоты слюны и десневых карманов при пародонтите / Тамарова Э.Р., Баймиев А.Х., Швец К.Ю., Мавзютов А.Р. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2015. - Т. 60, № 12. - С. 56-59.
88. Теблоева, Л.М. Остеоиммунология и пародонтит / Теблоева Л.М., Гуревич К.Г. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2014. - Т. 58, № 3. - С. 67-72.

89. Триголос, Н.Н. Стоматогенный очаг инфекции как фактор риска неблагоприятных исходов беременности. Часть II / Триголос Н.Н., Македонова Ю.А., Фирсова И.В. // Пародонтология. - 2018. - Т. 23, №1(86). - С. 10-14.
90. Трубина, Е.О. Особенности локализации патогенной микрофлоры полости рта / Трубина Е.О., Романова И.И., Киртаева А.В. //Сборник работ, 2017. - С. 234-237.
91. Успенская, О.А. Роль общих и местных факторов в возникновении и развитии хронического генерализованного пародонтита тяжелой степени / Успенская О.А., Качесова Е.С. // Современные проблемы науки и образования. - 2017. - № 5. - С. 188.
92. Усманова, И.Н. Микрофлора полости рта при пародонтите / Усманова И.Н., Аль-Кофиш М.А., Лебедева А.И., Хуснарязанова Р.Ф., Усманов И.Р. // Уральский медицинский журнал. - 2017. - № 7 (151). - С. 31-35.
93. Усманова, И.Н. Взаимосвязь клинических и морфологических изменений с факторами риска развития воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста / Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., Усманов И.Р., Аль-Кофиш М.А.М., Лебедева А.И., Хуснарязанова Р.Ф. // Клиническая стоматология. - 2017. - № 4 (84). - С. 34-39.
94. Успенская, О.А. Показатели ротовой жидкости при пародонтите / Успенская О.А., Качесова Е.С. //Сборник работ, 2018. - С. 452-456.
95. Филимонова, Е.А. Обоснование выбора микроорганизмов для разработки на их основе стоматологического пробиотика для лечения заболеваний пародонта / Филимонова Е.А., Богачева Н.В. // В сборнике: Общество. Наука. Инновации (нпк-2018) сборник статей XVIII Всероссийской научно-практической конференции: Вятский государственный университет, 2018. - с. 214-220.

96. Фукс, Е.И. Пародонтиты / Фукс Е.И., Карева Ю.А., Гализина О.А., Таболина Е.С. // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2013. - Т. 21, № 3. - С. 153-160.
97. Царев, В.Н. Характеристики кривых роста бактериальных популяций / Царев В.Н. и др. // Национальные приоритеты России. - 2016. - № 4 (22). - С. 130-133.
98. Цепов, Л.М. Концепция одномоментной элиминации пародонтопатогенной микрофлоры в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита. Часть 1. Клиническая эффективность различных подходов к комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита легкой степени / Цепов Л.М., Николаев А.И., Наконечный Д.А. // Пародонтология. - 2016. - Т. 21, № 4 (81). - С. 10-16.
99. Цепов, Л.М. Возможности лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом в современных условиях / Цепов Л.М., Николаев А.И., Левченкова Н.С., Петрова Е.В., Тургенева Л.Б., Нестерова М.М., Наконечный Д.А. // Пародонтология. - 2017. - Т. 22, № 2 (83). - С. 40-46.
100. Цепов, Л.М. Патогенетическое обоснование клинического применения медикаментов в комплексной терапии при воспалительных заболеваниях пародонта (обзор литературы) / Цепов Л.М., Николаев А.И., Петрова Е.В., Нестерова М.М. // Пародонтология. - 2018. - Т. 23, № 2-23 (87). - С. 4-9.
101. Чайковская, И.В. Взаимосвязь микробной обсеменённости пародонтальных карманов с системой метаболизма оксид азота у пациентов с генерализованным пародонтитом / Чайковская И.В. // В сборнике: Современная стоматология: от традиций к инновациям материалы международной научно-практической конференции. Под редакцией М.Н. Калинкина, Б. Н. Давыдова, О. А. Гавриловой, И. А. Жмакина, К. Б. Баканова, 2018. - С. 387-391.
102. Черемкина, А.С. Характеристика антимикробной активности препарата "ягель" при воспалительном процессе краевой десны / Черемкина А.С.,



Ушницкий И.Д., Ахременко Я.А., Никифорова Е.Ю., Тарасова Л.А., Прокопьев И.А. // Якутский медицинский журнал. - 2015. - № 4 (52). - С. 33-35.

103. Шаповаленко, Е.С. Участие бактерий рода *Leptotrichia* в ассоциации с микроорганизмами патологических зубодесневых карманов в развитии пародонтитов / Шаповаленко Е.С., Антонова А.А., Стрельникова Н.В. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. - 2015. - № 26 (26). - С. 40-43.

104. Шаталов, Д.О. Заболевания полости рта: методы лечения и перспективы создания эффективных лекарственных препаратов / Шаталов Д.О., Кедик С.А., Айдакова А.В., Ворошилова Е.А., Михайленко Е.Н., Беляков С.В., Фёдорова М.М. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2018. - Т. 21, № 3. - С. 11-16.

105. Швец, К.Ю. Частота встречаемости и количественное содержание основных пародонтопатогенов при пародонтитах различной степени тяжести / Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Мавзютов А.Р., Булгакова А.И. // Бактериология. - 2017. - Т. 2, № 4. - С. 40-45.

106. Шилова, С.Г. Результаты лечения воспалительных заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом гелем с прополисом / Шилова С.Г., Зеленская А.В., Гришилова Е.Н., Готлиб А.О., Ильина Е.Е. // В сборнике: Современные методы диагностики, лечения, и профилактики стоматологических заболеваний К 25-летию общественной организации «Стоматологическая Ассоциация Ставропольского края», 2018. - с. 199-201.

107. Шишкова, Ю.С. Микробиологическая оценка эффективности лечения хронического пародонтита у лиц с несъемными ортопедическими конструкциями в полости рта с помощью сложно модулированного электромагнитного излучения / Шишкова Ю.С., Филимонова О.И., Даровских С.Н., Головин Н.С., Липская А.Д. // Южно-Уральский медицинский журнал. -2017. - № 1. - С. 36-39.

108. Alberti, S. Exfoliative cytology of the oral mucosa in type ii diabetic patients: morphology and cytomorphometry / Alberti S., Spadella C.T., Francischone T.R.C.G., Assis G.F., Cestari T.M., Taveira L.A.A. // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. - 2018. - T. 32, № 9. - C. 538-543.
109. Alves, L.A.C. Identification of microorganisms in biofluids of individuals with periodontitis and chronic kidney disease using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry / Alves L.A.C., Souza R.C., da Silva T.M.C., Ciamponi A.L., Dias M., Mendes M.A., Watanabe A. // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. - 2016. - T. 30, № 10. - C. 1228-1232.
110. Al-Cafes, M.A.M. Evaluation of the state of some oral obligate anaerobic and opportunistic microflora by periodontal inflammatory diseases / Al-Cafes M.A.M., Usmanova I.N., Gerasimova L.P., Tuygunov M.M., Usmanov I.R., Gubaidullin A.G. // *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. - 2017. - T. 9, №10. - C. 1720-1724.
111. Baymiev, A.K. Quantitative analysis of the microbiota of periodontal pockets and saliva by real-time pcr before and after treatment of periodontitis / Baymiev A.K., Shveca K.Yu., Mavzyutov A.R., Tamarova Je.R., Bulgakova A.I. // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. - 2017. - T. 32, № 3. - C. 155-159.
112. Beertsen, W. Generalized cervical root resorption associated with periodontal disease / Beertsen W., Piscaer M., van Winkelhoff A.Ja., Everts V. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, №11. - C. 1067-1073.
113. Bezerra, G.A. Bacterial protease uses distinct thermodynamic signatures for substrate recognition / Bezerra G.A., Djinovic-Carugo K., Ohara-Nemoto Y., Nemoto T.K., Cornaciu I., Hoffmann G., Round A., Márquez J.A., Fedosyuk S. // *Scientific Reports*. - 2017. - T.7, № 1. - C. 2848.
114. Beikler, T. Serum antibody reactivity against recombinant prtc of porphyromonas gingivalis following periodontal therapy / Beikler T., Ehmke B., Wittstock M., Schmidt H., Karch H., Flemmig T.F. // *Journal of Periodontal Research*. - 2016. - T. 38, № 3. - C. 276-281.

115. Bissell, J. Expression of  $\beta$ -defensins in gingival health and in periodontal disease / Bissell J., Joly S., Johnson G.K., Organ C.C., Dawson D., B. McCray P., Guthmiller Ja.M. // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. - 2018. - T. 33, № 5. - C. 278-285.
116. Binnie, V. Levels in stimulated and unstimulated saliva / Binnie V. et all // *Oral Diseases*. - 2017. - T.10, № 5. - C. 287-293.
117. Boucher, Y. Radiographic evaluation of the prevalence and technical quality of root canal treatment in a french subpopulation / Boucher Y., Matossian L., Rilliard F., Machtou P. // *International Endodontic Journal*. - 2017. - T. 35, № 3. - C. 229-238.
118. *Clinical Microbiology Procedures Handbook* // Edited by H.Isenberg. 2008.
119. Chung, H.Y. Immunoglobulin g profiles in different forms of periodontitis / Chung H.Y., Lu H.C., Chen W.L., Lu Ch.T., Yang Y.H., Tsai C.C. // *Journal of Periodontal Research*. - 2016. - T. 38, № 5. - C. 471-476.
120. Cwalina, B. Initial stage of the biofilm formation on the niti and ti6al4v surface by the sulphur-oxidizing bacteria and sulphate-reducing bacteria / Cwalina B., Dec W., Michalska J.K., Jaworska-Kik M., Student S. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. - 2017. - T. 28, № 11. - C. 173.
121. De Melo, W.C.M.A. Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection / De Melo W.C.M.A., Avci P., Gupta A., Vecchio D., Sadasivam M., Chandran R., Huang Y.-Y., Yin R., Tegos G.P., Dai T., Hamblin M.R., De Oliveira M.N., Perussi J.R., Perussi L.R. // *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. - 2013. - T. 11, № 7. - C. 669-693.
122. Dogan, S. Infection of primary human gingival fibroblasts by porphyromonas gingivalis and prevotella intermedia / Dogan S., Gunzer F., Guenay H., Hillmann G., Geurtsen W. // *Clinical Oral Investigations*. - 2018. - T. 4, № 1. - C. 0035-0041.
123. Field, J.W. A single-visit treatment / Field J.W., Gutmann J.L., Solomon E.S., Rakusin H. // *International Endodontic Journal*. - 2018. - T. 37, № 1. - C. 70-82.

124. Friskopp, J. The anesthetic onset and duration of a new lidocaine/prilocaine gel intra-pocket anesthetic (oraqix<sup>®</sup>) for periodontal scaling/root planing / Friskopp J., Nilsson M., Isacson G. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 28, №5. - C. 453-458.
125. Fritscher, A.M.G. Association between helicobacter pylori and recurrent aphthous stomatitis in children and adolescents / Fritscher A.M.G., Cherubini K., Chies J., Dias A.C.O. // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. - 2018. - T.33, № 3. - C. 129-132.
126. Furuichi, Y. Periodontal status and serum antibody titers for porphyromonas gingivalis fimbriae in a rural population in Japan / Furuichi Y., Ito H.O., Izumi Y., Matsuyama T., Yotsumoto Y., Mishige Y., Kojima M., Yamashita K., Inoue M. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2015. - T. 28, № 3. - C. 264-269.
127. Gamonal, J. Chronic periodontitis / Gamonal J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T.30, № 7. - C. 616-623.
128. Gonzales, J. Interleukin-4 gene polymorphisms in japanese and caucasian patients with aggressive periodontitis / Gonzales J., Kobayashi T., Michel J., Mann M., Yoshie H., Meyle J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2014. - T. 31, № 5. - C. 384-389.
129. Grayson, R. Activation of human matrix metalloproteinase 2 by gingival crevicular fluid and porphyromonas gingivalis / Grayson R., Douglas C., Heath J., Rawlinson A., Evans Gs. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 30, №6. - C. 542-550.
130. Grimoud, A.M. Salivary defence factor concentrations in relation to oral and general parameters in hiv positive patients / Grimoud A.M., Arnaud Ch., Dellamonica P., Lodter J.Ph. // *European Journal of Oral Sciences*. - 2018. - T.106, № 6. - C. 979-985.
131. Halse, A. Diagnosing periapical lesions - disagreement and borderline cases / Halse A., Molven O., Fristad I. // *International Endodontic Journal*. - 2017. - T. 35, № 8. - C. 703-709.

132. Haripriya, S. Antimicrobial efficacy of silver nanoparticles of aloe vera / Haripriya S., Ajitha P. // *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*. - 2017. - T. 7, № 2. - C. 163-166.
133. Herrera, D. A scaling and root planing in periodontitis / Herrera D., Sanz M., Jepsen S., Needleman Ia., Roldan S. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 29, № S3. - C. 136-159.
134. Hilal, A. Regulation of apoptosis of human immunocompetent cells under the effect of polyamines / Hilal A., Ploskonos M.V., Terentyev A.A., Syatkin S.P., Neborak E.V., Blagonravov M.L., Protasov A., Kaitova Z., Chibisov S.M. // *FEBS Open Bio*. - 2018. - T. 8, № S1. - C. 234.
135. Hinode, D. Relationship between tongue coating and secretory immunoglobulin a level in saliva obtained from patients complaining of oral malodor / Hinode D., Fukui M., Yokoyama N., Yokoyama M., Yoshioka M., Nakamura R. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 30, № 12. - C. 1017-1023.
136. Hoek, G.H. Toothbrushing affects the protein composition of whole saliva / Hoek G.H., Brand H.S., Veerman E.C.I., Nieuw Amerongen A.V. // *European Journal of Oral Sciences*. - 2017. - T. 110, № 6. - C. 480-481.
137. Hou, L.T. Interleukin-1 $\beta$ , clinical parameters and matched cellular histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients / Hou L.T., Liu Ch.M., Liu Bu.Yu., Lin Sh.Ju., Liao Ch.Sh., Rossomando E.F. // *Journal of Periodontal Research*. - 2016. - T. 38, № 3. - C. 247-254.
138. Hoang, T. Povidone-iodine as a periodontal pocket disinfectant / Hoang T., Jorgensen M.G., Keim R.G., Pattison A.M., Slots J. // *Journal of Periodontal Research*. - 2017. - T. 38, № 3. - C. 311-317.
139. Huang, Y. Periodontitis population / Huang Y., Umeda M., Takeuchi Y., Ishizuka M., Yano-Higuchi K., Ishikawa I. // *Oral Microbiology Immunology*. - 2016. - T. 18, № 4. - C. 208-214.
140. Huuonen, S. A-based and a zinc oxide-eugenol-based sealer / Huuonen S. // *International Endodontic Journal*. - 2016. - T. 36, № 4. - C. 296-301.

141. Imazato, S. Potential efficacy of gtr and autogenous bone graft for autotransplantation to recipient sites with osseous defects: evaluation by re-entry procedure / Imazato S., Fukunishi K. // *Dental Traumatology*. - 2017. - T. 20, № 1. - C. 42-47.
142. Itagaki, M. Japanese patients with periodontitis / Itagaki M. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 31, № 9. - C. 764-769.
143. Jakubovics, N.S. Community interactions of oral streptococci / Jakubovics N.S., Yassin S.A., Rickard A.H. // *Advances in Applied Microbiology*. - 2014. - T.87. - C. 43-110.
144. Kleinfelder, J.W. In advanced periodontitis patients / Kleinfelder J.W., Muller R.F., Lange D.E. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2019. - T. 26, № 6. – C. 347-351.
145. Kobayashi, T. Genetic risk factors for periodontitis in a japanese population / T. Kobayashi, T. Nagata, S. Murakami, S. Takashiba, H. Kurihara, Y. Izumi, Y. Numabe, H. Watanabe, M. Kataoka, A. Nagai, J. Hayashi, H. Ohyama, Y. Okamatsu, Y. Inagaki, H. Tai, H. Yoshie // *Journal of Dental Research*. - 2019. - T. 88, №12. - C. 1137-1141.
146. Koller, M.M. Desipramine changes salivary gland function, oral microbiota, and oral health in rats / Koller M.M., Maeda N., Scarpace P.J., Humphreys-Beher M.G. // *European Journal of Pharmacology*. - 2019. - T. 408, № 1. - C. 91-98.
147. Laurell, L. Longitudinal study on the distribution of proximal sites showing significant bone loss / Laurell L., Romao C., Hugoson A. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 30, № 4. - C. 346-352.
148. Lazar, V. Periodontitis and periodontal disease - innovative strategies for reversing the chronic infectious and inflammatory condition by natural products / Lazar V., Saviuc C.-M., Chifiriuc M.C. // *Current Pharmaceutical Design*. - 2015. - T. 22, № 2. - C. 230-237.
149. Lee, A.J. Gingival crevicular fluid osteocalcin in adult periodontitis / Lee A.J., Walsh T.F., Hodges S.J., Rawlinson A. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2019. - T. 26, № 4. - C. 252-256.

150. Leung, W.K. Subgingival microbiota of renal transplant recipients / Leung W.K., Yau J.Y.Y., Jin L.J., Chan A.W.K., Chu F.C.S., Tsang C.S.P., Chan T.M. // *Oral Microbiology Immunology*. - 2017. - T. 18, № 1. - C. 37-44.
151. Liu, C. The role periodontitis and their potential linkage / Liu C., Mo L., Zhou X., Xu X., Niu Y., Li X. // *Frontiers in Physiology*. - 2017. - T. 8, № JUN. - C. 439.
152. Love, D.N. Bacteriological / Love D.N., Malik R., Norris J.M. // *Veterinary Microbiology*. - 2017. - T.74, №3. - C. 179-193.
153. McCaul, L.K. The influence of specialty training and experience on decision making in endodontic diagnosis and treatment planning / McCaul L.K., McHugh S., Saunders W.P. // *International Endodontic Journal*. - 2019. - T. 34, № 8. - C. 594-606.
154. McCracken, G. A clinical comparison of an oscillating/rotating powered toothbrush and a manual toothbrush in patients with chronic periodontitis / McCracken G., Heasman L., Stacey F., Steen N., deJager M., Heasman P. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 31, № 9. - C. 805-812.
155. Messini, M. Bacteremia after dental treatment in mentally handicapped people / Messini M., Skourti I., Markopulos E., Koutsia-Carouzou C., Kyriakopoulou E., Kostaki S., Lambraki D., Georgopoulos A. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2019. - T. 26, № 7. - C. 469-473.
156. Mickels, N. Clinical and microbial evaluation of a histatin-containing mouthrinse in humans with experimental gingivitis / Mickels N., McManus C., Massaro J., Friden Ph., Braman V., D'Agostino R., Oppenheim F., Warbington M., Dibart S., Van Dyke T. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 28, № 5. - C. 404-410.
157. Miranda, L.A. Periodontal conditions in patients with juvenile idiopathic arthritis / Miranda L.A., Fischer R.G., Sztajn bok F.R., Figueredo C.M.S., Gustafsson A. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 30, № 11. - C. 969-974.

158. Molloy, J. The association of periodontal disease parameters with systemic medical conditions and tobacco use / Molloy J., Wolff L.F., Lopez-Guzman A., Hodges Ja.S. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2014. - T. 31, № 8. - C. 625-632.
159. Mombelli, A. Actinobacillus actinomycetemcomitans in chinese adults Mombelli A., Gmur R., Lang N.P., Corbet E., Frey J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2019. - T. 26, № 8. - C. 505-510.
160. Morita, M. Association between oral malodor and adult periodontitis: a review / Morita M., Wang H.L. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, № 9. - C. 813-819.
161. Morishita, M. Estradiol enhances the production of mineralized nodules by human periodontal ligament cells / Morishita M., Yamamura T., Shimazu A., Bachchu A.H., Iwamoto Y. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2019. - T. 26, № 11. - C. 748-751.
162. Murdoch, F. Isolation and characterization of subgingival staphylococci from periodontitis patients and controls / Murdoch F., Sammons R., Chapple I. // *Oral Diseases*. - 2018. - T. 10, № 3. - C. 155-162.
163. Narani, N. Classifications of oral lesions in hiv infection / Narani N., Epstein J.B. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 28, № 2. - C. 137-145.
164. Norris, J.M. Subcutaneous abscesses in cats / Norris J.M., Love D.N. // *Veterinary Microbiology*. - 2018. - T. 65, № 2. - C. 115-122.
165. Ojima, M. Compliance periodontal therapy / Ojima M., Hanioka T., Shizukuishi S. / *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 28, № 12. - C. 1091-1095.
166. Okada, M. PCR detection of 5 putative periodontal pathogens in dental plaque samples from children 2 to 12 years of age / Okada M., Hayashi F., Nagasaka N. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, №6. - C. 576-582.



167. Patel, M. Periodontal pathogens in subgingival plaque of hiv-positive subjects with chronic periodontitis / Patel M., Coogan M., Galpin J.S. // *Oral Microbiology Immunology*. - 2018. - T. 18, № 3. - C. 199-201.
168. Persson, R.E. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects / Persson R.E., Hollender L.G., Powell L.V., MacEntee M.I., Wyatt C.C.L., Kiyak H.A., Persson G.R. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T.29, №9. - C. 796-802.
169. Pradeep, A.R. Chronic periodontitis / Pradeep A.R., Sagar S.V., Daisy H. // *Journal of Periodontology*. - 2018. - T.79, №11. - C. 2125-2135.
170. Pow, E.H.N. Oral stereognosis in stroke and parkinson's disease: a comparison of partially dentate and edentulous individuals / Pow E.H.N., Leung K.C.M., Mc Millan A.S., Wong M.C.M., Li L.S.W., Ho Sh.L. // *Clinical Oral Investigations*. - 2017. - T. 5, № 2. - C. 112-117.
171. Quirynen, M. Microbial load / Quirynen M. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 31, № 7. - C. 506-510.
172. Rajapakse, P. Evidence for local production of antibodies to auto and non-self antigens in periodontal disease / Rajapakse P., Dolby Ae. // *Oral Diseases*. - 2017. - T.10, № 2. - C. 99-105.
173. Reed, S.G. Oral chlamydia trachomatis in patients with established periodontitis / Reed S.G., Lopatin D.E., Foxman B., Burt B.A. // *Clinical Oral Investigations*. - 2018. - T. 4, № 4. - C. 226-232.
174. Renvert, S. Attachment and tooth loss / Renvert S., Persson G.R. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 29, № S3. - C. 82-89.
175. Rodrigues, R.M.J. Microbiota following systemic or local tetracycline therapy / Rodrigues R.M.J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2014. - T. 31, № 6. - C. 420-427.
176. Rosling, B. Longitudinal periodontal tissue alterations during supportive therapy / Rosling B., Serino G., Hellstrom M.K., Socransky S.S., Lindhe J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, № 3. - C. 241-249.

177. Sakamoto, M. Periodontitis patients by sequence analysis of 16s rdna libraries / Sakamoto M. // *Microbiology and Immunology*. - 2018. - T. 44, № 8. - C. 643-652.
178. Salavadhi, S.S. Atomic force microscopy: a three-dimensional reconstructive tool of oral microbiota in gingivitis and periodontitis / Salavadhi S.S., Chintalapani S., Ramachandran R., Nagubandi K., Ramiseti A., Boyapati R. // *Journal of Indian Society of Periodontology*. - 2018. - T. 21, № 4. - C. 264-269.
179. Salvi, G.E. Subjects not enrolled in a supportive periodontal therapy program / Salvi G.E., Bragger U., Lang N.P. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 30, № 9. - C. 840-845.
180. Sedgley, C.M. Prevalence, phenotype and genotype of oral enterococci / Sedgley C.M., Lennan S.L., Clewell D.B. // *Oral Microbiology Immunology*. - 2017. - T. 19, № 2. - C. 95-101.
181. Seymour, R.A. Cardiovascular diseases and periodontology / Seymour R.A., Preshaw P.M., Thomason J.M., Ellis J.S., Steele J.G. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2016. - T. 30, № 4. - C. 279-292.
182. Shimada, Y. Association of tumor necrosis factor receptor type 2 +587 gene polymorphism with severe chronic periodontitis / Shimada Y., Tai H., Endo M., Kobayashi T., Akazawa K., Yamazaki K. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 31, № 6. - C. 463-469.
183. Shiroza, T. Plasmid secreting its gene product / Shiroza T., Shinozaki-Kuwahara N., Hayakawa M., Shibata Y., Hashizume T., Fukushima K., Uda S., Abiko Y. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) // Gene Structure and Expression*. - 2018. T.1626, № 1-3. - C. 57-64.
184. Somaglia, L. Nanoidentification: scanning electron microscope in the diagnosis of atypical forms from subgingival plaque microorganisms / Somaglia L., Turcot L., Bernat M.I., Vilotta S.M., Palacios N., Molgatini S., Rosmino F., Bermolen M., Lavandeira P., Zamberlin J., Lavandeira H., Giménez D., Domínguez S.A., Reynoso-Peitsch P. // *Acta Microscopica*. - 2013. - T. 22, № 1. - C. 32-36.

185. Syrjala, A.M.H. Characteristics to oral health habits and related clinical variables diabetic patients / Syrjala A.M.H., Ylostalo P., Niskanen M.C., Knuuttila M.L.E. // *European Journal of Oral Sciences*. - 2016. - T. 112, № 2. - C. 109-114.
186. Taani, D.Q. The periodontal status of pregnant women and its relationship with socio-demographic and clinical variables / Taani D.Q., Habashneh R., Hammad M.M., Batieha A. // *Journal of Oral Rehabilitation*. - 2016. - T. 30, № 4. - C. 440-445.
187. Terezhalmay G.T. Practice of antibiotic prophylaxis for all dental procedures / Terezhalmay G.T.// *The Annals of Thoracic Surgery*. - 2017. - T. 63, № 2. - C. 402-404.
188. Trevilatto, P.C. Clinical, genetic and microbiological findings in a brazilian family with aggressive periodontitis / Trevilatto P.C., Tramontina V.A., Machado M.A.N., Goncalves R.B., Sallum A.W., Line S.R.P. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 29, № 3. - C. 233-239.
189. Trombelli, L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis / Trombelli L., Tatakis D.N., Scapoli Ch., Bottega S., Orlandini E., Tosi M. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 31, № 4. - C. 239-252.
190. Thomson W.M., Sheiham A., Spencer A.J. Sociobehavioral aspects of periodontal disease. *Periodontol 2000* (2012) 60:54–63. doi:10.1111/j.1600-0757.2011.00405.x
191. Tunkel, J. A systematic review of efficacy of machine-driven and manual subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis / Tunkel J., Heinecke A., Flemmig T.F. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 29, № S3. - C. 72-81.
192. Vag, J. Influence of restorative manipulations on the blood perfusion of human marginal gingiva as measured by laser doppler flowmetry / Vag J., Fazekas A. // *Journal of Oral Rehabilitation*. - 2018. - T. 29, № 1. - C. 52-57.
193. Van Der Reijden, W.A. Mutans streptococci in subgingival plaque of treated and untreated patients with periodontitis / Van Der Reijden W.A., DelleMijn-

- Kippuw N., Stijne-van Nes A.M., de Soet J.J., van Winkelhoff A.J. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 28, № 7. - C. 686-691.
194. Weyant, R.J. Periodontal disease and weight loss in older adults / Weyant R.J., Newman A.B., Kritchevsky S.B., Bretz W.A., Corby P.M., Ren D., Weissfeld L., Rubin S.M., Harris T. // *Journal of the American Geriatrics Society*. - 2014. - T. 52, № 4. - C. 547-553.
195. Wennstrom, J.L. Effects of enamel matrix / Wennstrom J.L., Lindhe Ja. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2017. - T. 29, № 1. - C. 9-14.
196. Williams, B. Evaluation and treatment of weight loss in adults with hiv disease / Williams B., Waters D. // *American Family Physician*. - 2019. - T. 60, № 3. - C. 843-854.
197. Yamazaki, K. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in japanese patients with adult and early-onset periodontitis / Yamazaki K., Tabeta K., Nakajima T., Ohsawa Yu., Ueki K., Itoh H., Yoshie H. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, № 9. - C. 828-832.
198. Yoshinari, N. Interleukin-1 $\beta$  in gingival crevicular fluid and gingival tissues / Yoshinari N. // *Journal of Periodontal Research*. - 2017. - T. 39, № 3. - C. 158-167.
199. Yuan, K. Molars of primary school children in taiwan by polymerase chain reaction / Yuan K., Hsu P.Ch., Tseng Ch.Ch., Kiang D., Wang J.R. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2018. - T. 28, № 4. - C. 348-352.
200. Zhu, B. Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens / Zhu B., Macleod L.C., Kitten T., Xu P. // *Future Microbiology*. - 2018. - T. 13, № 8. - C. 915-932.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2703530

### СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ГЕЛЬ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПАРОДОНТИТА

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Быкова Наталья Ильинична (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2017135878

Приоритет изобретения 09 октября 2017 г.

Дата государственной регистрации в  
Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 21 октября 2019 г.

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 09 октября 2037 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Излиев* Г.П. Излиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 703 530**<sup>(13)</sup> **C2**(51) МПК  
A61K 6/00 (2006.01)  
A61K 31/10 (2006.01)  
A61K 31/136 (2006.01)  
A61K 31/4045 (2006.01)  
A61K 31/7008 (2006.01)  
A61K 36/185 (2006.01)  
A61K 36/41 (2006.01)  
A61P 1/02 (2006.01)(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК  
A61K 6/0067 (2019.05); A61K 31/10 (2019.05); A61K 31/136 (2019.05); A61K 31/4045 (2019.05); A61K 31/7008 (2019.05); A61K 36/185 (2019.05); A61K 36/41 (2019.05); A61P 1/02 (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2017135878, 09.10.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
09.10.2017Дата регистрации:  
21.10.2019Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 09.10.2017

(43) Дата публикации заявки: 09.04.2019 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 21.10.2019 Бюл. № 30

Адрес для переписки:  
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310,  
Медуниверситет, Научно-аналитический отдел,  
Молдовановой Л.С.

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),  
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),  
Быкова Наталья Ильинична (RU),  
Григорян Виктория Аликновна (RU),  
Петросян Григорий Григорьевич (RU),  
Вафиади Аксинья Антоновна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Сирак Сергей Владимирович (RU),  
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),  
Быкова Наталья Ильинична (RU),  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования Ставропольский  
государственный медицинский университет  
(ФГБОУ ВО Ставропольский  
государственный медицинский университет)  
Минздрава РФ (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2372949 C1, 20.11.2009. RU  
2550957 C1, 20.05.2015. RU 2564944 C1,  
10.10.2015. RU 2008133255 A, 20.02.2010. RU  
2078562 C1, 10.05.1997. KG 1566 C1, 30.08.2013.  
WO 2011/006263 A1, 20.01.2011. ЯКОВЛЕВА  
В.И. и др. Диагностика, лечение и  
профилактика стоматологических  
заболеваний. Минск ВШ, 2-е изд. перераб. и  
доп., 1994, с. 480-481.(54) **СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ГЕЛЬ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПАРОДОНТИТА**(57) **Формула изобретения**

Стоматологический гель для лечения и профилактики пародонтита, содержащий сок лекарственных растений и гелевую основу, отличающийся тем, что дополнительно содержит мелаксен, анестезин, сок каланхоэ и крапивы двудомной, глюкозамина гидрохлорид, диметилсульфоксид, в качестве гелевой основы - сплав полиэтиленоксидов ПЭО-400 и ПЭО-4000 в смеси с глицерином при следующем соотношении компонентов, мас. %:

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2706238

**СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ  
ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ  
ПАРОДОНТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ**

Патентообладатели: *Овсянникова Анастасия Александровна (RU), Быков Илья Михайлович (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2019108829

Приоритет изобретения 26 марта 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 15 ноября 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 26 марта 2039 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Излиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 706 238<sup>(13)</sup> C1**(51) МПК  
G01N 33/48 (2006.01)(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК  
G01N 33/00 (2019.08); G01N 33/48 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019108829, 26.03.2019  
(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
26.03.2019  
Дата регистрации:  
15.11.2019  
Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 26.03.2019  
(45) Опубликовано: 15.11.2019 Бюл. № 32  
Адрес для переписки:  
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310,  
Медуниверситет, Научно-аналитический отдел,  
Молдовановой Л.С.

(72) Автор(ы):  
Овсянникова Анастасия Александровна (RU),  
Быков Илья Михайлович (RU),  
Сирак Сергей Владимирович (RU),  
Григорян Виктория Аликовна (RU),  
Кочкарова Зухра Магомедовна (RU),  
Паразян Лиана Аршаковна (RU)

(73) Патентообладатель(и):  
Овсянникова Анастасия Александровна (RU),  
Быков Илья Михайлович (RU),  
Сирак Сергей Владимирович (RU),  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Ставропольский  
государственный медицинский университет"  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава  
России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2581921 C2, 20.04.2016. RU  
2329509 C2, 20.07.2008. P.M. Preshaw. Detection  
and diagnosis of periodontal conditions amenable  
to prevention / BMC Oral Health, 2015; 15 (Suppl  
1): S5 [Найдено в Интернете онлайн 19.09.2019  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/  
PMC4580822/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4580822/)].

## (54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

## (57) Формула изобретения

Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите, включающий исследование ротовой жидкости спектрофотометрическим методом, отличающийся тем, что в качестве показателя интенсивности воспалительно-деструктивных изменений (ИВДИ) в тканях пародонта определяют концентрацию свободного гидроксипролина, а в качестве показателя репаративного восстановления тканей пародонта определяют концентрацию белково-